

## FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

# EVALUACIÓN DE VIABILIDAD Y COMPATIBILIDAD DE POLEN DE DISTINTOS MATERIALES HÍBRIDOS DE PALMA ACEITERA (*Elaeis oleifera x Elaeis guineensis*)

Trabajo de Titulación en conformidad con los requisitos establecidos para optar por el título de Ingeniera Agroindustrial y de Alimentos

Profesor Guía

M. Sc María Raquel Meléndez Jácome

Autora

Elizabeth Pamela Mantilla Valdivieso

Año

2015

## **DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA**

"Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".

María Raquel Meléndez Jácome Ingeniera Agrónoma M. Sc 1709384067

## **DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE**

"Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes".

Elizabeth Pamela Mantilla Valdivieso

1721938718

#### **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por su amor infinito y guía. A mi familia Galo, Ligia, Galito y Emy por su apoyo incondicional

en cada paso.

A Santiago por su amor.

A ANCUPA, representada por la Dra. Silvana Peñaherrera.

Al Dr. Gustavo Bernal, Director de Investigaciones de ANCUPA.

A PDR los Ings. Julian Barba, Laura Mendoza, al señor Jaime Mendieta.

Gracias a todos por su ayuda y amistad

#### **DEDICATORIA**

Quiero dedicar este trabajo con mucho amor e infinito agradecimiento a mis padres Galo y Ligia, quienes han sido mi fuente de inspiración y confianza para luchar por todos mis sueños.

A mis hermanos Galo y Emily por ser mis mejores amigos y confidentes. Ellos mi hermosa familia, mi hogar y mi escuela de amor, confianza y respeto.

#### **RESUMEN**

El mejoramiento genético de la palma aceitera en América nace para mejorar los rendimientos del cultivo y producir híbridos interespecíficos (OxG) resistentes a enfermedades endémicas del continente americano. La Pudrición del Cogollo (PC) ha sido durante más de 3 décadas una enfermedad que ha devastado extensas plantaciones de *Elaeis guineensis*. El material *Elaeis oleifera* ha demostrado resistencia a esta enfermedad y esta característica se transmite a sus progenies.

Los híbridos interespecíficos (OxG) son materiales que tienen un potencial para investigación muy amplio, pero su baja capacidad de polinización entomófila y bajo porcentaje de germinación de polen incrementa los costos de producción de estos materiales. Efectivamente, la utilización de la polinización asistida es indispensable para niveles productivos aceptables comercialmente. Este trabajo busca evaluar el porcentaje de germinación de 3 híbridos interespecíficos (OxG): Taisha x Avros, Taisha x La Mé y Coarí x La Mé. Los resultados de este estudio muestran que las especies puras de E. guineensis y E. oleifera, tienen un porcentaje de germinación de polen entre 94,92±0,03% y 94% respectivamente, mientras que los híbridos interespecíficos (OxG) Taisha x La Mé, Taisha x Avros y Coarí x La Mé presentaron un porcentaje de germinación de 16,82±0,06%, 12,14±0,06% y 9,65±0,07% respectivamente. Por otra parte, se evaluó a estos materiales híbridos como fuente de polen para una polinización controlada en progenitoras femeninas híbridas como receptoras de polen. Los resultados obtenidos muestran una formación de frutos normales influenciada por el origen genético, de la progenitora femenina, siendo Taisha x La Mé la progenitora femenina que más altos porcentajes de formación de frutos normales obtuvo (37,57±0,1%) en racimos polinizados con polen Coarí x La Mé. Estos resultados pueden ser utilizados como tendencias para estudios más profundos acerca de las interacciones de progenitoras femeninas teneras con fuentes de polen de híbridos interespecíficos (OxG). Por otro lado, el porcentaje promedio de formación de frutos partenocárpicos en el racimo fue estadísticamente igual para todos los tratamientos (entre el 9 y el 30%). Esto demuestra que el origen genético de las progenitoras femeninas y el origen del polen no influyen en la formación de frutos partenocárpicos.

Los resultados obtenidos muestran que los cruces Taisha x La Mé como progenitora femenina y el polen de Coarí x La Mé, Taisha x Avros y Taisha x La Mé forman racimos con proporciones de frutos normales y partenocárpicos similares (alrededor del 30% de cada uno), sobresaliendo el polen Coarí x La Mé, adecuadas para su explotación comercial. Sin embargo es necesario encontrar la forma de aumentar el peso del racimo.

#### **ABSTRACT**

Oil palm genetic improvement in America was started to improve crop yields and to produce resistant interspecific hybrids (OxG) to endemic diseases. Bud rot (PC) has been for more than the three past decades a devastating disease of plantations of *Elaeis guineensis*. *Elaeis oleifera* has shown resistance to this disease and this characteristic is inherited to their progeny.

The interspecific hybrids (OxG) are materials that have the potential for further research in agriculture. But, the low capacity of insect pollination and low percentage of pollen germination of the interspecific hybrids (OxG) increase production costs. Therefore the use of assisted pollination at present becomes essential to maintain crops of interspecific hybrids. This dissertation seeks to evaluate the germination percentage of three interspecific hybrids (OxG): Taisha x Avros, Taisha x La Me and Coarí x La Me. These hybrids were compared with pure species regarding percentage of pollen germination. The results of this study showed that pure species E. guineensis and E. oleifera, have a pollen germination rate between 94,92±0,03% and 94% respectively, while the interspecific hybrids (OxG) Taisha x La Me, Taisha x Avros and Coari x La Me presented a germination rate of 16,82±0,06%, 12,14±0,06% and 9,65±0,07%. The results showed a normal fruit formation influenced by the female parent's origin. Taisha x La Me was the female parent presenting higher percentages of normal fruit formation (37,57±0,1%), when Coarí x La Mé's pollen was used. This asseveration requires further research. On the other hand, the average percentage of parthenocarpic fruits conformation in the bunch was not statistically different for all treatments (between 9 and 30% of parthenocarpic fruits). This shows that the genetic origin of the mothers and the origin of the pollen do not influence the formation of parthenocarpic fruits.

The results showed that Taisha x La Me crosses as mother and pollen from Coari x La Me, Taisha x Avros and Taisha x La Mé form clusters with normal proportions of normal and parthenocarpic fruits (about 30% per each). Pollen

Coarí x La Me has the better rate normal and parthenocarpic fruits. These crosses are commonly used for commercial exploitation. However there is a further need to find better ways to increase the weight of the cluster.

# ÍNDICE

1.	INTRODUCCION1
2.	MARCO TEÓRICO5
	2.1 Importancia del cultivo de la palma aceitera 5
	2.1.1 Historia y desarrollo del cultivo de palma aceitera y su industrialización en el mundo
	2.1.2 La palma aceitera en Ecuador7
	2.2 El complejo de pudrición del cogollo (PC)9
	2.3 Taxonomía y condiciones del cultivo10
	2.3.1 Palma africana <i>Elaeis guineensis</i> 11
	2.3.2 Palma americana <i>Elaeis oleifera</i> 17
	2.4 Actividad de fructificación20
	2.4.1 Polinización entomófila y asistida de la palma aceitera 21
	2.5 Mejoramiento genético22
	2.5.1 Obtención de híbridos interespecíficos
	2.6 Viabilidad polínica
	2.6.1 Métodos evaluación de la viabilidad polínica
	2.7 Germinación polínica27
	2.7.1 Medios de germinación
3	OBJETIVOS29
	3.1 Objetivo general29
	3.2 Objetivos específicos

4	METODOLOGÍA 30
	4.1 Ubicación del experimento
	4.2 Métodos
	4.2.1 Recolección de polen de las especies estudiadas 33
	4.2.2 Polinización controlada con polen de híbridos interespecíficos (OxG)
	4.3 Diseño experimental41
	4.3.1 Diseño experimental para determinación de germinación
	de polen41
	4.3.2 Evaluación del "fruit set" mediante polinización asistida 43
5.	RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS 46
	5.1 Ensayo de germinación de polen46
	5.2 Ensayo de polinización asistida y "fruit set" 53
6.	CONCLUSIONES63
7.	RECOMENDACIONES
RE	EFERENCIAS 67
A۱	NEXOS 72

# ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Producción, consumo y excedentes de aceite de palma de	
Ecuador de 1993-2015 en toneladas métricas	8
Figura 2. Exportaciones de aceite de palma por producto 2014	9
Figura 3. Esquema de selección recurrente para mejoramiento	
genético de palma	23
Figura 4.Mapa de la distribución de lotes en PDR	32
Figura 5. Proceso de aislamiento de una inflorescencia	35
Figura 6. Procesamiento del polen	37
Figura 7. Procedimiento de polinización asistida	40
Figura 8. Racimo polinizado, con su placa de identificación	41
Figura 9. Diámetro polar en el grano de polen E. guineensis de la	
izquierda, y diámetro ecuatorial en la derecha (N=10)	46
Figura 10. Diámetro polar de un grano de polen de E. oleifera Taisha a la	
izquierda y a la derecha diámetro ecuatorial a la derecha (N=10	) 47
Figura 11. Morfología de los granos de polen de los híbridos	
interespecíficos (OxG) estudiadas	48
Figura 12.Prueba de normalidad aplicada a los datos del porcentaje de	
germinación de las especies estudiadas CI=95% (N=360)	49
Figura 13. Prueba de varianzas iguales para los datos del porcentaje de	
germinación de las especies estudiadas CI=95% (N=358)	50
Figura 14. Porcentajes de germinación de las 5 especies estudiadas:	
E. guineensis, Taisha x Avros, Taisha x La Mé, Coarí x La Mé y	y
E. oleifera Taisha (N=360). Las muestras fueron tomadas y	
analizadas en diciembre de 2014.	51
Figura 15. Fracción de frutos normales en racimo basado en materiales	
femeninos y polen usado N=36. PDR (2015)	57
Figura 16. Diagrama de cajas de la fracción de frutos partenocárpicos en	
racimo	61
Figura 17. Frutos partenocárpicos que tienen cuesco y no almendra	62

## **ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1. Principales países productores de aceite crudo de palma	
(Departamento de agricultura de Estados Unidos, 2015)	7
Tabla 2. Clasificación taxonómica de la palma aceitera (Vallejo, 1978; Fairhurst	
y Härdter, 2012; Corley y Tinker, 2009)	. 10
Tabla 3. Características fenotípicas y de producción de plantas Taisha de 11	
años de edad (Barba <i>et. al.</i> , 2008)	. 19
Tabla 4. Composición del racimo y del fruto de Taisha de una muestra de 600	
palmas (Barba <i>et. al.</i> , 2008)	. 19
Tabla 5. Ubicación y características de PDR (Barba, 2012)	. 30
Tabla 6. Material sembrado en PDR (Tito, 2014).	. 31
Tabla 7. Especies estudiadas y procedencia en PDR	. 33
Tabla 8. Esquema del DBCA utilizado para el ensayo 2	. 44
Tabla 9. ANOVA del porcentaje de frutos normales del fruit set	. 54
Tabla 10. Prueba de Dunnett para el porcentaje de frutos normales en racimo	. 55
Tabla 11. ANOVA de dos factores sobre el porcentaje de frutos	
partenocárpicos en racimo	. 59

#### 1 INTRODUCCIÓN

La palma africana, de la que se extrae aceite, es uno de los cultivos más importantes de oleaginosas del mundo, abasteciendo más del 70% de la demanda de grasas y aceites de origen vegetal, para la industria alimenticia (Hormaza *et. al.*, 2012; Burgos, 2014. p. 67). La naturaleza perenne de este cultivo, sumado a su alta productividad le ha llevado a una rápida expansión alrededor de varios continentes. Existen más de doce millones de hectáreas sembradas actualmente y su producción sobrepasa los 45 millones de toneladas de fruta por año (Fedepalma, 2010).

A nivel de Latinoamérica, Ecuador es el segundo productor de aceite de palma, después de Colombia (MAGAP, 2014). El impacto económico, social y ambiental asociado a la industrialización de la palma aceitera recae directamente en las poblaciones rurales. La economía precaria de estas comunidades, hace que este cultivo sea una alternativa para la economía de estas familias (Hormaza et. al., 2010. p. 13).

La edad productiva de *Elaeis guineensis* empieza a partir del 5 año y se mantiene hasta los 20 años después del trasplante. En cambio, los híbridos interespecíficos (OxG), empiezan su edad productiva al tercer año de trasplante y aún no se tienen híbridos que superen los 25 años de edad para ser evaluados. Se espera que los híbridos interespecíficos (OxG) dupliquen la edad productiva de sus progenitores masculinos *guineensis*, debido a las características fenotípicas de las progenitoras femeninas *oleiferas* (López, 2014). Actualmente en Ecuador se cultivan alrededor de 280.000 hectáreas de palma que generan más de 506.000 toneladas de aceite rojo, esto corresponde a más de 500 millones de dólares americanos del Producto Interno Bruto de Ecuador (MAGAP, 2014). El 60% de esta producción nacional se exporta a Colombia, Venezuela y Perú principalmente (ANCUPA, 2014; Burgos, 2014, p. 67). La mano de obra directa del cultivo de palma sobrepasa las 50.000 plazas de trabajo, e indirectamente genera más de 100.000 plazas laborales en

actividades relacionadas a la producción e industrialización de la palma aceitera (MAGAP, 2014).

La palma aceitera pertenece a la familia *Arecaceae*, una de las familias más numerosas y diversas de monocotiledóneas, con más de 190 géneros y 2.364 especies (Dransfield*et. al.*, 2008, p. 732). La mayor diversidad de géneros de *Arecaceae* se ubica en áreas tropicales de América, el sureste de Asia y África Ecuatorial (Hormaza *et. al.*, 2010, p. 23). La palma aceitera pertenece al género *Elaeis*. Las especies que componen este género son: *Elaeis guineensis* Jacq. (palma africana), *Elaeis oleifera* Cortes (palma americana), como especies cultivadas y *Elaeis odora* Wess la cual, no se cultiva comercialmente (Dransfield*et. al.*, 2008, p. 732).

La palma aceitera es un cultivo que es atacado por varias enfermedades y plagas. Una de las enfermedades más estudiadas, por ser de carácter letal, es el complejo de pudrición del cogollo (PC) (Torres, 2013; Ronquillo, 2012, p. 3; Barba et. al. 2012; López, 2014). Se ha comprobado que las lesiones iniciales de la PC son causadas por el hongo Phytophthora palmivora (Ronquillo, 2012, p. 3). Sin embargo, las investigaciones realizadas por Cenipalma (2013), algunas universidades de Colombia (2014), el CIPAL (2012) en Ecuador y muchas otras alrededor del mundo, no han llegado a resultados concluyentes sobre el desarrollo de la enfermedad y sus agentes causales (Torres, 2013). Los híbridos interespecíficos de palma aceitera, producto del cruzamiento de americana (E. oleifera HBK palma Cortés) palma africana У (E. guineensis Jacq.) son la alternativa actual para combatir la PC (López, 2014).

A partir de 1960, en América Latina aparecieron los primeros casos de pudrición del cogollo conocida también como "Amarillamiento fatal" en Brasil (Franqueville, 2001, p. 35). Esta enfermedad arrasó con más de 10.000 hectáreas productivas en las décadas de los 80 y 90 en Ecuador y desde entonces se han desarrollado estudios para encontrar los agentes causales de

esta enfermedad. El área cultivada actualmente con *E. guineensis* está siendo paulatinamente reemplazada por híbridos, que son más tolerantes a la pudrición del cogollo. Los estudios en comportamiento y manejo de híbridos se vuelven indispensables debido a este aumento en las áreas sembradas de este cultivo (Barba *et. al.*, 2008). Las investigaciones actuales no solo buscan resistencia a enfermedades y plagas, sino también la mejora de la productividad y la calidad del aceite obtenido (León, 2005).

En Ecuador, desde 1997, 21.000 hectáreas han sido sembradas con híbridos interespecíficos (Alvarado, 2013). Estas plantas provienen, en su mayoría de *oleiferas* brasileñas. En Ecuador, se ha determinado que los híbridos interespecíficos (OxG) que tienen como progenitora femenina a Manicore (Brasil) y Armuelles (Panamá) obtienen el mayor contenido de aceite y mayor producción de racimos respectivamente; utilizando *E. guineensis* Avros como fuente de polen que es un material genético originario de Papúa Nueva Guinea (Alvarado, 2013).

Palmar del Río (PDR) es una plantación de palma aceitera ubicada en la provincia de Orellana en Ecuador. El departamento de investigación de esta empresa ha venido desarrollando investigaciones sobre el comportamiento y la fenología de híbridos interespecíficos desde el año 1997, con la colaboración de instituciones afines de Brasil, Costa Rica, Colombia entre otros países. En estos estudios se pretende evaluar a los mejores genotipos para las condiciones climatológicas, edafológicas y sanitarias de Ecuador (Barba et. al., 2008). Aunque las investigaciones en mejoramiento de palma solo evalúan resultados a largo plazo, desde el año 2000 PDR ha trabajado con una E. oleifera nativa de Ecuador a la que se ha llamado Taisha. Este material genético sido utilizado como progenitora femenina cruces interespecíficos y la evaluación de sus progenies ha obtenido resultados muy alentadores en cuanto a producción y comportamiento en campo (Barba y Baquero, 2012).

Los estudios de híbridos con progenitoras femeninas provenientes de la Amazonía son necesarios, ya que está comprobado que transmiten la tolerancia al complejo PC (Barba y Baquero, 2012). De igual manera, encontrar fuentes de polen es crucial para la supervivencia del cultivo de palma aceitera en América Latina. En efecto, la dependencia del polen de *E. guineensis* para polinizar plantaciones sembradas con híbridos interespecíficos encarece su cultivo (Barba *et. al.*, 2008).

La viabilidad del polen de híbridos interespecíficos (OxG) se ha reportado baja en algunos estudios. Zambrano (2004) encontró entre el 2% y el 8% de viabilidad del polen del material Coarí x La Mé sembrado en 1998. En un estudio realizado por Alvarado y su equipo entre 1998 y 1999 encontró que *E. guineensis* y *E. oleifera* poseían una viabilidad entre 61,8% y 66,9% respectivamente, y la viabilidad del polen de su híbrido interespecífico fue de 6,2%con material sembrado entre 1975 y 1995. Es importante resaltar que este estudio determinó que la viabilidad del híbrido interespecífico aumentaba cuando era recurrente hacia *E. guineensis* y disminuía cuando recurría a *E. oleifera*.

Estudios como los anteriormente mencionados no se han realizado en los germoplasmas endémicos de la Amazonía Ecuatoriana, donde los híbridos interespecíficos (OxG) obtenidosde la *E. oleifera* Taisha que explota comercialmente PDR son: Taisha x Avros y Taisha x La Mé. El fin de este trabajo comprende dos etapas, en la primera evaluará la viabilidad del polen de estos híbridos, de sus parentales y del híbrido interespecífico Coarí x La Mé. La segunda parte evaluará la conformación del racimo en estos materiales utilizando el polen de estos híbridos en la polinización asistida, sustituyendo al polen de *E. guineensis*.

#### 2 MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Importancia del cultivo de la palma aceitera

El cultivo de palma aceitera es el cultivo de oleaginosas más extendido alrededor del mundo, de este cultivo se extrae el aceite crudo de palma, que es el aceite más consumido en la industria de alimentos (Hormaza *et. al.*, 2010, p. 13 y Burgos, 2014, p. 67)

# 2.1.1 Historia y desarrollo del cultivo de palma aceitera y su industrialización en el mundo

La palma aceitera es una planta tropical, proviene del golfo de Guinea en África Occidental. La planta crece entre los 0 y 500 m.s.n.m., su cultivo se extiende hasta los 15° de latitud norte y sur a partir de la Línea Ecuatorial (Padilla, 2007). Actualmente, la palma aceitera existe tanto en estado silvestre como cultivado en: África, Asia Suroriental, América del Sur y Central (Corley y Tinker, 2009, p. 63).

El comercio internacional del aceite de palma a inicios del siglo XX provenía de los palmares semi-silvestres de África y los excedentes del aceite crudo de palma eran exportados. Los palmares eran más densos donde la población era más grande, las plantas eran de distintas edades, las personas las cuidaban en sus propiedades y sin sombra por lo que su producción fue bastante buena. De esta manera, se formaron los palmares productivos comercialmente (Andah, 1993 citado por Corley y Tinker, 2009, p. 66). La almendra de palma era extraída a mano por mujeres y su exportación empezó hacia Gran Bretaña en 1832 hasta 1972, África no tenía plantas trituradoras de almendras, es por ello que la exportación de almendras de palma se manejaba como un comercio separado del aceite crudo de palma (Hartley, 1988 citado por Corley y Tinker, 2009, p. 66).

El desarrollo de palmares comerciales en África fue promovido por Gran Bretaña a finales del siglo IX. Lord Leverhulme incentivó cultivos en Sierra Leona y Ghana pero el gobierno local y sus pobladores se opusieron (Corley y Tinker, 2009, p 67). El Congo estableció plantaciones comerciales durante 1920. Estas explotaciones recibían fruta de pequeños productores también, las exportaciones aumentaron y la industria de la palma aceitera se desarrolló considerablemente (Corley y Tinker, 2009, p. 67). La violencia e inestabilidad política dañaron seriamente el cultivo de palma en el Congo y hacia el final del siglo XX los cultivos más prósperos de África se ubicaron en Costa de Marfil, con el apoyo de Francia en el campo de la investigación (Corley y Tinker, 2009, p. 67).

Asia Suroriental estableció en Sumatra sus primeras plantaciones grandes en 1911. Las semillas que dieron origen a estos cultivos provenían de 4 plantas del Jardín Botánico de Bogor. Se presume que estas plantas se produjeron en Ámsterdam con semillas traídas desde África (Hartley, 1988; Gerritsma y Wessell, 1997 citado por Corley y Tinker, 2009, p. 68).

La primera introducción de semillas en América, para cultivos comerciales se realizó en 1920 por la United Brands Company. Las primeras semillas procedían de Malasia, Java y Sumatra. Las semillas fueron sembradas en Honduras, Tela; en el Jardín Botánico de Lancetilla (Ortiz, 1994).

La producción de aceite de palma en 2013 según la World Oil, una revista mundial especializada en aceite, fue de 57 millones de toneladas métricas, que representan el 39% del total de la oferta de aceites y grasas comestibles, seguido por el aceite de soya con el 30% y el aceite de colza con el 17% (Burgos, 2014, p. 67). Indonesia actualmente es el primer productor mundial de este aceite, con el 51% de la producción total, seguido por Malasia con el 36%. Estos países controlan el mercado de precios de este aceite a nivel mundial (Burgos, 2014, p. 67).

#### 2.1.2 La palma aceitera en Ecuador

La palma africana se introdujo en Ecuador en 1953, en la zona de La Concordia, Santo Domingo (Muñoz, 2009). A partir de 1965, empezó su cultivo comercial, extendiéndose rápidamente desde 1.000 ha. aproximadamente en la década de 1960 hasta las 115.000 ha. en la década de 1990 (Muñoz, 2009).

Ecuador se sitúa en séptimo lugar entre los productores de palma a nivel mundial, llegando a una producción de 575.000 toneladas métricas de aceite crudo de palma en el 2014 como se aprecia en la tabla 1 (Departamento de agricultura de Estados Unidos, 2015). Desde 1993, Ecuador ha aumentado su producción 3,2 veces más con respecto a la producción en la década de 1990, con una tasa anual promedio de crecimiento del 7% y su superficie de siembra creció de 36.126,00 ha. (1993) a 280.000 ha. en 2014 (Burgos, 2014, p. 67). Pese a que Ecuador es el segundo productor regional de este aceite, es el primer exportador de aceite crudo de palma en América del Sur (Burgos, 2014, p. 67).

Tabla 1. Principales países productores de aceite crudo de palma.

	PRODUCCIÓN
PAÍS	(1000 TONELADAS
	MÉTRICAS)
Indonesia	33.000,00
Malasia	20.500,00
Tailandia	2.250,00
Colombia	1.108,00
Nigeria	930,00
Papúa Nueva Guinea	630,00
Ecuador	575,00
Ghana	495,00
Honduras	440,00

Adaptado de Departamento de agricultura de Estados Unidos, 2015.

Ecuador produce aproximadamente el doble del volumen de aceite crudo de palma que el consumo del mercado interno; el excedente se exporta como se ve en la figura 1 (Fedapal, 2015). En el 2014, Venezuela fue el principal destino del aceite crudo y derivados de palma, con un total de 126.761 toneladas métricas, seguido por Colombia con 75.356 toneladas métricas (Fedapal, 2015). La exportación de productos procesados de aceite crudo de palma también ha aumentado; en la figura 2 se aprecia los derivados de aceite de palma exportados durante el 2014 (Fedapal, 2015). A pesar de que Colombia es el primer productor de este aceite, sus excedentes exportables no superan los de Ecuador (López, 2014).

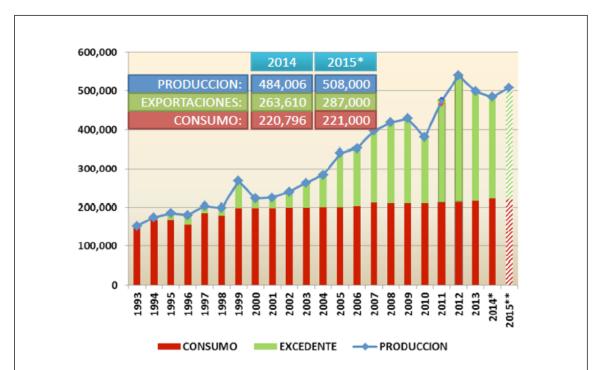
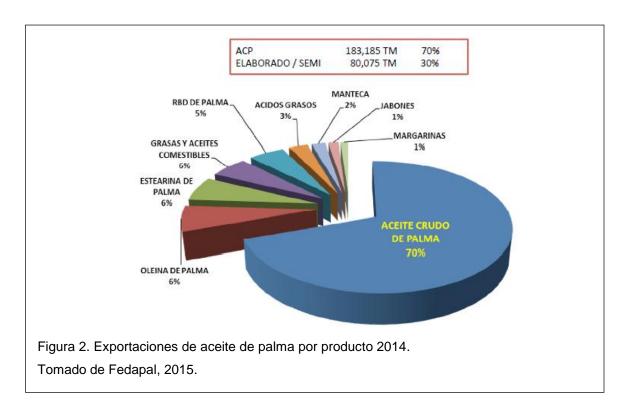


Figura 1. Producción, consumo y excedentes de aceite de palma de Ecuador de 1993-2015 en toneladas métricas.

Tomado de Fedapal, 2015.



#### 2.2 El complejo de pudrición del cogollo (PC).

La PC, conocida también como "Amarillamiento fatal" es una enfermedad de carácter agresivo y letal que ha afectado desde la década de 1980 el cultivo de palma aceitera *E. guineensis* en Centro y Sur América (Torres, 2013; Barba *et. al.*, 2008; Fedepalma, 2010). El patógeno primario de la PC es *Phytophthora palmivora sp.* (Martínez *et. al.*, 2008). Este oomyceto es el responsable de la lesión inicial en la yema apical de las plantas inmaduras (Sarria *et. al.*, 2008 citado por Ronquillo, 2012, p. 5).

La sintomatología de la PC se presenta en un principio con el amarillamiento de las hojas nuevas ubicadas en la parte central del cogollo denominado clorosis. Además la hoja flecha o bandera se llena de lesiones necróticas que descienden a los tejidos meristemáticos, esta hoja se puede doblar y finalmente la pudrición del tejido meristemático se refleja como una licuefacción de los tejidos con un olor fétido (Burgos, 2014, p. 67; Ronquillo, 2012, p. 5).

La PC tiene 2 formas de manifestarse, la letal que ataca a los cultivos de Ecuador, Brasil y parte de Colombia y la forma no letal en la que se recuperan la mayor parte de las plantas afectadas. Esta última forma se evidencia en la zona oriental de Colombia (Franqueville, 2003, pp. 225-240). Los microorganismos asociados a la PC en estudios hechos en laboratorio son Fusarium spp., Colletotrichum sp., Pestalotia sp., Rhizoctonia sp., Thielaviopsis sp., Nigrospora sp., Phytophthora sp. y Pythium sp. Las bacterias que se encontraron en mayor cantidad fueron Erwinia sp. y Pseudomonas (Sarria et. al., 2008, pp. 19-29).

#### 2.3 Taxonomía y condiciones del cultivo.

La clasificación taxonómica de la palma de aceite se aprecia en la tabla 2. La palma aceitera pertenece a la familia *Arecaceae* antiguamente conocida como *Palmae* (Corley y Tinker, 2009, p. 158).

Las especies utilizadas para explotación comercial son la *Elaeis guineensis* y la *Elaeis oleifera,* siendo de origen africano y americano, respectivamente. En centro y sur América, estas especies han sido cruzadas dando origen a los híbridos interespecíficos *E. oleifera x E. guineensis* (OxG). En estos cruces, se utiliza como progenitora femenina a *E. oleifera* y como progenitor masculino a *E. guineensis* (Preciado, 2011, pp. 13-20).

Tabla 2. Clasificación taxonómica de la palma aceitera.

TAXA	GRUPO DE PERTENENCIA
División	Sphermatophyta
Subdivisión	Angiosperma
Clase	Monocotiledonea
Orden	Arecales
Familia	Arecaceae
Tribu	Cocoideae
Género	Elaeis
Especie	guineensis, oleifera y odora

Adaptado de Vallejo, 1978; Fairhurst y Härdter, 2012; Corley y Tinker, 2009.

#### 2.3.1 Palma africana Elaeis guineensis

La palma africana o palma aceitera es un cultivo disperso mundialmente en las regiones cálidas de África, Asia y América. Las temperaturas óptimas de cultivo oscilan entre 24 y 26 °C; a una altura de 500 m.s.n.m. como máximo; con suelos ligeramente ácidos, con un pH entre 5 y 6,5, franco, francos limosos y franco arcillosos, con una profundidad de 1 a 1,5 metros. Los niveles de precipitación recomendables para el cultivo varían entre 120 y 150 mm. mensuales, una humedad relativa mayor al 75% y 1.200 horas de luz al año (Ronquillo, 2012, p. 2; Sáenz, 2006; Corley y Tinker, 2009, p. 139).

# 2.3.1.1 Descripción botánica de la palma africana (E. guineensis)

La semilla de la palma aceitera es el conjunto de estructuras que quedan luego de haber sido eliminado el mesocarpio para la extracción del aceite, este conjunto de estructuras se agrupa de la siguiente manera: cuesco o endocarpio que protege el endospermo de color blanquecino, de donde se extrae el aceite de palmiste y el embrión que mide aproximadamente 3 mm. de largo (Fairhurst y Härdter, 2012, p. 404). Durante la germinación, después de la apertura del poro germinal, el embrión se hincha para formar un botón desde el cual se distinguen la plúmula y la radícula (Fairhurst y Härdter, 2012, p. 404).

El sistema radicular de la palma africana es un complejo sistema fibroso y adventicio que se caracteriza por concentrar la mayor cantidad de biomasa en un radio de un metro, las raíces más profundas absorben el agua y no superan los 0,5 metros de largo, los suelos tropicales concentran sus nutrientes en los primeros 0,5 metros de profundidad; es por ello que el sistema radicular de la palma se concentra en los primeros 0,3 metros de profundidad del suelo (Fairhurst y Härdter, 2012, p. 405).

Durante los 3 primeros años, la palma aceitera engrosa su tallo, formando su base, su crecimiento longitudinal es lento y la base forma un cono invertido. Después los entrenudos empiezan a alargarse llegando a crecer entre 0,3 a 0,6 metros por año (Fairhurst y Härdter, 2012, p. 405). Posterior a los 15 años, el crecimiento longitudinal se reduce. La tasa de crecimiento del estipe tiene relación directa con la vida útil del cultivo, llegando a un máximo de 15 metros de altura (Fairhurst y Härdter, 2012, p. 406; Corley y Tinker, 2009, p. 198). Una palma adulta tiene en su yema apical alrededor de 50 hojas, el desarrollo inicial de las hojas es muy lento hasta los dos años y con su desarrollo posterior muy rápido, formando la hoja "flecha", que está en el centro de la copa (Fairhurst y Härdter, 2012, p, 410).

#### **Inflorescencias**

Las inflorescencias nacen en la axila de cada hoja y los primordios florales poseen órganos tanto masculinos como femeninos. En plantas jóvenes es común que se desarrollen ambas flores, dando origen a inflorescencias hermafroditas. Sin embargo, la palma aceitera es monoica; es decir, produce tanto inflorescencias femeninas, masculinas y en plantas jóvenes en ciclos distintos, eliminando la posibilidad de autofecundación (Fairhurst y Härdter, 2012, p. 412; Corley y Tinker, 2009, p. 203).

Las inflorescencias poseen un pedúnculo de 0,3 a 0,45 metros de largo, con espiguillas dispuestas en forma de espiral. La forma, el número de espiguillas y de flores varía con la edad: mientras mayor sea la planta, la cantidad de espiguillas aumenta. Las inflorescencias son espigas compuestas, cubiertas por espatas leñosas (Fairhurst y Härdter, 2012, p. 412).

Las inflorescencias masculinas están conformadas por espiguillas cilíndricas semejantes a dedos, cada una tiene en promedio de 700 a 1.200 flores. Las flores masculinas están compuestas por un perianto con seis segmentos diminutos y un androceo tubular de seis estambres. La antesis de las flores toma lugar acropetálicamente en la espiguilla (Corley y Tinker, 2009, p. 209).

Por otra parte, las inflorescencias femeninas tienen un perianto compuesto de seis segmentos en dos verticilos, con un ovario tricarpelar y un estigma trífido. Esta inflorescencia tiene entre 100 y 300 espiguillas y más de 2000 flores individuales (Fairhurst y Härdter, 2012, p. 404). Las inflorescencias mixtas se pueden conformar de muchas maneras; en el racimo pueden aparecer espiguillas masculinas y femeninas (Corley y Tinker, 2009, p. 215). En palmas jóvenes se produce en ocasiones un tipo peculiar de inflorescencia mixta llamada andromorfa; esta inflorescencia tiene la apariencia de una masculina, pero las flores son femeninas y forman frutos muy pequeños y partenocárpicos que a menudo no se quedan unidos a las espiguillas (Corley y Tinker, 2009, p. 215).

Durante el período de antesis, las anteras liberan el polen. Las anteras se caracterizan por producir gran cantidad de polen con un olor similar al anís (Raygada, 2005) y son de color blanco y amarillo (Hormaza et. al., 2010, p. 2). En la fase inicial del desarrollo, los granos de polen tienen una forma ovalada hasta llegar a la madurez, momento en que toman una forma triangularen el caso de *E. guineensis*, y ovalada en *E. oleifera*. En cambio, los híbridos interespecíficos sus granos de polen que pueden tomar las dos formas antes descritas (Hormaza et. al., 2010, pp. 39-77; Sánchez y Romero, 2013). La mayor cantidad de polen se obtiene al segundo y tercer día de antesis (Corley y Tinker, 2009). El polen generalmente es viable hasta 6 días después de haber sido liberado de las anteras. Las inflorescencias del híbrido OxG logran liberar hasta 25 gramos de polen mientras que la *E. guineensis* libera hasta 300 gramos del mismo (Hormaza et. al., 2010, pp. 39-77).

Puesto que la palma aceitera es monoica, es necesario trasladar el polen desde una flor masculina a una femenina, mediante distintos sistemas de polinización: anemófila (viento) y entomófila (insectos); siendo esta última la más frecuente (Hormaza *et. al.*, 2010, pp. 39-77). La eficacia de los insectos polinizadores es deficiente en forma natural y esto se vuelve aún más complejo

en materiales híbridos en los que no se lograría aprovechar su alta producción de racimos sin una polinización asistida (Hormaza *et. al.*, 2010, pp. 39-77).

#### Fases de antesis

Hormaza et. al. (2010 pp. 39-77) divide en 4 fases el desarrollo de las inflorescencias desde el primer rasgado de la bráctea peduncular de una inflorescencia hasta la antesis, que es el momento donde las flores femeninas completan su desarrollo fisiológico y ocurre la polinización; y en el caso de las flores masculinas el polen ha completado su desarrollo fisiológico y liberan el polen. Las fases son las siguientes:

- Pre-antesis I: En las inflorescencias masculinas la bráctea peduncular se rasga y se observan las espiguillas de forma cilíndrica y color café muy oscuro. En las inflorescencias femeninas al igual que en las masculinas se rasga la bráctea peduncular y no se observan aún los botones florales.
- Pre-antesis II: La bráctea peduncular se ha rasgado en un 30% de su longitud total tanto en las inflorescencias masculinas como las femeninas, las estructuras de ambas son más visibles y se observa la bráctea del verticilo, que recubre las flores cerradas aún.
- Pre-antesis III: La bráctea peduncular sigue cubriendo la inflorescencia pero esta entre un 50 y 70% rasgada, dejando expuestos los botones floreales en las inflorescencias femeninas, los mismos que han ido cambiando su coloración. Las inflorescencias masculinas se elongan rompiendo la bráctea y las espiguillas se separan, dejando expuestos los botones florales.
- Antesis: Las estructuras florales se abren y quedan expuestas, de manera que las flores masculinas liberan los granos de polen y las flores femeninas son totalmente receptivas al mismo, esta fase dura de 36 a 48 horas. Las flores despiden un aroma a anís que en el caso de la E. guineensis es muy intenso, mientras que en los híbridos es menor.

Luego de la antesis las flores empiezan una fase conocida como pos-antesis, en la que ya no son receptivas al polen y cambia su coloración de un blanco o amarillo hasta volverse negras (Hormaza *et. al.*, 2010, pp. 39-77).

#### **Fruto**

El fruto de la palma es una drupa sésil, su semilla o almendra está recubierta por un mesocarpio carnoso, del cual se extrae el aceite crudo de palma; tiene una forma ovoide o alargada y mide entre 2 y 7 cm., el exocarpio es una capa fina que rodea al fruto. El aceite se presenta tanto en la almendra o semilla como en el fruto (Fairhurst y Härdter, 2012, p. 404).

Los frutos de la palma africana se pueden clasificar de acuerdo a algunos criterios. El primero es por la forma del fruto existiendo tres tipos de frutos según esta clasificación y sus características son las siguientes:

- Duras: Se describen a aquellos frutos con un grosor del cuesco entre 2 a 8 mm. y el cuesco compone entre el 25 y 45% en peso del fruto. La cantidad de aceite tanto del mesocarpio como de la almendra son muy bajos, por lo que este tipo de fruto no es utilizado comercialmente (Fairhurst y Härdter, 2012, p. 404; Barba y Baquero, 2012).
- Pisíferas: Se refiere a frutos que pueden ser de 2 tipos a su vez; el primero no posee ni cuesco ni almendra y se les llama no fértiles. El segundo tipo se denomina frutos semi fértiles o fértiles, dependiendo del tamaño del cuesco y la almendra, que en ambos casos, no superan los 2 a 4 mm. (Barba y Baquero, 2012; Corley y Tinker, 2009, p. 216).
- Tenera: Se refiere a frutos que se obtienen cruzando una planta dura como progenitora femenina y una pisífera como padre y el resultado es un fruto con un cuesco que representa el 50% en peso de la conformación de la almendra (cuesco y pulpa), el restante 50% está conformando por el mesocarpio. Este tipo de fruto es el ideal para lograr una buena tasa de extracción de aceite tanto de palma como de palmiste (Barba y Baquero, 2012; Corley y Tinker, 2009, p. 216).

En 1940 Beirnaert encontró que la forma tenera podía producirse por polinización asistida, ya que un solo gen controla el espesor del cuesco, este descubrimiento supuso un aumento del 30% en producción sin aumentar el costo (Fairhurst y Härdter, 2012, p. 406).

El segundo criterio clasifica a los frutos por el color que estos toman durante su proceso de maduración (Corley y Tinker, 2009, p. 217). Y son los siguientes:

- Nigrescens: Se definen frutos de color violeta llegando a ser negro antes de la maduración y de un color rojo anaranjado en estado de madurez (Barba y Baquero, 2012).
- Virenscens: Los frutos son de color verde oliva antes de la maduración y color anaranjado rojizo al llegar a la madurez (Barba y Baquero, 2012).

Una última clasificación según Barba y Baquero (2012) es aquella que toma en cuenta las características físico-químicas del fruto, y se clasifican de la siguiente manera:

- Frutos normales: Son aquellos que desarrollaron almendra, cuesco y mesocarpio.
- Frutos partenocárpicos: Se definen como frutos que alcanzaron su madurez sin formar almendra, estos frutos pueden o no poseer cuesco.
- Frutos blancos: Estos frutos, son aquellos que no desarrollaron almendra ni cuesco y no se pigmentaron. Presentan un tamaño mucho más pequeño en comparación a los frutos normales y partenocárpicos.
   El contenido de aceite de estos frutos es muy bajo.
- Frutos vanos: Se definen como frutos que sin importar si fueron o no polinizados se desarrollan pero se desprenden del racimo sin llegar a la completar su desarrollo.

#### 2.3.2 Palma americana Elaeis oleifera

La palma americana también conocida como palma noli tiene su origen en las regiones América del Centro y Sur. Esta especie tiene muchas similitudes con la *E. guineensis* en cuanto a sus necesidades edafológicas y climatológicas de cultivo, pero la *E. oleifera* es más tolerante a la excesiva humedad e incluso puede crecer en zonas pantanosas. Por otra parte, esta planta presenta crecimiento rastrero y lento estiramiento del tronco y es resistente a muchos disturbios que afectan a la palma africana en el continente americano (Bernal, 2001, p. 23-28).

#### 2.3.2.1 Descripción botánica de la palma americana (E. oleifera).

Corley y Tinker (2009), señalan los siguientes aspectos morfológicos de la *E. oleifera* que la diferencian de la *E. guineensis*:

- Su tronco crece de 5 a 10 cm anuales y puede ser rastrero.
- Sus raíces pueden llegar a medir 1 m de longitud y se pueden formar alrededor de su tronco si es rastrero.
- Posee mayor lignificación de la hipodermis y el parénquima cortical, menos lagunas y presencia de taninos en las células de los endodermos y el floema. Esto podría explicar su resistencia a varias enfermedades.
- Los foliolos de las hojas no tienen hinchazones basales y son más grandes que los de *E. guineensis*, las espinas del peciolo son cortas y gruesas.
- Las inflorescencias femeninas tienen espatas más persistentes, las espiguillas terminan en una espina corta roma, las flores están hundidas en la espiguilla y no están rodeadas por una bráctea larga como la E. guineensis.
- La antesis femenina es mucho más irregular que la de *E. guineensis*.

- Su racimo no contiene espigas largas, son redondos y anchos en el centro, tienen una forma cónica, pesan entre 8 y 12 Kg, aunque algunos pueden llegar a pesar 30 Kg. Los frutos pesan entre 1,7 y 5 g.
- Presenta gran cantidad de frutos partenocárpicos; en ocasiones llega al 90% del total de frutos en racimo.
- Los frutos partenocárpicos pueden ser de dos tipos; el primero con una nuez con una cavidad llena de líquido y el segundo con un núcleo central lignificado.
- El mesocarpio en frutos normales puede ser hasta el 42% en peso de la constitución del mismo y en los frutos partenocárpicos hasta el 80%.
- El cuesco representa entre el 43 y 53% en peso del fruto, la almendra representa entre el 13 y 22%.
- El contenido de aceite en mesocarpio está entre el 17 al 23%, siendo más bajo en los frutos partenocárpicos.
- Las nueces con 2 almendras son bastante frecuentes y ocasionales con 3 almendras.
- La mayoría poseen un fruto anaranjado en estado maduro.
- Aceite con mayor índice de yodo y ácidos oleicos.
- Mayor contenido de carotenos

La PC devastó más de 10.000 ha. en la Amazonía Ecuatoriana entre 1980 y 2000; el investigador Francisco de Orellana recolectó germoplasma de una oleífera endémica de la región Taisha en la provincia de Morona Santiago - Ecuador. En el año 2000 de esta colección de la *E. oleifera* se sembró en la plantación Palmar del Río (PDR) un lote de 50 ha. y hasta concluir el año 2014 no había muerto ninguna *E. oleifera* Taisha a causa de la PC (Barba *et. al.*, 2008; Torres, 2013).

La *oleifera* Taisha posee características fenológicas que la hacen un material genético muy interesante para cruces interespecíficos OxG. En la tabla 3 se observa que el crecimiento del estípite de Taisha es inferior al de la *E. guineensis* (Hormaza *et. al.*, 2012; Barba y Baquero, 2012). El pedúnculo de

la *E. oleifera* Taisha es también mucho más largo que su similar africano y muchas de sus pares *E. oleifera. Además,* la escasa producción de espatas facilita enormemente su polinización y su producción de racimos es mayor que en la de *E. guineensis*.

Tabla 3. Características fenotípicas y de producción de plantas Taisha de 11 años de edad.

CARACTERÍSTICA	VALOR
Tasa de crecimiento cm./año	5 a 7
Área foliar m² (promedio 20palmas)	4,22
Emisión foliar (hojas/mes)	1 y 2
Pedúnculo (cm.)	15 a 30
Presencia de espatas	Escasa
Antesis floral	Uniforme
Número de racimos por palma año	6 -14
Peso promedio del fruto (g)	9,35
Peso promedio de racimo (kg)	13,9
Producción de racimos tn/ha/año	11,5

Adaptado de Barba y Baquero, 2012.

La composición del fruto hace que la planta pueda ser clasificada como dura, el porcentaje de cuesco y almendra sumados superan el 50% en peso del fruto como se puede ver en la tabla 4.

Tabla 4.Composición del racimo y del fruto de Taisha de una muestra de 600 palmas.

PARÁMETRO	VALOR
Pulpa en fruto (%)	36,41
Cuesco en fruto (%)	21,15
Almendra en fruto (%)	42,44
Frutos normales en racimo (%)	72,12
Frutos partenocárpicos en racimo (%)	11,84
Frutos vanos y blancos en racimo (%)	8

Adaptado de Barba et. al., 2008.

El porcentaje de contenido de aceite en mesocarpio de Taisha está entre 3,64 y 25,82%, mientras que el porcentaje de aceite en racimo está entre 1,68 y 15,69% extraído en laboratorio (Barba *et. al.*, 2008).Las plantas con mayor contenido de aceite han sido seleccionadas como progenitoras femeninas para la producción de semillas en las plantaciones de PDR (Barba *et. al.*, 2008).

#### 2.4 Actividad de fructificación

La inflorescencia femenina en antesis está en la axila de las hojas número 17 a 20 a partir de la hoja flecha. El desarrollo morfológico del racimo toma entre 135 y 180 días desde el momento de la polinización hasta la cosecha, y este se ubica en la hoja 30 a 32 aproximadamente en el momento de recolección (Fairhurst y Härdter, 2012, p. 408). Después de la polinización, los frutos se desarrollan y crecen hasta los 100 días aproximadamente. El embrión tarda en desarrollarse de 70 a 80 días y el cuesco tarda hasta 120 días en promedio, hasta que esté totalmente lignificado. El aceite de la almendra empieza a formarse a partir del día 70 hasta el día 120, después de la polinización; mientras que la síntesis del aceite en el mesocarpio empieza desde el día 120 y termina cuando los frutos se desprenden del racimo de manera natural (Corley y Tinker, 2009, pp. 415-480).

Los racimos están constituidos de un pedúnculo que sostiene a toda la inflorescencia, espiguillas con sus respectivos pedúnculos y espinas. Las espiguillas tienen frutos exteriores e interiores y flores no polinizadas. Los frutos interiores en las espiguillas son alargados y menos pigmentados, en su mayoría son frutos partenocárpicos (Corley y Tinker, 2009, p. 234). Por lo general, entre el 30 y 60% de las flores se transforman en frutos, esto depende directamente de la polinización; los racimos que han sido polinizados con éxito llegan a formar de 500 a 4.000 frutos (Corley y Tinker, 2009, p. 234). El peso y tamaño del racimo aumenta con la edad, llegando a su máximo entre los 6 y 10 años (Corley y Tinker, 2009, p. 234).

#### 2.4.1 Polinización entomófila y asistida de la palma aceitera

Los agentes de polinización pueden ser abióticos o bióticos y de acuerdo a esto, las estructuras florales han evolucionado llegando a ser específicas para el agente polinizador más eficiente de la planta en su zona de cultivo (Frankel y Galun, 1977, pp. 130-157). Normalmente alguno de los agentes predomina; las gimnospermas son principalmente polinizadas por vectores abióticos y las angiospermas, como las palmas aceiteras, por vectores bióticos (Frankel y Galun, 1977, pp. 130-157).

Las investigaciones de agentes polinizadores de palma aceitera empezaron en la década de 1960 y antes se pensaba que los factores abióticos como el viento eran responsables directos de la polinización natural de las palmas aceiteras (Corley y Tinker, 2009, p. 340). Debido a que la formación de frutos normales en los racimos de palma aceitera en África era superior a los de Malasia e Indonesia; se investigó sobre los agentes bióticos presentes en las inflorescencias masculinas y femeninas. Así, se determinó que las especies con mayor potencial polinizador son coleópteros como: *Grasidius hybridus sp., Couturerius sp., kamerunikus* y otras especies de *Elaeidobius* (Barba *et. al.*, 2008).

En las áreas sembradas con híbridos interespecíficos es necesaria la polinización asistida (Chávez, 2014). Esta polinización consiste en la colecta y liberación controlada de polen de la especie *E. guineensis*. De acuerdo a varios autores, el porcentaje de germinación del polen debe ser mayor al 80% para ser utilizado y lograr buenos efectos de fructificación (Hormaza *et. al.*, 2012). El polen es mezclado con un agente transportador (el talco estéril es el más utilizado), esta mezcla se coloca en pisetas limpias, que se cubren con cinta adhesiva para evitar fugas durante la polinización asistida, posterior a esto se transporta la piseta en recipientes que mantengan la temperatura baja (cercana a 0 °C), se hace un pequeño agujero en la funda de aislamiento de la inflorescencia, se introduce el pico de la piseta y se rocía la mezcla sobre las

inflorescencias femeninas que se encuentran en antesis (Hormaza et. al., 2012).

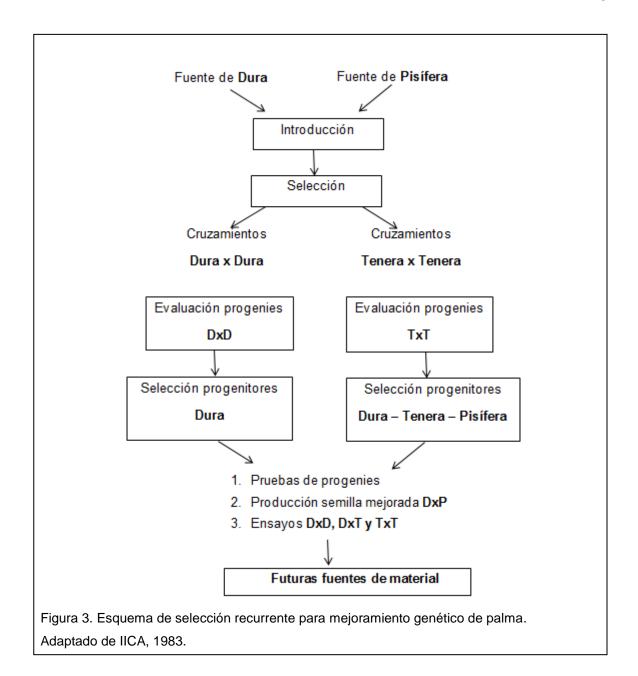
La polinización asistida requiere de personal entrenado, polen con un buen porcentaje de germinación, técnicas adecuadas de colecta y conservación de las células (Hormaza et. al., 2012). La antesis femenina debe ser bien identificada para no desperdiciar recursos; debido a que esta polinización es una actividad costosa debido a la cantidad y frecuencia de mano de obra utilizada. Este tipo de polinización es utilizado en algunas variedades de *E. guineensis*; sin embargo, en híbridos es indispensable ya que la polinización entomófila no es suficientemente eficaz en estas especies para una producción a nivel comercial (Hormaza et. al., 2012).

#### 2.5 Mejoramiento genético

La hibridación es un proceso de mejoramiento genético. Los híbridos obtenidos (F1) superan a los progenitores en cuanto a las características seleccionadas (Barba y Baquero, 2012).

#### 2.5.1 Obtención de híbridos interespecíficos

Las líneas puras de híbridos se obtienen mediante una correcta segregación de los parentales, haciendo una introducción y selección de líneas puras como progenitores y así obtener híbridos homogéneos (Barba y Baquero, 2012) este esquema se aprecia en la figura 3.



Los híbridos interespecíficos resultan del cruce entre una *E. oleifera* Cortez. y *E. guineensis* Jacq. Se toma como progenitora femenina a la palma americana y se fecunda con polen de una pisífera africana obteniendo híbridos interespecíficos (OxG). Estos híbridos nacieron de la necesidad de encontrar una alternativa para combatir la enfermedad del complejo de pudrición del cogollo (PC). En Costa Rica, Colombia, Ecuador y Brasil se establecieron programas de mejoramiento usando *E. oleiferas* propias de cada país e

intercambiando materiales genéticos para hacer pruebas de adaptabilidad (Barba et. al., 2008).

Según Corley y Tinker (2009), los híbridos interespecíficos (OxG) presentan de forma general las siguientes características:

- Hojas más grandes pero conservan la disposición de los foliolos de la E. oleifera. Aumento lento de la altura.
- Desprendimiento de las bases de las hojas Espatas persistentes, partenocarpia, forma y color del fruto.
- Los racimos se parecen más a los de *E. oleifera*.
- Andromorfismo común en las plantas jóvenes.
- Número de foliolos intermedio entre sus padres.
- Área foliar mayor a la de sus progenitores.
- El polen es elíptico en E. oleifera y en sus híbridos es una mezcla entre triangular y elíptico con tamaños variables.
- Desprendimiento de frutos y formación de ácidos grasos libres lenta en comparación con E. guineensis.
- Mismo tiempo de maduración del racimo que sus progenitores (150 días aproximadamente).

Los híbridos interespecíficos (OxG) Coarí x La Mé sembrados en PDR comparados con los híbridos interespecíficos de Taisha tienen un menor rendimiento, igualmente el crecimiento del estípite es un centímetro mayor que la media de los híbridos de Taisha. La presencia de espatas en las inflorescencias femeninas dificulta su polinización y el pedúnculo corto hace su cosecha más difícil (Barba *et. al.*, 2008). Los híbridos interespecíficos (OxG) Taisha han sido sembrados en zonas afectadas por PC en la Amazonía Ecuatoriana, obteniendo buenos resultados en cuanto a rendimiento y en especial su resistencia contra la PC. PDR produce semillas de los híbridos interespecíficos (OxG) llamados Taisha x Avros y Taisha x La Mé, los mismos

que han sido evaluados en campo desde el 2007. Esto hace que estos híbridos sean una nueva alternativa contra esta letal enfermedad (Barba *et. al.*, 2008).

Las características que heredan los híbridos interespecíficos OxG (F1) de un progenitor femenino Taisha según Barba *et. al.* (2008) y Barba y Baquero (2012) son las siguientes:

- Su edad productiva empieza mucho antes que la *E. guineensis*.
- Inflorescencias femeninas presentan muy pocas espatas, lo que favorece la polinización.
- Resistentes a la clorosis, una alteración en el color de las hojas, haciéndolas amarillas.
- Resistencia a la "Pudrición del Cogollo".
- Los híbridos crecen aproximadamente la mitad de lo que crece la
   E. guineensis, lo que significa que la vida productiva de las plantaciones
   híbridas duplican a la africana.
- El índice de Yodo del aceite producido por estos híbridos supera el 65%.
- Índice de acidez bajo en comparación al índice de acidez del aceite de palma africana.
- Pedúnculo largo, lo que facilita la cosecha e incluso la puede volver mecanizada.
- Bajo desprendimiento de los frutos en los racimos maduros. Esta característica facilita la cosecha.
- Su aceite tiene una gran cantidad de carotenos, es un aceite de una coloración roja intensa.
- Alta cantidad de ácidos grasos insaturados.

# 2.6 Viabilidad polínica

La viabilidad del polen es una medida cuantitativa de la fertilidad masculina de una especie vegetal. Las pruebas de viabilidad por lo general conducen experimentos de mejoramiento agrícola y son una herramienta para el monitoreo de las condiciones de almacenamiento del polen (Kearns e Inouye, 1993).

#### 2.6.1 Métodos evaluación de la viabilidad polínica

Los métodos para determinar la viabilidad polínica pueden ser directos o indirectos. Los métodos directos consisten en depositar polen sobre los estigmas en antesis y determinar la cantidad y las características de las semillas producidas (Kearns e Inouye, 1993). Este ensayo tiene la ventaja de ser una medida real de la viabilidad de los granos de polen depositados sobre el estigma. Sin embargo, estos ensayos tienen una serie de desventajas como el tiempo de espera y la posibilidad de perder los resultados por el ataque de enfermedades o plagas, tanto plantas o sus frutos, incluso un posible aborto de los frutos (Kearns e Inouye, 1993). La germinación del polen también puede ser determinada igualmente *in vitro* (Kearns e Inouye, 1993).

Por otra parte, otros métodos que se pueden mencionar para evaluación de la viabilidad del polen son los métodos indirectos y pueden llegar a ser confiables si correlacionan la capacidad de fecundar un óvulo, con alguna característica biológica que se pueda determinar con mayor rapidez. En efecto, las tinciones vegetativas tienen una baja correlación, debido a que no determinan si la célula está viva, mientras que los procedimientos fluorocromáticos tienen una alta correlación y son más confiables porque marcan cargas genéticas (Kearns e Inouye, 1993).

Se han utilizado diferentes métodos de análisis de calidad del polen que se pueden agrupar en: tinciones morfológicas para determinar la viabilidad del grano de polen, germinación *in vitro* y las basadas en el desarrollo del tubo polínico *in vivo* y *semi in vivo* (tras realizar polinizaciones controladas), entre otros métodos. Una técnica consiste en la observación del polen al microscopio tiñéndolo con algún colorante, considerándose como granos vivos aquellos que

se colorean y presentan una morfología normal, como paredes celulares (Singh, 1993).

#### 2.7 Germinación polínica

La producción de híbridos depende de la capacidad del polen para germinar y fecundar el óvulo (Huaman, 1995), para esto es necesario desarrollar métodos de evaluación de la calidad del polen confiables y rápidos; además del ajuste de medios de cultivo óptimos para la germinación del polen, los componentes que requiere el medio de germinación del polen que pueden variar entre las diferentes especies de plantas (Singh, 1993; Demeke y Hughes, 1991).

El método más usado para determinar la germinación del polen consiste en observar si el polen es capaz de iniciar la germinación y emitir el tubo polínico en un medio de cultivo artificial; considerándose no viables aquellos que no consiguen la elongación del tubo polínico mayor al diámetro del grano de polen (La Porta y Roselli, 1991).

#### 2.7.1 Medios de germinación

Las pruebas de germinación en medios artificiales son utilizadas para determinar la viabilidad de muestras de polen almacenado y fresco. Las variables en medios de cultivo, como los factores quimiotrópicos, nivel de pH, contenido de boro-azúcar y efectos de la población de polen deben ser considerados para el análisis de la germinación *in vitro* del polen (Hauser y Morrison, 1964).

Los granos de polen generalmente no germinan satisfactoriamente en agua, pero las soluciones acuosas de sacarosa (jarabe de maíz en ocasiones), con o sin la adición de sustancias accesorias, producen buenos resultados (Johri y Vasil, 1961, citado por Lym, 1991).

La germinación y el largo del tubo polínico son afectados por la cantidad y densidad del polen sembrado en una prueba de germinación. Así, los granos de polen tienen que ser extendidos uniformemente en el medio para obtener resultados comparables (Johri y Vasil, 1961, citado por Lym, 1991). Cabe recalcar que pueden existir diferencias en la germinación del polen de la misma especie si es cultivado en dos lugares con condiciones climáticas y edafológicas distintas. La capacidad de germinación es influenciada igualmente por la edad y la madurez de la planta de la que se tomó la muestra de polen y por la temperatura antes y durante la antesis (Johri y Vasil, 1961 citado por Lym, 1991).

La adición de agar a los medios de germinación, no incrementa la germinación, sin embargo permite en algunos tipos de polen, aumentar el largo del tubo polínico (Brewbaker y Kwack, 1963, pp. 859-865).

#### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo general

 Evaluar la viabilidad y compatibilidad de polen de distintos orígenes genéticos, Elaeis guineensis, Elaeis oleifera y 3 de sus híbridos interespecíficos (E. oleifera x E. guineensis).

# 3.2 Objetivos específicos

- Determinar la viabilidad de polen en E. guineensis, E. oleifera y sus híbridos interespecíficos disponibles en la plantación Palmar del Río utilizando el método de Turner y Gilbanks (1974).
- Seleccionar los materiales genéticos con mayor viabilidad de polen para estudios de compatibilidad, aquellos que obtengan mayor porcentaje de germinación.
- Evaluar la compatibilidad de polen de materiales genéticos seleccionados sobre híbridos interespecíficos en los cruces con mayores porcentajes de viabilidad tengan, mediante la cuantificación del llenado del racimo, diferenciando los frutos normales, partenocárpicos, no partenocárpicos, no formados y flores no polinizadas.

# 4 METODOLOGÍA

# 4.1 Ubicación del experimento

El estudio sobre polen de híbridos interespecíficos (OxG) de palma aceitera se llevó a cabo en la plantación Palmar del Río (PDR), ubicada en la provincia de Francisco de Orellana, Ecuador. Las características agroecológicas de la plantación se aprecian en la tabla 5.

Tabla 5. Ubicación y características agroecológicas de PDR.

CARACTERÍSTICA	VALOR		
Latitud	0°19′S		
Longitud	77°04′W		
Altura	280 msnm		
Precipitación anual promedio	3.392mm		
Luminosidad	1.440 horas luz		
Humedad relativa promedio	83,0%		
Días de lluvia promedio anual	15,8		
Humedad relativa máxima	87,4%		
Humedad relativa mínima	76,3%		
pH promedio	5,034		
Temperatura máxima °C	33,4		
Temperatura mínima °C	18,2		
Temperatura promedio °C	25		

Adaptado de Barba, 2012.

La altura de esta unidad productiva es 280 m.s.n.m., con un promedio de precipitación anual de 3.392 mm. distribuida durante todo el año y con una luminosidad de 1.440 horas luz por año cumpliendo con las necesidades climatológicas y edáficas del cultivo de palma aceitera.

PDR cuenta con 4.500 hectáreas de cultivo, que se encuentran divididas en lotes de 25 ha. El departamento de desarrollo e investigación cuenta con 350 ha. para la realización de experimentos. Este trabajo fue desarrollado en 5 lotes de esta plantación con algunos de los materiales descritos en la tabla 6.

Tabla 6. Superficie de material sembrado en PDR.

MATERIAL	NÚMERO DE HECTÁREAS
WATERIAL	(ha)
Coari x La Me	2.803,88
E. guineensis	757,01
E. oleifera	24,46
O x La Boca	1,29
O x Ishpingo	4,27
Pisífera	2,41
Taisha x Avros	781,86
Taisha x Lame	64,48

Adaptado de Tito, 2014.

En la figura 4, se encuentra la distribución de lotes en la plantación PDR y se señala en un círculo de color rojo aquellos en los que se realizó el presente experimento. Para la realización de este trabajo se seleccionaron lotes con edades iguales, de las especies E. *guineensis, E. oleifera*, como especies puras y de los híbridos interespecíficos (OxG): Taisha x Avros, Coarí x La Mé y Taisha x La Mé.

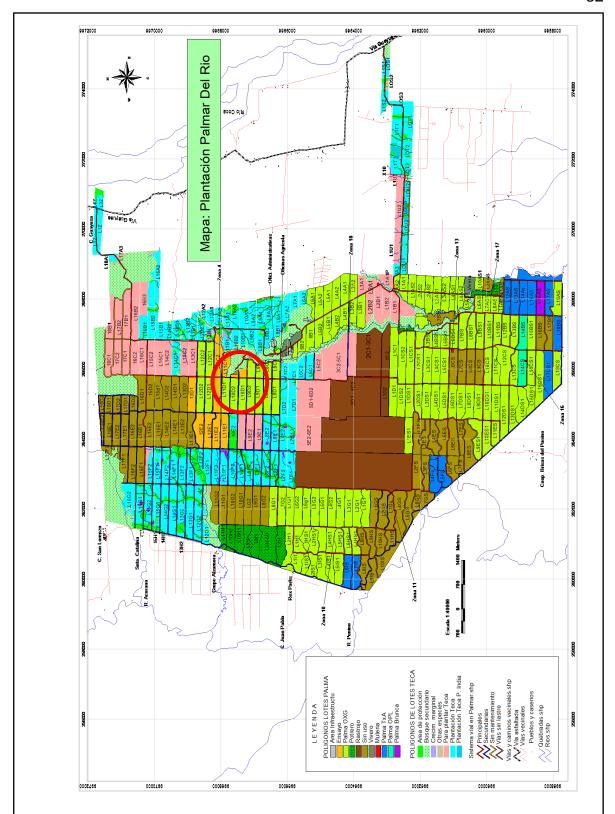


Figura 4. Mapa de la distribución de lotes en PDR Adaptado de Tito, 2014.

#### 4.2 Métodos

El presente trabajo se dividió en 3 etapas:

- 1. Recolección de polen de las especies estudiadas
- 2. Polinización asistida y controlada con polen de híbridos interespecíficos (OxG).
- 3. Evaluación del "fruit set" de los racimos polinizados con el polen de los híbridos interespecíficos (OxG).

#### 4.2.1 Recolección de polen de las especies estudiadas

Las muestras recolectadas para la primera fase de la investigación fueron homogéneas, provenientes de lotes de la misma edad (5 años), sembradas en el año 2010. Las especies utilizadas y el lote de su procedencia se aprecian en la tabla 7.

Tabla 7. Especies estudiadas, número de unidades experimentales y procedencia en PDR.

ESPECIE	LOTE	UNIDADES EXPERIMENTALES
E. guineensis var. Avros	11C2	6
E. oleífera var. Taisha	11C1	6
Híbrido interespecífico (OxG) Taisha x Avros	11D2	6
Híbrido interespecífico (OxG) Taisha x La Mé	1C2	6
Híbrido interespecífico (OxG) Coarí x La Mé	12D1	6

La recolección del polen empezó en el mes de diciembre del año 2014. Se seleccionaron seis plantas de cada especie para la realización de este estudio.

Las plantas debían estar en ciclo masculino (tomando en cuenta que las palmas aceiteras son monoicas y producen inflorescencias masculinas y femeninas pero no al mismo tiempo) y se escogió plantas sanas que no hubieran presentado anteriormente inflorescencias andromorfas. Las inflorescencias fueron aisladas cuando las espatas presentaban un ligero corte como se observa en la figura 5a y como lo menciona Hormaza (2010, pp. 39-77), la floración empieza cuando la bráctea peduncular se rasga a la altura media de la inflorescencia. Es necesario aislar la inflorescencia masculina en ese momento, para evitar que insectos empiecen a poblar la inflorescencia acarreando polen de otras flores. De esta manera se asegura que no exista contaminación cruzada de polen.

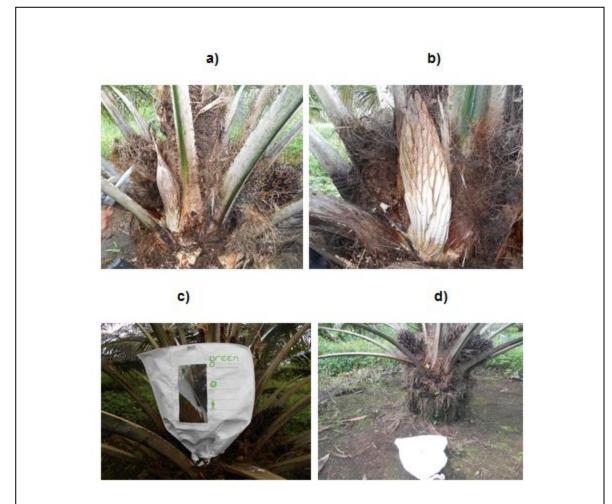


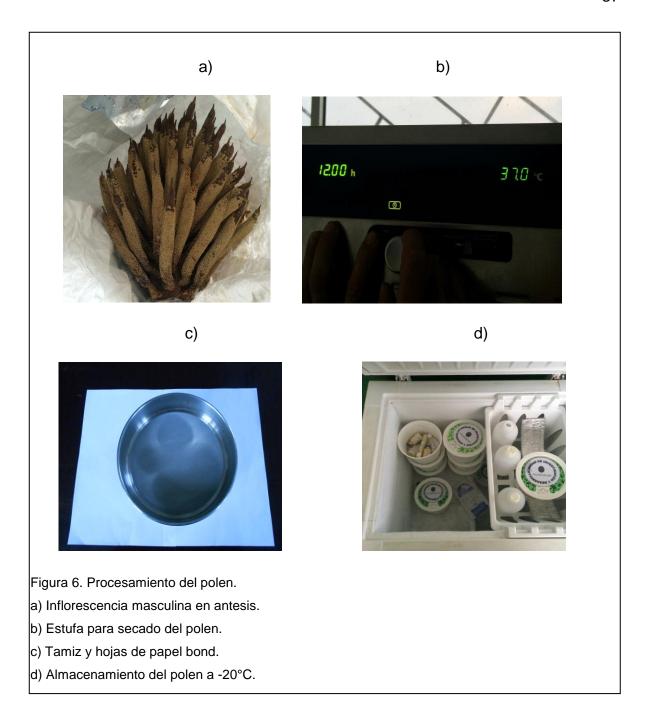
Figura 5. Proceso de aislamiento de una inflorescencia.

- a) Inflorescencia masculina cubierta por espatas.
- b) Inflorescencia totalmente limpia de espatas y material vegetal.
- c) Inflorescencia aislada.
- d) Inflorescencia masculina en antesis cosechada.

El procedimiento para el aislamiento de las inflorescencias masculinas empezó con la limpieza de la inflorescencia, una vez descubierta la inflorescencia como se ve en la figura 5b, se colocó una cantidad de algodón que rodea el pedúnculo para absorber la humedad. Sobre la inflorescencia, se colocó la funda de aislamiento y se ajustó con una liga de caucho sobre el algodón a la altura del pedúnculo, como se aprecia en la figura 5c. Las inflorescencias se revisaron pasando un día para evaluar en qué fase de antesis se encontraban y se ajustaron las fundas conforme

al crecimiento de la inflorescencia. Una vez la inflorescencia llegó al estado de antesis, se cortó la misma por debajo de la liga de caucho como se aprecia en la figura 5d. Este procedimiento se basó en la metodología descrita por Arnaud (1979) con modificaciones ajustadas a las condiciones climáticas del lugar en el que se realizó el ensayo. Algunas de las modificaciones fueron la incorporación del algodón alrededor del pedúnculo y el procedimiento de revisión y reajuste de fundas cada 2 días.

Una vez recolectada la inflorescencia (6a), esta se almacenó en el cuarto frío a 22 °C y una humedad relativa del 30%, durante 4 horas. Posterior a esto, la inflorescencia se llevó a cuartos separados de acuerdo a la especie. Luego se cortaron las espiguillas y se sacudieron sobre hojas de papel bond. El material recolectado fue colocado en sobres y puesto en una estufa a 37°C durante 12 horas (figura 6b). Finalmente, el material fue tamizado con una malla de 40 micras (figura 6c), el polen recolectado fue envasado, etiquetado y almacenado nuevamente en congelación a -20 °C como se aprecia en la figura 6d; siguiendo el método descrito por Turner y Gilbanks (1974).



Las pruebas de determinación del porcentaje de germinación se realizaron en el laboratorio de manejo de polen de la plantación PDR, siguiendo el método de Turner y Gilbanks (1974). Para este proceso, se utilizó el medio de cultivo que tenía la siguiente composición:

■ 11 gramos de sacarosa

- 1,2 gramos de agar
- 100 mililitros de agua destilada

Se colocó 10 ml del medio de cultivo aproximadamente, en una caja Petri. En cada caja Petri se esparció, con la ayuda de un aplicador de algodón una cantidad pequeña de polen, y luego las cajas Petri fueron debidamente etiquetadas y se pusieron en una incubadora durante 12 horas a 37 °C (Turner y Gilbanks, 1974).

Después de sacar las cajas Petri de la incubadora, se observaron bajo el microscopio 4 campos visuales que tuvieran 100 granos de polen de cada caja Petri para los conteos y se replicaron 3 cajas Petri por cada muestra (Turner y Gilbanks, 1974).Los datos obtenidos de todos los campos visuales fueron registrados y se determinaron las muestras que tenían mayor porcentaje de germinación para ser utilizadas en la segunda parte de la investigación.

## 4.2.2 Polinización controlada con polen de híbridos interespecíficos (OxG)

Las muestras seleccionadas del ensayo de evaluación de germinación de polen que correspondieron a los materiales *E. guineensis*, Taisha x Avros, Taisha x La Mé y Coarí x La Mé, se utilizaron en el segundo ensayo, (de 3 a cuatro muestras por especie). Por otra parte, se aislaron 12 inflorescencias de Taisha x La Mé, Taisha x Avros y Coarí x La Mé respectivamente; siguiendo el mismo procedimiento que el aislamiento de las flores masculinas descrito por Arnaud (1979).

Una vez aisladas las inflorescencias femeninas se esperó entre 8 y 15 días hasta que llegaran a la antesis, durante la espera se revisó la inflorescencia pasando un día. A medida que creció el pedúnculo, fue necesario bajar la funda y apretar la liga. Durante el periodo de antesis, la inflorescencia desprendió un aroma intenso similar al del anís y la funda se infló. La antesis se puede presentar de manera

irregular como se ve en la figura 6a, tanto en híbridos como en especies puras. En el laboratorio se pesó una mezcla de talco y polen en la proporción 9 a 1. La mezcla se la colocó en una piseta, se identificó el lote, línea y columna de la inflorescencia para la que estaba destinado el polen (figura 7a y 7b) y se colocó en un termo para conservar la mezcla a baja temperatura y mantener la viabilidad del polen.

Por lo general es necesario polinizar 2 veces en días consecutivos, cuando la inflorescencia tiene flores en antesis con diferencia de más de 2 días se descartan para la producción de semillas como lo describe también Chávez (2014) en su trabajo acerca de la germinabilidad y determinación de diferentes dosis de polen en inflorescencias de híbridos.

La dosis utilizada en los ensayos de polinización asistida fue de 0,1 gramos de polen por inflorescencia. Esta dosis ha demostrado ser una dosis óptima en plantas jóvenes para alcanzar una adecuada formación y contenido de aceite del racimo (Chávez, 2014). Las inflorescencias femeninas que llegaron a antesis debieron ser identificadas y luego de preparar el polen se realizó un pequeño agujero en la ventana de plástico de la funda, se introdujo el pico de la piseta y luego se aplastó dejando que la mezcla talco-polen se esparciera por toda la funda de aislamiento y llegara hasta las flores más lejanas al agujero como se aprecia en la figura 7c. Finalmente, se sacó la piseta de la funda y se selló el agujero con cinta adhesiva con el fin de evitar el ingreso de polen o insectos de otras plantas.

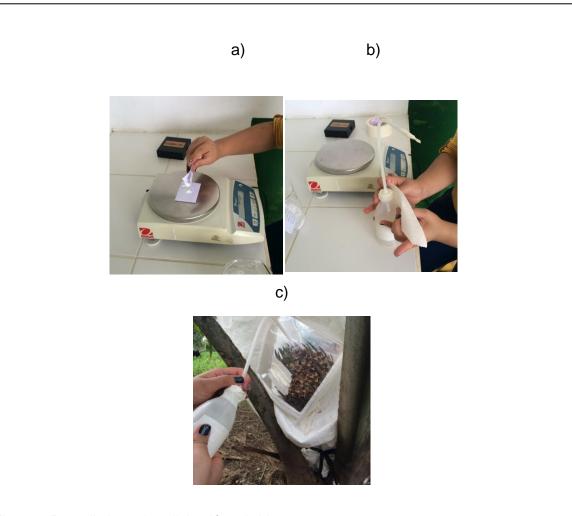


Figura 7. Procedimiento de polinización asistida.

- a) Pesaje de talco y polen
- b) Sellado y etiquetado de la piseta que contenía la mezcla
- c) Polinización asistida.

Se elaboró una placa donde se encontraba la fecha de polinización, la identificación de la palma progenitora femenina y el origen del polen utilizado. Después de 10 días de la polinización se retiró la funda y se colocó la placa como se aprecia en la figura 8. Esta es una práctica realizada rutinariamente en la plantación PDR para identificar todos los racimos del departamento de investigación.



Figura 8. Racimo polinizado, con su placa de identificación Nota: Racimo Taisha x Avros polinizado con polen Taisha x La Mé.

Polinizado el 27 de diciembre de 2014.

Después de 120 días de la polinización asistida, los racimos fueron cosechados y éstos estaban totalmente conformados. El análisis de los racimos se realizó primero pesando el racimo. Luego el racimo se cortó, se pesó y se clasificaron sus frutos de acuerdo a cuatro tipos de frutos: normales, partenocárpicos, blancos y vanos.

# 4.3 Diseño experimental

# 4.3.1 Diseño experimental para determinación de germinación de polen

El porcentaje de germinación del polen recolectado se determinó con la observación al microscopio de los granos de polen. Estas células se dividieron en dos grupos: aquellas que desarrollaron tubo polínico con una longitud mayor o igual al diámetro del grano de polen (consideradas como viables) y aquellas que no desarrollaron tubo polínico (consideradas como no viables). Se utilizó la siguiente ecuación para reportar los resultados:

(Gilbanks y Turner, 1974).

% de germinación = 
$$\frac{número\ de\ granos\ de\ polen\ viables}{número\ de\ granos\ de\ polen\ totales} \times 100$$
 (Ecuación 1)

El diseño utilizado para este primer ensayo fue un diseño completamente al azar (DCA), con 4 tratamientos y 6 observaciones cada uno, se estableció como unidad muestral a la inflorescencia y los tratamientos están definidos por las especies de palmas utilizadas. Este diseño debe cumplir con la siguiente ecuación:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$
 (Ecuación 2) (Gutiérrez y De la Vara, 2008)

Donde en la situación de estudio se tiene que:

 $Y_{ij}$  es el porcentaje de germinación de la  $i - \acute{e}sima(1,2,3,4)$  especie en la  $j - \acute{e}sima(1,2,3,4,5,6)$  inflorescencia.

 $\mu$  es la media global de incremento del porcentaje de germinación de cada inflorescencia sin importar la especie.

 $au_i$  es el verdadero aporte de la  $i-\acute{e}sima(1,2,3,4)$  especie, definido como la diferencia entre la media de la especie $i-\acute{e}sima(1,2,3,4)$  y la media global; esto es,  $au_i=\mu_i-\mu$ 

 $\varepsilon_{ij}$  la variable aleatoria error asociada a la  $j-\acute{e}sima$  unidad experimental de la especie  $i-\acute{e}sima$ . Se realizarán pruebas de normalidad con media cero, independencia, y homogeneidad de varianza para comprobar que el modelo utilizado se ajuste al ensayo.

Al aplicar el DCA se plantea la siguiente hipótesis:

 $H_0$ 

= las medias de los porcentajes de germinación de las distintas especies soniguales

$$H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$$

De no cumplir este enunciado se rechazará la hipótesis nula y se aceptará la hipótesis alternativa

 $H_1 = las medias de los porcentajes de germinación de las distintas especies no son iguales.$ 

$$H_1 = \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4$$

El programa estadístico en el que se procesaron estos datos fue Minitab versión 17.

### 4.3.2 Evaluación del "fruit set" mediante polinización asistida

El diseño experimental utilizado para el ensayo 2 fue un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) con 3 repeticiones. Las fuentes de variación se establecieron con la especie del progenitor femenino que fue el factor de bloque y la especie del progenitor masculino que representó el factor de tratamiento. Las variables de respuesta se determinaron como: el porcentaje de frutos normales que conforman los racimos y el porcentaje de frutos partenocárpicos que conformaron los racimos, analizados por separado. El tratamiento de referencia fueron los racimos que fueron polinizados con el polen de E. guineensis porque es el polen que se usa siempre en las polinizaciones asistidas de las plantaciones híbridas (OxG) comerciales. Los datos obtenidos de este ensavo 2 fueron analizados mediante un ANOVA con 2 criterios de clasificación, en el programa Minitab 17. El esquema del diseño de los bloques y tratamientos se presenta en la tabla 8.

Tabla 8. Esquema del DBCA utiliza	ado para el ensavo 2.
-----------------------------------	-----------------------

TRATAMIENTO	BLOQUES				
IRATAMIENTO	TAISHA x AVROS	TAISHA x LA MÉ	COARÍ x LA MÉ		
	Tratamiento de	Tratamiento de	Tratamiento de referencia		
E. guineensis	referencia	referencia			
	Y <sub>11</sub>	Y <sub>12</sub>	Y <sub>13</sub>		
Taisha x Avros	Y <sub>21</sub>	Y <sub>22</sub>	Y <sub>23</sub>		
Taisha x La Mé	Y <sub>31</sub>	Y <sub>32</sub>	Y <sub>33</sub>		
Coarí x La Mé	Y <sub>41</sub>	Y <sub>42</sub>	Y <sub>43</sub>		

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \gamma_j + \varepsilon_{ij} \begin{cases} i = 1, 2, 3 \dots k \\ j = 1, 2, 3, 4 \dots b \end{cases}$$
 (Ecuación 3)

(Gutiérrez y De la Vara, 2008).

Donde en el ensayo 2 se tiene que:

 $Y_{ij}$  es el porcentaje de frutos normales o partenocárpicos de la  $i - \acute{e}sima(1,2,3,4)$  especie de la progenitora femenina en el bloque de la  $j - \acute{e}sima(1,2,3,4)$  especie del padre.

 $\mu$  es la media global de la población.

 $\tau_i$  es el efecto de la  $i - \acute{e}sima(1,2,3,4)$  especie del padre, definido como la diferencia entre la media de la especie  $i - \acute{e}sima(1,2,3,4)$  del padre.

 $\gamma_j$  es el efecto debido al bloque  $j-\acute{e}sima$  (1,2,3,4) especie de la progenitora femenina.

 $\varepsilon_{ij}$  la variable aleatoria error atribuido a la medición  $Y_{ij}$ . Se realizarán pruebas de normalidad con media cero, independencia, y la igualdad de sus varianzas para los residuos y comprobar que el modelo utilizado se ajuste al ensayo.

Al aplicar el DBCA se plantea la siguiente hipótesis:

 $H_0 = las\ medias\ de\ los\ porcentajes\ de\ frutos\ normales\ y\ partenocárpicos$  en los racimos polinizados con distintas especies son iguales

De no cumplir este enunciado, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa:

 $H_1 = las \ medias \ de \ los \ porcentajes \ de \ frutos \ normales \ y \ partenocárpicos$  en los racimos polinizados con distintas especies no son iguales

Las diferencias entre los tratamientos (especies) se analizaron con un ANOVA multivariante. El programa estadístico en el que se trabajó fue Minitab versión 17.

#### 5 RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

# 5.1 Ensayo de germinación de polen

La morfología de los granos de polen de *E. guineensis* var. Avros estudiada, se asemeja a un triángulo donde su diámetro ecuatorial (medido en la parte más ancha) es en promedio de 41,3 $\pm$ 0.2  $\mu$ m y un diámetro polar (medido en su parte más angosta) en promedio de 39,5 $\pm$ 0.3  $\mu$ m como se observa en la figura 9.

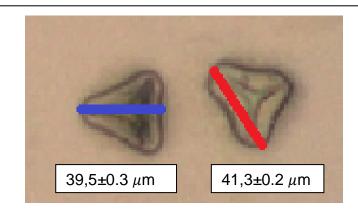


Figura 9. Diámetro polar en el grano de polen *E. guineensis* de la izquierda, y diámetro ecuatorial en la derecha (N=10).

En cambio, los granos de polen de *E. oleifera* var. Taisha tienen una forma elíptica, con un diámetro polar en promedio de  $35,9\pm0.5~\mu m$  y un diámetro ecuatorial promedio de  $39,2\pm0.3~\mu m$  (figura 10). Para obtener estos promedios se midieron 10 granos de polen completamente al azar de las 6 muestras de cada especie. De manera general, los granos de polen de los híbridos estudiados muestran formas diversas, similares a las de sus parentales.

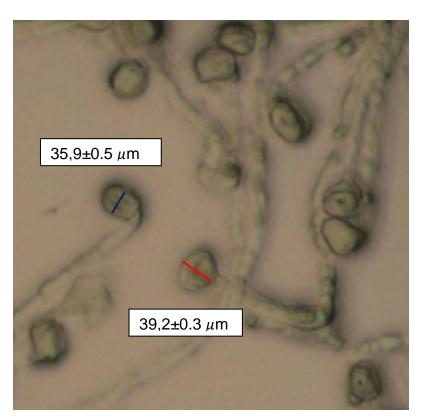


Figura 10. Diámetro polar de un grano de polen de *E. oleifera* Taisha a la izquierda y a la derecha diámetro ecuatorial a la derecha (N=10).

Estudios realizados anteriormente por (Martins, Miranda y Nunes, 2009; Sánchez y Romero, 2013) reportan diámetros semejantes a aquellos obtenidos en este estudio. Los híbridos (OxG) fueron estudiados por Sánchez y Romero (2013) pero en la investigación no se precisan los cruces que fueron utilizados.

Los híbridos Taisha x Avros y Taisha x La Mé muestran en su gran mayoría granos de polen semejantes morfológicamente a aquellos de *E. oleifera*, mientras que el híbrido Coarí x La Mé muestra granos de polen en su mayoría triangulares; semejantes a los de *E. guineensis* (figura 11).

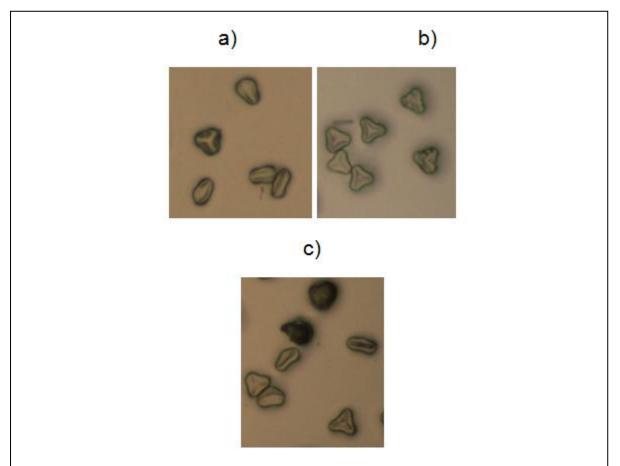


Figura 11. Morfología de los granos de polen de los híbridos interespecíficos (OxG) estudiadas.

- a) Granos de polen Taisha x Avros
- b) Granos de polen Taisha x La Mé
- c) Granos de polen Coarí x La Mé.

En la figura 11 se aprecia una comparación de formas entre los híbridos estudiados Taisha x Avros, Taisha x La Mé y Coarí x La Mé.

El polen de *E. oleifera* Taisha presenta una forma elíptica, más pequeña que el grano de polen de *E. guineensis*, como se ve en la figura 10 estos granos de polen son más pequeños y tienen una sola apertura (adelgazamiento de la pared celular) mientras que *E. guineensis* tienen 3 aperturas (Sánchez y Romero, 2003). Las aperturas facilitan el intercambio iónico del interior del grano de polen con el exterior y es ahí de donde emerge el tubo polínico (Sánchez y Romero, 2013).

En la figura 12, se observa la gráfica de la prueba de normalidad de residuos de las medias del porcentaje de germinación del polen, y en la figura 13 se muestra la figura y la prueba de varianzas iguales para los residuos. Estas dos pruebas muestran un valor de p menor a 0,05, demostrando que los datos no se ajustan a un modelo ANOVA de un solo factor.

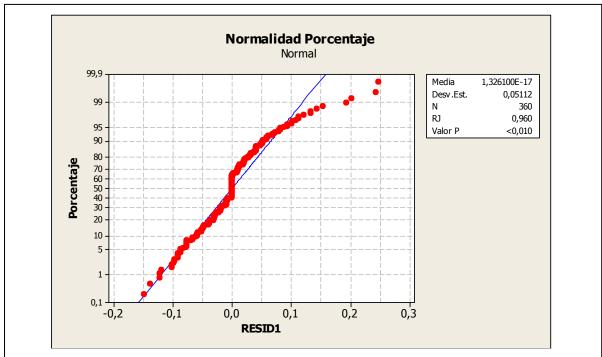


Figura 12. Prueba de normalidad aplicada a los datos del porcentaje de germinación de las especies estudiadas CI=95% (N=360).

Las pruebas para comprobar si los datos obtenidos en el ensayo se ajustan al modelo ANOVA propuesto son: de normalidad de los residuos, donde como se aprecia en la figura 12 el valor p es menor a 0,05 de tal manera que se rechaza que los datos cumplan con una distribución normal. La prueba de Levene, mostrada en la figura 13 muestra un valor de p de 0,00. Este resultado rechaza una varianza homogénea de los residuos (las dos pruebas se analizaron con un nivel de confianza del 95%). Los resultados obtenidos de las pruebas de hipótesis

demuestran que los datos no cumplen con una distribución normal y sus varianzas no son homogéneas es por eso que solo se analizará este ensayo con estadística descriptiva.

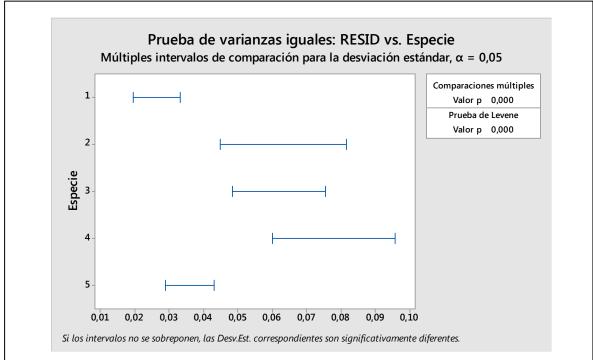


Figura 13. Prueba de varianzas iguales para los datos del porcentaje de germinación de las especies estudiadas CI=95% (N=358).

Una de las posibles razones para que los datos no cumplieran con una distribución normal y una homogeneidad de las varianzas puede ser el bajo número de unidades experimentales (6 por cada especie). Es posible que el modelo pudiera cumplir los supuestos si se aumentara el número de observaciones por tratamiento, en esta investigación el número de observaciones fue limitado por el factor económico. En efecto, el costo unitario de venta al público de una semilla de palma aceitera es de \$3 dólares americanos, por lo que el costo total de los ensayos, con el número de muestra manejado ascendía a \$10.800 dólares americanos, considerando que se utilizaron en promedio 3 racimos comerciales para cada aislamiento de una inflorescencia masculina y este valor se trabajó por

triplicado, es decir, el valor total del ensayo ascendió a \$33.000 dólares americanos aproximadamente.

Los resultados que se exponen a continuación en la figura 14, muestran el comportamiento de las especies estudiadas bajo las condiciones de este ensayo (condiciones climáticas, origen genético y número de muestras), estos resultados están sujetos a cambios si las condiciones de manejo del experimento cambiasen en réplicas a futuro.

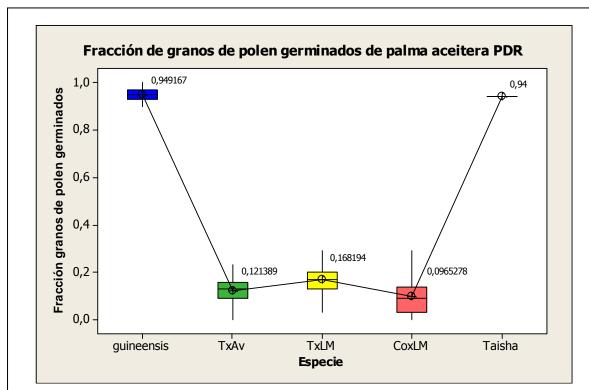


Figura 14. Porcentajes de germinación de las 5 especies estudiadas: *E. guineensis,* Taisha x Avros, Taisha x La Mé, Coarí x La Mé y *E. oleifera* Taisha (N=360). Las muestras fueron tomadas y analizadas en diciembre de 2014.

En la figura 14, se observan las medias de las 5 especies estudiadas. El porcentaje de germinación de híbridos interespecíficos (OxG) es baja con respecto a los materiales puros. El híbrido Taisha x Avros presentó el 12,14% de germinación, el híbrido Coarí x La Mé mostró 9,65% y Taisha x La Mé expuso

16,82% de germinación (porcentaje más elevado entre los híbridos), frente a una media de 94,92% de germinación de *E. guineensis* y 94% de *E. oleifera*. Esto corrobora los estudios que mencionan que el porcentaje de germinación en materiales híbridos interespecíficos (OxG) es menor al 30% (Torres, 2013; Alvarado *et. al.*, 2000; Hormaza *et. al.*, 2010 pp. 39-77; Sánchez y Romero, 2013). Otra observación que se puede hacer es que la variabilidad de los datos dentro de cada grupo de híbridos (OxG) es alta 0,74 de desviación estándar, a diferencia de especies puras donde no solo los porcentajes de germinación son mayores al 80% (Alvarado *et. al.*, 2000; Corley y Tinker, 2009; Hormaza *et. al.*, 2010, pp. 39-77) sino que la variabilidad es pequeña, con una desviación estándar de 0,025 para *E. guineensis* y de 0 para *E. oleifera*.

La variabilidad de las medias del porcentaje de germinación en híbridos interespecíficos (OxG) puede deberse a muchos factores; entre esos, podría mencionarse, el bajo número de muestras, las condiciones climáticas en el momento de antesis, así como la temperatura, humedad, presión parcial de oxígeno y composición atmosférica (Sánchez y Romero, 2013). La formación del polen fértil también depende de las características genéticas: la morfología, la viabilidad y la capacidad germinativa (Sánchez y Romero, 2013).

La baja fertilidad o en ocasiones esterilidad de los híbridos interespecíficos se debe de manera general a la segregación de los cromosomas al azar en la anafase I (fase del proceso de división celular), que originan gametos cromosómicamente desequilibrados y muy probablemente disfuncionales (Lacadena, 1996). Sin embargo, cabe recalcar que en la naturaleza se forman híbridos interespecíficos con comportamientos meióticos muy regulares cuando tienen una afinidad evolutiva (Lacadena, 1996). Esto quiere decir que posiblemente los parentales del híbrido en cuestión comparten una especie ancestral común. Teóricamente, al formarse el alopoliploide de un híbrido su constitución cromosómica le permite producir gametos cromosómicamente

equilibrados (Lacadena, 1996) que pueden ser viables y en consecuencia ser fértiles.

El polen utilizado es de *E. guineensis*, que por la facilidad de obtención por la producción de gran cantidad de polen por inflorescencia (cada inflorescencia masculina puede producir hasta 40 g. de polen) y por su alto porcentaje de germinación (80%) (Alvarado *et. al.*, 2000; Corley y Tinker, 2009; Hormaza *et. al.*, 2010, pp. 39-77). El costo de esta labor adicional encarece el cultivo de estas plantaciones, pero la resistencia a enfermedades letales como la PC que tienen los híbridos y una mayor cantidad de racimos en edad productiva, hace que el cultivo de híbridos interespecíficos sea rentable y foco de estudio.

## 5.2 Ensayo de polinización asistida y "fruit set"

El análisis de los resultados del "fruit set" se dividió en dos partes: el análisis del porcentaje de frutos normales que conforman el racimo, debido a que este tipo de frutos aportan en la formación de una mayor cantidad de aceite, y su tamaño es mayor al del resto de frutos (Hormaza et. al., 2010, pp. 39-77). Y por otra parte, se realizó el análisis del porcentaje de frutos partenocárpicos que conforman el racimo. Estos dos tipos de frutos son los que aportan aceite (Corley y Tinker, 2009, pp. 480) y desde un punto de vista agroindustrial son muy importantes en el procesamiento de la materia prima. En cambio, los frutos blancos y vanos no aportan en la producción de aceite.

Los datos obtenidos para realizar este ensayo cumplen con los con los supuestos o las pruebas de hipótesis en cuanto a normalidad, homogeneidad de varianza e independencia de los residuos (anexo 3, 4 y 5).

# 5.2.1.1 Determinación del porcentaje de frutos normales en la conformación del racimo.

Los resultados del ANOVA de 2 factores del ensayo de porcentaje de frutos normales se aprecian en la tabla 9, donde el valor de –p es 0 y se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa la cual es que al menos uno de los tratamientos definidos por el aporte de polen de los progenitores masculinos sobre el porcentaje en peso de los frutos normales, es significativamente distinto estadísticamente.

Tabla 9. ANOVA del porcentaje de frutos normales del fruit set.

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Razón F	Valor –p
Progenitora femenina	2	0,31532	0,157661	13,2	0,00
Padre	3	0,45384	0,151279	12,67	0,00
Error	30	0,35828	0,011943		
Total	35	1,12744			

Para la comparación de las medias obtenidas entre los tratamientos, con el tratamiento de referencia (*E. guineensis*) se utilizó la prueba de Dunnett, cuyos resultados se encuentran en la tabla 10. En estos resultados se muestra que los 3 tratamientos son significativamente distintos con respecto al tratamiento de referencia.

Tabla 10. Prueba de Dunnett para el porcentaje de frutos normales en racimo

Padre	N	Media	Agrupación*
E. guineensis	9	0,449424	А
Coarí x La Mé	9	0,255301	В
Taisha x La Mé	9	0,200148	С
Taisha x Avros	9	0,154936	D

Nota: Las medias no etiquetadas con la letra A son significativamente diferentes de la media con respecto al nivel de llenado de frutos normales del tratamiento de referencia (*E. guineensis*).

El estudio realizado por Chávez (2014) demuestra que el porcentaje de germinación del polen utilizado no es estadísticamente significante sobre el "fruit set" y sobre el potencial de extracción de aceite de un racimo polinizado E. guineensis. Esta investigación utilizó porcentajes de germinación del 75, 50 y 25% para polinizaciones asistidas en híbridos interespecíficos (OxG). Contrariamente, la investigación de Ochoa et. al. (2013), establece que el origen genético de los progenitores masculinos, influye directamente en el porcentaje de frutos normales formados en los racimos. Estos resultados concuerdan más con los resultados obtenidos en el presente trabajo, puesto que todos los resultados fueron designados como diferentes al tratamiento con polinización con E. quineensis. Igualmente, otra investigación realizada por Ochoa et. al. (2013), menciona que el porcentaje de frutos normales en racimos polinizados con polen de E. guineensis se ve influenciado por la dosis de polen que se utilice: a dosis mayores de polen el número de frutos normales aumenta y el número de flores no polinizadas y frutos abortados disminuye. Esto quiere decir que se lograría mayor cuajado de frutos debía a una mayor probabilidad de contacto del polen en el estigma.

La dosis de polen de materiales híbridos OxG utilizada en este ensayo es un parámetro que puede influir en el porcentaje de frutos normales del fruit set. Si se analiza el ensayo de Ochoa *et. al.* (2013), donde se utilizó distintas dosis de polen

(0,001, 0,01, 0,1, 0,2 y 0,5 gramos de polen) *E. guineensis* para polinizar híbridos (OxG), se podría plantear aumentar la dosis de polen híbrido OxG y se esperaría una formación mayor de frutos normales en futuros ensayos. Hay que considerar que, el costo de polinización asistida aumentaría en comparación con una polinización con polen de *E. guineensis*, debido al personal necesario para aislar las inflorescencias masculinas y procesar el polen. En efecto, el costo del polen *E. guineensis* es de \$80 dólares americanos por kilogramo (Tito, 2014) y para lograr este peso se necesitarían en promedio 35 inflorescencias masculinas, mientras que para obtener el mismo kilogramo de polen híbrido se necesitarían en promedio 100 inflorescencias masculinas. Adicionalmente, tanto Chávez (2014) como Ochoa *et. al.* (2013) concuerdan en que la dosis y el porcentaje de germinación no influyen directamente en el potencial de extracción de aceite de los racimos, pero a mayor número de flores polinizadas, mayor peso de racimo y mayor cantidad de aceite podría ser extraído de los racimos.

Los resultados de este ensayo, analizados con la prueba de Dunnett, muestran que ninguno de los tratamientos probados es estadísticamente similar al tratamiento de referencia que es el que utiliza como fuente de polen a *E. guineensis*. Los racimos polinizados con el tratamiento de referencia tienen una media del 44,94% de frutos normales en racimo, mientras que el tratamiento del híbrido Coarí x La Mé tiene la media más alta del grupo de híbridos, que es de 25,53% de frutos normales en racimo. Cabe considerar que este híbrido presentó el porcentaje de germinación del polen más bajo del ensayo de porcentaje de germinación (9,65±0,07%). Esto demuestra que cuando se utiliza como fuente de polen a híbridos (OxG) el porcentaje de germinación no influye directamente en la formación de frutos normales, al igual que lo demuestran Chávez (2014) y Ochoa *et. al.* (2013) con polen *E. guineensis*. Por tanto, algo que se deberá evaluar a futuro es la formación de frutos normales en racimo utilizando una mayor dosis de polen del híbrido Coarí x La Mé, así como con el resto de híbridos utilizados.

El origen genético de las progenitoras femeninas, fue el segundo factor del ANOVA realizado en este trabajo. Este análisis muestra diferencias significativas, su valor p es menor a 0,05 y esto significa que la progenitora femenina como progenitora también influye en el porcentaje de formación de los frutos normales en el racimo. Como se aprecia en la figura 15, la progenitora femenina que mayor porcentaje en peso de frutos normales en racimo logró, sin importar el origen genético del polen, es Taisha x La Mé caso de esta progenitora, los porcentajes de frutos normales obtenidos en el tratamiento de referencia fueron de 63,33% usando polen *E. guineensis*, 26,14% utilizando Taisha x Avros, 30,45% con polen de Taisha x La Mé y finalmente 37,60%. Usando con Coarí x La Mé.

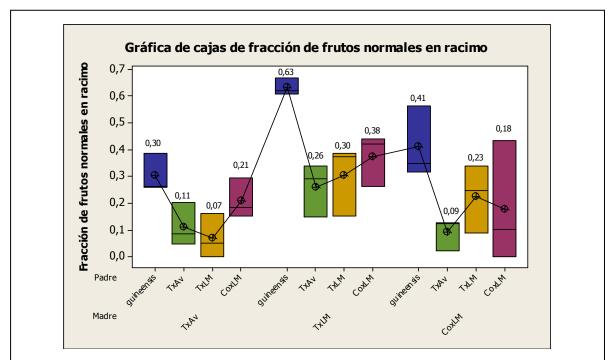


Figura 15. Fracción de frutos normales en racimo basado en materiales femeninos y polen usado N=36. PDR (2015).

La figura 15 muestra la fracción de frutos normales en racimo. En color azul se observa el tratamiento de referencia que utiliza polen de *E. guineensis* y se observa que todas las progenitoras femeninas de este bloque presentan el mayor

porcentaje de frutos normales. En color verde se observa el tratamiento con polen Taisha x Avros y en este caso, la progenitora femenina Taisha x La Mé obtiene el mayor porcentaje de frutos normales (26,14±0,1%). El tratamiento con polen Taisha x La Mé está representado por el color amarillo y muestra que con la progenitora femenina Taisha x La Mé se obtiene el mayor porcentaje de frutos normales (30,37±0,13%). Por último, el polen de Coarí x La Mé que se ve con el color rosa, la progenitora femenina Taisha x La Mé fue la que tuvo el 37,6±0,1% de frutos normales en racimo; el mayor porcentaje de frutos normales entre todos los híbridos estudiados. Cabe mencionar que el porcentaje de frutos normales de Coarí x La Mé (37,6±0,1% del racimo) está dentro del rango esperado para una extracción industrial eficiente.

El origen de las progenitoras femeninas es un aspecto que puede influir en los resultados. La progenitora femenina Taisha x La Mé viene de un cruce de *oleifera* como progenitora femenina y una *guineensis* tenera como padre, mientras que las otras dos progenitoras femeninas (Taisha x Avros y Coarí x La Mé) vienen de un cruce de *oleifera* como progenitora femenina y un *guineensis* pisífera como padre.

En la producción industrial, los frutos tenera mejoran el rendimiento y proceso de extracción de aceite. En efecto, al poseer un cuesco delgado, forman una torta (pasta de meristemos) de la que se puede extraer más aceite; en cambio cuando un fruto no posee cuesco, no hay formación de torta sino de una masa a la que no se le puede extraer el aceite (Barba *et. al.*, 2008). Es por eso que la proporción de frutos normales (con cuesco y almendra) y partenocárpicos (sin cuesco) debe tener una igual proporción para un buen rendimiento de extracción de aceite (entre el 35 y 40% del peso total del racimo). El 20 al 30% restante del total del racimo, está conformado por los frutos blancos y vanos (no contienen aceite) e impurezas (Barba *et. al.*, 2008).

# 5.2.1.2 Determinación del porcentaje de frutos partenocárpicos en la conformación de racimos.

Los resultados del análisis del porcentaje de frutos partenocárpicos formados en el racimo se muestran en la tabla 11. El ANOVA multivariante realizado en este ensayo muestra que se acepta la hipótesis nula, es decir que las medias de los tratamientos y de los bloques son estadísticamente semejantes. Con un intervalo de confianza del 95% (valor - p=0,554 para el factor de bloque y de 0,075 para el factor de tratamientos) se obtuvo como resultado que no hay una diferencia estadísticamente significativa tanto en el factor de tratamientos o padres, así como en el factor de bloque o progenitoras femeninas sobre el porcentaje en peso de frutos partenocárpicos en racimo. Por tanto, se descarta la posibilidad de una influencia tanto del origen del polen como las características de las progenitoras femeninas sobre el porcentaje de frutos partenocárpicos formados en los racimos.

Tabla 11. ANOVA de dos factores sobre el porcentaje de frutos partenocárpicos en racimo.

Fuente	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F	Valor -p
Progenitora femenina	2	0,010591	0,0052955	0,60	0,554
Padre	3	0,067076	0,0223586	2,54	0,075
Error	30	0,263709	0,0087903		
Total	35	0,341376			

Los frutos partenocárpicos, externamente en apariencia, no se diferencian de los frutos normales, sin embargo son producto del desarrollo del ovario que no fue fecundado (Hormaza et. al., 2010). Algunos frutos partenocárpicos son menos pigmentados que los frutos normales y de forma más alargada que los normales (Corley y Tinker, 2009) pero estas diferencias no son muy evidentes. Según

Ochoa et. al. (2013), cuando se incrementa la dosis de polen de *E. guineensis* en la polinización de palmas híbridas (OxG) jóvenes, este aspecto no influye en la variación del porcentaje de frutos partenocárpicos. Esto podría sugerir una tendencia de partenocarpia totalmente independiente de factores como la dosis de polen, porcentaje de germinación y origen genético del polen utilizado para polinizar un racimo.

En la industrialización, específicamente en el proceso de extracción de aceite crudo de palma, un porcentaje de frutos normales muy similar al de frutos partenocárpicos es ideal para una buena extracción de aceite crudo de palma en planta (Corley y Tinker, 2009; Barba *et. al.*, 2008), esto evitaría problemas en el prensado de los frutos como se expuso anteriormente. Generalmente los racimos de *E. guineensis* no forman frutos partenocárpicos en alta cantidad, su formación no supera el 15% de la conformación del racimo (Barba *et. al.*, 2008). En la figura 16 se aprecia que los híbridos forman frutos partenocárpicos en un rango entre el 9 y el 30% del total de la conformación del racimo y estadísticamente no son significativamente distintos entre el tratamiento de referencia y el grupo de híbridos.

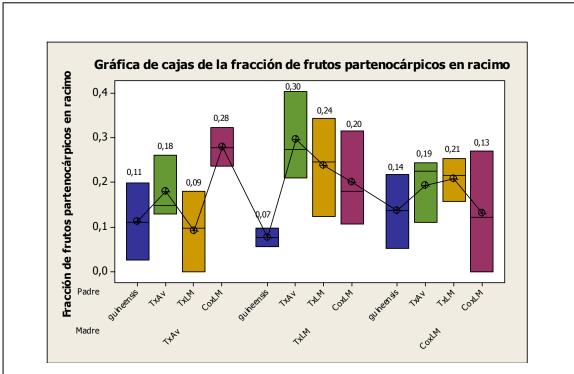


Figura 16. Diagrama de cajas de la fracción de frutos partenocárpicos en racimo.

La falta de diferencia estadística significativa en el porcentaje de frutos partenocárpicos en racimo entre los bloques y los tratamientos, y con una desviación estándar alta (0,11) podría deberse a la cantidad pequeña de unidades muestrales (3 racimos por tratamiento). Un número mayor de unidades asegurará la confiabilidad de estos resultados.

Durante el "fruit set" de los racimos estudiados se evidenció la formación de un alto número de frutos que desarrollaron cuesco pero no almendra como se ve en la figura 17. Según Corley y Tinker (2009) se clasifican como frutos partenocárpicos yse podría suponer que es una característica altamente heredable en racimos que fueron polinizados con polen de híbridos interespecíficos (OxG), como lo menciona Corley y Tinker (2009) es un rasgo común en las *oleiferas*.



Figura 17. Frutos partenocárpicos que tienen cuesco y no almendra.

## 6 CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos de la evaluación de la viabilidad del polen, utilizando el método descrito por Turner y Gilbanks (1974), mostraron que las especies puras *E. guineensis* y *E. oleifera* tienen un porcentaje de germinación mayor al 90%, mientras que los híbridos interespecíficos (OxG) estudiados tienen un porcentaje de germinación menor al 20%.

La evaluación de la compatibilidad del polen de los híbridos interespecíficos (OxG) estudiados mostró que el híbrido Taisha x La Mé fue el que con un 16,82±0,06% de germinación de polen fue el mayor dentro de este grupo de híbridos. La morfología de los granos de polen de los híbridos Taisha x Avros y Taisha x La Mé tienen una forma elíptica muy semejante a la de Taisha y su color también se asemeja. El híbrido Coarí x La Mé tiene una forma triangular, muy semejante a la de *E. guineensis* al igual que su color; el porcentaje de germinación más bajo (9,65±0,07%) fue de este híbrido. Sin embargo, los resultados demuestran que encontrar alternativas para disminuir el rubro de polinización asistida utilizando nuevas fuentes de polen beneficiaría a los productores de palma aceitera. Esto sumado a los problemas fitosanitarios que está presentando actualmente la fuente de polen tradicional *E. guineensis* e igualmente por el alto costo del polen de esta especie.

Los resultados del ensayo del porcentaje en peso de frutos normales en el racimo concluyen que el híbrido Taisha x La Mé posiblemente al provenir de un cruce de *oleifera* con una *guineensis* tenera demostró tener un porcentaje de germinación mayor, además de una aparente mejor interacción con todos los tratamientos utilizados (fuentes de polen): Taisha x Avros tuvo un 26,14±0,1%, Taisha x La Mé con un 30,47±0,13% y con Coarí x La Mé con 37,6±0,1% en peso de frutos normales en racimo, comparada a la interacción de los otros híbridos, que actuaron como progenitoras femeninas y que provienen de cruces de *oleiferas* por

pisíferas. Esto es importante porque al utilizar polen híbrido (OxG) en una polinización asistida con progenitoras femeninas con un origen genético similar al Taisha x La Mé (progenitora femenina *oleifera* y padre tenera) se puede esperar racimos con proporciones iguales de frutos normales y partenocárpicos.

La formación de frutos normales en un racimo está influenciada directamente por el origen genético del polen utilizado para la formación del racimo y de la progenitora femenina. El polen de *E. guineensis* fue el que mayores porcentajes de frutos normales en racimo obtuvo en todas las progenitoras femeninas.

La progenitora femenina Taisha x La Mé obtuvo los más altos porcentajes de formación de frutos tanto normales como partenocárpicos. El polen Coarí x La Mé y con Taisha x La Mé como progenitora femenina fue el que mayor porcentaje de frutos normales (37,6±0,1% en peso del racimo); seguido del polen Taisha x La Mé y finalmente Taisha x Avros. Estos cruces reflejan una formación de frutos normales y partenocárpicos en racimo similares a la conformación de los racimos polinizados con polen *E. guineensis*.

Por otra parte, la formación de frutos partenocárpicos no está influenciada por el origen genético del polen, es más, la formación de frutos partenocárpicos con cuesco, es mucho mayor en los racimos formados con polen híbrido que aquellos formados con polen *E. guineensis*. Esta característica es beneficiosa para una extracción de aceite a nivel industrial de estos racimos, ya que durante el proceso de prensado no se tendría problemas por la falta de cuesco, y se podría formar una torta de prensado similar a la que actualmente se obtiene con la polinización de *E. guineensis*.

## 7 RECOMENDACIONES

El ensayo de germinación de polen debería ser replicado ampliando el número de muestras, y así poder generalizar los resultados obtenidos para toda la población de híbridos interespecíficos (OxG) estudiados. Adicionalmente, se debería evaluar el ensayo en condiciones climáticas distintas, debido a que la capacidad germinativa de los granos de polen no solo es influenciada por el factor genético sino también por el factor ambiental (Sánchez y Romero, 2013).

Es muy importante utilizar espacios diferentes para procesar el polen de cada una de las especies estudiadas para evitar una contaminación cruzada de polen, esto reducirá la variación del error experimental. Adicionalmente, controlar la temperatura de almacenamiento del polen de los híbridos interespecíficos (OxG) se evidenció que es mucho más sensible a la variación de temperatura durante su almacenamiento y posterior procesamiento.

Los resultados del ensayo de porcentaje en peso de frutos normales y partenocárpicos en racimo pueden ser tomados como una tendencia para plantear un nuevo ensayo, incrementando la dosis de polen utilizada, y seleccionando polen con alto porcentaje de germinación. Esto podría mejorar el llenado de los racimos, reduciendo el número de flores no polinizadas. El análisis del potencial de extracción de aceite es un parámetro importante que se debería analizar en los racimos polinizados con polen de híbridos interespecíficos (OxG). Este aspecto orientado a un mejoramiento de los parentales utilizados como potenciales fuentes de polen.

Es importante mencionar igualmente que se debe considerar ampliar las especies de híbridos interespecíficos estudiadas, seleccionando materiales con altos porcentajes de extracción de aceite en racimo, como progenitores femeninos.

Se recomienda finalmente evaluar cuantitativamente la presencia de frutos partenocárpicos con cuesco y sin almendra en racimos polinizados con polen híbrido (OxG) para mejorar los procesos de extracción industrial de aceite de estos racimos polinizados con polen híbrido (OxG).

## REFERENCIAS

- Alvarado, A., Bulgarelli, J., Moya, B. (2000). Germinación del polen en poblaciones derivadas de un híbrido entre *Elaeis guineensis* Jacq. y *E. oleifera* HBK, Cortes. ASD Costa Rica.
- Alvarado, A. (2013). El híbrido OxG Amazon: una alternativa para regiones afectadas por Pudrición del cogollo en palma de aceite. Revista PALMA Vol. 34 No. Especial, Tomo I.
- ANCUPA (2014). Investigación. Recuperado el 22 de mayo de 2014 de: http://www.ancupa.com/index.php/2013-03-11-21-51-51/investigación
- Arnaud, F. (1979). Polinización Asistida en las Plantaciones de Palma Aceitera. Francia. Oléagineux.
- Barba, J., Baquero, Y. (2012). Híbridos OxG obtenidos a partir de oleíferas Taisha
  Palmar del Rio (PDR) Ecuador Variedad PDR (Taisha x Avros).
  Ecuador: Palmar del Rio.
- Barba, J., Orellana, F., Vallejo, G., Manzano, R. (2008). Evaluación agronómica de híbridos de palma de aceite OxG (*Elaeis oleifera x Elaeis guineensis*) provenientes de diversos orígenes americanos y su tolerancia a la pudrición del cogollo. Ecuador: Palmar del Rio.
- Bernal, F. (2001). El cultivo de la palma de aceite y su beneficio. Bogotá, Colombia. Fedepalma.
- Burgos, R. (2014). Buenas prácticas para el manejo de la pudrición del cogollo (BPM-PC). Revista Palma.
- Brewbaker J., Kwack B. (1963). The essential role of Calcium Ion in pollen germination and pollen tube growth. American Journal of Botany 50:859-865.
- Corley, R., Tinker, P. (2009). *La palma de aceite*. Cuarta edición. Bogotá, Colombia; Fedepalma.
- Chávez, G. (2014). Evaluación del porcentaje de geminabilidad y determinación de diferentes dosis de polen en inflorescencias de híbridos

- (*Elaeis oleifera* H.B.K. Cortes x *Elaeis guineensis* Jacq.). Cenipalma. XII REUNIÓN TÉCNICA NACIONAL DE PALMA DE ACEITE. Colombia.
- Dransfield, J.,Uhl, N., Asmussen, C. Baker, W., Harley, M., Lewis, C. (2008). *Genera palmarum*: The evolution and classification of palms. Kew Publishing (Reino Unido).
- Departamento de agricultura de Estados Unidos. (2015). *Palm Oil Production by Country in 1000 MT*.Recuperado el 11de marzo de 2015 de: http://www.indexmundi.com/agriculture/?commodity=palmoil&graph=product ion
- Demeke, T., Hughes, H. (1993). Germination and storage of pollen of *Phytolaccado decandra* L. Ann Bot.
- Fairhust T., Härdter R. (2012). Palma de Aceite: Manejo para Rendimientos Altos y Sostenibles. Primera Edición en Español.
- Frankel, R, Galun, E. (1977). Pollination Mechanisms, Reproduction and Plant Breeding. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.New York, USA.
- Franqueville, H. (2001). La Pudrición del Cogollo de la Palma de Aceite en América Latina. Revisión Preliminar de Hechos y Logros Alcanzados. CIRAD
- Franqueville, H. (2003). Oil palm bud rot in Latin America. Cambrige University Press. United Kingdom. Expl Agric.
- Fedapal (2015). Informe económico. Quito-Ecuador. Fedapal.
- Federación Nacional de Cultivadores de Palma de Aceite (Fedepalma).(2010). Estadísticas anuales. Bogotá Colombia. Fedepalma. Gutiérrez, H., De La Vara, R. (2008). Análisis y diseño de experimentos. México: McGraw-Hill.
- Hauser, E., Morrison, J. (1964). The cytochemical reduction of nitroblue tetrazolium as an index of pollen viability. American Journal of Botany.
- Hormaza, P., Forero, D., Ruiz, R., Romero, H. (2010). Fenología de la palma de aceite africana (*Elaeis guineensis* Jacq.) y el híbrido interespecífico (*Elaeis oleifera* (Kunt) Cortes x *Elaeis guineensis* Jacq.). Bogotá D.C., Colombia: Centro de investigación en palma de aceite (Cenipalma).

- Hormaza, P., Mesa, E., Romero, H. (2012). Phenology of the oil palm interspecific hybrid *Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis*. Scientia Agricola. v.69, n.4, July/August 2012.
- Huamán, Z. (1995). Técnicas citológicas para determinar el número cromosómico y la fertilidad de las papas. Guía de Investigación CIP IO. Centro Internacional de la Papa.
- Instituto Interamericano de Cooperación para la agricultura (IICA). (1983). *La palma africana. Nicaragua*. Estación Experimental "EL RECREO".
- Kearns, C., Inouye, D. (1993). Techniques for pollination biologists. University Press of Colorado.
- Lacadena, J. (1996). Citogenética. Madrid España. Editorial Complutense S.A.
- La Porta, N.,Roselli, G. (1991). Relationship between pollen germination in vitro and fluorochromatic reaction in cherry clone F12/1 (Prunusavium L.) and some of its mutants. The Journal of Horticultural Science.
- León Brito, O. C. (2005). Perspectivas del Mejoramiento Genético de la Palma Aceitera en Venezuela. Revista Digital CENIAP HOY Número 9, septiembre-diciembre 2005. ISSN: 1690-4117, Depósito Legal: 200302AR1449, Maracay, Aragua, Venezuela. Recuperado el 24 de junio de 2014 de: www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n9/arti/leon\_o/arti/leon\_o.htm
- López, J. (2014). Caracterización fisiológica y morfológica de palmas de aceite

  Taisha (*Elaeis oleífera* H.B.K cortés) y sus híbridos (*Elaeis oleífera* hbk cortés
  - Elaeis guineensis Jacq.) en la región amazónica del Ecuador. Bogotá Colombia: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de ciencias agrarias.
- Lym, D. (1991). Evaluación en la madurez del polen y receptividad estigmática en tres líneas hembras de pimentón (Capsicum annuum). Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de Agronomía.

- MAGAP (2014). El sector palmicultor se compromete a mejorar productividad y sustituir importación de aceites y grasas. Recuperado el 14 de agosto de 2014 de: http://www.industrias.gob.ec/bp-38-el-sector-palmicultor-se-compromete-a-mejorar-productividad-y-sustituir-importacion-de-aceites-y-grasas/
- Martínez, G. (2008). Identificación temprana y manejo integrado de la enfermedad Pudrición del Cogollo. Revista Palmas. Vol. 30 No. 2, 2009.
- Martins, L., Miranda, I., Nunes, C. (2009). MORFOLOGIA POLÍNICA DE POPULAÇÕES AMAZÔNICAS DE *Elaeis oleifera*. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia INPA.
- Muñoz, A. (2009). Palma Africana en el Ecuador. Quito: Agrytec.
- Ochoa, I., Cayón, G., Méndez, E. (2013). Efecto de la dosis de polen y edad del cultivo sobre el cuajamiento de frutos en el híbrido interespecífico UNIPALMA (OxG) (Elaeis oleifera x Elaeis guineensis). Cenipalma. XI REUNIÓN TÉCNICA NACIONAL DE PALMA DE ACEITE. Colombia.
- Ortiz, R. (1994). *El cultivo de la PALMA ACEITERA*. San José Costa Rica. Universidad estatal a distancia.
- Padilla, J. (2007). Diseño de un plan de negocios modelo para una explotación promedio de palma africana para biodiesel en Honduras. Honduras. Universidad Zamorano.
- Preciado, C., Bastidas, S., Peña, E., Betancourth, C., Reyes, R. (2011). Predicción y control de la cosecha en el híbrido interespecífico *Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis* en la zona palmera occidental de Colombia. II. Determinación del ciclo de cosecha para obtener racimos con alto contenido de aceite. Colombia. Revista Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria (2011).
- Raygada, R. (2005). Manual técnico para el cultivo de palma aceitera (Primera ed.). Lima, Perú: Comisión Nacional para el desarrollo y vida sin drogas (De vida): proyecto de desarrollo alternativo Tocache- Uchiza (Prodatu).

- Ronquillo, M. (2012). Etiología de la pudrición del cogollo de la palma aceitera (*Elaeis guineensis Jacq.*) en el Ecuador. Puerto Rico.
- Sarria G, Torres G, Aya H, Ariza J, Rodríguez J, Vélez D, Varón F, Martínez G. (2008). Microorganismos asociados a la pudrición del cogollo de la palma de Aceite y su Inoculación en Palmas de Vivero. Palmas 29 (3).
- Sáenz, L. (2006). IICA guía técnica de cultivo de Palma aceitera. Obtenido el 23 de febrero de 2015 de: http://www.galeon.com/subproductospalma/guiapalma.pdf
- Sánchez, L., Romero, H. (2013). Viabilidad y morfología del polen de diferentes materiales de palma de aceite. Ceniavances, 171. Cenipalma
- Singh, R. (1993). Plant cytogenetic. Boca Raton CRC. USA.
- Tito, P. (2014). Plan Mantenimiento PDR. Coca.
- Torres, E. (2013). Avances en el desarrollo industrial del híbrido OxG en Palmeras del Ecuador. Ecuador. Revista Palmas Vol. 34 No. Especial, Tomo I.
- Turner, P., Gilbanks, R. (1974). Oil Palm Cultivation and Management. Incorporated Society of Planters.

## **ANEXOS**

Anexo 1. Base de datos del ensayo 1 del porcentaje de germinación de los granos de polen.

Origen de la muestra	Fecha de cosecha	Muestra	Repetición	Campo visual	% de germinación
				1	95
			, [	2	97
			1	3	92
				4	90
				1	99
Lote 11C2	10/12/2014	Gui 1	2	2	100
/ 3-5	10/12/2014	Gui i	_	3	96
				4	96
				1	97
			3	2	95
			<b>3</b>	3	98
				4	99
				1	94
			1	2	95
	12/12/2014		' [	3	95
		Gui 2		4	97
			2	1	92
Lote 11C2				2	93
/ 2-8				3	91
				4	95
				1	99
				2	94
			3	3	96
				4	96
				1	97
			1	2	94
			' [	3	92
				4	100
				1	91
Lote 11C2	10/12/2014	Cui 2	2	2	93
/ 2-9	10/12/2014	Gui 3	_	3	97
				4	95
				1	96
			3	2	97
			3	3	95
				4	93

		1			00
				1	99
			1	2	98
				3	94
				4	93
				1	94
Lote 11C2	11/12/2014	Gui 4	2	2	95
/ 1-13	11/12/2011		_	3	93
				4	94
				1	96
			3	2	99
			3	3	93
				4	92
				1	91
			4	2	93
			1	3	90
				4	99
Lote 11C2	09/12/2014		2	1	94
		Gui 5		2	93
/ 4-1				3	92
				4	96
			3	1	92
				2	95
				3	97
				4	95
				1	94
				2	93
			1	3	92
				4	98
				1	94
Lote 11C2			_	2	95
/ 2-17	12/12/2014	Gui 6	2	3	96
				4	99
				1	93
				2	92
			3	3	96
				4	94
				1	11
Lote 11D2				2	13
/ 66-6	10/12/2014	TxAv 1	1	3	15
, 55 5				4	18
				4	10

		1		,	
				1	14
			2	2	16
			2	3	15
				4	9
				1	7
			3	2	9
			3	3	13
				4	14
				1	17
			4	2	18
			1	3	14
				4	6
				1	10
Lote 11D2	00/40/0044			2	3
/ 69-18	08/12/2014	TxAv2	2	3	7
				4	11
			3	1	13
				2	15
				3	7
				4	9
			1	1	20
				2	11
				3	13
				4	7
			2	1	15
Lote 11D2				2	2
/ 63-10	09/12/2014	TxAv3		3	9
				4	0
				1	13
				2	12
			3	3	16
				4	10
				1	20
				2	12
			1	3	17
Lote 11D2				4	13
/ 66-18	13/12/2014	TxAv 4		1	18
, 55 16				2	16
			2	3	11
			-		
				4	10

					0.4
				1	21
			3	2	18
				3	3
				4	15
				1	37
			1	2	14
				3	10
				4	9
				1	23
Lote 11D2	12/12/2014	TxAv 5	2	2	13
/ 63-2	12/12/2014	I AAV 3	2	3	16
				4	14
				1	19
			2	2	19
			3	3	13
				4	11
	14/12/2014			1	0
		TxAv 6		2	4
			1	3	9
				4	12
			2	1	3
Lote 11D2				2	7
/ 59-2				3	17
				4	10
				1	3
				2	2
			3	3	9
				4	14
				1	20
				2	16
			1	3	14
				4	17
				1	18
Loto 100 /				2	15
Lote 1C2 / 13-3	15/12/2014	TxLM 1	2	3	17
				4	11
				1	13
				2	12
			3		
				3	15
				4	16

		T		1	
				1	21
			1	2	19
			•	3	17
				4	18
				1	15
Lote 1C2 /	13/12/2014	TxLM2	2	2	20
17-20	13/12/2014	IALIVIZ	2	3	11
				4	17
				1	18
			2	2	17
			3	3	16
				4	13
				1	20
			_	2	25
			1	3	13
				4	13
	10/12/2014		2	1	13
Lote 1C2 / 15-7		TxLM3		2	37
				3	21
				4	12
			3	1	27
				2	16
				3	14
				4	19
			1	1	11
				2	12
				3	13
				4	7
				1	9
Lote 1C2 /	00/40/22:		_	2	10
15-18	09/12/2014	TxLM4	2	3	15
				4	17
				1	11
			_	2	5
			3	3	2
				4	3
				1	25
Lote 1C2 /				2	22
13-12	13/12/2014	TxLM5	1	3	27
				4	19
				7	13

				1	
				1	18
			2	2	24
		_	-	3	22
				4	21
				1	20
			3	2	19
			3	3	23
				4	21
				1	18
			4	2	11
			1	3	29
				4	25
				1	23
Lote 1C2 /				2	17
15-12	11/12/2014	TxLM6	2	3	16
				4	14
				1	15
			3	2	12
				3	19
				4	20
			1	1	1
				2	3
				3	9
				4	0
			2	1	10
Lote 12D1				2	3
/ 118-23	10/12/2014	CoxLM 1		3	5
				4	7
				1	2
				2	9
			3	3	5
				4	1
				1	24
				2	23
			1	3	21
L oto 40D4				4	20
Lote 12D1 / 118-20	15/12/2014	CoxLM 2		1	19
/ 110-20				2	
			2		25
				3	23
				4	29

		1		1	
				1	11
			3	2	17
				3	19
				4	15
				1	11
			1	2	14
				3	13
				4	9
				1	7
Lote 12D1	14/12/2014	CoxLM 3	2	2	8
/ 107-22	14/12/2014	COXLIVI 3	2	3	11
				4	6
				1	9
			•	2	10
			3	3	15
				4	12
	11/12/2014		1	1	1
				2	4
		CoxLM 4		3	2
				4	6
			2	1	3
Lote 12D1				2	4
/ 116-24				3	2
				4	9
			3	1	5
				2	4
				3	7
				4	5
				1	16
				2	11
			1	3	15
				4	2
				1	21
Lote 12D1	_			2	34
/ 113-20	08/12/2014	Cox LM 5	2	3	15
				4	9
				1	10
				2	12
			3	3	2
				4	1
				4	1

				1	3
			1	2	2
			•	3	0
				4	2
				1	10
Lote 12D1	15/12/2014	CoxLM 6	2	2	11
/ 120-22				3	2
				4	9
				1	7
			3	2	6
			3	3	8
				4	9

Anexo 2. Base de datos del segundo ensayo

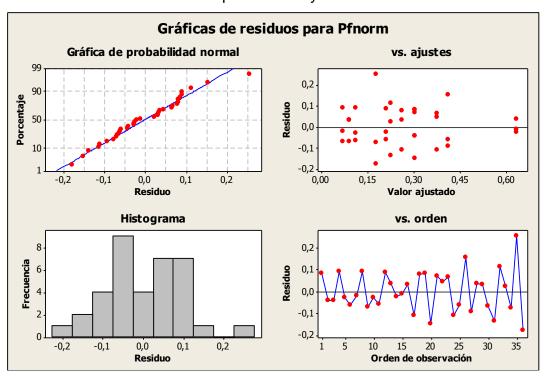
Progenitor a femenina	Padre	Lote	Origen	PESO INICIAL	Raquis (g)	Espigas
TxAv	Gui		68-24	13.160	1.220	169
TxAv	Gui		68-19	14.640	1.520	131
TxAv	Gui		67-7	8.320	860	120
TxAv	TxAv		61-11	5.180	800	105
TxAv	TxAv		62-4	4.680	760	96
TxAv	TxAv	11D2	59-13	8.900	900	116
TxAv	TxLM	1102	61-3	7.980	1.140	109
TxAv	TxLM		62-11	7.440	1.100	103
TxAv	TxLM		60-14	0	0	0
TxAv	CoxLM		61-5	10.300	860	131
TxAv	CoxLM		62-7	9.220	740	148
TxAv	CoxLM		63-8	10.140	860	108
TxLM	Gui		13-11	8.000	640	75
TxLM	Gui		10-2	9.000	680	81
TxLM	Gui		19-4	7.500	500	137
TxLM	TxAv		2-10	6.340	680	80
TxLM	TxAv		1-14	8.520	760	80
TxLM	TxAv	11D2	4-1	4.880	380	68
TxLM	TxLM	1102	2-18	8.020	800	86
TxLM	TxLM		4-3	5.840	560	92
TxLM	TxLM		3-3	7.840	720	85
TxLM	CoxLM		2-5	6.860	680	78
TxLM	CoxLM		2-18	7.280	640	99
TxLM	CoxLM		2-14	5.820	640	87
CoxLM	Gui		108-5	9.600	880	113
CoxLM	Gui		106-6	14.160	1.440	103
CoxLM	Gui		108-9	9.340	1.140	117
CoxLM	TxAv		112-3	9.700	1.020	131
CoxLM	TxAv		110-3	5.880	980	123
CoxLM	TxAv		110-7	10.680	1.320	121
CoxLM	TxLM	12D1	111-12	10.680	1.100	118
CoxLM	TxLM		117-6	14.120	1.620	121
CoxLM	TxLM		115-3	10.380	1.100	100
CoxLM	CoxLM		115-3	8.280	840	100
CoxLM	CoxLM		115-6	15.020	1.160	138
CoxLM	CoxLM		114-7	0	0	0

Progenitor a femenina	Padre	Peso (g)	Frutos normales	Peso (g)	Frutos partenocárpico s	Peso (g)
TxAv	Gui	3.220	352	4.940	480	340
TxAv	Gui	3.500	466	3.760	619	1.580
TxAv	Gui	1.700	352	2.140	480	1.620
TxAv	TxAv	1.600	123	1.000	189	640
TxAv	TxAv	1.280	44	380	200	660
TxAv	TxAv	1.186	49	400	500	2.140
TxAv	TxLM	2.620	32	380	370	1.360
TxAv	TxLM	1.480	150	1.160	400	700
TxAv	TxLM	0	0	0	0	0
TxAv	CoxLM	1.920	228	1.900	763	2.850
TxAv	CoxLM	2.000	163	1.380	407	2.920
TxAv	CoxLM	1.880	289	2.940	617	2.340
TxLM	Gui	700	568	5.060	180	420
TxLM	Gui	1.220	551	5.320	220	680
TxLM	Gui	760	348	4.440	276	700
TxLM	TxAv	1.220	251	1.840	522	1.320
TxLM	TxAv	1.620	130	1.280	751	3.420
TxLM	TxAv	820	167	1.620	606	1.300
TxLM	TxLM	980	221	2.920	662	1.860
TxLM	TxLM	1.220	107	880	702	1.960
TxLM	TxLM	1.520	406	2.840	360	940
TxLM	CoxLM	1.100	242	2.800	410	1.200
TxLM	CoxLM	1.620	275	3.080	308	740
TxLM	CoxLM	1.000	148	1.480	869	1.760
CoxLM	Gui	2.540	327	3.246	466	2.020
CoxLM	Gui	3.000	960	7.820	308	740
CoxLM	Gui	2.720	350	2.960	642	1.280
CoxLM	TxAv	2.940	180	1.200	1.237	2.320
CoxLM	TxAv	2.420	86	700	306	620
CoxLM	TxAv	2.800	25	240	1.021	2.280
CoxLM	TxLM	2.400	88	920	740	2.620
CoxLM	TxLM	3.260	657	4.620	776	2.140
CoxLM	TxLM	2.020	471	2.500	1.110	2.160
CoxLM	CoxLM	2.000	143	820	1.525	2.160
CoxLM	CoxLM	2.840	450	6.360	777	1.800
CoxLM	CoxLM	0	0	0	0	0

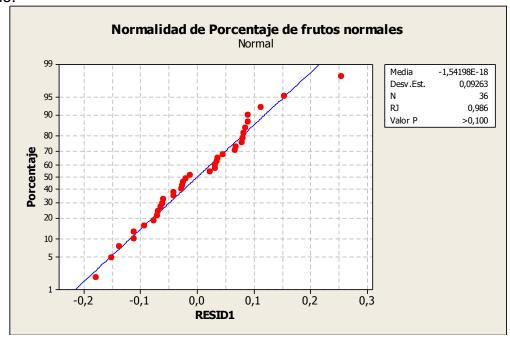
Progenitor a femenina	Padre	Frutos blancos	Peso (g)	Frutos vanos	Peso (g)	Flores no polinizadas
TxAv	Gui	834	1.920	663	700	0
TxAv	Gui	870	2.000	669	1.480	0
TxAv	Gui	834	1.580	0	0	0
TxAv	TxAv	345	160	420	560	0
TxAv	TxAv	70	180	940	1.060	0
TxAv	TxAv	283	1.220	655	1.680	0
TxAv	TxLM	246	620	971	1.120	0
TxAv	TxLM	814	820	170	1.520	0
TxAv	TxLM	0	0	0	0	0
TxAv	CoxLM	1.238	1.990	334	400	0
TxAv	CoxLM	1.004	1.760	546	60	0
TxAv	CoxLM	637	1.600	35	80	0
TxLM	Gui	80	140	511	420	0
TxLM	Gui	92	180	340	480	0
TxLM	Gui	280	560	0	0	0
TxLM	TxAv	511	960	69	100	0
TxLM	TxAv	430	1.200	5	9	0
TxLM	TxAv	363	500	0	0	0
TxLM	TxLM	421	560	300	240	0
TxLM	TxLM	562	920	15	9	0
TxLM	TxLM	729	1.420	0	0	0
TxLM	CoxLM	468	740	6	9	0
TxLM	CoxLM	685	660	0	0	0
TxLM	CoxLM	358	440	101	100	0
CoxLM	Gui	261	180	86	60	0
CoxLM	Gui	484	420	2	10	0
CoxLM	Gui	580	600	98	60	0
CoxLM	TxAv	1.278	1.620	0	0	0
CoxLM	TxAv	274	260	362	340	990
CoxLM	TxAv	1.985	2.580	311	400	0
CoxLM	TxLM	1.030	2.200	403	700	0
CoxLM	TxLM	786	1.460	89	60	0
CoxLM	TxLM	1.676	1.720	0	0	0
CoxLM	CoxLM	1.452	1.640	29	60	0
CoxLM	CoxLM	1.500	1.880	19	60	0
CoxLM	CoxLM	0	0	0	0	0

Progenitora	Padre	Impurezas (g)	Peso del	Diferencia de
femenina			Racimo (g)	peso
TxAv	Gui	460	12.800	360
TxAv	Gui	500	14.340	300
TxAv	Gui	220	8.120	200
TxAv	TxAv	180	4.940	240
TxAv	TxAv	140	4.460	220
TxAv	TxAv	700	8.226	674
TxAv	TxLM	340	7.580	400
TxAv	TxLM	420	7.200	240
TxAv	TxLM	0	0	0
TxAv	CoxLM	360	10.280	20
TxAv	CoxLM	220	9.080	140
TxAv	CoxLM	200	9.900	240
TxLM	Gui	180	7.560	440
TxLM	Gui	180	8.740	260
TxLM	Gui	180	7.140	360
TxLM	TxAv	160	6.280	60
TxLM	TxAv	200	8.489	31
TxLM	TxAv	140	4.760	120
TxLM	TxLM	200	7.560	460
TxLM	TxLM	160	5.709	131
TxLM	TxLM	160	7.600	240
TxLM	CoxLM	120	6.649	211
TxLM	CoxLM	220	6.960	320
TxLM	CoxLM	180	5.600	220
CoxLM	Gui	360	9.286	314
CoxLM	Gui	400	13.830	330
CoxLM	Gui	540	9.300	40
CoxLM	TxAv	400	9.500	200
CoxLM	TxAv	320	5.640	240
CoxLM	TxAv	540	10.160	520
CoxLM	TxLM	420	10.360	320
CoxLM	TxLM	480	13.640	480
CoxLM	TxLM	560	10.060	320
CoxLM	CoxLM	460 7.980		300
CoxLM	CoxLM	580	14.680	340
CoxLM	CoxLM	0	0	0

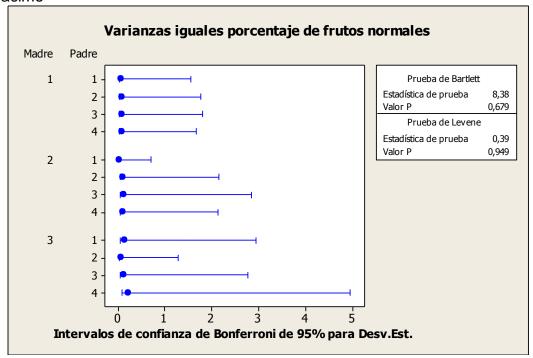
Anexo 3. Gráficas de los residuos para el ensayo 2 Frutos Normales en racimo.



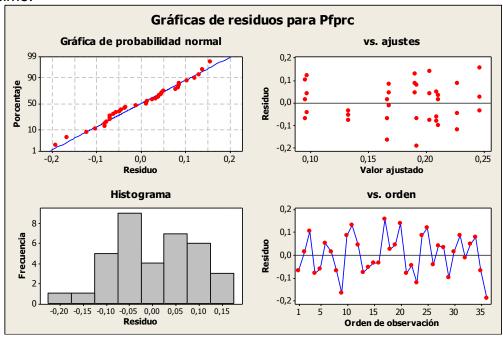
Anexo 4. Prueba de normalidad para residuos porcentaje de frutos normales en racimo.



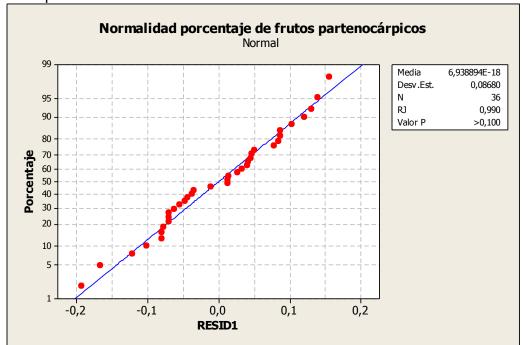
Anexo 5. Prueba de varianzas homogéneas para el porcentaje de frutos normales en racimo



Anexo 6. Gráficas de residuos del ensayo 2 porcentaje de frutos partenocárpicos en racimo.



Anexo 7. Prueba de normalidad a residuos del porcentaje de frutos partenocárpicos en racimo



Anexo 8. Prueba de varianzas homogéneas para el porcentaje de frutos partenocárpicos en racimo

