

PROBLEMAS DE INCOMPATIBILIDAD EN EL CACAO (*)

Por

Mario Sanclemente Pineda

INTRODUCCION:

En todas las zonas del cultivo del cacao, encontramos ejemplos típicos del fenómeno, de que un gran número de árboles de cacao son estériles mientras son polinizados por su propio polen y en cambio son fértiles y fructifican algunas veces abundantemente cuando son polinizados por polen extraño. Es un fenómeno de autoincompatibilidad y no de esterilidad como se creyó equivocadamente durante algún tiempo ya que el mismo proceso de la fructificación demuestra que los óvulos y el polen son funcionales.

Observaciones y reconocimientos de zonas cacaoteras en el Valle del Cauca, mostraron que en muchas plantaciones se encuentra hasta 50% de árboles autoincompatibles y prácticamente no existe plantación que no tenga por lo menos 10% de árboles autoincompatibles. Naturalmente este fenómeno en alto grado reduce los rendimientos en las cosechas.

Este fenómeno de la autoincompatibilidad y de la autoesterilidad parece ser (según muchos trabajos científicos) un efecto debido a causas químicas y fisiológicas.

Como el fenómeno de la autoincompatibilidad se presenta, en algunas épocas, también en variedades de cacao conocidas como compatibles, sería interesante estudiar estas causas químicas y fisiológicas de la autoincompatibilidad y sacar conclusiones para el futuro plan de trabajo respecto a renovación de plantaciones viejas y plantaciones nuevas.

El problema de la autoincompatibilidad en cacao es más grave que en otros árboles frutales, porque los polinizadores son pocos in-

(*)— Tesis presentada para optar al título de Ingeniero Agrónomo bajo la dirección del Dr. Gerard Naundorf. El autor hace público su agradecimiento por tan acertada y franca dirección.— Recibida para publicación en Octubre 25 de 1.952.

sectos que solamente a cierto tiempo trasladan el polen de un árbol de cacao a otro. Billes (1).

Quizás el primero en estudiar los fenómenos de la autocompatibilidad fué Osterwalder (11) en el año de 1910. Observó que el polen del mismo árbol (ensayos con manzanos y perales) empezó a germinar sobre el estigma, pero después el crecimiento del tubo polínico fue fuertemente inhibido, mientras polen extraño y de otra variedad germinó y el tubo polínico alcanzó rápidamente el saco embrionario. Observaciones iguales hicieron Knight (8) y Roberts (15).

En el año de 1936 Zederbauer (18) menciona que en variedades autoestériles y autoincompatibles, el crecimiento del tubo polínico es inhibido por causas fisiológicas-químicas o por la falta de ciertas substancias estimulantes para el crecimiento del tubo polínico que empieza a germinar, entrando en el tejido del estigma sin alcanzar el saco embrionario, o llega demasiado tarde por la lentitud del crecimiento causado por la inhibición. A las mismas conclusiones llegó Duhan (6).

Sobre los problemas de la autocompatibilidad en cacao existen bastantes trabajos pero los autores se ocupan muy poco de encontrar explicaciones sobre el fenómeno de la autocompatibilidad y las probables causas fisiológicas-químicas y solamente algunos mencionan cuáles pueden ser las probables causas de este fenómeno. Pound (13) en colaboración con de Verteuil, estudió detenidamente la autocompatibilidad y la relación de este fenómeno con la caída prematura de los frutos jóvenes de cacao, y hace observaciones sobre la fecundación entre árboles vecinos autoincompatibles notando que en estos árboles existe también incompatibilidad al hacer cruces con polen de diferentes árboles, y mostrando con estas observaciones que entre árboles autoincompatibles tampoco es posible una fecundación cruzada.

En los trabajos de estos autores no encontramos investigaciones fisiológicas de la autocompatibilidad. Cupo a Pound descubrir como primero la autocompatibilidad en árboles de cacao.

También Cheesman (5) menciona en sus varios trabajos el problema de la autocompatibilidad y su influencia sobre la fructificación, sin estudiar las causas fisiológicas de ella.

Un dato interesante sobre los trabajos de Cheesman es el fenómeno de que la autocompatibilidad no tiene que ser un hecho permanente, porque bajo ciertas condiciones los árboles autoincompatibles pueden transformarse en árboles autocompatibles.

Este autor menciona también, que probablemente la autocompatibilidad puede ser influenciada por la nutrición (1936).

En el año de 1937 Cheesman (5) dá un resumen respecto a la compatibilidad e incompatibilidad de los árboles y los clasifica de la siguiente manera:

- 1) Arboles autocompatibles que cuajan polinizados por su propio polen en polinización natural o en polinización a mano.
- 2) Arboles clasificados como autocompatibles que fructifican al ser polinizados con polen de árboles autoincompatibles o árboles autocompatibles.
- 3) Arboles clasificados como autoincompatibles que no fructifican al ser polinizados con polen de otros árboles autoincompatibles.
- 4) Arboles clasificados como autoincompatibles que fructifican al ser polinizados con polen de árboles autocompatibles.

En los años de 1938-1939 el mismo autor menciona que la autocompatibilidad en cacao no es causada por una inhibición del crecimiento del tubo polínico en el estilo.

Voelcker (16) ha investigado especialmente la autoincompatibilidad en cacao. En sus ensayos no pudo observar el efecto de la transformación de un árbol autoincompatible en autocompatible o viceversa y dá consejos sobre la instalación de plantaciones de cacao respecto a los dos grupos de árboles, diciendo que una plantación de árboles autoincompatibles no puede dar cosecha.

Este autor menciona también la probable intervención de causas fisiológicas en el fenómeno.

En varios trabajos, Posnette (14) menciona las probables causas de la autoincompatibilidad en cacao y cree que los siguientes factores influyen en este fenómeno: incapacidad de germinación del polen; crecimiento demasiado lento del tubo polínico; falta del gameto masculino para fecundar el óvulo; falta del núcleo masculino y femenino para fusionarse; y presencia de otros factores.

Posnette (14) observó una diferencia en sus ensayos sobre germinación de polen en el laboratorio, y dice que no puede sacarse ninguna conclusión si el tubo polínico puede alcanzar el ovario o nó.

Cope (3) se ocupa también de la autoincompatibilidad y de la autocompatibilidad de árboles de cacao y sus experiencias demostraron, que árboles autocompatibles tienen una formación superior de frutos con un porcentaje mayor de caída prematura de éstos, en tanto que en los árboles autoincompatibles hay una mayor produc-

ción de flores y un menor porcentaje de marchitamiento y caída prematura de frutos jóvenes con una menor producción de mazorcas.

En sus ensayos con fertilizantes, pudo observar que los árboles autoincompatibles aprovechan mejor el abono que los árboles autocompatibles.

Observa además que en los árboles autocompatibles la fecundación artificial no siempre da resultados satisfactorios.

En otro trabajo el citado autor, encontró que los tubos polínicos sean de árboles autocompatibles o autoincompatibles tienen la facultad de germinar sobre cualquier estigma sea de un árbol autocompatible o autoincompatible y el crecimiento del tubo polínico en el estilo, no es inhibido en los dos grupos de árboles, (parece según él, que el crecimiento del tubo polínico es más rápido en el estilo de un árbol autoincompatible) pero probablemente ocurre la inhibición del crecimiento del tubo en árboles autoincompatibles al salir del estilo y al alcanzar el ovario.

En el año de 1940 Cope (4) supone a base de numerosos ensayos que la recepción tardía y el bajo nivel de la actividad nuclear en varios árboles autoincompatibles son los responsables para la absorción.

El presente estudio tiene por objeto contribuir a aclarar posibles causas químico-fisiológicas de la autoincompatibilidad en cacao.

II. MATERIAL Y METODOS

1) **Material:** Para los diversos ensayos se emplearon árboles autoincompatibles de la plantación de la Estación Agrícola Experimental de Palmira. La autoincompatibilidad de estos árboles se comprobó mediante polinización artificial especialmente para aquellos no marcados dentro de la plantación como autoincompatibles. Normalmente es bastante fácil reconocer un árbol autoincompatible por el aspecto especial que presenta: es conveniente enumerar las características para su reconocimiento:

- a) Floración abundante (véase lámina 1).
 - b) Abultamiento de los cojines florales (véase lámina 2).
 - c) Brotación de yemas foliares en los haces florales (véase lámina 3).
 - d) Escasa o nula fructificación.
- 2) **Métodos:**
- a) Como medio artificial para la germinación del polen se em-



Lámina 1— Aspecto de un árbol de cacao "incompatible" con floración abundante.

Foto: Rengifo



Lámina 2— Abultamiento de los cojines florales de un árbol autoincompatible.

Foto: Rengifo



Lámina 3— Brotación de yemas foliares en los haces florales de un árbol autoincompatible.

Foto: Rengifo

pleó el método ya descrito por Polania (12).

b) Los tratamientos de las flores:

En los tratamientos de las flores se emplearon dos sistemas:

Para retener flores por más tiempo en el árbol mediante soluciones hormonales Gardner y Naundorf (7) se empleó una

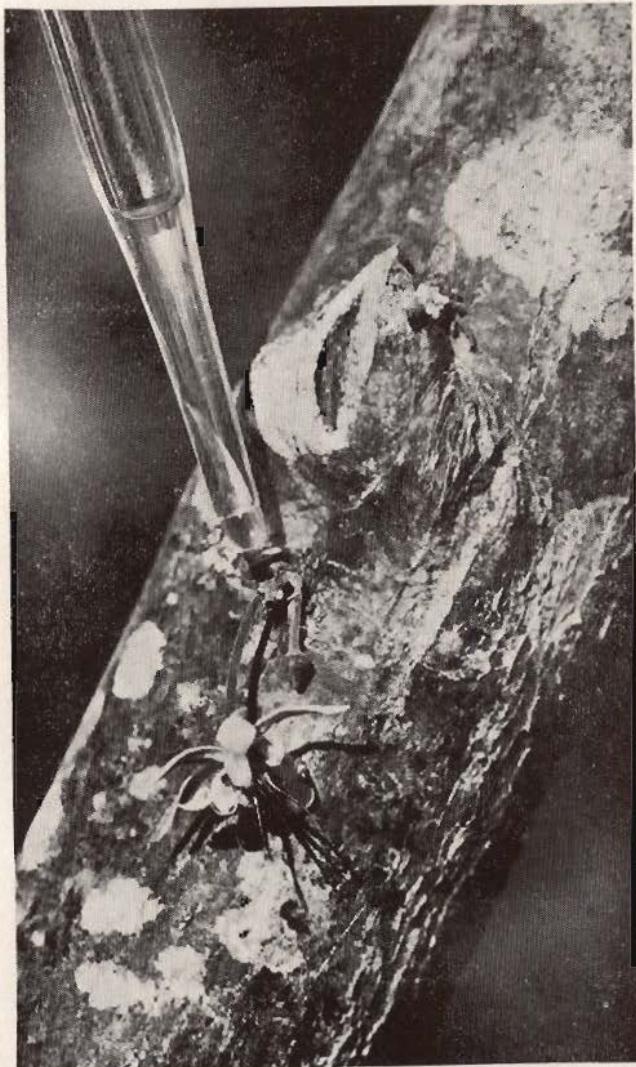


Lámina 4— Aplicación de soluciones hormonales sobre la zona de abscisión mediante cuentagotas.

Foto: Rengifo

pipeta para colocar una gota de la solución hormonal sobre la zona de absisión, (véase lámina 4).

Para la aplicación de las diferentes soluciones sobre el estigma de la flor, se empleó el método de la "gota colgante" que consiste en colocar una gota entre los estaminoides, utilizando para ello una pipeta pequeña.

- c) En la marcada de las flores y en la técnica de la polinización artificial se siguió también el procedimiento descrito por Polania (12).
- d) Preparación del extracto del ginecéo autocompatible:
Para la obtención de la sustancia inhibidora de los pistilos autoincompatibles se empleó cada vez 10 miligramos de pistilo (más o menos 15 gineceos) triturándolos bien con una varilla de vidrio en un vaso de precipitación. Se extrajo la substancia inhibidora con 10 c.c. de H₂O en frío y en caliente (baño de maría durante 20 minutos).

Los extractos una vez filtrados se mezclaron con glucosa Agar-Agar.

III. INVESTIGACION Y RESULTADOS

A) La substancia inhibidora en el gineceo (ovario estílo, estigma) de la flor de cacao incompatible.

La observación de que una flor autoincompatible no se puede fecundar con polen de la misma flor o con polen de flores del mismo árbol pero si, con polen de árbol autocompatible, nos indica que el gineceo autoincompatible o el polen autoincompatible deben contener probablemente una substancia que inhibe la germinación, el crecimiento del tubo polínico, o la fusión entre los gametos masculino y femenino. No puede ser la falta de núcleo masculino para fusionarse con el citoplasma en el óvulo: Posnette (14), porque el mismo polen autoincompatible es capaz de fecundar el óvulo de un gineceo autocompatible.

Lo más propio para explicar la posible causa del fenómeno, es la presencia de una substancia inhibidora en el gineceo incompatible, que no impide la germinación, pero si, el crecimiento del tubo polínico incompatible al penetrar en el estigma - estílo y ovario y por esta inhibición el crecimiento normal del tubo polínico, llega demasiado tarde a la fecundación y a flor se cae antes de verificar la fusión.

Fundándose en esta hipótesis se hicieron extractos del pistilo de la flor autoincompatible y mezclándose con el medio artificial de glu-

cosa Agar-Agar se sembró en diferentes placas polen autocompatible y polen autoincompatible. En el caso de la existencia de una substancia inhibidora para el crecimiento del tubo polínico, en el extracto tenían que germinar las dos clases de polen debiendo ser inhibidora el crecimiento del tubo polínico del polen incompatible.

En efecto, se encontró que las dos clases de polen germinaron sobre las placas de glucosa Agar-Agar que contenían el extracto del pistilo incompatible, pero el crecimiento de tubo polínico incompatible fue fuertemente inhibido mientras el crecimiento del tubo polínico compatible fue bastante estimulado por el mismo extracto. Como control se emplearon placas de glucosa Agar-Agar sin el extracto incompatible y sobre estos germinaron las dos clases de polen perfectamente y el crecimiento del tubo polínico era normal e igual para ambos.

Los resultados de este experimento se dan en la tabla I.

TABLA I

Germinación y crecimiento de polen compatible e incompatible sobre placas de Agar-Agar que contiene extractos de pistilo incompatible.

Medio Artificial	% germinación de polen.		Longitud del tubo polínico a las 5 horas.	
	Compatible	Incompatible	Compatible	Incompatible
Testigo	70 + 2.5 —	70 + 3.5 —	0.105 + 0.009 —	0.095 + 0.007 —
Con extracto Incompatible.	70 + 5.0 —	47 + 2.1 —	0.147 + 0.012 —	0.011 + 0.002 —

Para investigar si en el pistilo compatible existía también una substancia inhibidora para el crecimiento del tubo polínico y para saber si la substancia inhibidora era destruida al calentarla se preparó extracto de pistilo auto compatible e incompatible en frío y en caliente y se sembró sobre esos extractos polen incompatible. (Véase tabla II).

Esta tabla nos indica que el extracto compatible preparado en frío o en caliente no contiene la substancia inhibidora para el crecimiento del tubo polínico incompatible; parece más bien, que el extracto del gineceo compatible contiene una substancia que favorece el crecimiento del tubo incompatible.

Tabla II.

Germinación y crecimiento del tubo polínico de polen incompatible sobre placas de glucosa Agar-Agar con extracto de pistilo compatible e incompatible extraído en frío y en caliente.

Medio de germinación	% de germinación a las 5 horas			Longitud del tubo polínico a las 5 horas		
Testigo	70	+	3.2	0.090	+	0.008
		—	—		—	—
Extracto compatible en frío	95	+	0.9	0.105	+	0.007
		—	—		—	—
Extracto compatible en caliente	97	+	1.3	0.157	+	0.010
		—	—		—	—
Extracto incompatible en frío	72	+	4.1	0.069	+	0.011
		—	—		—	—
Extracto incompatible en caliente	46	+	4.6	0.010	+	0.003
		—	—		—	—

La tabla nos dice además que la substancia inhibidora del pistilo autoincompatible es resistente al calor (se hirvieron durante 20 minutos); porque al extraer el caliente se obtiene más substancia inhibidora ya que el extracto en las mismas condiciones de calor tiene mayor fuerza inhibidora que aquel en frío porque el crecimiento del tubo polínico autoincompatible es mucho más inhibido.

Como una gran mayoría de las substancias activas e inhibidoras que se encuentran en las plantas son destruidas o inactivadas por substancias oxidantes, tratamos los extractos con H_2O_2 y $KMnO_4$; los extractos de pistilo incompatibles tratados con las dos substancias mencionadas dieron los siguientes resultados respecto a la germinación del polen y crecimiento del tubo polínico (véase tabla III).

Al observar es'a tabla notamos que el H_2O_2 y las dos concentraciones de $KMnO_4$ (1 ppm y 10 ppm) destruyeron completamente la substancia inhibidora hasta estimular el crecimiento del tubo polínico.

La lámina 8 muestra granos de polen con su tubo polínico sobre placas de Agar-Agar con extracto de pistilo incompatible tratado con $KMnO_4$ en la concentración de 10 ppm que destruyó la substancia inhibidora.

Tabla III.

Germinación y crecimiento del tubo polínico incompatible sobre placas de glucosa Agar-Agar que contenían extractos de pistilo incompatible extraído en caliente y tratado con KMnO₄ (en las concentraciones de una ppm y 10 ppm) y H₂O₂.

Medio artificial	%de germinación a las 5 horas	Longitud del tubo polínico en micras
Testigo	70 + 3.2 —	0.090 + 0.008 —
Extracto incompatible en caliente	46 + 4.6 —	0.010 + 0.003 —
Extracto incompatible en caliente — H ₂ O ₂	64 + 5.1 —	0.059 + 0.008 —
Extracto incompatible — KMnO ₄ 1 ppm)	90 + 1.3 —	0.085 + 0.007 —
Extracto incompatible — KMnO ₄ 10 ppm)	90 + 2.1 —	0.145 + 0.011 —

Apoyados en los resultados de estos experimentos, se empezó a tratar en árboles autoincompatibles el pistilo con H₂O₂ y KMnO₄ empleando el método de la gota colgante entre los estaminoides, para observar si era posible mediante la aplicación de estas soluciones, destruir la substancia inhibidora en el pistilo y llegar con autopolinizaciones artificiales a la fecundación y cuajamiento de frutos.

La soluciones se dejaron actuar durante 15 minutos luego se sa-
cudieron las gotas y se esperó cinco minutos más verificándose des-
pués la autopolinización con polen incompatible del mismo árbol. Los
resultados de estas autopolinizaciones se dan en las curvas de la lá-
mina 8 para la aplicación del KMnO₄ y en la curva de la lámina 9
para el H₂O₂.

En la tabla IV se puede apreciar un experimento similar a uno de los varios que se hicieron en éste sentido.

Al observar las curvas de la lámina 5 y 6 y la tabla 4 encon-
tramos que la aplicación de las dos substancias en diferentes concen-
traciones (1 y 10 ppm.), prolongaron la vida de la flor incompati-

Tabla IV

Transcurso de la vida de las flores incompatibles de cacao cuyos pistilos fueron tratados con KMnO₄ y H₂O₂

Tratamientos	% de flores restantes al día . . .					
	1	2	3	4	5	6
Testigo 1 Polinización natural	100	12	0	0	0	0
Testigo 2 Polinización artificial	100	68	44	0	0	0
KMnO ₄ 1 ppm	100	76	68	68	12	12
KMnO ₄ 10 ppm	100	56	32	28	20	20
H ₂ O ₂ 10 ppm	100	72	60	60	60	8

ble polinizada con su propio polen en la misma forma que nos es conocida para una flor compatible. Observados estos experimentos durante una semana aún hoy encontramos un 20% de frutos formados de aspecto completamente normal.

El hecho de haber obtenido frutos mediante la aplicación de estas dos soluciones nos indica que ellas destruyeron la substancia inhibidora del pistilo incompatible; lo mismo que se pudo observar en las placas de glucosa Agar-Agar con el extracto incompatible tratado con las dos soluciones (H₂O₂ y KMnO₄).

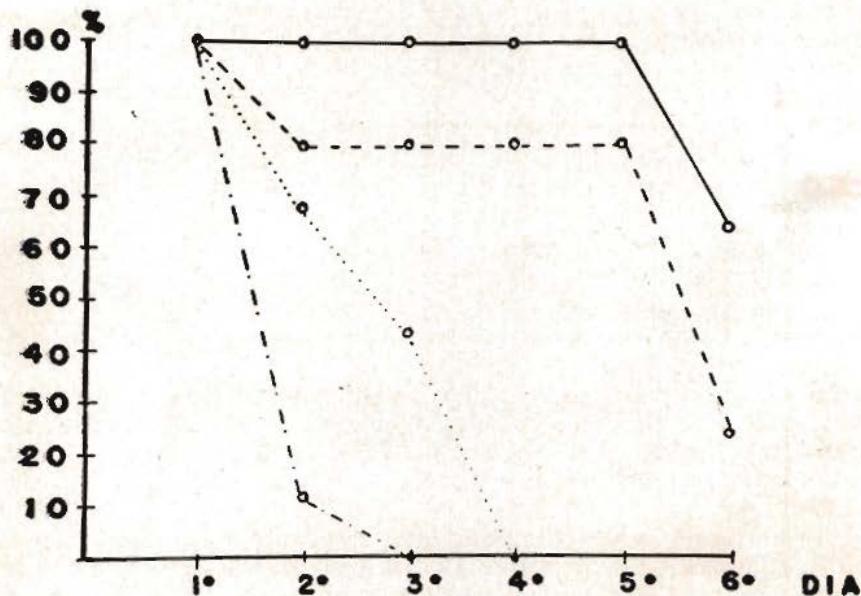
La presencia de una substancia inhibidora en el pistilo de la flor incompatible, causante del crecimiento demasiado lento del tubo polínico, dà lugar a que la flor se caiga antes de que el tubo polínico llegue al óvulo. Esta substancia inhibidora podría actuar también interfiriendo la formación y acción de substancias activas como por ejemplo la fitohormona, auxina y sus derivados necesarios para la fijación de la zona de abscisión de la flor, que es producida por el tubo polínico, hecho conocido según Buenning (2) Naundorf (10) y Laibach (9). Es esta la razón por la cual se aplicaron fitohormonas en el presente trabajo.

B) Influencia de fitohormonas y vitaminas:

Para los diferentes experimentos con fitohormonas se empleó el ácido para-clorofenoxy-acético como la substancia más conocida para fijar la zona de abscisión de la flor de cacao. (Naundorf 10).

Los resultados de dos de estos experimentos se aprecian en las curvas de la lámina 7 y en la tabla V.

Al comparar las tres curvas de la lámina 7 que representan el transcurso de la vida de flores incompatibles con diferentes tratamientos que se puede mantener hasta el sexto día un 66% de las flores polinizadas y tratadas con el ácido para-clorofenoxi-acético (50 ppm). De los varios ensayos verificados se obtuvieron por primera



LAMINA 5. Las 4 curvas indican diferentes tratamientos de flores incompatibles. La abscisa representa los días que permanecen las flores en el árbol y la ordenada el porcentaje de flores restantes a los diferentes días. Convenciones de los tratamientos: polinización artificial, polinizaciones natural -.-., 10 ppm de KMnO₄ - - - -., 1 ppm de KMnO₄ - - -.

vez tres frutos - autopolinización y tratamiento fitohormonal; frutos que se mantuvieron durante algunas semanas en el árbol y luego se marchitaron.

En ensayos preliminares de García y Naundorf (comunicación verbal) que se ocuparon en determinar la compatibilidad o incompatibilidad de varios árboles de cacao en la plantación de la Estación, observaron que entre otros, el árbol N° 6 normalmente compatible, pierde durante algunas épocas del año su compatibilidad porque las autopolinizaciones no dieron ningún cuajamiento. Al buscar la mane-

ra de explicar esta pérdida de la compatibilidad, hicieron varios ensayos con substancias activas pensando que esta fuera la causa del no cuajamiento; en estos ensayos emplearon entre otras substancias activas la vitamina B1 y obtuvieron algo de cuajamiento al tratar la flor con ella. (hecho comprobado últimamente por Vallecilla (16).

Como consecuencia de estos ensayos se incluyó la vitamina B1 en la presente investigación pensando que uno de los factores de la incompatibilidad podría ser la falta de substancias activas especialmente la vitamina B1.

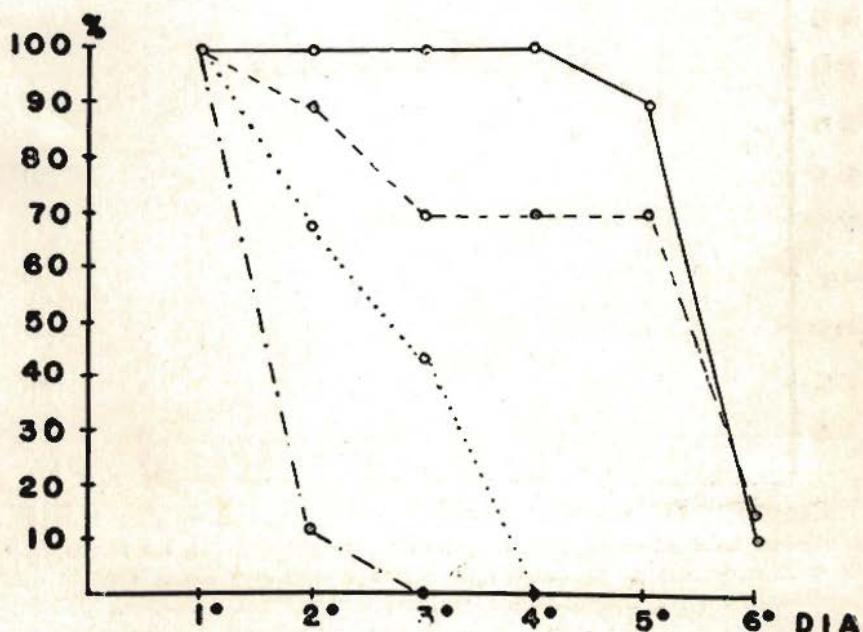


Lámina 6.— Las 4 curvas indican diferentes tratamientos de flores incompatibles. La abscisa representa los días que permanecen las flores en el árbol y la ordenada el porcentaje de flores restantes a los diferentes días. Convenciones de los tratamientos: polinización natural ——, polinización artificial , 10 ppm de H₂O₂ ——, 1 ppm de H₂O₂ .—.

En varios árboles autoincompatibles se hicieron los siguientes experimentos: sobre la zona de abscisión de la flor incompatible se aplicó el ácido para-clorofenoxy-acético en la concentración de 100 ppm. para fijar la flor incompatible, y sobre el estigma se aplicó una solución de vitamina B1 en la concentración de 10 ppm. recurriendo para ello al método de la gota colgante; esta solución se dejó actuar durante 15 minutos en el estigma y luego se autopolinizaron. (Los resultados de uno de estos véanse en la tabla VI.

En ella observamos los mismos efectos que nos dieron los diferentes tratamientos fitohormonales, es decir, que un alto porcentaje de flores, las retuvo el árbol hasta el sexto día obteniéndose con este ensayo un 12% de frutos que aún hoy continúan en perfecto desarrollo (véase lámina 8).

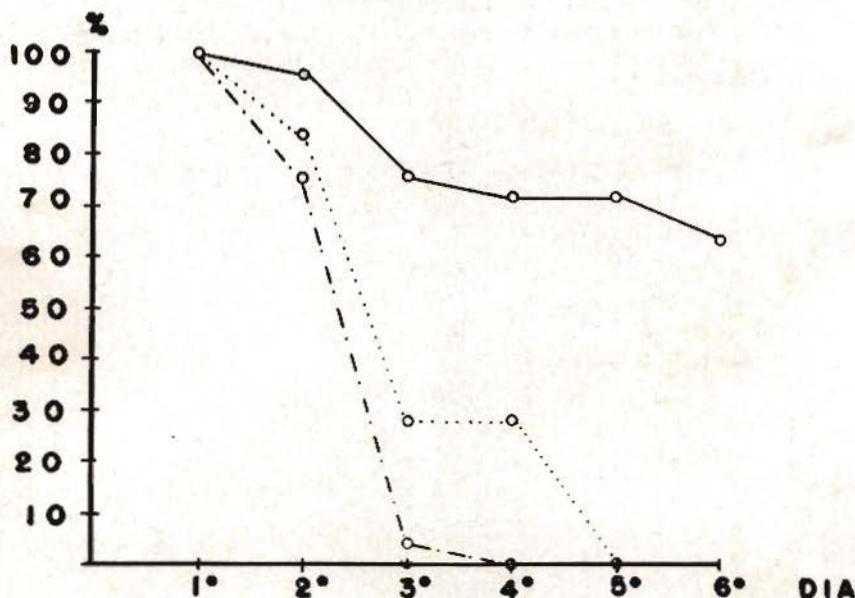


Lámina 7.— Las 3 curvas indican diferentes tratamientos de flores incompatibles. La abscisa representa los días que permanecen las flores en el árbol y la ordenada el porcentaje de flores restantes a los diferentes días. Convenciones de los tratamientos: polinización natural ——, polinización artificial , 25 ppm. de ácido para-clorofenoxi acético _____.

Los resultados de estos experimentos no se pueden generalizar porque responden a estos tratamientos (combinación entre hormonas y vitaminas) sólo algunos árboles incompatibles, mientras que en otros también incompatibles como los procedentes del clon N° 42 no responden.

C) Incompatibilidad en relación con el pH, substancias nutritivas y substancias menores.

Con base en los experimentos de Vallecilla (16) y Polanía (12) sabemos que una de las causas de la pérdida de la compatibilidad de los clones Nos. 5 y 6 depende de varios factores entre otros, las osci-

Tabla V.

Influencia de un tratamiento de la zona de abscisión con ácido clorofenoxy-acético sobre el transcurso de la vida de la flor incompatible.

Tratamiento	% de flores restantes al día.					
	1	2	3	4	5	6
Testigo polinización natural	100	12	0	0	0	0
Testigo polinización artificial	100	68	44	0	0	0
Ácido para-clorofenoxy-acético 25 ppm	100	64	64	44	4	4
Ácido paraclorofenoxy acético 50 ppm	100	60	52	52	44	44
Ácido para clorofenoxy acético 100 ppm.	100	72	60	56	48	40

laciones en el pH del estigma y pistilo (pH normal 4,12 a 4,64) y la falta de substancias nutritivas y menores.

Basándonos en estos experimentos se estudiaron también en árboles incompatibles si el pH del pistilo, o la falta de ciertos elementos nutritivos, o menores, podría ser factor causante de la incompatibilidad. Por esta razón se aplicó sobre el pistilo con el método de la gota colgante varias soluciones para cambiar el pH y después se auto-polinizaron. En todos estos ensayos con los diferentes pH comprendidos entre pH 3 y pH 9 no se obtuvo resultado favorable positivo, es decir, las flores tratadas y polinizadas se cayeron en los mismos días que las flores solamente autopolinizadas.

En los experimentos con substancias menores (solución de Hoagland) y substancias nutritivas (solución de glicerofosfato de cal) que según las observaciones de Vallecilla (16) aumenta en alto grado el crecimiento del tubo polínico del grano de polen en árbol compatible, tampoco dieron resultados favorables o positivos.

IV CONCLUSION Y DISCUSION

Los diferentes resultados obtenidos en estas investigaciones nos permiten sacar conclusiones bastante interesantes que pueden servir para dar más luz a los problemas de la incompatibilidad en cacao.

Tabla VI.

Influencia del ácido para-clorofenoxy-acético en la zona de abscisión en la concentración de 100 ppm. e influencia de la vitamina B1 sobre la prolongación de la vida de una flor incompatible tratada.

Tratamiento	% de flores restantes al día...					
	1	2	3	4	5	6
Polinización natural	100	8	0	0	0	0
Testigo polinizado artificalmente	100	80	68	44	0	0
Vitamina 10 ppm y ácido para-clorofenoxyacético 100 ppm	100	80	70	44	12	12

A los diferentes factores internos y externos que causan la incompatibilidad podemos agregar con base en estas investigaciones, otros y explicar en una gran parte fenómenos conocidos pero inexplicables hasta la fecha.

Casi todos los autores mencionados en la revisión de la literatura están de acuerdo en que uno de los factores más importantes que causan la autoincompatibilidad es el crecimiento demasiado lento del tubo polínico. Ninguno de estos dá las causas de ese lento crecimiento del tubo polínico incompatible que germina perfectamente sobre el estigma incompatible pero no llega a la fecundación o si sigue creciendo inhibido, no llega a tiempo al óvulo y la flor se cae antes de verificarse la fusión del gameto masculino con el femenino.

Las investigaciones llevadas a efecto en el presente trabajo, dan una explicación del fenómeno:

1) El crecimiento demasiado lento del tubo polínico es causado por una substancia inhibidora que se encuentra en el pistilo incompatible. Substancia desconocida por Cheesman al hacer sus experimentos diciendo que la incompatibilidad no podía ser causada por una inhibición del crecimiento del tubo polínico. Esta substancia inhibidora es seguro uno de los factores letales de que Posnette (14)

habla en su trabajo; este autor ya había observado el hecho de que en pistilos autoincompatibles el tubo polínico no podía alcanzar el ovario inhibido por una substancia.

- 2) Esta substancia inhibidora se puede extraer y mezclar con un medio artificial sembrando sobre la mezcla polen incompatible que germina, pero es fuertemente inhibido en el desarrollo del tubo polínico.
- 3) Polen compatible es estimulado por este extracto.
- 4) La substancia inhibidora del pistilo incompatible sobre extracto de pistilo compatible, porque sembrando polen compatible sobre extracto de pistilo compatible no se presenta inhibición en el crecimiento del tubo polínico.
- 5) La substancia inhibidora del pistilo incompatible es resistente a la luz y al calor pero es destruída mediante substancia oxidante, como por ejemplo el H_2O_2 y el $KMnO_4$.
- 6) Tratando extracto de pistilo incompatible con H_2O_2 ó $KMnO_4$

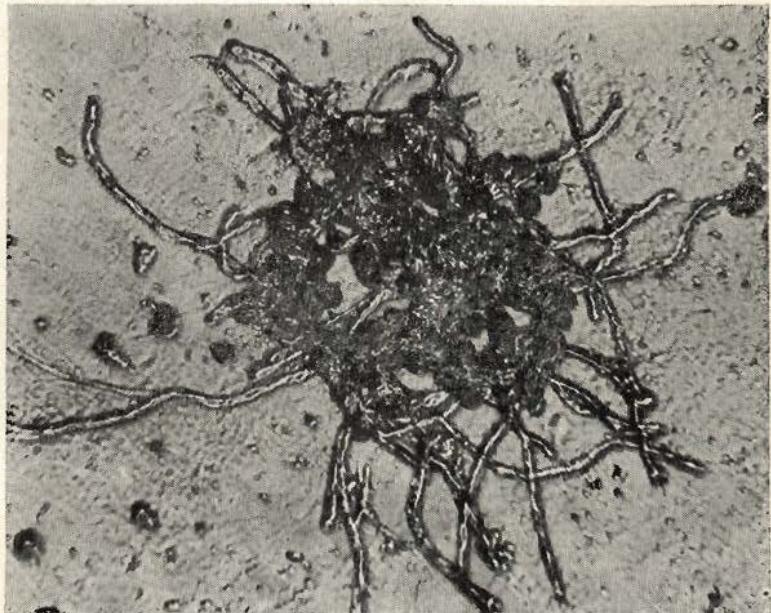


Lámina 8.— Granos de polen con su tubo polínico sobre placas de glucosa Agar-Agar con extracto de pistilo incompatible tratado con $KMnO_4$ 10 ppm).

Foto: Rengifo

y sembrando sobre estos extractos tratados polen del tubo polínico incompatible (lámina 8).

7) Los resultados obtenidos en los experimentos en medios artificiales, dieron lugar a pensar que se podían llevar a efecto en la misma plantación de árboles incompatibles que nos dieron el material para los trabajos de laboratorio. Por esto se trataron los pistilos de las flores de los árboles incompatibles con H₂O₂ y con KMnO₄ para buscar la manera de destruir la substancia en el mismo árbol. Estos tratamientos se verificaron en las horas de a mañana empleando el método de la gota colgante, con soluciones muy diluidas (10 ppm de las dos substancias oxidantes mencionadas) dejándolas actuar 15 minutos sobre el pistilo, sacudiéndolas después y verificando luego la autopolinización.

Quizás es la primera vez en la historia del cacao y de frutales en general, que se han obtenido mediante un procedimiento químico biológico frutos a base de autopolinizaciones en árboles incompatibles.

8) Este procedimiento de destruir la substancia inhibidora del crecimiento del tubo polínico incompatible no da resultado para todos los árboles incompatibles, porque algunos de éstos no respondieron al tratamiento. Se observó una prolongación de la vida de las flores incompatibles, pero al desarrollarse el ovario fecundado y formarse los frutos, éstos se marchitaron. Este fenómeno nos indica que aún hay otros factores más, que son responsables de la incompatibilidad.

9) En algunos árboles incompatibles, especialmente el procedente del clon N° 42 conocido como incompatible no respondió al tratamiento, pero sí, al ser tratado con fitohormonas que se aplicaron en la zona de abscisión de las flores autopolinizadas. (Se utilizó el ácido para-clorofenoxy-acético en las concentraciones de 50 a 100 ppm) y se obtuvieron frutos después de este tratamiento mostrándose que el tubo polínico fue inhibido en su crecimiento pero siempre llegó a tiempo para la fecundación. La substancia inhibidora desde luego en este pistilo solamente causó una inhibición en la velocidad del crecimiento de tubo polínico pero no inhibió por completo su crecimiento y desarrollo.

10) Tampoco este procedimiento sirve para todos los árboles incompatibles, siempre ayuda en algo, pero parece que no es solamente la presencia de una substancia inhibidora que impide el desarrollo del tubo polínico, sino también, la falta de otras substancias activas, que necesita el tubo polínico para su crecimiento normal.

El experimento verificado sobre flores autoincompatibles con aplicación de soluciones fitohormonales sobre la zona de abscisión del pedúnculo y aplicación de soluciones de vitaminas B1 sobre el pistilo

lo (método de la gota colgante) muestran claramente que en algunos árboles incompatibles es la falta de vitaminas especialmente la B1 responsable de la fecundación deficiente.

Uno de esos experimentos, combinación entre hormona y vitamina, sobre flores incompatibles, nos muestra la lámina 9 dos frutos obtenidos en árbol incompatible.

En total se obtuvo 16% de frutos mediante autopolinizaciones y tratamiento de hormona y vitamina.

11) Las oscilaciones en el pH del estigma, que desempeña cierto papel en la pérdida parcial de la compatibilidad en flores de árboles compatibles no tiene ninguna influencia sobre el fenómeno de la incompatibilidad.

12) Tampoco influye sobre este fenómeno la suficiencia o deficiencia de ciertas substancias nutritivas o elementos menores, como se pudo demostrar a base de ciertos experimentos verificados sobre flores incompatibles.

V. RESUMEN

El autor del presente trabajo se ocupa de encontrar explicaciones para el fenómeno de la incompatibilidad y la forma de hallar métodos químicos para corregirla en las plantaciones de cacao.

Los resultados más importantes son:

- a) En su gran mayoría la incompatibilidad en árboles de cacao es causada por una substancia que obstaculiza el crecimiento y desarrollo del tubo polínico que no llega a tiempo a la fecundación.
- b) La substancia inhibidora resistente a la luz y al calor es fácilmente destruible por el H_2O_2 y $KMnO_4$ en tal forma que sobre extractos de pistilo incompatible tratados con estas substancias permiten un crecimiento normal del tubo polínico incompatible.
- c) La substancia inhibidora del pistilo incompatible actúa sobre el crecimiento del tubo polínico de polen compatible como substancia estimulante.
- d) Un gran número de árboles incompatibles al tratar sus flores con las dos substancias mencionadas permiten un cuajamiento de flores incompatibles mediante autopolinizaciones.
- e) La incompatibilidad se puede explicar en parte también por la deficiencia en la formación de substancias activas necesarias



Lámina 9.— Frutos obtenidos en árbol autoincompatible tratando la zona de abscisión de la flor con ácido para-clorofenoxy-acético (100 ppm) y el estigma con vitamina B1 (10 ppm.).

Foto: A. Figueroa P.

para la fijación de la zona de abscisión, porque mediante explicaciones fitohormonales se logró la formación de frutos a partir de flores incompatibles autopolinizadas.

Existe mucha posibilidad de que la substancia inhibidora, inactive la acción de las substancias fortificantes de la zona de abscisión de la flor incompatible.

- f) La falta de ciertas vitaminas especialmente la B1 es otro factor responsable para la falta de cuajamiento de flores incompatibles autopolinizadas, así por ejemplo tratamientos combinados entre vitamina y hormona provocaron cuajamiento de flores incompatibles autopolinizadas.
- g) La aplicación de fitohormonas prolonga la vida de la flor incompatible y puede ayudar en la obtención de frutos que sobreviven sólo pocos días.
- h) El autor añade a los varios factores de la incompatibilidad algunos nuevos que son llamados a dar luz a este fenómeno y que pueden servir en futuros trabajos para luchar eficazmente con procedimientos químicos contra la incompatibilidad que tantos perjuicios económicos ocasiona en la producción mundial de la afamada bebida de los dioses.

VI BIBLIOGRAFIA

1. **Billes, D. J.** Pollination of *Theobroma cacao* L. in Trinidad. *Trop. Agr. (Trinidad)* 18: 151 - 156. 1946.
2. **Bunning, E.** Entwicklungs-und Bewegungsphysiologie der Pflanze. p. 139 Berlin, Springer, 1948.
3. **Cope F. W.** Compatibility and fruit setting in cacao. *Imp. Col. Trop. Agr. (Trinidad). Ann. Rept 1938 (8): 17 - 20.* 1939.
4. Studies in the mechanism of self-incompatibility in cacao. *Imp. Col. Trop. Agr. (Trinidad) Ann. Rept. 1938 (8): 20 - 21.* 1939.
5. **Cheesman, E. E.** Fertilization an embryogeny in the *Theobroma cacao* L. *Ann. Bot.* 41: 107 - 126. 1927.
6. **Duban, K.** Untersuchungen ueber Blauehverhaeltisse und den Einfluss der Pollensorte auf die Fruchtausbildung bei Apfeln. *Die Bodenkultur.* 3 (1): 63 - 82. 1949.
7. **Gardner, V. R. y Naundorf, G.** Empleo de las fitohormonas para

- aumentar el cuajamiento de frutos en cacao. Notas Agro. 3 (3): 175-183. 1950.
8. **Knight, L. J.** Physiological aspects of selfsterility of the apple. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 15: 101 - 105. 1918.
 9. **Laibch**, Pollenhormon und Wuchsstoff. p. 50. Ber, Deut Bot. Ges. 1952.
 10. **Naundorf, G.** Las fitohormonas en la Agricultura. p. 29. Barcelona, Salvat, 1951.
 11. **Osterwalder, A.** Bluetenbiologie, Embryologie und Entwicklung der Frucht unserer, Kernobstbaume. Landw jahrb 39: 917 - 998. 1910.
 12. **Polanía, H.** Germinación del polen de cacao, crecimiento del tubo polínico y cuajamiento. Manuscrito no publicado. Palmira, 1952.
 13. **Pound, F.J. and Verteuil, J.** Conditional self compatibility and its implications. Imp. Col. Trop. Agr. (Trinidad) Ann. Rept. 1936 (5): 16 - 24. 1932-1936.
 14. **Posnette, A. F.** Self-incompatibility in cocoa (*Theobroma cacao*). West African Agr. Conf. Papers. 3: 90 - 99. 1938.
 15. **Roberts, R. H.** Apple physiology, growth composition and fruiting responses in apple trees. Wisconsin, Agric. Exp. Station. Res. Bull. 68: 1 - 72. 1926.
 16. **Vallecilla, C.A.** Germinación del polen de cacao y crecimiento del tubo polínico en relación con los fertilizantes substancias activas y substancias menores. Manuscrito no publicado. Palmira 1952.
 17. **Voelcker, O. J.** On a method of controlled pollination of cacao. Nigeria. Agr. Dep. Bull. 11: 39-44. 1936.
 18. **Zederbauer, E.** Handbuch des Obstbaues. Wien. Gerold, 1936.