

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

FACULTAD DE AGRONOMIA

ESCUELA DE PRODUCCION VEGETAL

TRABAJO DE DIPLOMA

**DETERMINACION DE LA AUTOCOMPATIBILIDAD DE 21 PLANTAS ELITES
SELECCIONADAS EN UN ENSAYO COMPARATIVO DE 36 GENOTIPOS DE
CACAO (*Theobroma cacao* L.)**

PRESENTADO POR: Nansser Oswaldo Padilla Amador

**ASESORES: Ing. Agr. MSc. Vidal Marín Fernández
 Ing. Agr. Susann Thienhaus**

**Managua, Nicaragua
Noviembre 1995**

*** DEDICATORIA ***

A los miles de campesinos que con su continuo esfuerzo y noble labor hacen producir nuestra tierra y le dan la existencia al agrónomo.

Al inmenso mar de seres que por enemistad del destino no lograron avanzar al salón del *Alma Mater*

Al brillante cinturón de profesionales que en su bregar por esta vida encontraron el trabajo y lo ejercen dignamente y para la dignidad.

*** AGRADECIMIENTOS ***

A la Ing. Agr. Susann Thienhaus por su inagotable disposición de poner al servicio su acicalada experiencia, para la elaboración del presente trabajo.

Por su permanente entusiasmo de colaboración y por sus notables sugerencias hechas con fervor profesional, al Ing. Agr. MSc. Vidal Narín Fernández

Con igual agrado, a la Ing. Agr. Isabel Chavarria por sus continuas orientaciones de esclarecimiento en algunos temas vinculados con el trabajo de investigación.

Al Ing. Agr. MSc. Moisés Blanco, por obsequiar un espacio de su tiempo y realizar una valiosa revisión en el presente trabajo.

A la Br. María Elena Orozco Calero, por realizar pacientemente la digitación del original escrito.

Agradezco las sugerencias y la peculiar especialidad con que hiciera de forma incondicional una revisión del presente trabajo, al Ing. Agr. César Narulanda Tabares.

Con mucho amor a toda mi familia ya que de diversas formas ha sabido regalarme el ánimo y seguridad de continuar adelante.

Sobre todo Dios Padre, por haber puesto en mi sendero a estas lúcidas personalidades y haberme permitido una familia que no me ha dado las espaldas en los más duros momentos.

INDICE GENERAL

SECCION	Página
INDICE DE TABLAS	ii
RESUMEN	iii
I INTRODUCCION	1
II REVISION DE LITERATURA	3
2.1 BIOLOGIA FLORAL DEL CACAO	3
2.2 INCOMPATIBILIDAD DEL CACAO	5
III MATERIALES Y METODOS	12
3.1 LOCALIZACION DEL EXPERIMENTO	12
3.2 TRATAMIENTOS	12
3.3 METODOLOGIA	15
3.4 ANALISIS ESTADISTICO	16
3.5 DESCRIPCION DE LA PARCELA EXPERIMENTAL	17
IV RESULTADOS Y DISCUSION	18
V CONCLUSIONES	25
VI RECOMENDACIONES	26
VII REFERENCIAS	27

INDICE DE TABLAS

TABLA No.	Página
1. CLONES MADRES Y PADRES CON SU RESPECTIVA COMPATIBILIDAD	14
2. RESULTADOS DE LAS AUTOPOLINIZACIONES A LOS TRES DIAS	19
3. RESULTADOS DE LAS AUTOPOLINIZACIONES A LOS DIEZ DIAS.	20

RESUMEN

El trabajo se realizó en el Centro Experimental de "El Recreo" ubicado a 279 km carretera a El Rama. El objetivo fue determinar la autocompatibilidad de 21 árboles élitos de cacao (*Theobroma cacao* L.), seleccionadas en un ensayo comparativo de 36 genotipos. Los árboles fueron evaluados bajo parámetros estadísticos como Chi cuadrado y porcentaje de prendimiento. Según la prueba estadística realizada bajo el criterio de los diez días resultaron 19 árboles autocompatibles y dos autoincompatibles y conforme al criterio de prendimiento de los tres días, no se halló un árbol que fuese autoincompatible. Las investigaciones realizadas hasta la fecha sobre la incompatibilidad del cacao, todavía no han definido con plena certeza el tipo de reacción de incompatibilidad que presenta, pero presumen que presenta dos tipos de incompatibilidad como es el esporofítico y el gametofítico, aunque la mayoría de autores se inclinan por el sistema de incompatibilidad esporofítico, pero existen evidencias que en el cacao también predomina la incompatibilidad gametofítica, la cual ha sido utilizada para explicar algunos casos que bajo la teoría del sistema esporofítico no son explicados.

I INTRODUCCION

La producción de cacao (Theobroma cacao L.) en Nicaragua puede ser modificada por diferentes factores solos o combinados, entre ellos están: suelo, patógenos, medio ambiente, etc. Una de las causas principales de la reducida formación de frutos en algunas plantaciones de cacao es la autoincompatibilidad, debido a la presencia de barreras genéticas que impiden el proceso de fecundación normal de la flor. La baja producción de cacao en zonas cacaoteras de algunos países se debe a que las plantaciones tienen hasta el 50 % de árboles autoincompatibles (Nosti, 1963).

Según los datos de los zonales del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) y del Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (INTA), la distribución actual de las áreas de cacao en Nicaragua se concentra en 6,195 ha en cinco departamentos (Matagalpa, Rivas, Atlántico Norte, Atlántico Sur y Río San Juan). La producción actual se estima en aproximada-mente en 100 toneladas anuales.

En 1991 se exportaron 425 toneladas a un precio promedio de US \$ 1,133.22 por tonelada, obteniéndose un valor total de US \$ 481,412 el volumen promedio exportado por año durante los últimos tres años fue de 522 toneladas contra 33.5 toneladas de cacao importado (volumen de cacao en granos, calculado a partir de los derivados), (Thienhaus, 1992).

En el plano de la producción comercial de cacao, especialmente en plantaciones clonales, establecidas a partir de injertos o estacas enraizadas, la autoincompatibilidad puede llegar a ser una de las mayores barreras para alcanzar el potencial de rendimiento de los cultivares en condiciones de campo.

Las plantaciones de cacao establecidas a partir de semillas híbridas, muestran un comportamiento heterogéneo en cuanto al rendimiento se refiere, debido a que los clones utilizados en la polinización cruzada son altamente heterocigóticos, expresándose este fenómeno en una progenie no uniforme. Por lo general el 30% de las plantas produce el 70% de la producción total. Debido a la alta heterogeneidad en los híbridos, existe actualmente la tendencia de utilizar en cacao la propagación a través del injerto. Las experiencias en Filipinas y Malasia demuestran el éxito del método, obteniéndose rendimientos entre 2,000 a 3,000 kg de cacao seco por hectárea.

Por otro lado, la variación genética registrada en las plantaciones híbridas facilita la oportunidad de seleccionar los mejores genotipos individuales de la F1 para luego clonarlos a través de la propagación vegetativa (Helfenberger, 1991).

En el presente trabajo se plantean los siguientes objetivos:

1. Determinar autocompatibilidad en 21 plantas de cacao, seleccionadas como sobresalientes en un ensayo comparativo de 36 cruces interclonales.
2. Seleccionar plantas autocompatibles como futuros clones a utilizarse en el programa de mejoramiento genético de cacao en el Centro Experimental "El Recreo".

II REVISION DE LITERATURA

2.1 Biología floral del cacao.

El cacao pertenece a la familia Sterculiácea (Blanco, 1989).

Existen dos razas diferentes, el criollo (cacao dulce) y el forastero (cacao amargo), originarios de América Central y parte oriental de Venezuela respectivamente.

La inflorescencia del cacao es de tipo caulifloro en el cual las flores aparecen sobre la corteza vieja, bien sea en el tronco, en las ramas principales o en las ramificaciones secundarias. Esta característica facilita la colocación de un tubo protector para controlar la polinización artificial.

La flor esta sostenida por un pedicelo de 1 a 3 cm y es de pequeña talla (su diámetro varía de 0.5 a 1 cm), regularmente pentámera. Los cinco sépalos, soldados por su base son blancos o teñidos de rosa. Los cinco pétalos, alternos con los sépalos, tienen una forma muy característica: muy estrechos en la base, se ensanchan y se hacen cóncavos para formar un pequeño capuchón (cogulla) de color blanco, la abertura del cual está orientada hacia el eje de la flor y cuya parte superior, estrecha, se prolonga en una lígula que la enlaza con el limbo del pétalo, más ancho, completamente orientado hacia el exterior de la flor.

El ovario súpero, comprende cinco cavidades que contienen cada una de seis a diez óvulos dispuestos alrededor del eje central del ovario. El estilo es tubular, terminando en cinco estigmas.

El androceo está compuesto por cinco estambres que alternan con cinco estaminodios estériles. Estambres y estaminodios están soldados por su base para formar un tubo muy corto. Mientras que los estaminodios son erguidos y rodean el estilo, los estambres están recurvados hacia el exterior, directamente hacia los pétalos, encontrándose las anteras alojadas en el interior de las cogullas de cada una de los pétalos correspondientes. Cada estambre es doble, proviniendo en realidad de la fusión de otros dos estambres, y las anteras portan cuatro sacos polínicos.

La abertura del botón floral empieza por la tarde cuando comienzan a entre abrirse las extremidades de los sépalos y se completa a las primeras horas de la mañana siguiente.

La dehiscencia de las anteras aparece al abrirse la flor y el polen es funcional inmediatamente. Los granos de polen, esferoidales, son de pequeña dimensión (16 a 23 micras). Su viabilidad es corta y no sobrepasa las 48 horas en las condiciones naturales.

La disposición de las piezas florales del cacao no contribuye a facilitar la polinización. Las anteras están, en efecto, alojadas en el interior de las cogullas de los pétalos, mientras que los estigmas mismos están protegidos por los estaminodios que los rodea. El polen, poco viscoso, difícilmente puede alcanzar los estigmas por el efecto del viento. De hecho la polinización del cacao es esencialmente entomófila. Está asegurada por pequeñas mosquitas entre las que han sido identificadas varias especies del género Forcipomya, las cuales se alimentan, visitando muchas flores en un solo árbol antes de volar hacia otro. Esta particularidad es de importancia práctica puesto que significa que la mayoría

de las flores reciben polen del mismo árbol y sólo un porcentaje relativamente pequeño es polinizado en cruz (Ochse et al, 1965).

La germinación del grano de polen sobre el estigma, la penetración en el estilo del tubo polínico y su desarrollo hasta el saco embrional del óvulo se efectúan como máximo veinticuatro horas después de la polinización. Los tubos polínicos penetran casi simultáneamente en todos los óvulos de la flor. Poco tiempo después de la llegada del tubo polínico al saco embrional, el primer núcleo espermático se fusiona con el de la oosfera para formar el cigoto, mientras que el segundo núcleo espermático se une a los dos núcleos polares para formar el núcleo triploide que producirá el endosperma.

La fusión de los gametos se ha completado tres días después de la polinización y el desarrollo de los óvulos, así como el del fruto, comienza inmediatamente después de la fecundación .

Se observa, sin embargo, en el cacao numerosos casos de incompatibilidad que se traducen en la caída de la flor polinizada debido a la ausencia de fecundación (Braudeau, 1970).

2.2 INCOMPATIBILIDAD DEL CACAO

El fenómeno de incompatibilidad se presenta en dos sistemas: heteromórfico y homomórfico. En el primer caso, se impide la fecundación por incompatibilidad morfológica entre las estructuras sexuales femeninas y masculinas.

En el sistema homomórfico el impedimento de la fecundación se debe a razones genéticas y no morfológicas; este sistema a su vez , dependiendo del mecanismo de la reacción, puede ser: gametofítico y esporofítico.

El sistema gametofítico se caracteriza por la acción independiente, tanto en el estilo como en el polen, de los alelos pertenecientes al locus de la incompatibilidad (S). El grano de polen que lleva genes de incompatibilidad no puede funcionar sobre el estilo que posee el mismo alelo.

El sistema esporofítico el cual se presenta en las plantas de cacao, se halla determinada por un solo locus con alelos múltiples y se encuentra determinado por el núcleo diploide del esporofito; en otras palabras el comportamiento de cada grano de polen o tubo polínico está dirigido y determinado por el genotipo diploide.

Los alelos S muestran relaciones de dominancia, acción individual o acción competitiva y dominancia en cualquiera, polen o estilo de acuerdo a la combinación alelica involucrada. La determinación esporofítica puede darse también de tal modo que no haya series de dominancia, sino codominancia de los dos alelos presentes en el progenitor masculino, en su acción para determinar la norma de reacción del polen.

En síntesis, los estudios de incompatibilidad hasta ahora completados en cacao, proponen dos hipótesis que tratan de explicar las propiedades de la reacción de fusión o no fusión de gametos. Las siguientes series de alelos son postulados para explicar el mencionado fenómeno:

1- S1 > S2 = S3 > S4 > S5 Knight & Rogers (1955)

2- $S_a = S_b = S_c > s_c > s_d > s_f$ Cope (1962). (Enríquez, 1985).

Como regla general, la completa autoincompatibilidad en plantas cultivadas es rara, y se presenta con mayor frecuencia la pseudocompatibilidad, que se define por un nivel bajo de fecundación después de la autofecundación o de la polinización cruzada entre plantas que portan alelos S idénticos, (Cornide et al, 1985).

Vello (1964), citado por Opeke (1967), agrega que el fenómeno de incompatibilidad en cacao es mejor explicado por Knight & Rogers (1955). En cacao, el mecanismo de incompatibilidad funciona después de que la fertilización se ha verificado, el polen germina normalmente en un estigma incompatible y el crecimiento del tubo polínico dentro del estilo es también normal. De igual forma ocurre sin problema la doble fertilización del saco embrionario, formándose a partir de entonces ciertas sustancias que provocan la caída de la flor.

Posnette (1973), citado por Enríquez (1985), al realizar un examen de flores autocompatibles y autoincompatibles autopolinizadas no mostró diferencias tres horas después de la polinización sin embargo, seis horas después, en la flor autocompatible observó el tubo polínico penetrando el ovario, mientras que en la flor autoincompatible el tubo polínico se quedó corto y algunas veces se desarrolló por arriba del estilo y lejos del ovario, por lo que concluyó que el polen incompatible no puede desarrollar un tubo polínico capaz de alcanzar el ovario.

Boutharmont (1960), citado por Lanaud, (1987), encontró que el cacao sigue el modelo de incompatibilidad gametofítico.

Cope (1939), citado por Frankel et al (1977), señala que el polen germina normalmente en un apareamiento incompatible y que el tubo polínico creció dentro del estilo con una rapidez igual a la de una polinización compatible por lo que supone que el efecto del polen es insignificante. La investigación desarrollada posteriormente por él, reveló que en sacos embrionarios fertilizados autocompatibles y autoincompatibles, las diferencias llegan a ser más marcadas, conforme transcurre el tiempo después de la fertilización. La división de los núcleos polares se inicia considerablemente más tarde en un saco embrionario incompatible fertilizado, que en uno compatible. Además, la proporción de sacos embrionarios mostrando divisiones polares en el ovario que ha recibido polen incompatible permanece siempre baja. Cuando ocurre la abscisión, una flor incompatible polinizada muestra menos del 25 % de los sacos embrionarios totales que hayan pasado a la primera división polar.

En flores compatibles polinizadas y al tiempo correspondiente, arriba del 80 % de los sacos muestran división nuclear. El huevo fertilizado permanece intacto cuando la flor incompatible polinizada cae. De lo anterior, Cope (1939), sugiere que el inicio tardío y el bajo nivel de actividad nuclear en un ovario incompatible polinizado son responsable de la caída de la flor.

El mismo autor en 1962, realizó un examen sobre la incompatibilidad del cacao y llegó a la conclusión que el cacao presenta los dos sistemas de incompatibilidad esporofítico y gametofítico.

Seavey et al (1986), citado por Lanaud (1987), menciona que en el cacao el polen es capaz de germinar y se pueden

producir una parte de las fusiones cigóticas; es a nivel del ovario que se manifiesta la reacción de incompatibilidad. Esta reacción tardía de la incompatibilidad, aunque muy raro, ya es conocida en una treintena de especies.

Lanaud (1987), afirma que la reacción de incompatibilidad sigue algunas modalidades diferentes: si se manifiesta en las fusiones nucleares es del sistema del tipo gameto-esporofítico o si se presenta en la caída de los frutos es del sistema del tipo esporofítico.

Según la autora antes mencionada se ha demostrado que las variaciones del grado de autoincompatibilidad no están únicamente ligadas a la variación de las condiciones ambientales que actúan sobre la fisiología del árbol, sin embargo estas variaciones dependen también del ambiente polínico y pueden ser originadas especialmente por las interacciones específicas entre polen compatible e incompatible. Estas interacciones dependen a la vez de las proporciones relativas entre auto y alopolen y de los genotipos existentes.

En el cacao, la incompatibilidad siempre ha sido considerada como un fenómeno precoz que se manifiesta únicamente durante los primeros días después de la polinización, ahora se ha demostrado que la incompatibilidad puede expresarse tardíamente, aún varias semanas después de la polinización. Nuevos resultados indican que los fenómenos de la incompatibilidad, probablemente ligados a otros sistemas genéticos que el sistema de los alelos S, podrían ser en parte responsables de la caída de frutos posteriores a la fecundación (Lanaud, 1987).

Durante estos últimos años, los evolucionistas han profundizado en los problemas de sobreproducción de flores y caída de frutos en las plantas hermafroditas. Las dos hipótesis principales avanzadas para explicar esta selección sexual son las siguientes:

- Por un lado existe la posibilidad por parte del precursor femenino de ejercer una selección sobre el padre masculino, conservando únicamente los cigotos más vigorosos, Stephenson (1967), citado por Lanaud, 1987.

- Por otro lado, se efectuaría una competencia polínica al inicio. En este caso los padres masculinos serán utilizados para producir mucho polen y flores para atraer a los insectos polinizadores. De este hecho resulta que se reproducirán mucho más óvulos que los que se puedan convertir en granos y será provocada una caída aleatoria de los frutos, Queller (1983), citado por Lanaud (1987).

Resultados recientes demuestran que otro mecanismo de selección basado en la consanguinidad podría ser efectuado a través del sistema de incompatibilidad.

La polinización natural del cacao es tal que una proporción importante de flores es polinizada con una mezcla de auto y alopolen. Glendinning (1971), citado por Lanaud (1987) ha logrado estimar en árboles autocompatibles y portadores de un marcador morfológico recesivo (semillas blancas) que la relación de mazorcas provenientes de polinizaciones mixtas llegan a un 10 %, aquellas provenientes de polinizaciones cruzadas a un 35 % y las autopolinizadas a un 55 %.

El sistema de incompatibilidad parcial constituye para el cacao en condiciones naturales un medio para garantizar la variabilidad de la especie lo que resulta favorable cuando se requiere la adaptación rápida de las poblaciones a medios muy diferentes, como pasó con el cacao en el Alto Amazonas. Por otra parte el sistema de incompatibilidad no excluye un cierto potencial en la reproducción del cacao para la autofecundación cuando los aportes con polen externo son escasos e insuficientes para prender frutos. Como resultado existe una consanguinidad importante en las poblaciones de cacao (Lanaud, 1987).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 LOCALIZACION DEL EXPERIMENTO.

El experimento se realizó en la Estación Experimental El Recreo, localizada en el kilómetro 279 de la carretera al Rama. Esta se encuentra entre los 12° y 7' de latitud norte y 84° y 24' de longitud oeste a una altura de 15 msnm, inmerso en el ecosistema Bosque Tropical Húmedo con precipitaciones promedias anuales de 3,026 mm; la temperatura promedio anual es de 25.6 c° y la humedad relativa promedio anual es de 85 %.

3.2 TRATAMIENTOS

Los tratamientos lo constituyen las 21 plantas seleccionadas como sobresalientes. Se representan por un código cuyo primer número indica la posición del bloque donde se encuentra, el segundo y el tercer número indica el número del genotipo y el cuarto número indica el número del árbol de la parcela:

IMC 67 Pol.abierta	1348
EET- 96 x SCA-12	1186
IMC-67 Pol. abierta	1347
EET-162 x SCA-6	1141
EET-399 x SCA-12	1075
UF-29 Pol.abierta	2322
UF-676 x Pound-12	2119
Matina	2364
UF-676 x Pound-12	2117
UF-667 x SCA-12	2271
EET-48 x SCA-12	3134
EET-64 x SCA-12	3045
EET-162 x SCA-6	3147
IMC-67 x UF- 613	3234
ICS-8 x Pound-12	3245
ICS-8 x Pound-12	4246
ICS-8 x Pound-12	4248
UF-296 x UF-613	4214
UF-667 x SCA-12	4276
Matina	4361
IMC-67 x UF-613	4236

Tabla 1. Clones madres y padres con su respectiva compatibilidad.

MADRES	TIPO DE COMPATIB	PADRES	TIPO DE COMPATIB	DESCRIPCION
IMC-67	-	SCA.12	-	Iquitos Mezcla de Calabacillo
EET-96	+	SCA.6	-	Estación Experimental Turiage
EET-162	+	Pound-12	-	Estación Experimental Turiage
EET-399	-	UF-613	-	Estación Experimental Turiage
EET-48	-			Estación Experimental Turiage
EET-64				Estación Experimental Turiage
UF-29	+			United Fruit
UF-676	-			United Fruit
UF-667	-			United Fruit
UF-296	+			United Fruit
Matina	+			
ICS.8	+			Imperial Collage Selection

3.3 METODOLOGIA

Para la realización del presente trabajo, se ha tomado como base la teoría de Knight & Rogers (1955), es decir, la realización de polinizaciones artificiales y la cuantificación de flores prendidas. El número de flores autopolinizadas por árbol osciló entre 40 a 62.

La autopolinización artificial se realizó por medio de la técnica ideada por Pound (1932), y modificada por Voelcker (1937). (Arévalo et al, 1972), la cual consiste en:

- 1) Aislamiento por la mañana de botones florales que estaban próximos a abrir, con tubos transparentes de plásticos de 5 cm de largo por 3 cm de diámetro, abiertos en los dos extremos, uno de los extremos fue cubierto con gasa fina y asegurado con una liga, con el propósito de evitar la entrada de insectos polinizadores y permitir aireación, el otro se aseguró a la rama mediante un anillo de plastilina.
- 2) A la mañana siguiente, en las primeras horas (6 a 10 A.M), se quitaron los tubos que cubrían a los botones florales (flor receptora), los cuales ya estaban abiertos, y cuidadosamente se dio la remoción de estambres, estaminodios y pétalos, luego se desprendió otra flor del mismo árbol que era la flor donadora de polen a la cual se le separaban los estaminodios, pétalos y sépalos y se procedió a realizar la polinización de arriba hacia abajo en el estilo de la flor receptora.
- 3) Concluida la polinización inmediatamente se volvió a aislar la flor receptora, de la misma manera que se

aislaron los botones florales, condición en la que quedó durante tres días ya que no existe el riesgo de una polinización natural.

- 4) El primer conteo se realizó cumplidas las 24 horas de la polinización y a las 48 horas después de este proceso, se realizó el segundo conteo y así sucesivamente hasta cumplidos los diez días después de la polinización; se usaron cintas numeradas para evitar confusión alguna en los recuentos.

3.4 ANALISIS ESTADISTICO.

Para establecer el número mínimo de polinizaciones exitosas para que un árbol fuera considerado autocompatible, se usó la prueba de Ji-Cuadrado para una frecuencia esperada de 1:1, según la fórmula, y el porcentaje de prendimiento (Arévalo et al, 1972)

$$1/2X^2 = \frac{(O-E/2)^2}{E/2}$$

donde O = cantidad de frecuencias observadas o cantidad de flores prendidas observadas.

donde E = cantidad de frecuencias esperadas.

Como existen dos alternativas (autocompatible y auto-incompatible) hay $h-1 = 2-1$ grados de libertad, y para el nivel de significancia $\alpha 5\%$ obtenemos :

$P(3.841 < X <) = 0.05$ y la zona de rechazo es $X > 3.841$.

Según la fórmula aplicada se determinó que el número mínimo de observaciones (flores prendidas) es 13.8 cuando se realizan 40 polinizaciones. En el caso de que se realizan 62 polinizaciones el número mínimo de observaciones es según fórmula 23.3.

Se utilizó la prueba t-student con 5 % de significancia para determinar si existen diferencias significativas entre las evaluaciones del prendimiento de los frutos a los tres y diez días, respectivamente.

$$S^2 = \frac{\sum (X_1 - \bar{X}_1)^2 + \sum (X_2 - \bar{X}_2)^2}{(n_1 - 1) + (n_2 - 1)}$$

$$t = \frac{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)}{\sqrt{S^2 (1/n_1 + 1/n_2)}}$$

3.5 DESCRIPCION DE LA PARCELA EXPERIMENTAL.

La parcela experimental consta de árboles individuales con 11 años de edad, sembrados a una distancia de 3 x 3 m.

El trabajo se efectuó por trabajadores entrenados en la polinización artificial de cacao del Centro Experimental El Recreo. Las demás labores culturales de la plantación se efectuaron según el plan de manejo normal, el cual incluyó:

- control manual de malezas cada tres meses;
- fertilización completa (200 g de 12-30-10) tres veces al año;
- poda de mantenimiento en junio y noviembre; y
- cosechas mensuales.

V RESULTADOS Y DISCUSION

El fenómeno de la incompatibilidad es un hecho importante para explicar la abscisión de las flores, pero no con exactitud se puede asumir que la caída de la flor de los árboles sometidos a la prueba de autopolinización, es provocada en su totalidad por los genes precursores de la incompatibilidad, sino que, hay que considerar la influencia de la interacción ocasionada por los factores del medio ambiente, por el estímulo ocasionado a la flor y por el factor fisiológico o derrame floral.

La evaluación se realizó tomando como base el criterio de prendimiento a los 3 días, teniendo en cuenta que la fertilización ocurre entre las 10 y 24 horas siguientes a la polinización según Arévalo (1972) , Montzing (1947), citado por Coral (1970), y Asís (1983). Según la prueba estadística utilizada no se encontró ningún árbol que fuese considerado autoincompatible.

En la Tabla N°2 se aprecian los resultados de las autopolinizaciones controladas, realizadas sobre cada uno de los árboles seleccionados para determinar la autocompatibilidad de los mismos.

Tabla 2. Resultado de las autopolinizaciones a los tres días.

Cultivar	Flores polinizadas #	Flores preñadas a los 3 días	χ^2	Preñamiento %	Signif. al 5%
1348	51	31	2.37	60.78	ns
1186	61	46	15.75	75.45	*
3234	46	37	17.03	80.43	*
2271	48	25	0.08	52.08	ns
1347	62	49	20.90	79.03	*
3045	60	29	0.07	48.33	ns
1075	60	43	11.27	71.67	*
2119	57	38	6.33	66.67	*
2364	42	36	21.43	85.71	*
2322	57	35	2.96	61.40	ns
4214	51	34	5.67	66.67	*
3245	50	28	0.72	56.00	ns
2117	56	40	10.29	71.43	*
1141	59	35	2.05	59.32	ns
4246	60	43	11.27	71.67	*
3147	52	29	0.69	55.77	ns
3134	62	45	12.65	72.58	*
4276	40	31	12.10	77.50	*
4248	40	25	2.50	62.50	ns
4236	62	40	5.22	64.51	*
4361	40	23	0.90	57.50	ns

La Tabla N°3 muestra los resultados obtenidos en base al criterio de prendimiento de diez días propuestos por Vello (1964), citado por Enriquez (1985) y García (1952), citado por Soria (1961).

Tabla 3. Resultado de las autopolinizaciones a los diez días.

Cultivar	Flores polinizadas #	Flores prendidas a los 10 días	χ^2	Prendimiento %	Signif. al 5%
1348	51	26	0.02	50.98	ns
1186	61	33	0.41	54.09	ns
3234	46	37	17.04	80.43	*
2271	48	23	0.08	47.92	ns
1347	62	46	14.52	74.19	*
3045	60	19	8.06	31.67	*
1075	60	40	6.67	66.67	*
2119	57	32	0.85	56.14	ns
2364	42	36	21.43	85.71	*
2322	57	22	2.96	38.59	ns
4214	51	30	1.59	58.82	ns
3245	50	17	5.12	34.00	*
2117	56	36	4.57	64.29	*
1141	59	35	2.05	59.32	ns
4246	60	30	0.00	50.00	ns
3147	52	19	3.77	36.54	ns
3134	62	36	1.61	58.06	ns
4276	40	24	1.60	60.00	ns
4248	40	21	0.10	52.50	ns
4236	62	40	5.22	64.51	*
4361	40	19	0.10	47.50	ns

Cuando el análisis estadístico resultó ser no significativo, aceptamos la hipótesis nula, es decir que la frecuencia de flores prendidas es igual a la esperada o sea la planta se considera autocompatible.

Cuando el análisis estadístico resultó ser significativo existen dos posibilidades:

- 1- El número de flores prendidas fue menor que lo esperado, entonces la planta resulta ser autoincompatible.
- 2- El número de flores prendidas fue mayor que lo esperado entonces la planta resulta autocompatible.

Conforme a ese criterio se encontró que existen dos árboles autoincompatibles provenientes de los cruces ICS 8 x Pound 12 y EET 64 x SCA 12. Sin embargo, ambos presentaron un prendimiento mayor de 30 %, lo que no puede considerarse como una autoincompatibilidad absoluta, sino parcial. Varios autores han señalado que la autocompatibilidad no es un fenómeno de todo o nada, sino que presenta una cierta gradualidad en su expresión; para Cope (1939), un cruzamiento se considera como compatible cuando presenta una tasa de éxito de fusiones cigóticas comprendidas entre 10 % y 100 % ; abajo de este límite el cruzamiento se considera como incompatible (Lanaud, 1987).

Por otro lado, podría ser posible que el bajo prendimiento en los dos árboles mencionados ha sido provocado por condiciones fisiológicas desfavorables a la fructificación.

En el caso de las progenies provenientes del cruce ICS 8 x Pound 12, se encontró que la planta 3245 resultó autoincompatible mientras que sus "hermanos", las plantas 4246 y 4248 resultaron autocompatibles con un porcentaje promedio de prendimiento de 54.41%. Estas diferencias en las progenies procedentes de clones idénticos se explican posiblemente por el carácter heterocigótico de los genes precursores de la incompatibilidad, los cuales al cruzarse durante el proceso de la meiosis, producen combinaciones alélicas diferentes.

Entre las plantas sometidas a prueba existen ocho progenies procedentes de cuatro cruces de clones autoincompatibles como son: UF-676 x Pound 12, IMC-67 x UF-613, UF-667 x SCA-12, IMC-67 PA, como se puede apreciar en las tablas 2 y 3, todas sus progenies resultaron autocompatibles.

Este hecho puede explicarse, basandose en la teoría de Knight & Rogers, como indica el siguiente cruzamiento:

Ejemplo: $S_1 \times S_2 = S_3$

	S ₁	S ₂
S ₂	+	+
S ₃	+	+

Las no fusiones se dan únicamente cuando se da la unión de alelos idénticos y dominantes o codominantes. En este caso, los alelos S idénticos afectan únicamente el S₂; sin embargo el alelo S₂ proveniente del padre masculino se

encuentra en posición recesiva y no podrá conducir a la formación de un precursor de la incompatibilidad activa, permitiendo así la fusión entre los dos gametos masculino y femenino, portadores de S_2 . Entonces se da un 100 % de fusiones cigóticas, a pesar de que ambos padres eran portadores de alelos precursores de la incompatibilidad (Lanaud, 1987).

Por otro lado, existen tres progenies procedentes del cruce ICS- 8 x Pound-12, cuyos progenitores tienen diferente tipo de compatibilidad y era de suponerse que al proceder de idénticos progenitores la compatibilidad de las tres progenies sería idéntica; sin embargo, un árbol resultó con compatibilidad diferente presumiblemente por las condiciones de humedad y temperatura en el momento de habersele realizado la polinización artificial.

Dentro de los árboles evaluados no existe ningún caso donde ambos progenitores fuesen autocompatibles. Cabe señalar que cuando se presente éste tipo de cruzamiento generalmente su progenie resulta ser autocompatible; sin embargo según investigaciones realizadas por Cope (1939), encontró que hubo desendencia completamente autoincompatible a partir de cruzamientos entre dos genotipos Trinitarios autocompatibles, por lo que propuso la hipótesis que otros dos genes A y B afectan la expresión de los genes S.

El rango de prendimiento en porcentaje tomado a los 10 días osciló entre 31.67 y 85.71 % con un promedio de 55.81 % y tomado a los tres días, osciló entre 48.33 y 85.71 % con un promedio de 66.52 %, notandose una disminución en un 10.71 % para el conteo a los 10 días. A los tres días existía apenas un árbol (EET 64 x SCA 12) o sea el 4.76 % con prendimiento

menor del 50 % y de acuerdo a la toma de datos a los 10 días se encontraron 6 árboles o sea el 28.57 % con prendimientos menores del 50 %.

De acuerdo al uso de la prueba t-student se encontraron diferencias significativas entre ambas metodologías.

Debido a la clara diferencia de los resultados obtenidos de ambas metodologías y lo evidenciado por la prueba t-student, es más confiable aceptar el criterio de los 10 días, aun cuando se considere que la fecundación es completada a las 24 horas después de la polinización, ya que el riesgo de equivocarse en denominar un árbol autoincompatible o autocompatible es menor.

Según Lanaud (1987), pueden determinarse a los tres días los árboles con una autoincompatibilidad absoluta, ya que presentan en éste momento un prendimiento menor de 5 % el cual desciende hasta cero por ciento a los 15 días después de la polinización. Sin embargo, tomando en cuenta la opinión de que existe un tipo de autoincompatibilidad parcial, es necesario prolongar la toma de datos hasta los 10 días o más.

VI CONCLUSIONES

- 1.- El estudio revela que a los tres días después de la autopolinización artificial no se encontró ningún árbol autoincompatible, lo que indica que no existe autoincompatibilidad absoluta en los árboles estudiados, conforme a ese criterio.

- 2.- La evaluación estadística realizada a los diez días demostró la existencia de dos árboles autoincompatibles, sin embargo su porcentaje de prendimiento superó el 30 %, lo que hace suponer que existían factores fisiológicos desfavorables o incompatibilidad parcial.

VII RECOMENDACIONES

- 1.- Se recomienda incluir al Programa de mejoramiento genético de Cacao de El Centro Experimental El Recreo las 19 plantas élites encontradas como autocompatibles en éste estudio.
- 2.- Se debe repetir la prueba de autocompatibilidad en las plantas 3045 y 3245 para excluir al máximo la influencia de los factores climáticos y fisiológicos sobre el prendimiento.
- 3.- Debido a que la autocompatibilidad es heredable por reproducción sexual, recomendamos que en los planes de mejoramiento se tenga en cuenta el tipo de compatibilidad que presentan los futuros clones a integrarse en la producción de semilla híbrida.
- 4.- Se debe incluir en el establecimiento de una plantación no sólo árboles que sean autocompatibles, sino que sean compatibles con el polen de los árboles vecinos para garantizar una mayor probabilidad de fecundaciones.
- 5.- Para trabajos similares, recomendamos aplicar la metodología utilizada y efectuar los recuentos a los tres y diez días ó más, según el objetivo que se plantee el investigador.

VIII REFERENCIAS

- 1.- Arevalo, A. Adani, G. Ocampo, F. 1972.
Determinación de los genotipos de incompatibilidad o compatibilidad en varios clones de cacao. Revista Theobroma. CEPEC. Itabuna, Brasil. Pp. 33-38.
- 2.- Asís, N. 1983. Determinación de los genotipos de incompatibilidad o compatibilidad en varios cultivares de cacao (*Theobroma cacao* L.). Facultad de agronomía. Universidad Nacional. Palmira, Colombia. Pp. 9.
- 3.- Blanco, N. 1984. Cultivos Industriales. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Editorial Pueblo y Educación de Cuba para el CNES. Managua, Nicaragua. 170 pp.
- 4.- Braudeau, J. 1970. El cacao. Editorial Blume. 1a. Ed. Barcelona, España. Pp. 39-45.
- 5.- Coral, F. J. 1970. Estudio comparativo das teorías sobre o controle genético das incompatibilidades do cacaueiro (*Theobroma cacao* L.). IICA. Turrialba, Costa Rica. 51 pp.
- 6.- Cornide - Lima - Gálvez - Sigaroa. 1985. Genética vegetal y fitomejoramiento. Editoroial Científico-Técnica. La Habana, Cuba. Pp. 138-175.
- 7.- Enriquez, G.A. 1985. Curso sobre el cultivo de cacao. CATIE Turrialba, Costa Rica. Pp.32-44.

- theoretical and applied genetics, Springer-Verlag, Berlin, Alemania- Herdelberg, New York. Pp. 31-44.
- 9.- Helfenberger, A 1991. Aplicación de alta tecnología en cacao por el sector privado en Filipinas y Costa Rica en: Memoria de Seminario sobre Rehabilitación de cacao para altos rendimientos en Centroamérica. IICA. San José, Costa Rica. Pp. 83-89.
 - 10.- Lanaud, C 1987. Nouvelles donnees sur la biologie du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) : diversite des populations, systeme d'incompatibilite, haploides spontanés. Leurs consequences pour l'amelioration genetique de cette espece. Pp. 49-59.
 - 11.- Nosti, J 1963. Cacao, Café y Té, Salvat, 2a Ed. Barcelona, España. 806 pp.
 - 12.- Ochse, J. J. Soule, N. J. Dirkman, N. J. Wehiburg
C. 1965. Cultivo y mejoramiento de plantas tropicales y subtropicales. 1a. Ed. México. Vol. II. Pp 913-915.
 - 13.- Opeke, L. Jacobo, V, 1967. Cytological irregularities en (*Theobroma cacao* L.). Ceplac. Itabuna, Brasil. Pp. 2-5.
 - 14.- Taro Yamane, 1980. Estadística.
 - 15.- Soria, J. 1961. El Mejoramiento del cacao. Ed. Española. Turrialba, Costa Rica. Pág. 70-73.
 - 16- Thienhauns Susann. 1992. Diagnóstico nacional del cultivo de cacao en Nicaragua. IICA. San José, Costa Rica. Pp. 3.