USAC
TRICENTENARIA
Universidad de San Carlos de Guatemala

IIDES0
Instituto de Investigación y Desarrollo del Sur Occidente

MANUAL DE POLINIZACIONES CONTROLADAS EN CACAO



David Alvarado G.

Julio Pérez

Graciela Velásquez C.

María Velásquez C.

Guatemala, 2017.

INDICE

I. Presentación 1
II. Polinización controlada 2
III. Materiales 2
IV. Procedimiento 5
a) Preparación previa de la plantación 6
b) Selección de botones florales 9
c) Aislamiento de botones florales 10
d) Verificación de flores abiertas 11
e) Preparación de flores 11
f) Polinización manual 12
g) Aislamiento de flores polinizadas 12
V. Identificación de polinizaciones realizadas 13
VI. Evaluación de la habilidad combinatoria 15
VII. Cosecha de frutos desarrollados 15
VIII. Conceptualizaciones 16
IX. Metodología utilizada: 17
X. Resultados obtenidos en la investigación realizada: 18
XI. Conclusiones 18
XII. Actividaddes de gestión, vinculación y divulgación 19
XIII. Referencias 21

DIRECTORIO

Dr. Carlos Guillermo Alvarado Cerezo
Rector

Dr. Carlos Enrique Camey Rodas
Secretario General

M.Sc. Gerardo Arroyo Catalán
Director General de Investigación

Dr. Guillermo Vinicio Tello Cano
Director CUNSUROC

M.Sc. David Alvarado Güinac
Coordinador del Instituto de Investigaciones del Sur Occidente
IIDESO-CUNSUROC

I. Presentación

El cacao criollo blanco, es particularmente uno de los cultivos con mayor potencial por sus características en términos de sabor, aroma y color, que es de prioridad conservar a través de una selección e identificación de las mejores plantas madre de cacao

El Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología -CONCYT- a través del Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología -FONACYT- conjuntamente con el Instituto de Investigación y Desarrollo del Suroccidente (IIDESO) realizaron el rescate del cacao criollo de semilla blanca, en el territorio nacional. Como resultado de estos esfuerzos, en la granja experimental Zahorí del Centro Universitario del Suroccidente (CUNSUROC), se cuenta con un jardín clonal de 11 materiales recolectados, los cuales no poseen estudios de habilidad combinatoria.

Por tal razón se realizó el proyecto de investigación “DETERMINACIÓN DE LA HABILIDAD COMBINATORIA DE 11 MATERIALES DE CACAO (*Theobroma cacao L.)* DE TIPO CRIOLLO, EN GRANJA ZAHORÍ, CUYOTENANGO, SUCHITEPÉQUEZ.”, avalado, aprobado y financiado por la Dirección General de Investigación de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

El cual consistió en determinar las habilidades combinatorias de estos once materiales, por medio de realización de polinizaciones controladas o manuales y poder determinar así la auto compatibilidad e inter compatibilidad de cada uno de estos materiales.

II. Polinización controlada

La polinización del cacao presenta características muy interesantes, principalmente, la estructura de la flor no facilita la polinización por ninguno de los medios comunes, más bien la dificulta. El polen es demasiado pegajoso para que pueda intervenir el viento, tampoco la posición de las anteras se adapta a la condición de una planta anemófila, por lo que ciertos insectos de la familia *Ceratopogonidae* específicamente del género *Forcipomyia* son los que se encargan de la fecundación de estas flores.

Debido a las características mencionadas anteriormente, en cacao se realizan polinizaciones controladas, las que consisten en la manipulación de las partes de la flor (androceo y gineceo) realizando manualmente la frotación del saco polínico de los estambres en la punta del pistilo, para poder asegurar que la fecundación se haya realizado. De esta manera se puede controlar además la procedencia de los padres del futuro fruto a formarse.

Los propósitos de realizar una polinización artificial son: Producción de semilla híbrida (comercialización), para conocer la compatibilidad e incompatibilidad de los materiales y elaborar diseños de siembra, mejoramiento genético a partir de cruces interclonales con el objetivo de elevar la resistencia a enfermedades, producción y calidad.

III. Materiales

Para cada flor que se polinizará manualmente, se deben considerar los siguientes materiales:

Materiales para la preparación previa:

Tijeras de podar

Serruchines

Balanza para el pesado de fertilizante granulado

Bomba motorizada de mochila para la aplicación de fertilizante foliar

Desbrozadora motorizada para el control de malezas

Materiales para la preparación de las flores:

1 flor receptora de polen (madre)

1 flor donadora de polen (padre)

1 Porción de 5 cm de largo y una 2.54 cm de grosor de manguera plástica transparente.

15 gramos de plastilina

2 porciones de alambre para floristería de 25 cm de longitud

1 cuadro de gaza triple de 5 x 5 cm

1 Mini banda elástica para cabello

1 alicate para electricista

1 pinza quirúrgicas con puntas finas

1 caja Petri



Figura 1. Porción de manguera y platilina

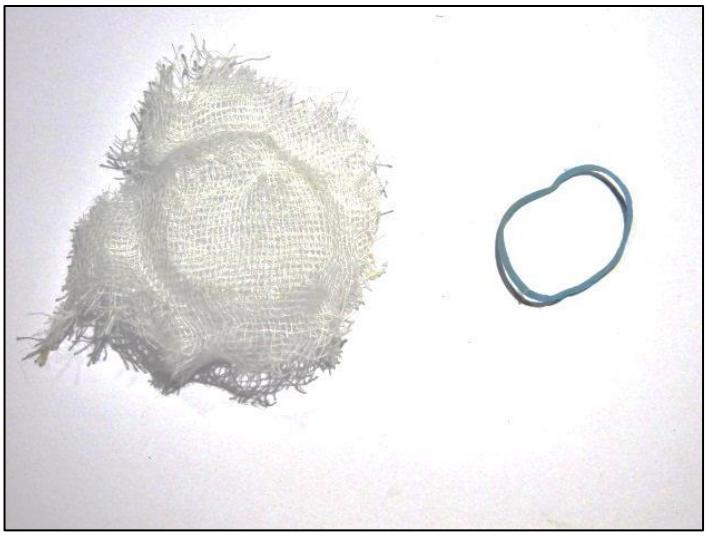


Figura 2. Porción de gaza y banda elástica

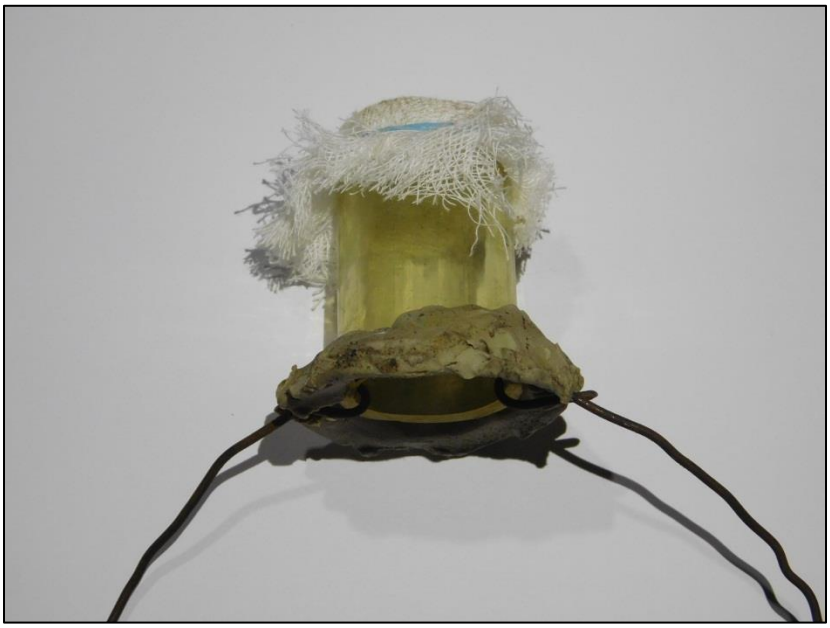


Figura 3. Dispositivo aislador armado, con sujetadores de alambre de floristería

De acuerdo a algunos autores, para el aislamiento de flores con este procedimiento se han utilizado los tubos epindorf, pero por experiencias de campo del personal técnico que realizan polinizaciones controladas en FAUSAC, se recomienda un dispositivo que tenga ventilación de tal manera que la estructura floral no se encuentre totalmente encerrada al momento de aislarla, por tal motivo en esta investigación se utilizó esta porción de manguera plástica transparente con la cubierta de gaza que deja respirar libremente la flor aislada.

Como se puede apreciar en la figura anterior, la parte superior de la porción de la manguera es cubierta por la gaza sujetada por la banda elástica y en la parte inferior se le coloca la plastilina en toda la circunferencia a modo que pueda acoplarse al tronco del árbol de cacao. Este dispositivo se sujeta al mismo árbol por medio de los dos alambres de floristería como se ve en la fotografía siguiente.



Figura 4. Dispositivo aislador, sujeto al árbol de cacao.

IV. Procedimiento

Metodológicamente, las polinizaciones se realizaron por medio de cruzamientos dialélicos incompletos, se efectuaron 55 polinizaciones cruzadas y 11 autopolinizaciones, en donde por cada material se realizaron 20 polinizaciones por árbol dando un total de 1320 polinizaciones artificiales.

La polinización manual o controlada en cacao, se realizó por medio de aislamiento de botones florales, lo que involucra diversos pasos, que se explican a continuación.

a) Preparación previa de la plantación

Esta actividad consiste en proporcionarle a los árboles que han sido seleccionados como padre y madre, las condiciones agronómicas adecuadas que necesita cualquier otra planta para poder garantizar una buena fecundación, desarrollo de frutos y asegurar que sean heredadas sus características en su futura generación.

Se realizaron riegos antes y durante la investigación considerando la época seca a intervalos de 3 días, para mantener la humedad adecuada en el suelo, se utilizó el método de riego de inundación focalizada aplicando 40 L de agua por planta durante 40 minutos, de acuerdo a las características físicas del suelo y las necesidades de la plantación.

Para lo cual se realizaron fertilizaciones previas utilizando un fertilizante completo (15-15-15) al suelo aplicando 112 g por planta en forma circular en el área de goteo y una fertilización foliar completo a una dosis de 50 cm^3 por bomba motorizada de mochila de 15 L, aplicando de tal manera de humedecer toda el área foliar de los árboles de cacao.



Figura 5. aplicación de fertilizante granulado al suelo.



Figura 6. Aplicación de fertilizante foliar con bomba motorizada de mochila.

Podas y saneamiento

Deschuponado: Se realizó un deschuponado que consiste en la eliminación de todos los brotes que se generan en el tronco y las ramas de los árboles, esto con el fin de mantener libre los cojines florales que se ubican en estas partes de la planta

Eliminación de frutos no deseados: Esta actividad consistió en la eliminación de frutos muertos o enfermos (generalmente dañados por *Phytoptora* y otras plagas, además se eliminaros todos los frutos ya formados que por características de la investigación no es necesario que estén presentes y causen confusión y puedan desarrollarse los frutos producto de las polinizaciones artificiales.

Podas de mantenimiento: Se podaron o eliminaron aquellas ramas que obstaculizaban la penetración de luz y aireación a la estructura del árbol para evitar así el incremento de la humedad relativa y el desarrollo de enfermedades fungosas.



Figura 7: Personal de apoyo en campo realizando podas.

Control de malezas: Debido a la competencia por luz solar, nutrientes y espacio dde las malezas con las plantas de cacao y para facilitar el acceso en el área de trabajo, es importante tener un control adecuado de malezas. Para ello se recomienda realizar un control de malezas mecánico utilizando una desbrozadora motorizada a cada 20 días.



Figura 8. Personal de apoyo en campo realizando control de malezas

b) Selección de botones florales

Un día antes a realizar las polinizaciones manuales se deben seleccionar los botones florales que estén fisiológicamente maduros y listos para abrirse el siguiente día por la mañana, los cuales generalmente se caracterizan por presentar un hinchamiento que indica el inicio de la abertura del botón para la formación de la flor.



Figura 9. Botones florales con características para ser seleccionados para la polinización manual

c) Aislamiento de botones florales

A los botones seleccionados se les debe colocar el dispositivo aislador, se hace para asegurar que al momento de aperturarse la flor ningún agente polinizador tenga acceso a ellas y así estar seguros que la polinización realizada manual será el resultado del cruce del padre y madre seleccionados.



Figura 10. Flor aperturada dentro del dispositivo aislador

d) Verificación de flores abiertas

El primer procedimiento que se realiza el día de la polinización es la verificación de que los botones que han sido seleccionados y aislados un día antes efectivamente hayan aperturado en flor, para esto simplemente se retira el dispositivo aislador y se verifica que en lugar de estar el botón que se aisló un día antes este en su lugar una flor aperturada.

e) Preparación de flores

Esta se realiza con las flores aperturadas del inciso anterior y consiste en realizar una emasculación lo que en otras palabras es separar el sexo masculino de las flores para manipular ambos sexos separadamente.



Figura 11. Organos femeninos separados



Figura 12 Órganos masculinos separados

f) Polinización manual

Es el proceso que consiste en tomar la parte masculina de la flor que se considera como padre (los estambres con su saco polínico) y frotarla en la parte femenina de la flor (la parte superior estigma o tubo polínico) considerada como madre.



Figura 13. Proceso de polinización manual (frotado de sacos polínicos de flor padre en estigma de flor madre)

g) Aislamiento de flores polinizadas

Este proceso consiste en volver a colocar el dispositivo aislante a las flores ya polinizadas, para asegurar que no sean polinizadas por otros agentes polinizadores naturales. El dispositivo se retira a los siete días luego de verificar que el fruto se haya formado.



Figura 14. Desarrollo de frutos a los siete, quince y treinta días, después de la polinización

V. Identificación de polinizaciones realizadas

La identificación de los cruces realizados en la plantación de cacao se realizó utilizando lana de colores, utilizando un color para diferenciar cada uno de las cruzas o auto polinizaciones controladas, tal como se presenta a continuación.



Figura 15. Cruce de materiales M1 X M2
Fuente: Proyecto DIGI No. 4.8.56.2.60 (2016)



Figura 16. Cruce de Materiales M6 X M1
Fuente: Proyecto DIGI No. 4.8.56.2.60 (2016)



Figura 17. Cruce de Materiales M7 X M1
Fuente: Proyecto DIGI No. 4.8.56.2.60 (2016)



Figura 18. Cruce de Materiales M5 X M1
Fuente: Proyecto DIGI No. 4.8.56.2.60 (2016)

VI. Evaluación de la habilidad combinatoria

Para la determinación de la habilidad combinatoria de cada material de cacao, se realizaron 20 polinizaciones de cada cruza y auto polinización deseada. A los 30 días después de realizada la fecundación se realiza el conteo de frutos formados y desarrollados, calculándose el porcentaje. Según la literatura y pruebas realizadas, la regla de decisión consiste en que los materiales que presenten porcentajes de pegue mayores o iguales al 30% se consideran inter compatibles o auto compatibles.

VII. Cosecha de frutos desarrollados

La cosecha de los frutos, producto de las polinizaciones controladas, se realiza a los cinco o seis meses después de realizada la fecundación, dependiendo de la precocidad de cada material.

VIII. Conceptualizaciones

Cacao criollo: Los cacaos denominados criollos (palabra que significa nativo pero de ascendencia extranjera), se originaron también en Sudamérica, pero fueron domesticados en México y Centro América y son conocidos también como híbridos de cacao dulce. Se caracterizan por sus frutos de cáscara suave y semillas redondas medianas a grandes, de color blanco a violeta, que se cultivan principalmente en América Central, México, Colombia y parte de Venezuela.

Polinización: La polinización del cacao es entomófila (realizada por insectos), entre estos los más importantes en llevar a cabo tanto la polinización cruzada como autopolinización, son diversas especies de la familia *Ceratopogonidae*. Estas son mosquitas diminutas, las cuales se encuentran en porcentajes variados, dependiendo del manejo de las plantaciones en diferentes zonas cacaoteras del mundo. Además, se menciona que en menor escala, y realizando particularmente autofecundaciones, se han encontrado trips, áfidos, hormigas y abejas. En la práctica, los niveles de polinización natural y consecuente producción de frutos por árbol son bajos.

Compatibilidad en cacao: Debido a que la planta de cacao posee polinización cruzada y que fundamentalmente depende la intervención de agentes polinizadores, según Noriega de la Cruz (2012) "especies de la familia *Ceratopogonidae"*y de acuerdo a Aranzazú Hernandez, Martínez Guerrero, & Rincón-Guarín (2008), "generalmente un díptero del género Forcipomya"(p.7). La incompatibilidad sexual es un fenómeno genético que según Aranzazú Hernandez, Martínez Guerrero, & Rincón-Guarín (2008), "está regido por un proceso bioquímico en el proceso de reconocimiento, aceptación o rechazo del polen…lo cual puede ocurrir en el tubo polínico o en el estigma de la flor receptora", de tal manera que la compatibilidad o incompatibilidad sexual se expresa en el porcentaje de flores que son fecundadas de forma natural o manual y forman frutos viables.

Tipos de compatibilidad:

- Auto-compatibilidad: Es cuando las flores de un árbol de cacao pueden fecundarse a sí mismas o a otras flores del mismo árbol.
- Inter-compatibilidad: Es cuando el polen de las flores de un árbol de cacao puede fecundar a las flores de otro árbol.
- Auto-incompatibilidad: Es cuando las flores de un árbol no pueden fecundarse a sí mismas o a flores del mismo árbol.
- Inter-incompatibilidad: Es cuando el polen de las flores de un árbol de cacao no puede fecundar a las flores de otro árbol

IX. Metodología utilizada:

Para realizar estos cruzamientos se utilizó el método de cruzamientos dialélicos incompletos, se efectuaron 55 polinizaciones cruzadas y 11 autopolinizaciones, en donde por cada material se realizaron 20 polinizaciones por árbol dando un total de 1320 polinizaciones artificiales.

Para determinar la capacidad combinatoria de los 11 materiales se utilizó una prueba estadística no paramétrica de Chi-cuadrado (x2) de bondad de ajuste, al nivel del 5 % de probabilidad y con 1 grado de libertad (valor crítico de tabla de 3.84). Considerando como dato de frecuencia esperada el valor del 30% de pegue de frutos. La fórmula utilizada fué la recomendada por Di Rienzo, Casanoves, Gonzalez, & Tablada, (2005).

X. Resultados obtenidos en la investigación realizada:

Con la realización de la presente investigación se obtuvieron los productos siguientes:

- Porcentaje de prendimiento y abscisiones de las flores de cacao en los 11 materiales de cacao criollo en estudio. Se obtuvieron 2 cruzas autocompatibles y 8 cruzas intercompatibles con un porcentaje arriba del 30% de pegue de flores a los 30 días después de la polinización artificial.
- Materiales de cacao criollo con porcentajes de compatibilidad adecuados (igual o mayores al 30%) para ser recomendados en el establecimiento de plantaciones comerciales de cacao criollo, se obtuvieron 2 materiales autocompatibles y 8 materiales intercompatibles.

XI. Conclusiones

- Los resultados obtenidos al tercer día demostraron que, de las 55 polinizaciones cruzadas y 11 autopolinizaciones, únicamente ocho polinizaciones cruzadas y dos autopolinizaciones dieron resultados positivos.
- Los resultados de los porcentajes obtenidos a los treinta días fueron tabulados y analizados por medio de la prueba de Xi cuadrado al 0,5% de significancia y tomándose como intercompatible o autocompatible aquellos materiales cuyos valores fueron mayores al comparador del 30% en esta prueba.
- Las polinizaciones cruzadas que presentaron crecimiento y desarrollo de fruto al trigésimo día fueron las siguientes: M1xM4 (30%), M1xM6 (30%), M1xM7 (55%), y M4xM5 (30%) estos materiales se consideran intercompatibles.
- De las autopolinizaciones únicamente solamente un material presentó crecimiento y desarrollo del fruto al trigésimo día fue el material M11 (60%) se considera autocompatible.

XII. Actividaddes de gestión, vinculación y divulgación

- Gestión con la facultad de agronomía; solicitud de personal técnico para capacitación de polinización controlada al personal involucrado en el proyecto.
- Capacitación para la elaboración de chocolate artesanal.
- Presentación del proyecto de investigación en el parque central de Mazatenango.
- Participación con un stand del proyecto en el congreso de investigación de sur occidente, celebrado en la ciudad de Quetzaltenango.
- Divulgación del proyecto de investigación en canal 7 de Cable DX local.
- Impresión de material en la modalidad de bifoliares para la divulgación con estudiantes, docentes, y público en general.
- Elaboración de afiches y trifoliares de para dar a conocer los resultados parciales y finales de la investigación, con las instituciones en vinculación.



Figura 19. Actividad de divulgación en diferentes medios de comunicación.

Fuente: Proyecto DIGI (2016).



Figura 20. Divulgación de resultados del Proyecto en programa televisivo Cable DX, Región+.

Fuente: Proyecto DIGI (2016).



Figura 21. Capacitación sobre elaboración de chocolate artesanal.

Fuente: Proyecto DIGI (2016).

XIII. Referencias

Aranzazú Hernandez, F., Martínez Guerrero, N., & Rincón-Guarín, D. A. (2008). *Autocompatibilidad e Intercompatibilidad sexual de materiales de cacao.* Bucaramanga: Corpoica.

Centro de Exportaciones e Inversiones. (Agosto de 2014). Boletín Cacao. *Cambiando paradigmas en el cultivo de cacao, 4*. Managua, Nicaragua.

Decker, G. (1956). *Estudios de autocompatibilidad y compatibilidad en cruces para determinar los hábitos de polinización de los clones de cacao de la*

EETPichilingue. Tesis Ingeniero Agrónomo, Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador.

Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Gonzalez, L., & Tablada, E. (2005). *Estadistica para las Ciencias Agropecuarias* (Sexta ed.). Cordova, Argentina: Brujas.

Esteban, C. A. (10 de Febrero de 2015). Condiciones del Jardin Clonal de Cacao. (D. Alvarado, Entrevistador) Mazatenango, Suchitepéquez, Guatemala.

Graziani de Fariñas, L., Ortiz de Bertrelli, L., Angulo, J., & Parra, P. (12 de enero de 2016). *scielo.org*. Obtenido de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2002000300006&lng=es&tlng=es.

International Cocoa Organization. (2014). *Informe Anual.* International Cocoa Organization (ICCO). Londres, Reino Unido: Westgate House.

Noriega de la Cruz, C. O. (2012). *Determinación de Habilidad Combinatoria de 14 clones de cacao (Theobroma cacao L.) de tipo nacional seleccionado por el INIAP en la Estación Experimental Litoral Sur (EELS).* Tesis Ingeniero Agrónomo, Escuela Politécnica del Ejercito, Departamento de Ciencias de la Vida, Santo Domingo, Ecuador.

Oportunidades de Negocios. (2 de Julio de 2015). Obtenido de Oportunidades de Negocios: http://www.negociosgt.com/main.php?id=310&show_item=1&id_area=157

Otzoy Rosales, M. R. (2013). *Búsqueda, rescate, caracterización agromorfológica y molecular y conservación de cacao (Theobroma cacao L.) tipo criollo, de los departamentos de Alta Verapaz, Izabal, Petén, Suchitepéquez y El Quiché.* Informe Final, CONCYT, SENACYT, FONACYT, CUNSURC-USAC, Guatemala.

Salvador, N., Espinoza, E., & Rojas, J. (Septiembre de 2012). Manual del cultivo de cacao blanco de Piura. 58. (M. Zegarra, M. Moscol, & R. Ganoza, Edits.) Piura, Perú: Athenea.

Somarriba C., E., Cerda B., R., Astorga D., C., Quezada Ch.i, F., & Vásquez M., N. (2010). *Reproducción sexual del cacao* (1 ed., Vol. Colección Escuelas de Campo No.2). Turrialba, Costa Rica: CATIE.

Vera, J. (1969). *Estudio de la compatibilidad en hibridos interclonales de cacaco (Theobroma cacao L.).* Tesis Ingeniero Agrónomo, Universidad de Guayaquil, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Guayaquil, Ecuador.

Este manual se realizó en base a las experiencias del proyecto de investigación “DETERMINACIÓN DE LA HABILIDAD COMBINATORIA DE 11 MATERIALES DE CACAO (*Theobroma cacao L.)* DE TIPO CRIOLLO, EN GRANJA ZAHORÍ, CUYOTENANGO, SUCHITEPÉQUEZ.”, avalado, aprobado y financiado por la Dirección General de Investigación de la Universidad de San Carlos de Guatemala, bajo la partida presupuestaria 4.8.56.2.60. Año de ejecución 2016