

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA

FACULTAD DE AGRONOMIA

**Determinación del Método de Colección y Conservación In Vitro
del Grano de Polen de Camu Camu (Myrciaria dubia H.B.K. Mc
Vaugh)**

Tesis para optar el Título de Ingeniero Agrónomo

Presentado por

Bachiller Steve Dávila Feijoo

Promoción 2000 – I

Iquitos – Perú


UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA

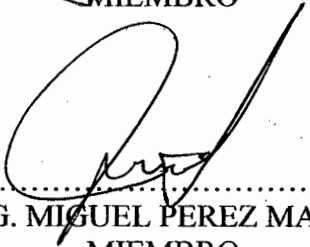
FACULTAD DE AGRONOMIA

TESIS APROVADO EN SUSTENTACIÓN PUBLICA EL DÍA VIERNES 13 DE AGOSTO DEL 2004, POR EL JURADO NOMBRADO POR LA FACULTAD DE AGRONOMIA PARA OBTAR EL TITULO DE:

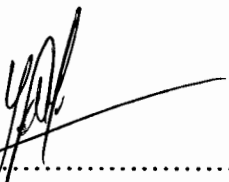
INGENIERO AGRÓNOMO


.....
ING. MS. ARMANDO VASQUEZ MATUTE
PRESIDENTE


.....
ING. JULIO PINEDO JIMENEZ
MIEMBRO

pot = 
.....
ING. MIGUEL PEREZ MARIN
MIEMBRO


.....
ING. MS. JOSE F. RAMIREZ CHUNG
ASESOR


.....
ING. RONALD YALTA VEGA
DECANO



DEDICATORIA

A MI ABUELITA MUJER CON BUENOS PRINCIPIOS MORALES QUE SUPO CONTAGIAR A SUS HIJOS Y NIETOS. TE QUIERO MUCHO.

A MI MADRE POR DARME LA VIDA E INCULCARMEN SIEMPRE AL ESTUDIO Y SUPERACIÓN; POR SU AMOR Y CARIÑO.

A MIS TÍOS JUAN Y OLGUITA QUIENES HICIERON POSIBLE MIS ESTUDIOS UNIVERSITARIOS; POR EL CARIÑO Y LA CONFIANZA QUE DEPOSITARON EN MÍ.

AGRADECIMIENTO

Al Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP) por la oportunidad que me dio para realizar el trabajo de tesis.

Al Ing. Mario Pinedo Panduro, investigador del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana por su constante orientación como co - asesor.

Al Ing. José Francisco Ramírez Chung, profesor principal de la Facultad de Agronomía, asesor de la presente tesis, por su valiosa orientación.

Al personal que labora en el Laboratorio de Micro propagación Vegetal de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, que con su apoyo han hecho posible la ejecución del presente trabajo de investigación.

Al Ing. Sergio Ubaldo Ríos Bardales por su apoyo y colaboración en la culminación del trabajo de tesis.

A todas aquellas personas que de una u otra manera participaron y contribuyeron en el desarrollo de este trabajo de tesis.

INDICE GENERAL

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	14
1.1. PROBLEMA, HIPÓTESIS Y VARIABLES.....	14
a. <i>El Problema</i>	14
b. <i>Hipótesis General</i>	15
c. <i>Identificación de las Variables</i>	15
1.2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	16
a. <i>Objetivo General</i>	16
b. <i>Objetivos Específicos</i>	16
1.2. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA	16
CAPITULO II: METODOLOGIA	18
2.1. MATERIALES	18
2.1.1. <i>Procedencia del Material Experimental</i>	18
2.1.2. <i>Materiales y Equipos</i>	18
2.2. METODOLOGÍA	19
2.2.1. <i>Método de Cosecha de Flores</i>	19
2.2.2. <i>Extracción del Polen de las Flores</i>	19
2.2.3. <i>Conservación de Polen</i>	20
2.2.4. <i>Siembra del Polen</i>	20
2.2.5. <i>Evaluación de la Viabilidad del Polen</i>	20
2.3. DISEÑO Y ESTADÍSTICA EMPLEADA	21
2.3.1. <i>Diseño</i>	21
CAPITULO III: REVISION DE LITERATURA	23
3.1. MARCO TEÓRICO	23
3.1.1. <i>Clasificación Taxonomica</i>	23
3.1.2. <i>Descripción Botánica</i>	23
3.1.3. <i>Biología Floral</i>	24
3.1.4. <i>Importancia del Uso del Polen</i>	25
3.1.5. <i>Ventajas y Desventajas de la Conservación del Polen</i>	25
3.1.6. <i>Factores Ambientales</i>	26
3.1.7. <i>Contenido de Humedad</i>	28
3.1.8. <i>Temperatura</i>	28
3.1.9. <i>Polen Bicelular y Tricelular</i>	29
3.1.11. <i>Crecimiento del Tubo de Polen</i>	30
3.1.12. <i>Almacenaje</i>	30
3.1.13. <i>Prueba de Viabilidad</i>	31
3.2. MARCO CONCEPTUAL	36
CAPITULO IV: ANÁLISIS Y PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS.....	38
4.1 MÉTODOS DE COSECHA DE LA FLOR	38
4.2 CARACTERIZACIÓN DEL GRANO DE POLEN	39
4.2 ANÁLISIS DE LAS VARIABLES EN ESTUDIO.....	40
4.2.1 <i>Porcentaje de Germinación</i>	41
4.2.2 <i>Longitud del Tubo Polínico</i>	48
4.3 POLEN A TEMPERATURA AMBIENTE. OBSERVACIONES.....	54
4.4 ANÁLISIS DE REGRESIÓN Y CORRELACIÓN: LONGITUD DEL TUBO POLÍNICO (LTP) VERSUS % GERMINACIÓN.....	54

4.4.1	<i>Antes de la Antesis y -8 °C</i>	54
4.4.2	<i>Antes de la Antesis y 8 °C</i>	55
4.4.3	<i>Después de la Antesis y -8 °C</i>	56
4.4.4	<i>Después de la Antesis y 8 °C</i>	57
4.4.5	<i>Análisis en Conjunto: LTP Vs %Germinación</i>	58
CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		60
5.1.	CONCLUSIONES	60
5.2.	RECOMENDACIONES.....	61
5.3.	BIBLIOGRAFÍA:.....	62
5.4.	ANEXO.....	65

INDICE DE CUADROS

CUADRO N° 1. ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA QUINTA SEMANA. DATOS TRANSFORMADOS ARC SENO.	44
CUADRO N° 2 ANÁLISIS DE EFECTOS SIMPLES DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA QUINTA SEMANA.	45
CUADRO N° 3 PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.....	45
CUADRO N° 4 ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA SEMANA DOCE	46
CUADRO N° 5 PRUBA DE DUNCAN 5%.....	46
CUADRO N° 6 ANÁLISIS DE EFECTOS SIMPLES DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA SEMANA DOCE.....	47
CUADRO N° 7 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LONGITUD DE TUBO POLÍNICO A LA QUINTA SEMANA. DATOS TRANSFORMADOS ARC SENO.....	50
CUADRO N° 8 PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.....	51
CUADRO N° 9 ANÁLISIS DE EFECTOS SIMPLES DE LONGITUD DE TUBO POLÍNICO A LA QUINTA SEMANA.	51
CUADRO N° 10 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LONGITUD DE TUBO POLINICO A LA SEMANA DOCE. DATOS TRANSFORMADOS ARC SENO	52
CUADRO N° 11 PRUEBA DE DUNCAN 5%	52
CUADRO N° 12 ANÁLISIS DE EFECTOS SIMPLES DE LONGITUD DE TUBO POLINICO A LA SEMANA DOCE.....	53
CUADRO N° 13 ANÁLISIS DE REGRESIÓN PARA EL TRATAMIENTO T1.....	55
CUADRO N° 14 ANÁLISIS DE REGRESIÓN PARA EL TRATAMIENTO T2.....	56
CUADRO N° 15 ANÁLISIS DE REGRESIÓN PARA EL TRATAMIENTO T3.....	57
CUADRO N° 16 ANÁLISIS DE REGRESIÓN PARA EL TRATAMIENTO T4.....	58
CUADRO N° 17 ANÁLISIS DE REGRESIÓN EN CONJUNTO	59

INDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N° 1 GERMINACIÓN DE GRANOS DE POLEN AL INICIO DEL EXPERIMENTO.....	42
GRÁFICO N° 2 PORCENTAJE DEL PODER GERMINATIVO DEL POLEN PROMEDIO / SEMANA.....	42
GRÁFICO N° 3 INTERACCIÓN DE FACTORES SEMANA 5 DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN.....	44
GRÁFICO N° 4 INTERACCIÓN DE FACTORES SEMANA 12 DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN.....	47
GRÁFICO N° 5 LONGITUD DEL TUBO POLINICO DEL POLEN AL INICIO DEL EXPERIMENTO.....	49
GRÁFICO N° 6 PROMEDIOS POR SEMANA DE LA LONGITUD DEL TUBO POLINICO DEL GRANO DE POLEN.....	49
GRÁFICO N° 7 INTERACCIÓN SEMANA 5 DE LA LONGITUD DEL TUBO POLINICO.....	52
GRÁFICO N° 8 INTERACCIÓN SEMANA 12 DE LA LONGITUD DEL TUBO POLINICO.....	53
GRÁFICO N° 9 GRÁFICO DE CORRELACIÓN DEL TRATAMIENTO T1	55
GRÁFICO N° 10 GRÁFICO DE CORRELACIÓN DEL TRATAMIENTO T2	56
GRÁFICO N° 11 GRÁFICO DE CORRELACIÓN DEL TRATAMIENTO T3	57
GRÁFICO N° 12 GRÁFICO DE CORRELACIÓN DEL TRATAMIENTO T4	58
GRÁFICO N° 13 GRÁFICO DE CORRELACIÓN EN CONJUNTO.....	59

INDICE DE ANEXO

ANEXO N° 1	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA COSECHA.....	66
ANEXO N° 2	PODER GERMINATIVO DEL POLEN (%SEMANAL).....	66
ANEXO N° 3	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA PRIMERA SEMANA. DATOS TRANSFORMADOS ARC SENO.	66
ANEXO N° 4	ANÁLISIS DE EFECTOS SIMPLES DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA PRIMERA SEMANA.	66
ANEXO N° 5	PRUEBA DE DUNCAN AL 5%	66
ANEXO N° 6	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA SEGUNDA SEMANA. DATOS TRANSFORMADOS ARC SENO.	67
ANEXO N° 7	PRUEBA DE DUNCAN AL 5%	67
ANEXO N° 8	ANÁLISIS DE EFECTOS SIMPLES DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA SEGUNDA SEMANA.....	67
ANEXO N° 9	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA TERCERA SEMANA. DATOS TRANSFORMADOS ARC SENO.	67
ANEXO N° 10	PRUEBA DE DUNCAN AL 5%	67
ANEXO N° 11	ANÁLISIS DE EFECTOS SIMPLES DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA TERCERA SEMANA.....	68
ANEXO N° 12	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA CUARTA SEMANA. DATOS TRANSFORMADOS ARC SENO.	68
ANEXO N° 13	PRUEBE DE DUNCAN AL 5%	68
ANEXO N° 14	ANÁLISIS DE EFECTOS SIMPLES DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA CUARTA SEMANA.	68
ANEXO N° 15	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA SEXTA SEMANA. DATOS TRANSFORMADOS ARC SENO	68
ANEXO N° 16	PRUEBA DE DUNCAN AL 5%	69
ANEXO N° 17	ANÁLISIS DE EFECTOS SIMPLES DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA SEXTA SEMANA.....	69
ANEXO N° 18	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA SEPTIMA SEMANA. DATOS TRANSFORMADOS ARC SENO	69
ANEXO N° 19	PRUBA DE DUNCAN 5%	69

ANEXO N° 20	ANÁLISIS DE EFECTOS SIMPLES DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA SEPTIMA SEMANA.....	69
ANEXO N° 21	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA OCTAVA SEMANA. DATOS TRANSFORMADOS ARC SENO.....	70
ANEXO N° 22	PRUEBA DE DUNCAN 5%.....	70
ANEXO N° 23	ANÁLISIS DE EFECTOS SIMPLES DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA OCTAVA SEMANA.....	70
ANEXO N° 24	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA NOVENA SEMANA. DATOS TRANSFORMADOS ARC SENO.....	70
ANEXO N° 25	PRUEBA DE DUNCAN 5%.....	70
ANEXO N° 26	ANÁLISIS DE EFECTOS SIMPLES DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA NOVENA SEMANA.....	71
ANEXO N° 27	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA DÉCIMA SEMANA. DATOS TRANSFORMADOS ARC SENO.....	71
ANEXO N° 28	PRUEBA DE DUNCAN 5%.....	71
ANEXO N° 29	ANÁLISIS DE EFECTOS SIMPLES DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA DÉCIMA SEMANA.....	71
ANEXO N° 30	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA SEMANA N°11. DATOS TRANSFORMADOS ARC SENO.....	71
ANEXO N° 31	PRUEBA DE DUNCAN 5%.....	72
ANEXO N° 32	ANÁLISIS DE EFECTOS SIMPLES DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN A LA SEMANA N°11.....	72
ANEXO N° 33	ANÁLISIS DE VARIANZA DE LONGITUD DE TUBO POLÍNICO A LA COSECHA.....	72
ANEXO N° 34	LONGITUD DE TUBO POLÍNICO U/ SEMANA.....	72
ANEXO N° 35	ANÁLISIS DE VARIANZA DE LONGITUD DE TUBO POLÍNICO A LA PRIMERA SEMANA. DATOS TRANSFORMADOS ARC SENO.....	72
ANEXO N° 36	PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.....	72
ANEXO N° 37	ANÁLISIS DE EFECTOS SIMPLES DE LONGITUD DE TUBO POLÍNICO A LA PRIMERA SEMANA.....	73
ANEXO N° 38	ANÁLISIS DE VARIANZA DE LONGITUD DE TUBO POLÍNICO A LA SEGUNDA SEMANA. DATOS TRANSFORMADOS ARC SENO.....	73
ANEXO N° 39	PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.....	73
ANEXO N° 40	ANÁLISIS DE EFECTOS SIMPLES DE LONGITUD DE TUBO POLÍNICO A LA SEGUNDA SEMANA.....	73

ANEXO N° 41	ANÁLISIS DE VARIANZA DE LONGITUD DE TUBO POLÍNICO A LA TERCERA SEMANA. DATOS TRANSFORMADOS ARC SENO.	73
ANEXO N° 42	PRUEBA DE DUNCAN AL 5%	74
ANEXO N° 43	ANÁLISIS DE EFECTOS SIMPLES DE LONGITUD DE TUBO POLÍNICO A LA TERCERA SEMANA.....	74
ANEXO N° 44	ANÁLISIS DE VARIANZA DE LONGITUD DE TUBO POLÍNICO A LA CUARTA SEMANA. DATOS TRANSFORMADOS ARC SENO.....	74
ANEXO N° 45	PRUEBA DE DUNCAN AL 5%	74
ANEXO N° 46	ANÁLISIS DE EFECTOS SIMPLES DE LONGITUD DE TUBO POLÍNICO A LA CUARTA SEMANA.	74
ANEXO N° 47	ANÁLISIS DE VARIANZA DE LONGITUD DE TUBO POLÍNICO A LA SEXTA SEMANA. DATOS TRANSFORMADOS ARC SENO.....	75
ANEXO N° 48	PRUEBA DE DUNCAN 5%.....	75
ANEXO N° 49	ANÁLISIS DE EFECTOS SIMPLES DE LONGITUD DE TUBO POLÍNICO A LA SEXTA SEMANA.....	75
ANEXO N° 50	ANÁLISIS DE VARIANZA DE LONGITUD DE TUBO POLÍNICO A LA SEPTIMA SEMANA. DATOS TRANSFORMADOS ARC SENO.....	75
ANEXO N° 51	PRUEBA DE DUNCAN 5%.....	75
ANEXO N° 52	ANÁLISIS DE EFECTOS SIMPLES DE LONGITUD DE TUBO POLÍNICO A LA SEPTIMA SEMANA.....	76
ANEXO N° 53	ANÁLISIS DE VARIANZA DE LONGITUD DE TUBO POLÍNICO A LA OCTAVA SEMANA. DATOS TRANSFORMADOS ARC SENO.....	76
ANEXO N° 54	PRUEBA DE DUNCAN 5%.....	76
ANEXO N° 55	ANÁLISIS DE EFECTOS SIMPLES DE LONGITUD DE TUBO POLÍNICO A LA OCTAVA SEMANA.....	76
ANEXO N° 56	ANÁLISIS DE VARIANZA DE LONGITUD DE TUBO POLÍNICO A LA NOVENA SEMANA. DATOS TRANSFORMADOS ARC SENO.....	76
ANEXO N° 57	PRUEBA DE DUNCAN 5%.....	77
ANEXO N° 58	ANÁLISIS DE EFECTOS SIMPLES DE LONGITUD DE TUBO POLÍNICO A LA NOVENA SEMANA.....	77
ANEXO N° 59	ANÁLISIS DE VARIANZA DE LONGITUD DE TUBO POLÍNICO A LA DÉCIMA SEMANA. DATOS TRANSFORMADOS ARC SENO.	77
ANEXO N° 60	PRUEBA DE DUNCAN 5%.....	77
ANEXO N° 61	ANÁLISIS DE EFECTOS SIMPLES DE LONGITUD DE TUBO POLÍNICO A LA DÉCIMA SEMANA.	77

ANEXO N° 62	ANÁLISIS DE VARIANZA DE LONGITUD DE TUBO POLÍNICO A LA SEMANA N°11. DATOS TRANSFORMADOS ARC SEN.	78
ANEXO N° 63	PRUEBA DE DUNCAN.....	78
ANEXO N° 64	ANÁLISIS DE EFECTOS SIMPLES DE LONGITUD DE TUBO POLÍNICO A LA SEMANA N°11.....	78
ANEXO N° 65	MAPA DE UBICACIÓN DEL RODAL NATURAL DE CAMU CAMU EN EL LAGO DE MORONACOA	79
ANEXO N° 66	DATOS METEOROLÓGICOS A LA COSECHA DE LAS FLORES.....	80

INTRODUCCIÓN

El cultivo de camu-camu en la Amazonía Peruana es una actividad económica con grandes perspectivas, dentro de este marco es considerado un valioso recurso no solo por su concentración de ácido ascórbico sino por que su producción representa una gran fuente de ingreso económico. En este sentido, y desde que se conoce la capacidad del polen para transmitir caracteres genéticos importantes, la conservación a través del almacenamiento de polen es factible para manejar la variabilidad genética del camu-camu.

La pulpa de este fruto según Flores (1997) en su estado maduro es comestible, ácido, y tiene sabor y aroma agradable utilizado en la preparación de refrescos, néctares, mermeladas, helados, vinagre y en la industria farmacéutica. Comparado con todos los frutos tropicales contiene el mayor valor de ácido ascórbico de hasta 4000mg /100g de pulpa, por lo que es considerado un frutal de primer orden para la agroindustria.

El propósito de cultivar polen (Hurtado1994), es el de producir plantas haploides mediante la inducción de la embriogenesis (desarrollo y/o formación del embrión). Estas plantas pueden emplearse en programas de mejoramiento para seleccionar características deseables, desarrollando líneas homocigóticas para la producción de híbridos en especies compatibles entre si.

El polen es un producto de recombinación genética y puede proporcionar una fuente fiable de diversidad genética nuclear en la fase haploide. Generalmente se exige el polen almacenado para los cruces controlados.

El propósito del trabajo es contribuir a la conservación y el uso de los recursos genéticos de la planta, desarrollando metodologías para la conservación y uso del polen. Se ha determinando la longevidad del polen en un medio artificial conveniente para su germinación in vitro y una temperatura adecuada para su conservación.

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Problema, hipótesis y variables

a. *El Problema*

A partir de 1997 instituciones gubernamentales como el Ministerio de Agricultura, el Instituto de Investigación Agraria, y el Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana promocionaron la plantación de camu camu en restinga. Esta promoción permitió la instalación de plantaciones en tierras de pequeños agricultores sin experiencia previa. La totalidad de estas plantaciones fueron establecidas con semilla no seleccionada procedente de rodales naturales, lo que ha dado origen a plantaciones con características muy heterogéneas (Pinedo M.2004).

Los altos niveles de variabilidad y desuniformidad presentes en las poblaciones naturales y en plantaciones de agricultores; y las exigencias del mercado permiten proponer un ideotipo de planta; a través de méjoramiento genético.

El propósito de cultivar anteras y polen es el de producir plantas haploides mediante la inducción de la embriogénesis a partir de microesporas o de granos de polen inmaduros. Además al contener la mitad del número cromosómico, las plantas haploides pueden emplearse en programas de fitomejoramiento para seleccionar características deseables, o bien, para desarrollar líneas homocigóticas para la producción de híbridos en especies compatibles entre sí (Hurtado 1994).

El crecimiento de los tubos del polen es un fenómeno fascinador que ha servido como sistema modelo para la investigación. Los granos de polen son las estructuras pequeñas (generalmente 10 – 50um en diámetro) que contienen dos o tres núcleos cuando son lanzados de la antera (es decir en la anthesis). Cuando un grano viable del polen aterriza en el estigma de

una flor compatible, produce un tubo de varios micrómetros de largo en el cual viajan los núcleos del polen al ovario de la flor (Goldman 1993).

¿Qué métodos de colección y conservación de granos de polen de camu camu influyen en el porcentaje de germinación y longitud del tubo polínico?.

b. *Hipótesis General*

H1: Al menos un método de colección de polen de camu camu influye en el porcentaje de germinación y longitud del tubo polínico.

H2: Al menos un método de conservación de polen de camu camu influye en el porcentaje de germinación y longitud del tubo polínico.

H3: Existe interacción entre el método de colección y el método de conservación de polen de camu camu

c. *Identificación de las Variables*

1. Variables independientes:

1. Métodos de colección
2. Métodos de conservación.

2. Variable dependiente:

1. Porcentaje de germinación.
2. Longitud del tubo polínico.

1.2. Objetivos de la Investigación

a. *Objetivo General*

1. Determinar el método de colección más adecuado del grano de polen de Camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. Mc Vaugh) en función de la tecnología reproductiva y a la temperatura de almacenamiento.
2. Determinar el método de conservación más adecuado del grano de polen de Camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. Mc Vaugh) en función de la tecnología reproductiva y a la temperatura de almacenamiento.
3. Determinar la interacción entre el método de colección y el método de conservación del grano de polen de Camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. Mc Vaugh) en función de la tecnología reproductiva y a la temperatura de almacenamiento.

b. *Objetivos Específicos*

1. Caracterizar la morfología del grano de polen.
2. Determinar cual es el estado de antesis más adecuado en grano de polen para promedios de porcentaje de germinación con respecto a la temperatura de conservación.
3. Determinar cual es la mejor temperatura de conservación de grano de polen para promedios de porcentaje de germinación con respecto al estado de antesis.
4. Determinar el efecto de la interacción en la conservación del granos de polen.

1.2. Justificación e Importancia

JUSTIFICACION

La especie representa una opción de gran potencial para el establecimiento de sistemas agrícolas de producción sostenible en zonas inundables de la Amazonia Peruana y que su aprovechamiento comercial

a mediano y largo plazo requiere el establecimiento de plantaciones utilizando material genético seleccionado.

La obtención del polen permitirá su utilización en experimentos de polinización controlada, así mismo el cultivo de anteras y polen (producción de plantas haploides) para la producción de híbridos, técnica básica esencial para los programas de mejoramiento genético.

Con el cultivo de anteras y polen se abreviara significativamente el tiempo necesario para la purificación de líneas.

IMPORTANCIA

La importancia de poder coleccionar y almacenar polen viable nos va permitir realizar trabajos de mejoramiento hasta la obtención de plantas genéticamente superiores lo cual va repercutir en el desarrollo agrario, así mismo incrementar ingresos al poblador especialmente rural.

CAPITULO II: METODOLOGIA

2.1. MATERIALES

2.1.1. *Procedencia del Material Experimental*

Para la realización de este trabajo, las flores fueron colectadas en los rodales naturales del Lago "Morona – Cocha" y las evaluaciones respectivas se hicieron en el Laboratorio de Micro propagación Vegetal de la UNAP.

Ubicación Geográfica del Lago Morona – Cocha.

Longitud : 79° 48' 07.8''

Latitud : 03° 58' 47.9''

Altitud : 114 msnm

2.1.2. *Materiales y Equipos*

Tabla 1. Materiales e insumos utilizados.

Laboratorio	Campo
➤ Sacarosa	➤ Tijera podadora
➤ Ácido bórico	➤ Caja de cartón
➤ Nitrato de calcio	➤ Canoa
➤ Microscopio (Carl Zeiss Standard 25 ICS, 230v AC)	
➤ Refrigeradora (Friolux KR-150, 15 P3)	
➤ Placa de zarandeo	
➤ Placas petri	
➤ Laminas porta objeto	

2.2. METODOLOGÍA

2.2.1. *Método de Cosecha de Flores*

Se evaluaron dos momentos de cosecha de flor para la extracción de polen:

1° Cosecha de la flor antes de la antesis: Se colectaron ramas con un promedio de 30 cm. de largo conteniendo botones florales, los cuales fueron puestos en una solución de sacarosa (5%) para inducir la apertura de la flor y la liberación de estambres. La colección se realizó entre las 5 y 6 de la tarde antes que oscurezca; los botones florales tuvieron que estar en el estado próximo a su apertura, la cual ocurre desde las 5 hasta las 9 de mañana.

2° Cosecha de la flor después de la antesis: Se colectaron ramas con las flores abiertas, cortando las hojas o quitándolas si fuera posible (ya que las hojas se encontraron húmedas por el rocío de la mañana) las cuales fueron puestas en una caja para su traslado. La recolección se realiza entre las 6 y 7 de la mañana.

2.2.2. *Extracción del Polen de las Flores*

La forma de extracción de polen fue la misma para ambos tipos de cosecha de la flor:

Se quitan las flores de las ramas.

Son puestas en un envase conteniendo una malla de nylon la cual sirve de colador entre el polen y el resto de la flor.

Se tapa el envase y se agita o golpea provocando la caída del polen.

Luego el polen es puesto en una botella pequeña de vidrio sin tapa las cuales son puestas en un envase plástico (envase de película de fotos) con Sílica Gel cerrado herméticamente.

2.2.3. *Conservación de Polen*

Luego de extraído el polen fue colocado en refrigeración para su conservación bajo dos temperaturas: -8°C y 8°C .

2.2.4. *Siembra del Polen.*

Pasos:

- Se preparo el medio de cultivo.
- En una lamina porta objeto se colocaron los granos de polen.
- Encima de los granos de polen se instiló una gota del medio de cultivo (Tabla 2).
- Esta lamina porta objeto fue colocado dentro de una placa petri.
- Se tapó la placa petri. La tapa tuvo papel filtro humedecido para evitar que el medio de cultivo se seque.
- Se puso a luz continua a 30°C durante dos horas.

2.2.5. *Evaluación de la Viabilidad del Polen*

La evaluación de la viabilidad del polen se realizó mediante una prueba de germinación que consistió en la utilización de un medio de cultivo in vitro.

El medio de cultivo utilizado tuvo la siguiente composición (por cada 100ml):

Tabla 2. Medio de cultivo in Vitro.

INSUMOS	Concentración
Sacarosa	10.00 gr.
Ácido bórico	0.01 gr.
Nitrato de calcio	0.03 gr.
Agua destilada	100.0 ml.

Se procedió como sigue:

Se colocó una lamina cubre objeto sobre la muestra. Para su evaluación se utilizó un microscopio a 100 X.

Se procedió al conteo de los granos germinados, obteniendo el porcentaje de viabilidad.

Se midió la longitud del tubo polínico.

Las evaluaciones se realizaron el día de la cosecha, y con frecuencia diaria durante la primera semana; al ver que el porcentaje de viabilidad del polen se mantuvo igual durante la primera semana, se realizaron evaluaciones semanales.

2.3. Diseño y Estadística Empleada**2.3.1. Diseño**

Se aplicó el Diseño Irrestrictamente al Azar con 4 repeticiones, con un arreglo factorial de 2x2, haciendo un total de 4 tratamientos. Se trabajo en Microsoft Excel con transformaciones al arco seno para la variable porcentaje de germinación y se utilizo el análisis de regresión simple.

Tabla 3. Análisis de Varianza

FV	GL	ECM
A	(a-1)	$\sigma_e + \frac{rb \sum B_i^2}{a-1}$
B	(b-1)	$\sigma_e + \frac{ra \sum B_j^2}{b-1}$
AB	(a-1)(b-1)	$\sigma_e + r\sigma_{AB}$
Error	ab(r-1)	σ_e
Total	abr-1	

Tratamientos:**1. Época de Recolección (A)**Recolección antes de la antesis (**a1**)Recolección después de la antesis (**a2**)**2. Temperatura de Conservación (B)**Temperatura de conservación a -8° C (**b1**)Temperatura de conservación a 8° C (**b2**)**TRATAMIENTOS EN ESTUDIO**

Código	Descripción
T1 (a1b1)	Polen recolectado antes de la antesis y almacenadas a -8° C
T2 (a1b2)	Polen recolectado antes de la antesis y almacenadas a 8° C.
T3 (a2b1)	Polen recolectado después de la antesis y almacenadas a -8° C.
T4 (a2b2)	Polen recolectado después de la antesis y almacenadas a 8° C.

En las evaluaciones también se tomaron datos de polen a temperatura ambiente a manera de comparación, las cuales se hicieron en forma descriptiva.

CAPITULO III: REVISION DE LITERATURA

3.1. Marco Teórico

3.1.1. Clasificación Taxonómica

(Vásquez A. 2000)

Reino	:	Plantae
División	:	Fanerógamas
Subdivisión	:	Angiosperma
Clase	:	Dicotiledoneas
Subclase	:	Eleuteropetalas
Sección	:	Calciflora
Orden	:	Myrtiflorinea
Familia	:	Myrtacea
Género	:	Myrciaria
Especie	:	Dubia Mc. Vaugh (camu camu arbusto)

Inicialmente el camu-camu arbusto fue identificado en 1958 por Mc. Vaugh como Myrciaria paraensis Berg; pero más tarde al hacer una revisión de la nomenclatura fue cambiado por Myrciaria dubia.

3.1.2 Descripción Botánica

La raíz del camu-camu esta formada por una raíz principal y raíces secundarias en gran cantidad, **Vásquez (2000)**. Luego de la vaciante de los ríos se observa gran cantidad de raíces adventicias a lo largo del tallo. El tallo es muy ramificado y presenta arquitecturas diferentes. El tronco es delgado con diámetros muy variables, la corteza es lisa y coreacea, las cuales presentan laminillas que se desprenden fácilmente. Las hojas varían de aovadas a elípticas, y otras que tienen forma

lanceolada, varían de 6 a 13 cm. de largo y 2 a 5 cm. de ancho, ápice acuminado, base redondeada, nervio central aplanado en el haz y ligeramente prominente en el envés, además posee un nervio característico al borde del filo de la hoja; las hojas son simples y compuestas.

Según **Vásquez (2000)** la flor Tiene inflorescencia tipo capitulo y se encuentra dispersa en toda la planta a lo largo de la floración; cada inflorescencia agrupa entre 6 a 8 flores subséciles, dispuestas en dos pares de brácteas que son redondeadas y cilíndricas de hasta 1.5 mm de largo, pedicelo de 1.5 mm de largo por 1 mm de diámetro, bractéola aovada persistente, de ápice redondo unidas en la base por su margen en un involucre cupuliforme de 2 a 3.5 mm de largo por 1.5 a 2 mm de ancho, hispanto sésil y caduco desde la parte superior del ovario después de la antesis, glabro dentro y fuera, lóbulos del cáliz redondeados de 2 a 2.2 mm de ancho y largo, glanduloso, estilo de 10 a 11 mm de longitud, pétalos blancos y ciliados, estambres en número de 125 a más, de 7 a 10 mm de largo, anteras de 0.5 a 0.7 mm de largo. El fruto es una baya cuyo peso varía de 3 a 10 gr. con peso promedio de 6.5 gr.

3.1.3. *Biología Floral*

Riva (1995); indica que a los 15 días de emisión, los botones florales se abren adquiriendo un color blanco, que al ser polinizados adquiere un color marrón.

Villachica (1996); explica que durante la antesis, el estilo sale primero y después pasa un lapso de varias horas antes que salgan los estambres. **Vásquez (2000)**; es decir, el órgano femenino de la planta, en este caso el estilo, sale primero y permanece receptivo por 4 a 5 horas, sin embargo los estambres aún no están disponibles y cuando esto sucede el estilo ya no esta receptible.

3.1.4. *Importancia del Uso del Polen*

Flores (1997) informa que la promoción del cultivo industrial del camu-camu, demanda esfuerzos investigativos en selección de especies superiores e hibridaciones para mejorar la producción y calidad de la fruta así como para conferir tolerancia a plagas y enfermedades.

Yong et al (1992) reporta que, el cultivo del polen es útil para producir las plantas haploides. También ofrece un sistema experimental eficiente para la inducción de la mutación y el manipuleo genético.

3.1.5. *Ventajas y Desventajas de la Conservación del Polen*

Ben (1993) habla sobre, las ventajas y desventajas de la conservación del polen:

Ventajas:

- 1̃ Cuando la especie que se preservara tiene semillas recalcitrantes y exhibe una respuesta pobre a los métodos del cultivo de tejido; el polen, si pudiese ser almacenado por un largo plazo, sería un modo adecuado de la conservación ex situ.
- 2̃ El polen se manda a deshelar y a rehidratar, y esta fácilmente pronto para usar. Los cruces controlados se pueden hacer directamente con polen mientras que, con las semillas, uno tendría que esperar la planta de semillero hasta la madurez.
- 3̃ El polen es más económico almacenar debido a su pequeño tamaño.
- 4̃ Los bancos de polen podrían representar a poblaciones grandes y haploides.

Desventajas:

1. Solamente la mitad del genoma serán preservado y estos genes pueden divergir extensamente de los deseados. sin embargo los alelos se pueden recombinar en el futuro, que forman las generaciones si persisten en el polen preservado.

2. El método de almacenaje del polen se puede seleccionar para los genotipos específicos, alterando frecuencias del gen en la progenie producida. Porque la ley de Hardy-Weinburg analiza si hay selección en el nivel gametofítico este desarrollo podría conducir a una pérdida permanente de alelos raros.
3. Las ventajas que se derivarán del almacenaje del polen son dependientes de la supervivencia y la fertilidad de las hembras de la especie o de su supervivencia en el almacenaje como tejido fino o semillas y el crecimiento subsecuente a la madurez. Además, incluso después de la polinización acertada, muchas especies del árbol (*Pinus* por ejemplo) tiene tiempos de desarrollo de la semilla de 18 a 24 meses durante los cuales daños de insectos, abortos de la flor, etc. pueden dar lugar a la producción pobre. Pues el uso de polen almacenado implicará generalmente la producción de semillas, el uso de las mismas semillas como vehículo de la conservación genética parecería ser una estrategia preferible, cuando esto es posible.

Las consideraciones precedentes afectan la decisión estratégica para utilizar el polen en la conservación del gen.

3.1.6. *Factores Ambientales*

Pickert (1988); dice que, los factores ambientales más importantes para la conservación acertada del polen son temperatura del almacenaje y contenido de agua del material; bajar ambos ayuda a aumentar el periodo de la viabilidad. Los granos secos del polen almacenado en -20° C por casi 10 meses tienen un porcentaje de la germinación cerca de 80% en *Arabidopsis thaliana* L.

Moreira (1993) informa que el éxito de la preservación del polen, depende principalmente de la temperatura y la humedad relativa de almacenamiento. Polen de diferentes familias almacenadas en diferentes condiciones de humedad relativa, ofrecerán mejores resultados entre 60 y

80%. Pasado los límites indicados la pérdida de viabilidad fue drástica.

Stanley (1974) indica que las temperaturas bajas o altas durante el periodo de desarrollo pueden afectar la cantidad y la respuesta de la germinación del polen maduro. La humedad y el estatus alimenticio de la planta pueden también afectar la viabilidad y abundancia de polen. La deficiencia del boro en el medio o el suelo puede también reducir la producción viable del polen.

Ben (1993) menciona que la sacarosa, el boro, y/o la concentración del calcio y/o el nivel óptimo del pH en el medio de la germinación es específico para cada especie. Polen envejecido requiere a menudo concentraciones más altas de azúcar y/o boro en el medio, que el polen fresco para la germinación óptima.

Ben (1993) informa que, es de extrema importancia desarrollar un método para probar la viabilidad del polen que correlacione bien y constantemente con la capacidad del polen de producir la semilla. Precisa que, aunque la observación de la germinación correlaciona generalmente bien con una capacidad del polen de fijar muchas semillas, este no es siempre el caso.

Hurtado (1994) reporta que no todos los granos de polen responden de la misma forma: algunos desarrollan un crecimiento de tubo polínico poco significativo, mientras que otros continúan su patrón de desarrollo normal y originan largos tubos polínicos.

Ben (1993); explica que (Hoekstra y Pruinsma 1975b) encontraron que la viabilidad del polen de diversas especies de Compositae tuvo relación inversa con la temperatura y humedad relativa a la hora de la colección. Para el polen del *Cinerariaefolium* del crisantemo recogido en 24° C, la viabilidad fue mantenida en aproximadamente 85%, solamente en humedad relativa menos que o igual a 60%. Sobre este nivel una disminución sostenida de la viabilidad fue observada. El polen equilibra

probablemente a la humedad relativa, es decir; que la cantidad de polen viable esta en función de la humedad relativa. Esto afecta el índice de respiración del polen tri y bicelular, con poca evolución del CO₂ ocurriendo en humedades relativas debajo de 77% (Hoekstra y Bruinsma 1975a).

3.1.7. *Contenido de Humedad*

La viabilidad del polen según **Moreira (1993)**, depende de cuanta su actividad vital puede ser reducida sin perder su poder de germinación. La longevidad generalmente aumenta para algunas especies con la reducción de la humedad relativa durante el almacenamiento. Existen casos en que el contenido de agua no puede ser menor de un cierto valor crítico, siendo por tanto, indispensable mantenerse determinada cantidad de agua para que el polen permanezca viable.

Moreira (1993), también explica que, aumentándose la temperatura y humedad relativa de almacenamiento, ocurrirá un crecimiento de la tasa de respiración y como consecuencia una pérdida de la viabilidad.

3.1.8. *Temperatura*

Los resultados mostrados por **Stanley (1974)** para 36 especies indican que la viabilidad puede ser substancialmente extendida en una temperatura alrededor de 0° C; observó que la capacidad de la germinación del polen preservada en -12° C era más alta en la humedad relativa de 28% que en 56%. La viabilidad puede ser extendida más allá de 1 año, hasta 3 años o más para algunos polens por el almacenaje en 0° C o el -15° C, con humedades relativas entre 10 y 50%.

Ben (1993); explica que antes de los años 70, mucha de la literatura en el almacenaje del polen examinó las duraciones cortas a partir de 1 a 2 años. Esto permitió el uso de temperaturas levemente arriba de 0° C a apenas debajo de -30° C para la duración del almacenaje y permitió el mantenimiento de la viabilidad en un alto nivel hasta que el polen fue

utilizado en programas de mejoramiento. Sin embargo, tales temperaturas no son suficientes para que la conservación a largo plazo salvaguarde la diversidad genética presente en una muestra de polen.

3.1.9. *Polen Bicelular y Tricelular*

Pickert (1988) señala que los granos de polen de angiospermas en general se pueden clasificar en dos grupos, a saber, el grupo del bicelular con una dirección fácil para la germinación y la conservación, y el grupo del tricelular que pierde viabilidad muy rápidamente y puede germinar apenas en medios artificiales. Los granos maduros del polen del tricelular contienen generalmente las células gemelas de la esperma y un núcleo vegetativo.

Ben (1993) muestra que en el polen de bicelular que ha desarrollado totalmente (tipo I) o incompleto convertido (tipo II) los mitocondria a la hora de la dehiscencia de la antera son relativamente fácil almacenar debido a su tolerancia de la desecación, que permite el congelar. El polen tricelular (tipo III) es generalmente intolerante de la desecación y no puede ser congelado debido a su alto contenido de humedad. La fisiología del tipo III es tal que las longevidades son mucho más bajas comparadas al polen bicelular.

Stanley (1974); explica que la desecación es generalmente factible para los granos bicelular del polen que tiene una célula generativa y una célula vegetativa a la hora de la dispersión. Sin embargo, existe una segunda categoría del polen que es tricelular cuando esta diseminado, la célula generativa que experimenta mitosis par producir dos células de la esperma antes de la dehiscencia de la antera (Brewbaker 1967).

Estos granos tienen típicamente esperanzas de vida muy cortas y no toleran generalmente la desecación a los contenidos de agua bastante bajos para permitir la exposición a las temperaturas bajo cero (Towil 1985). (Hoekstra y Bruinsma 1957a) encontraron que los granos

tricelular del polen tienen un coeficiente respiratorio más alto y una tarifa de respiración total que polen bicelular. Esto es explicada por el hecho de que el polen tricelular está dispersado en la dehiscencia con mitocondria completamente desarrollados, mientras que el polen bicelular tiene mitocondria incompleto (Hoekstra 1979).

3.1.11. *Crecimiento del Tubo de Polen*

Mc Cormick (1990) explica que, la hidratación del polen generalmente se regula firmemente e in vivo ocurre solamente cuando los granos desecados del polen adquieren el agua de la hembra, así permitiendo el crecimiento del tubo del polen. A pesar de esta regulación normalmente apretada de la hidratación, es no obstante verdad que el polen también hidratará y crecerá un tubo del polen si esta colocado en un medio simple que contiene la sucrosa, el ácido bórico y el calcio.

3.1.12. *Almacenaje*

Ben (1993); explica, como con las semillas recalcitrantes, el polen tricelular nos presenta un dilema en lo que respecta al almacenaje. El polen con un contenido de humedad alto respira en una alta tarifa y declina rápidamente en viabilidad. El congelar del polen con alto contenido de humedad es mortal debido a los acontecimientos que ocurren durante la formación de hielo intracelular.

Stanley (1974) explica que poco se sabe de la influencia de cambios durante el almacenaje en la capacidad genética del polen (Aizenstat 1954). Se ha sugerido que polen viejo da lugar a un número más alto de mutaciones. La razón primaria de la viabilidad disminuida del polen en el almacenaje se relaciona probablemente con las actividades enzimáticas que disminuyen los substratos respiratorios. El mecanismo por el cual el polen conserva su viabilidad durante el almacenaje se relaciona con los índices intracelulares de la respiración; por ejemplo, la conversión de azúcares a los ácidos orgánicos (Stanley y Poostchi 1962). La reducción

de la capacidad de germinación bajo ciertas condiciones de almacenaje se puede, por lo tanto, interpretar como inactivación de productos metabólicos secundarios, tales como ácidos orgánicos durante el almacenaje, que puede inhibir el crecimiento subsecuente del polen.

Stanley (1974) dice que esto es confirmado por la observación que el polen almacenado requiere concentraciones más altas del azúcar para la germinación normal que el polen fresco. La concentración creciente de la sacarosa requerida para obtener germinación óptima también se ha atribuido a una disminución de la permeabilidad del polen. El porcentaje de respiración también disminuye con el tiempo, mientras que la sensibilidad del boró del polen almacenado aumenta. Así mismo, la actividad de las enzimas y cambios en las hormonas endógenas del crecimiento contribuye a la disminución de la viabilidad.

Aslantas (1995), estudio la conservación del polen de la fresa en diversas temperaturas, almacenando en temperatura ambiente (22° C), 4° C, -4° C y -18° C lográndose guardar 8 meses, alrededor de un año y 20 meses respectivamente; los índices de la germinación del polen disminuyeron a lo largo del almacenaje.

Graham (2002), almaceno con éxito el polen de *Billbergia* en el compartimiento del congelador y no tuvo ningún problema usando el polen hasta 60 días de almacenado, aunque la viabilidad cayó después de los 60 días hasta los 18 meses. También congeló polen de *Tillandsia* entre 3 a 5° C, el polen fue envuelto en papel impermeable a la grasa y se pone en un tarro de cristal pequeño con silicagel, el tarro de cristal se pone en un tarro de plástico más grande con silicagel ahí también; el polen fue utilizado con éxito después de un año.

3.1.13. Prueba de Viabilidad

Ben (1993), reporta que, la variación en tolerancia a la manipulación se

ha documentado en un nivel terminantemente genético. Indica que esa variabilidad intraespecífica en respuesta a congelar y/o secarse; la fisiología del polen tricelular plantea los obstáculos más grandes a la conservación del polen. Trabajando con cebolla (*Allium cepa*), encontró que la viabilidad del polen varía entre anteras en la misma flor y entre las flores dentro de la misma inflorescencia. Además, una cierta variación en tolerancia a la manipulación puede ser debido a los factores ambientales y genéticos. Encontró que la viabilidad del polen varía anualmente sin importar abundancia. Encontró diferencias en resistencia a la sequedad y al congelamiento entre las especies del género *Prunus*, así como diferencias entre cultivares de la misma especie. Sin embargo, trabajando con polen de la remolacha, no encontró ninguna indicación de efectos genéticos con respecto a tolerancia al almacenaje.

Stanley (1974); explica que el almacenaje y la manipulación de los procedimientos aplicados al polen recogidos pueden variar la viabilidad del polen. Establecer que condiciones de almacenaje son las mejores, depende en parte del método de comprobación usado para determinar la calidad del polen antes y en el almacenaje. El efecto de las condiciones de almacenaje en la función normal de los granos de polen puede ser probado comparando la capacidad de germinación *in vitro* con la capacidad del polen de inducir la formación normal de la fruta y de la semilla. Sin embargo estos criterios pueden no ser idénticos.

Stanley (1974) también encontró que los resultados indican que ese polen almacenado que muestra una reducción en capacidad de la germinación por la prueba *in vitro* puede siempre no ser viable. Un poco de polen de *Gossypium* o *Pennisetum* es no viable por la prueba, sin embargo, cuando es utilizado para la polinización puede dar un conjunto pequeño pero satisfactorio de semilla. En algunos casos el porcentaje de la germinación *in vitro* es más alto después de algunos días del almacenaje que en polen fresco maduro, probado en la dehiscencia. Estas

variaciones pueden ser debido a un proceso metabólico (maduración tardía), a una carencia de la uniformidad en las muestras, o a las condiciones que cambian usadas para el método de prueba.

Stanley (1974); explica que, la mayoría de las pruebas de la viabilidad del polen germinan una muestra pequeña del polen y observan, debajo de un microscopio, el porcentaje de granos produciendo los tubos después de un tiempo dado. Este por ciento se considera un índice de la viabilidad del polen muestreado. Tales pruebas asumen que las condiciones óptimas se han establecido para la prueba in vitro de modo que la germinación aproxima eso en la planta. Sin embargo, la mayoría de los tubos del polen cultivados in vitro pararon su crecimiento antes que alcancen el tamaño logrado normalmente en el estilo y el índice de crecimiento del tubo es raramente tan rápido como in vivo. Esto sugiere que las condiciones óptimas del crecimiento sean medios in vitro a menudo establecidos.

Stanley (1974) indica, que algunos productos químicos que estimulan la germinación (boro, calcio, magnesio) primero fueron observados; mientras que factores similares se encontraron en el tejido fino del estilo o el líquido estigmático en los cuales el polen germina naturalmente. En 1932, Schmucker divulgó que el boro estimula la germinación del polen in vitro. Los factores que influyen en el crecimiento in vitro incluyen: especie de polen, época de colección, estación del año, del método de colección y de la historia del almacenaje.

De Andrade (1986); indica, que en pruebas de viabilidad de polen sometidos a almacenamiento en ambiente (25° C), heladera (8° C) y congelador (-8° C) constato que el polen mantiene una viabilidad razonable durante el periodo experimental, llegando hasta 6 meses con aproximadamente 50% de viabilidad cuando es almacenado en congelador. La viabilidad fue verificada por test de germinación in vitro utilizando medio artificial con 2.5% de sacarosa y 0.01% de ácido bórico.

Moreira (1993); estudio la preservación de polen de achiote (*Bixa orellana*), con el objetivo de determinar la temperatura más adecuada para la preservación de viabilidad verificada a través de germinación in vitro en medio artificial conteniendo 1% de agar y 10% de sacarosa, temperaturas de -10°C , 0°C y 10°C y 70%, 80% y 50% de humedad relativa. Las mejores condiciones para el almacenamiento del polen ocurrieron a -10°C y 70% de humedad relativa. Después de un día la germinación fue de 77.51%, después de dos días su germinación fue de 63.84%, manteniéndose más o menos este porcentaje al tercer y cuarto día.

Pickert (1988); probó diversas condiciones de conservación para el polen. Cerca del 80% de granos secados del polen, almacenados por 40 semanas en -20°C todavía germinaron in vitro. El conservado y rehidratado podían producir las semillas de las plantas estériles masculinas. En la prueba de germinación in vitro se usó como medio agua destilada, 1% agar, 20% sucrosa, 80ppm ácido bórico y 10ppm myo-inositol; a luz continua en 25°C .

Schimpf (1992), realizó experimentos en la germinación del polen en tradescantia, impaties, jazmín y lirio, utilizando como medio de cultivo: 10g de sacarosa, 0.01g de ácido bórico, 0.03g de nitrato de calcio en 100ml de agua destilada. Se pone un poco de polen en un plato de petri pequeño, se agrega algunas gotas de la solución, se toma una muestra sobre una diapositiva y se observa en un microscopio a 10X y 40X. Un poco de polen germina en 5-10 minutos, continúa su crecimiento por una hora y otros germinan después de una hora.

Zung (1997), investigó sobre el crecimiento del tubo de polen y demostró que el calcio y el boro acrecentan la formación del tubo del polen, el calcio puede ser responsable de proporcionar energía para el crecimiento rápido. El autor indica que se puede observar el crecimiento de los tubos de polen in vitro germinándolos en un medio líquido (10%

de sacarosa, 100mg/l ácido bórico, 300mg/l de nitrato de calcio) o en placas de agar (igual que el medio líquido con la adición de agar al 1%). La germinación del polen depende de la presencia de la sacarosa, del calcio y del boro en su ausencia, la germinación no ocurre o es anormal.

Youmbi (1999), trabajando con polen de *Dacryodes edulis* logró germinación óptima en el medio de Brewbaker y Kwack que consiste en: 300ppm de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 200ppm de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 100ppm de KNO_3 y 100ppm de H_3BO_3 y sacarosa de 15 ó 20%. La incubación se realiza a 30° C, la germinación es muy rápida. El 60% del polen germina en una hora pero tres horas son necesarias para el alargamiento óptimo del tubo de polen y de la germinación. Después de 24 meses de almacenaje en -20° C el porcentaje de la germinación es de 8%.

Chanon (1998), estudio la viabilidad del polen de *Aesculus parviflora* y *A. Pavia* y nos muestra que la viabilidad del polen fue estimada usando un método in vitro de germinación de polen, el medio contuvo la sacarosa de 10% y los procedimientos de Brewbaker y Kwack, las muestras de *A. parviflora* germinaron en un 90% y para las muestras del *A. pavia* germinaron 56 – 77%.

Hodson (2000), preparo una solución acuosa de 12.5% de sacarosa, 0.01% de ácido bórico y 0.02% de cloruro de calcio, coloco 0.5ml en una diapositiva y sobre ella una antera madura dehiscente; los tubos de polen crecen después de 3 a 4 horas.

Saraswathyamma (1990) en su estudio de germinación de polen en *Hevea brasilensis*, obtuvo un 75.28% de germinación en medio conteniendo 20% de sacarosa con 100 ppm de calcio y boró, y un 86.44% de germinación en medio conteniendo 20% de sacarosa con 100 ppm de calcio, boró, magnesio y potasio.

Vásquez (1996) estudio la relación entre la germinación del grano de polen con la humedad y temperatura, en *Quercus rotundifolia* Lam y Q.

suber L.. Los resultados obtenidos, en la población estudiada, permite asegurar que es preciso una humedad del 100% para alcanzar valores de germinación por encima del 80%. Los datos de temperatura sugieren que la germinación de los granos de polen se producen entre 23° C a 30° C en Q. rotundifolia y entre 28° C a 32° C en Q. suber. El medio utilizado fue: 15% sacarosa, 250 ppm H₃BO₃, 300 ppm Ca(NO₃)₂·4H₂O, 150 ppm MgSO₄·5H₂O y 100 ppm KNO₃, disueltos en 100 ml de H₂O desionizada y 7 gr. de gelatina.

Kwan et al (1969) explica que, el ácido bórico estimuló la germinación del polen y crecimiento del tubo en 100mg/litro pero era tóxico en 200mg/litro.

3.2. Marco Conceptual

Polen.- Polvo muy fino; célula de formas y dimensiones variables dotada de una cubierta muy resistente o esporodermis, que se forman dentro de los sacos polínicos del estambre y tiene como misión una vez formado el microgametófito, pluricelular, fecundar al óvulo.

Antesis.- Momento de abrirse el capullo floral, con este termino se quiere precisar que no se trata de todo el tiempo que permanece abierta la flor, sino únicamente el momento de abrirse.

Cultivo In Vitro.- El cultivo in vitro se define como el cultivo de células, tejidos u órganos vegetales o animales sobre un medio nutritivo, en condiciones estériles. Esta técnica se caracteriza porque:

- Ocurre a microescala, sobre una superficie relativamente pequeña.
- Se optimizan las condiciones ambientales, en lo que se refiere a factores físicos, nutricionales y hormonales.
- Se excluyen todos los microorganismos (hongos, bacterias, y virus) así como también las plagas de las plantas superiores (insectos y nematodos).

- La capacidad de cultivar protoplastos o células individuales permite manipulaciones que antes eran imposibles.

Angulaperturado.- Grano de polen que en los ángulos de su contorno se encuentran situados las aperturas.

Radiosimetría.- Grano de polen con más de dos planos de simetría.

Colpo.- Apertura de forma alargada de un grano de polen.

Sub prolato.- Grano de polen radiosimétrico cuya razón eje polar/diámetro ecuatorial sea de 1.14 a 1.33. Ertman (1952).

CAPITULO IV: ANÁLISIS Y PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1 Métodos de Cosecha de la Flor

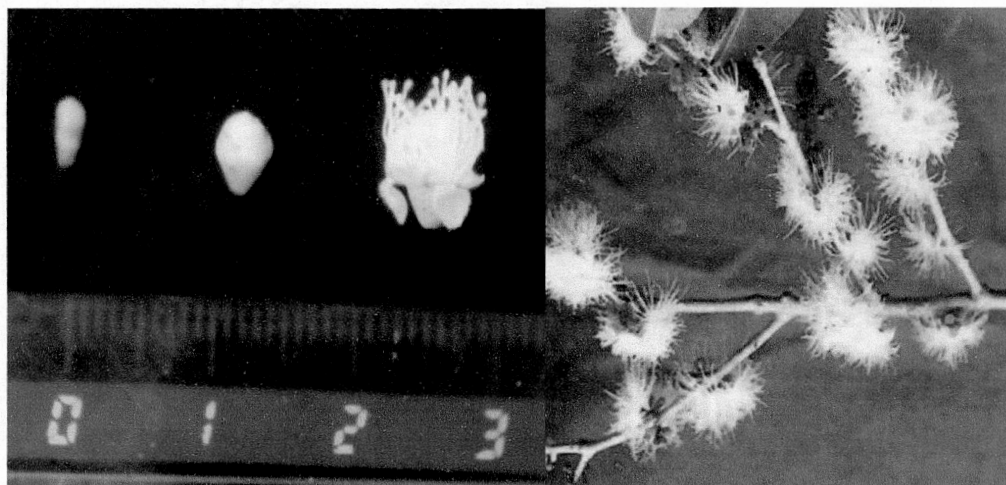


Foto 1 Botones florales y flores abiertas de camu-camu.

En cuanto a métodos de cosecha de la flor su ejecución antes de la antesis permite obtener mayor cantidad de polen (41.35mg de polen/100 flores) mientras que de la cosecha de flores después de la antesis se obtuvo 15.78mg de polen/100 flores.

Con el método de cosecha de flores en estado de botón, no existe pérdida de polen en el momento de colección y transporte, ni hay lugar a la intervención de insectos.

Al coleccionar flores abiertas, tenemos pérdidas por presencia de insectos polinizadores, y por movimientos y vibraciones que provoca la caída del polen. El roce entre flores, flores y ramas, flores y hojas que se encuentran húmedas por el rocío, también ocasionan pérdidas.

El método de cosecha de la flor antes de la antesis también es usado por De Andrade (1986) en Bactris gasipaes HBK con buenos resultados. Y en

algunas flores como el algodón se usa este método nos confirma Stanley (1974).

4.2 Caracterización del Grano de Polen

Antes de realizar las pruebas de cosecha, germinación y conservación, primero se procedió a describir el grano de polen, y se obtuvieron los siguientes resultados:



Foto 2 Vista de la forma del grano de polen (1000X). Obsérvese la apertura, simetría y el contorno del polen

Forma:

- El contorno del polen es convexa.
- Su simetría es radiosimétrica.
- Según la clasificación de Ertman (1952) el grano de polen tiene forma: sub prolato ($P/E = 1.4 - 1.33$) que es el cociente del eje polar (P) sobre el eje ecuatorial (E).

P= 15um

E= 13um

P/E= 1.15

Resiembra

Esta labor se efectuó al 4to día del transplante, con el fin de reemplazar plantas muertas y obtener una población uniforme en todos los tratamientos.

Riego

Fueron diarios, 2 veces por día (mañana y tarde), por las condiciones climáticas durante la ejecución del trabajo de investigación.

Amarre

Se hizo cada 15 días según el estado de la planta en horas de la mañana.

Deshierbo

Esta labor se efectuó cinco veces a intervalos de 15 días, con el fin de tener el campo libre de malezas para evitar competencia con malezas en luz, nutrientes, agua y espacio.

Abonamiento de Cobertura

Se realizó antes del inicio de la floración (52 días después de la siembra), para ello se utilizó gallinaza de aves de postura a razón de 1 Kg. alrededor de cada planta, con un total de 20 Kg. / Parcela.

Aporque

Se realizó dos aporques a intervalos de 22 días.

Poda

Se realizó a partir de la 2da. semana después del trasplante hasta antes del inicio de la cosecha; se hizo poda de formación en todos los tratamientos.

Control Fitosanitario**Almacigo**

Después de la siembra se procedió a espolvorear con Lorsban al 2.5% al contorno de la cama almaciguera para evitar el ataque de grillos.- El control fitosanitario se efectuó dentro y fuera de la cama almaciguera. A la tercera semana después de la siembra, cuando las plantas alcanzaron una altura de 10 cm., se aplicó una mezcla entre Cupravit al 0.3% + Tamaron y Agridex, a fin de prevenir el ataque de plagas y enfermedades.

Campo Definitivo

Durante el periodo en el campo definitivo, se realizó cinco fumigaciones con Cupravit, Manzate, Tamaron, a intervalos de 15 días. Además se eliminó plantas con síntomas de Marchitez y / o plantas muertas, así como deshierbos periódicos. En los alrededores del campo experimental se construyó cañería para evitar el exceso de agua (inundaciones), durante periodo de intensas lluvias.

Cosecha

Se realizó cuatro cosechas, iniciándose a los 95 días después de la siembra, siendo la maduración de los frutos casi heterogénea, por lo que la cosecha se realizó en forma escalonada cada 7 días, terminando la cosecha a los 116 días.

4.2.1 Porcentaje de Germinación

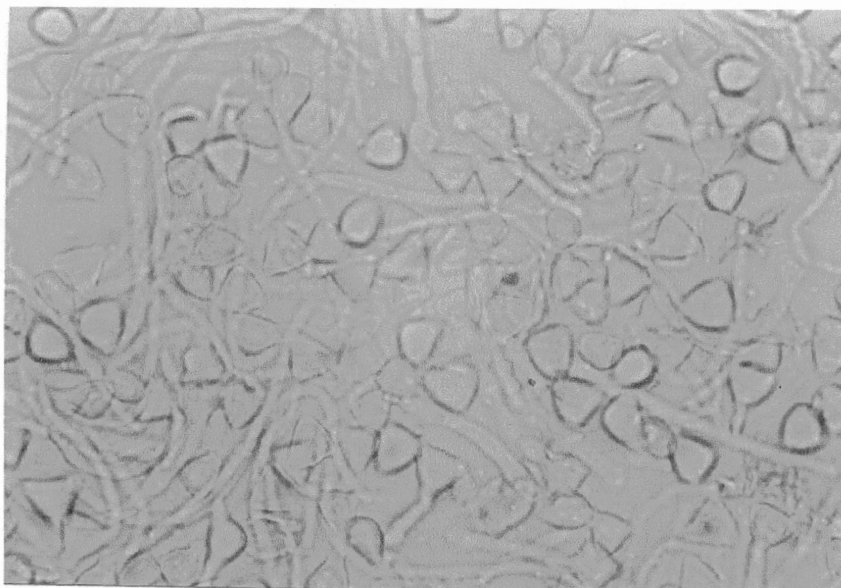
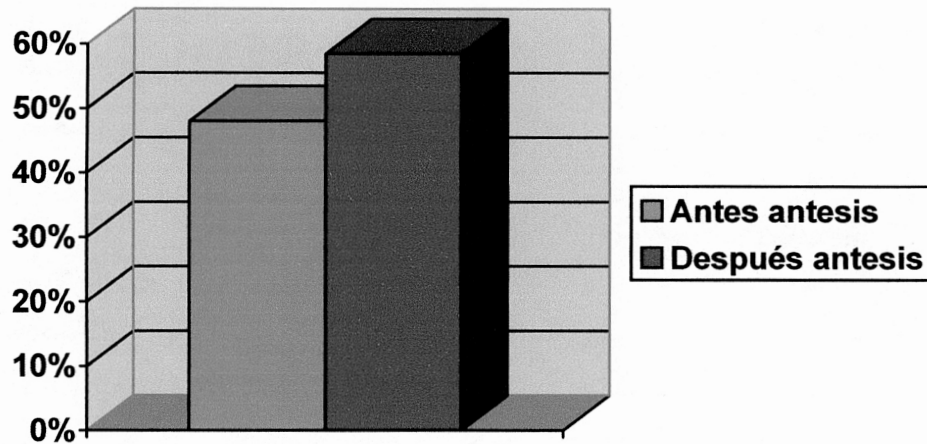


Foto 3 Germinación de los granos de polen (400X). Obsérvese los granos con emisión del tubo polínico.

4.2.1.1 Porcentaje de Germinación a la Cosecha

El análisis de varianza revela diferencias significativas a 1.4% de probabilidad el cual nos indica que la diferencia entre ambos niveles es poco significativa, pero la diferencia entre los niveles del factor A son reales siendo el nivel A2 (posterior a la antesis) el que posee mayor porcentaje de germinación a la cosecha, aunque debemos tener cautela y considerar que las medias y varianzas están relacionadas directamente. El coeficiente de variabilidad fue de 5.3%.

Gráfico N° 1 Germinación de granos de polen al inicio del experimento



Coefficiente de Variabilidad = 5.3%

N° de Repeticiones = 4

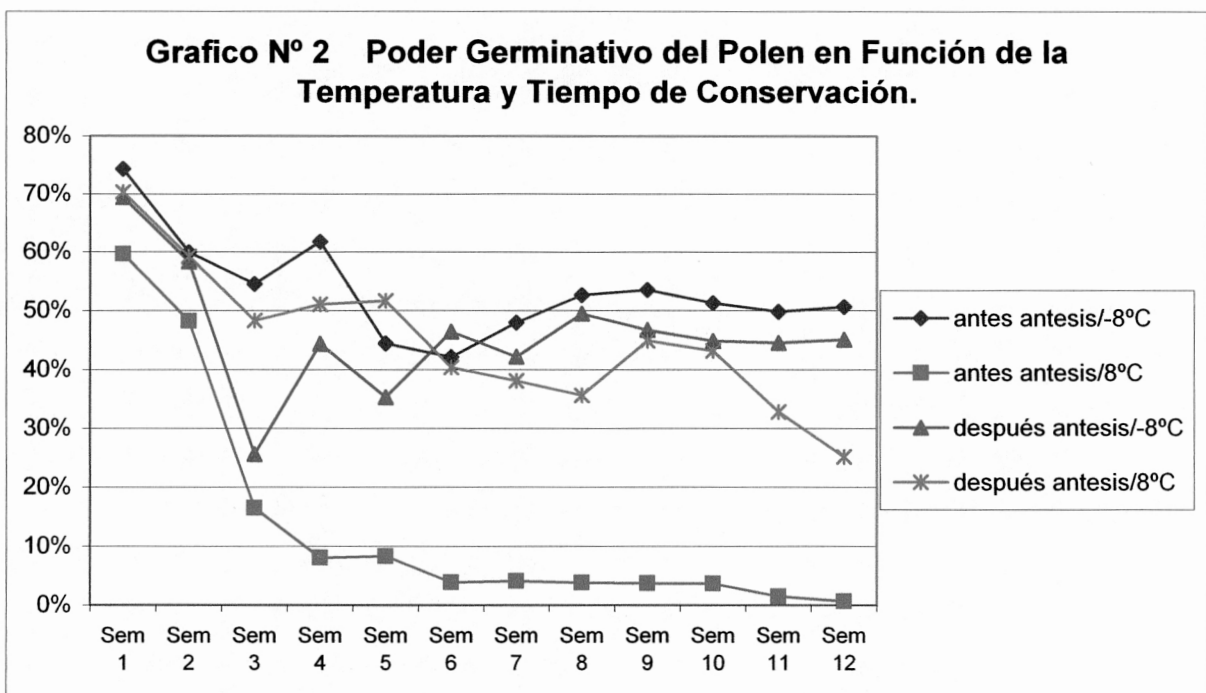
Probabilidad = 0.014

Promedio antes antesis = 48.02%

Desviación estándar = 1.25

Promedio después antesis = 58.44%

4.2.1.2 Porcentaje de Germinación Semanal



Puede distinguirse dos etapas en la serie mostrada en el gráfico N° 2, la primera comprendida hasta la semana 5, la segunda hasta la semana 12.

La primera es una etapa de disminución del porcentaje de germinación, para todos los tratamientos aunque el más afectado en esta disminución es el T2 (antes de antesis/8° C). El factor B (temperatura) influye notoriamente sobre los dos niveles del factor A (antesis) provocando la pérdida de viabilidad de los granos de polen conforme transcurre el tiempo hasta la quinta semana de un 68.25% de germinación a un 34.85%.

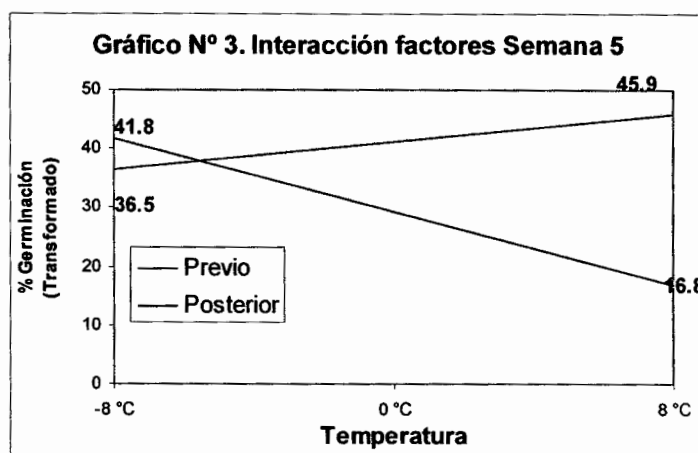
En la interpretación de los cuadros de análisis estadísticos de estas semanas, se puede dar cuenta de la interacción de los factores. (Ver Cuadro N° 1 y N° 2).

A la quinta semana el análisis de varianza (Cuadro N° 1) encuentra diferencia altamente significativa para todos los casos, la probabilidad asociada para cada uno de ellos es inferior a 0.01%, y con un coeficiente de variabilidad registrado de 7.43% lo que confiere un mayor grado de confiabilidad de estos resultados.

La prueba de Duncan (Cuadro N° 3) encuentra tres grupos significativos el primero constituido por los tratamientos T4 (después de antesis/8° C) y T1 (antes de antesis/-8° C), el segundo por el tratamiento T3 (después de antesis/-8° C) y el último por el tratamiento T2 (antes de antesis/8° C), que mantiene un promedio muy inferior al de los demás tratamientos; patrón semejante a las semanas anteriores.

El análisis de varianza de efectos simples (Cuadro N° 2) encuentra diferencias significativas con una probabilidad de 1.4% para el efecto del factor A sobre el efecto del nivel 1 de la temperatura (-8° C), es decir que la superioridad del polen procedente de botones florales sobre los que proceden de flores abiertas es real. En los demás casos la diferencia es altamente significativa con una probabilidad inferior al 0.01%, es decir

para el efecto del factor A (antes) sobre el nivel 2 de la temperatura (8° C) y de la temperatura sobre los dos niveles del factor A. Es de notar que el nivel A1 del factor A (antes de la antesis) es afectado por la temperatura durante casi todas las semanas, mientras que el nivel A2 (después de la antesis) es casi indiferente; de otro lado el efecto combinado de los factores produce un resultado concreto y diferente en cada caso.



El gráfico N° 3 muestra la interacción marcada que ejercen los factores sobre el porcentaje de germinación, la diferencia entre los promedios transformados para -8° C es de 36.5 para "Posterior" y 41.8 para "Previo", en el caso de 8° C existe una marcada diferencia entre los promedios transformados de 16.8 para "Previo" y 45.9 para "Posterior".

Cuadro N° 1 Análisis de Varianza del Porcentaje de germinación a la Quinta Semana.

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Tratamientos	3	665.192 **	0.0000
Antesis	1	566.720 **	0.0000
Temperatura	1	242.343 **	0.0001
AxT	1	1186.514**	0.0000
EE	12	6.857	
Total	15		
CV=		7.43%	

Cuadro N° 2 Análisis de Efectos Simples del Porcentaje de germinación a la Quinta Semana.

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Antesis/-8° C	1	56.604 *	0.0140
Antesis/8° C	1	1696.630 **	0.0000
Temp/antes de antesis	1	1250.660 **	0.0000
Temp/después de antesis	1	178.198 **	0.0003

Cuadro N° 3 Prueba de Duncan al 5%

Tratamientos	Promedios
Después de antesis/8° C	45.89 a
Antes de antesis/-8° C	41.77 a
Después de antesis/-8° C	36.45 b
Antes de antesis/8° C	16.77 c

El período entre la semana 5 y la semana 12 es una etapa de estabilización de los porcentajes de germinación, es decir, en esta etapa los promedios conservan sus valores. Los tratamientos T1, T2, T3 y T4 mantienen sus valores promedios semanales, a la quinta semana con 34.85% de viabilidad y 30.43 a la semana 12. De Andrade (1986) logro almacenar polen de Bactris gasipaes HBK con 39% de viabilidad durante 6 meses a -8° C y 30% a 8° C.

En comparación con los otros tratamientos el T2 se nota muy por debajo de ellos. Esto se muestra en la interpretación de la respectiva semana:

A la semana 12 podemos observar en el análisis de varianza (Cuadro N° 4) que de igual forma a las semanas anteriores, todas las Fuentes de Variación resultaron altamente significativas; con una probabilidad ($P < 0.01\%$), y coeficiente de variabilidad de 6.13% que indica confiabilidad en el análisis registrado.

Cuadro N° 4 Análisis de Varianza del Porcentaje de germinación a la Semana N° 12.

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Tratamientos	3	1358.383**	0.0000
Antesis	1	490.985**	0.0000
Temperatura	1	2768.796**	0.0000
AxT	1	815.369**	0.0000
EE	12	3.522	
Total	15		
CV=	6.13%		

En los tratamientos podemos observar la formación de 4 grupos homogéneos, mediante la prueba de Duncan (Cuadro N° 5), cada uno de los tratamiento constituye un grupo independiente, siendo el T1 (antes de antesis/-8° C) el que posee mayor porcentaje de germinación frente a los demás tratamientos. De Andrade (1986) también encontró los mejores resultados a -8° C.

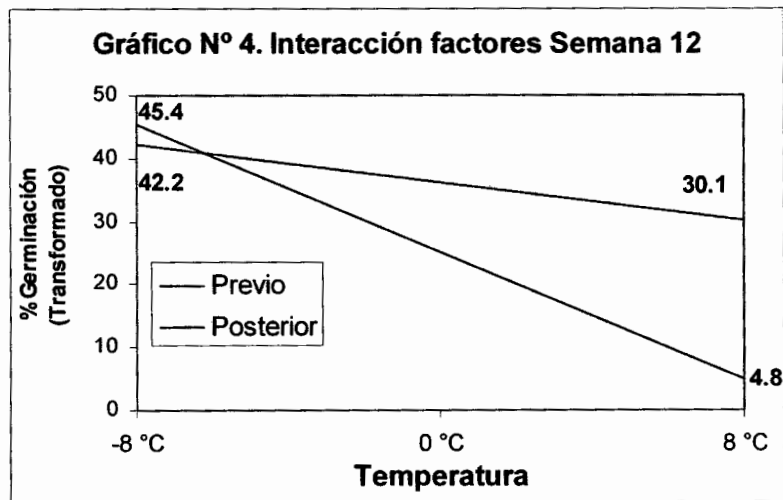
Cuadro N° 5 Prueba de Duncan 5%

Tratamientos	Promedios	Sig (*)
Antes de antesis/-8° C	45.37	a
Después de antesis/-8° C	42.17	b
Después de antesis/8° C	30.14	c
Antes de antesis/8° C	4.78	d

El resultado de la interacción A x T puede observarse mejor en el cuadro de análisis de efectos simples (Cuadro N° 6). Podemos observar que todas las interacciones son significativas, al igual que las semanas anteriores, es decir que los niveles del factor A ejerce un efecto determinado sobre cada uno de los niveles del factor temperatura y viceversa.

**Cuadro N° 6 Análisis de Efectos Simples del Porcentaje de germinación a la
Semana N° 12.**

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Antesis/-8° C	1	20.458*	0.0329
Antesis/8° C	1	1285.896**	0.0000
Temp/antes de antesis	1	3294.610**	0.0000
Temp/después de antesis	1	289.554**	0.0000



El gráfico N° 4 muestra la interacción marcada que ejercen los factores sobre el porcentaje de germinación, la diferencia entre los promedios transformados para -8°C es de 42.2 para "Posterior" y 45.4 para "Previo", en el caso de 8°C existe una marcada diferencia entre los promedios transformados de 4.8 para "Previo" y 30.1 para "Posterior". Es claro que los promedios transformados en 8°C son menores que en el caso de -8°C .

4.2.2 *Longitud del Tubo Polínico*

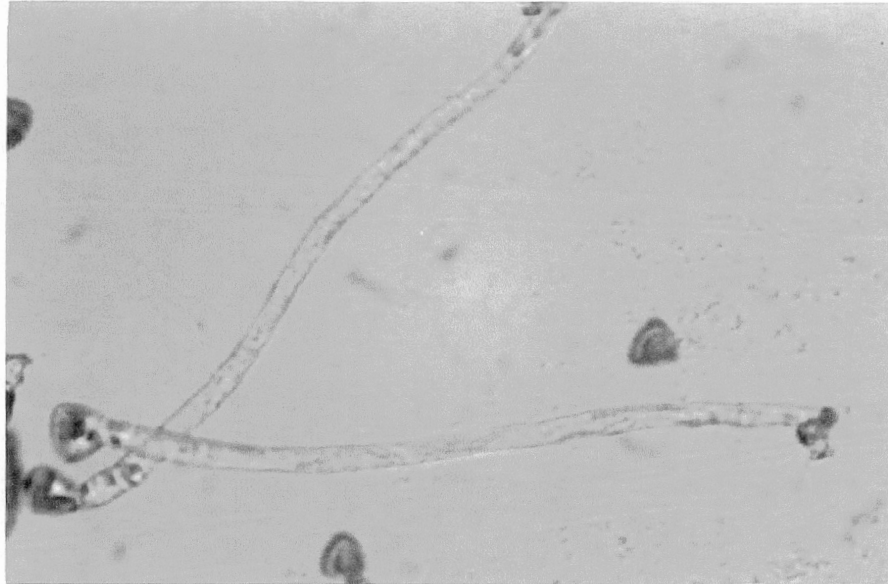
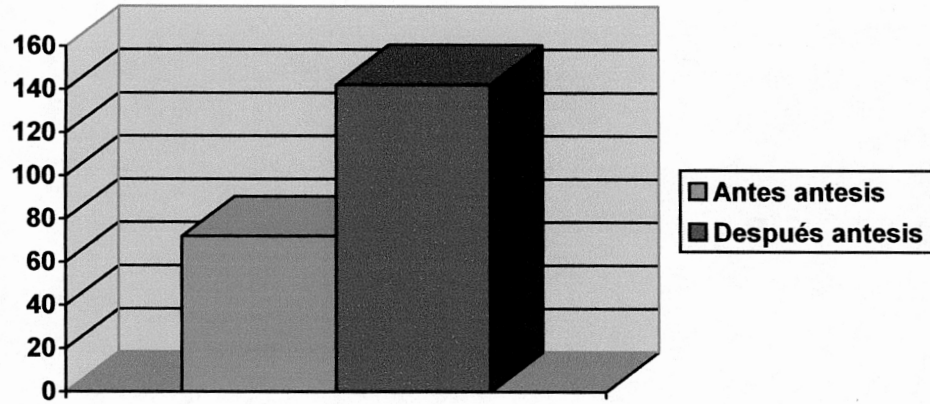


Foto 4 Longitud del tubo polínico (400X)

4.2.2.1 Longitud del tubo polínico. A la Cosecha.

El análisis de varianza revela que existe diferencias altamente significativas entre las medias del factor a con una probabilidad de 0.3%, en otras palabras, la superioridad que manifiesta el polen colectado después de la antesis es real y significativo, pero debemos tener cuidado y considerar como en el caso anterior que las medias de las varianzas están relacionadas directamente. El coeficiente de variabilidad fue de 12.6%.

Gráfico N° 5 Longitud del Tubo Polínico al Inicio del Experimento.



Coefficiente de Variabilidad = 1.26%

N° de Repeticiones = 4

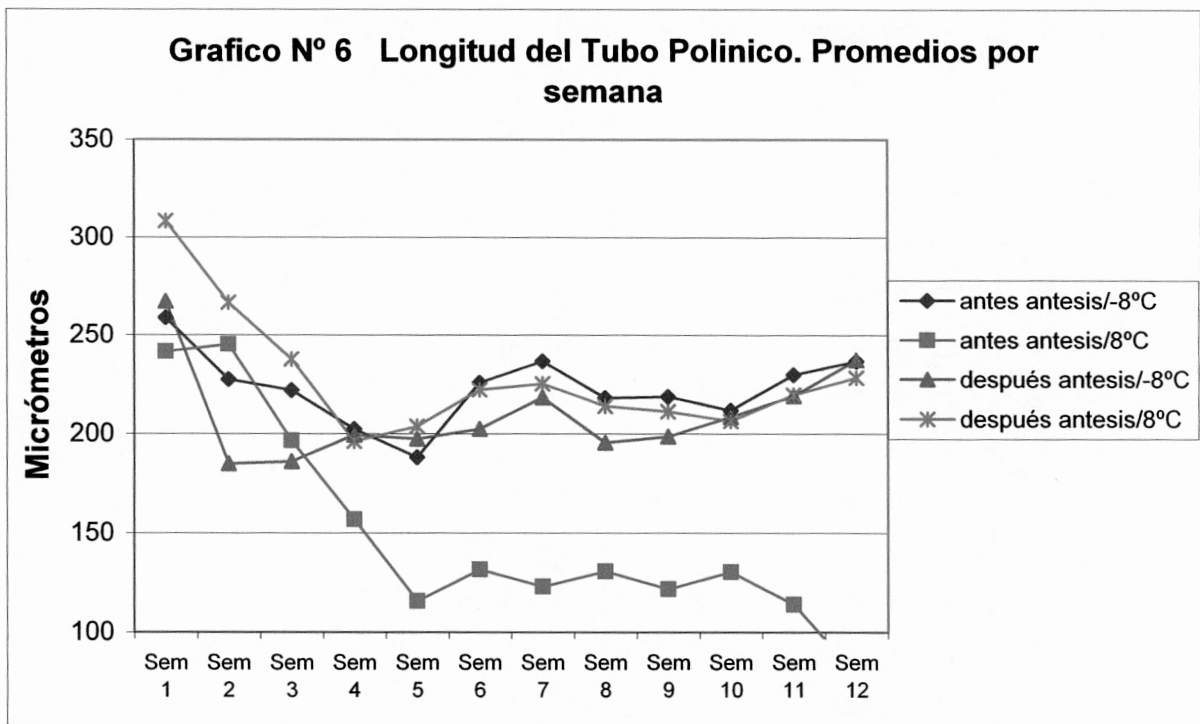
Probabilidad = 0.003

Promedio antes antesis = 72.00u

Desviación estándar = 0.67

Promedio después antesis = 142.20u

Gráfico N° 6 Longitud del Tubo Polínico. Promedios por semana



Es importante notar que para esta variable el comportamiento de los promedios por semana es muy semejante al del porcentaje de germinación, como se puede observar en el gráfico de promedios semanales.

Consta de dos etapas, la primera conformada hasta la semana 5, esta primera etapa es de disminución de la longitud del tubo polínico, para todos los tratamientos aunque el más afectado es el tratamiento T2 (antes de antesis/8° C). Para una mayor comprensión se explican el análisis de varianza a la quinta semana.

El análisis de varianza (Cuadro N° 7) a la quinta semana encuentra diferencias significativas para el caso de los tratamientos (probabilidad de 0.2%) y para las medias de la antesis (probabilidad de 0.4%) también se halla diferencias significativas para el caso de la temperatura a una probabilidad del 3.5% y para la interacción a una probabilidad de 1.5%, el coeficiente de variabilidad registrado fue de 15.7%.

Cuadro N° 7 Análisis de Varianza de Longitud de Tubo Polínico a la Quinta Semana. Datos Transformados Arc Seno.

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Tratamientos	3	0.667 **	0.002
Antesis	1	0.947 **	0.004
Temperatura	1	0.436 *	0.035
AxT	1	0.617 *	0.015
EE	12	0.077	
Total	15		
CV=		15.74%	

La prueba de Duncan (Cuadro N° 8) al 5% encuentra 2 grupos homogéneos el primero constituido por T4 (después de antesis/8° C), T3 (después de antesis/-8° C) y T1 (antes de antesis/-8° C); el segundo por el T2 (antes de antesis/8° C) solamente.

Cuadro N° 8 Prueba de Duncan al 5%

Tratamientos	Promedios
Después de antesis/8° C	2.04 a .
Después de antesis/-8° C	1.98 a .
Antes de antesis/-8° C	1.88 a .
Antes de antesis/8° C	1.16 b

El análisis de efectos simples (Cuadro N° 9) encuentra diferencias significativas para el efecto del factor A sobre el nivel 2 de la temperatura (8° C) (probabilidad de 0.2%); a esta temperatura las medias entre los niveles del factor A son notoriamente diferentes, siendo inferior el promedio del nivel A1 (antes de la antesis).

También se encuentra diferencias significativas al 0.3% al efecto de la temperatura sobre el nivel A1 (antes de la antesis) del factor A, es importante notar que en los resultados de esta semana es diferente al de las semanas anteriores pues la respuesta del nivel A2 (después de la antesis) del factor A es indiferente a la temperatura, mientras que el nivel A1 (antes de la antesis) es susceptible.

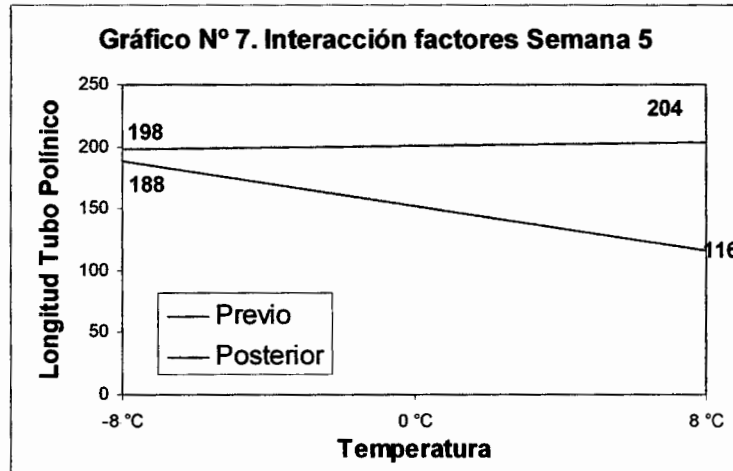
Cuadro N° 9 Análisis de Efectos Simples de Longitud de Tubo Polínico a la Quinta Semana.

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Antesis/-8° C	1	0.018 ns	0.641
Antesis/8° C	1	1.546 **	0.001
Temp/antes de antesis	1	1.045 **	0.003
Temp/después de antesis	1	0.008 ns	0.756

La segunda etapa es una etapa de estabilización de la longitud de los tubos polínicos, se puede observar que los tratamientos T1 (antes de antesis/-8° C), T3 (después de antesis/-8° C) y T4 (después de antesis/8° C) poseen valores promedios semanales semejantes, mientras que el T2 (antes de antesis/8° C) se nota muy por debajo de ellos.

En la semana 12 podemos ver que de manera semejante a las semanas anteriores todas las fuentes de variación son altamente significativos; en el

caso de los tratamientos la prueba de Duncan (Cuadro N° 11) muestra 2 grupos homogéneos, el primero constituido por los tratamientos T1 (2.37), T3 (2.37) y T4 (2.28); el segundo grupo por el T2 (0.79).



El gráfico N° 7 muestra la interacción que ejercen los factores sobre la longitud del tubo polínico, la diferencia entre los promedios para -8°C es de $198\ \mu\text{m}$ para "Posterior" y $188\ \mu\text{m}$ para "Previo", en el caso de 8°C existe una marcada diferencia entre los promedios transformados de $116\ \mu\text{m}$ para "Previo" y $204\ \mu\text{m}$ para "Posterior".

Cuadro N° 10 Análisis de Varianza de Longitud de Tubo Polínico a la Semana N°12. Datos Transformados Arc Seno.

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Tratamientos	3	2.423**	0.0000
Antesis	1	2.258**	0.0000
Temperatura	1	2.790**	0.0000
AxT	1	2.221**	0.0000
EE	12	0.024	
Total	15		
CV=	7.95%		

Cuadro N° 11 Prueba de Duncan

Tratamientos	Promedios	Sig (*)
Antes de antesis/ -8°C	2.37	A
Después de antesis/ -8°C	2.37	A
Después de antesis/ 8°C	2.28	A
Antes de antesis/ -8°C	0.79	B

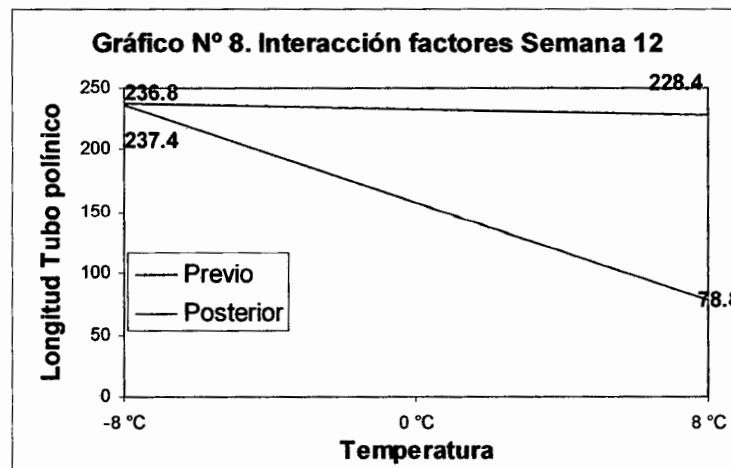
Para el Factor A el nivel 2 (posterior a la antesis) ocupa el primer lugar; en el caso del Factor T el nivel 1 (-8°C) ocupa el primer lugar, en la mayor Longitud de Tubo Polínico.

Se observa que el T3 ocupa el primer lugar con 237.40 μm de longitud y T2 ocupa el ultimo lugar con 78.75 μm , mientras que Saraswathyamma (1990) en su trabajo en *Hevea brasiliensis* encontró que el tubo polínico logro una longitud de 138.20 μm – 294.17 μm .

Cuadro N° 12 Análisis de Efectos Simples de Longitud de Tubo Polínico a la Semana N°12.

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Antesis/ -8°C	1	0.000 ^{NS}	0.9564
Antesis/ 8°C	1	4.479**	0.0000
Temp/antes de antesis	1	4.995**	0.0000
Temp/después de antesis	1	0.016 ^{NS}	0.4282
CM EE =		0.024	

Para la interacción, el cuadro de efectos simples (Cuadro N° 12) muestra que es significativo el efecto del Factor A sobre el nivel 2 del factor T y el efecto del Factor T sobre el nivel 1 del Factor A (antesis); esto significa que el tanto el factor A como el Factor B (temperatura) ejercen un efecto determinante y significativo sobre los niveles correspondiente del segundo factor.



El gráfico N° 8 muestra la interacción que ejercen los factores sobre la longitud del tubo polínico, la diferencia entre los promedios para -8°C es de $236.8\ \mu\text{m}$ para “Posterior” y $237.4\ \mu\text{m}$ para “Previo”, en el caso de 8°C existe una marcada diferencia entre los promedios transformados de $78.8\ \mu\text{m}$ para “Previo” y $228.4\ \mu\text{m}$ para “Posterior”.

4.3 Polen a Temperatura Ambiente. Observaciones.

El polen a temperatura ambiente mantuvo con un bajo nivel de viabilidad hasta el segundo día después de la cosecha tanto para el polen procedente de flores antes de la antesis (con 0.25% de germinación y una longitud del tubo polínico de $60.28\ \mu\text{m}$) y para el polen procedente de flores después de la antesis (con 9.19% de germinación y una longitud del tubo polínico de $149.92\ \mu\text{m}$).

4.4 Análisis de Regresión y Correlación: Longitud del Tubo Polínico (LTP) versus % Germinación

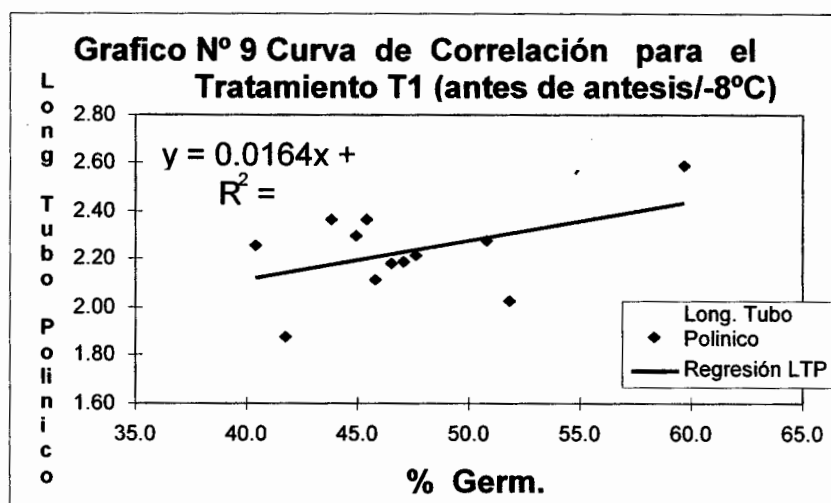
4.4.1 Antes de la Antesis y -8°C

El análisis de varianza indica que el coeficiente de regresión entre las 2 variables en estudio no es significativo ($P \leq 0.1266$), es decir, no existe una relación lineal entre la Longitud del Tubo Polínico y el % de Germinación.

<i>Estadísticas de la correlación y regresión</i>	
Coefficiente de determinación R^2	0.2173
R^2 ajustado	0.1390
Error típico	0.1668
Observaciones	12
Intercepción	1.4596
Germ.	0.0164

Cuadro N° 13. Análisis de Regresión para el tratamiento T1

	GL	CM	F	Prob
Regresión	1	0.0773	2.7762	0.1266
Residuos	10	0.0278		
Total	11			



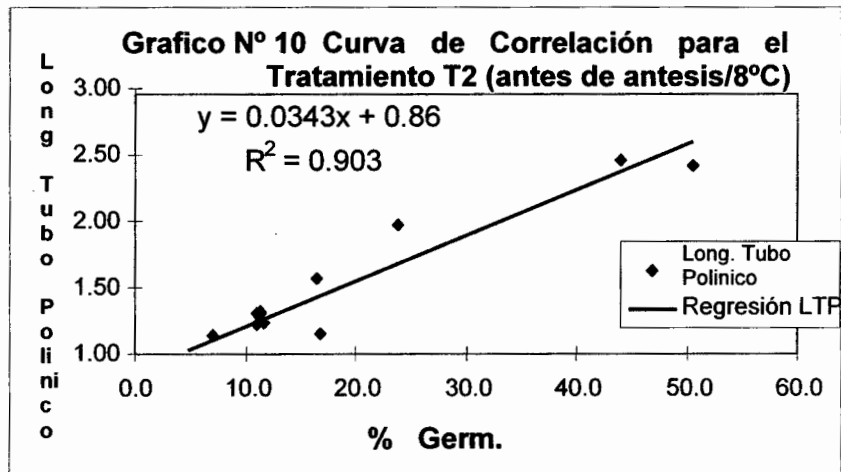
4.4.2 Antes de la Antesis y 8° C

El análisis de varianza indica que el coeficiente de regresión entre las 2 variables en estudio es altamente significativo ($P \leq 0.0000$), es decir, existe una relación lineal entre la Longitud del Tubo Polínico y el % de Germinación; el $R^2(0.9030)$ indica que hay un ajuste de 90% de las observaciones al modelo lineal.

<i>Estadísticas de la correlación y regresión</i>	
Coefficiente de determinación R^2	0.9030
R^2 ajustado	0.8933
Error típico	0.1702
Observaciones	12
Intercepción Germ.	0.8600
	0.0343

Cuadro N° 14. Análisis de Regresión para el tratamiento T2

	G.L.	C.M.	F	Prob
Regresión	1	2.6958	93.0999	0.0000
Residuos	10	0.0290		
Total	11			



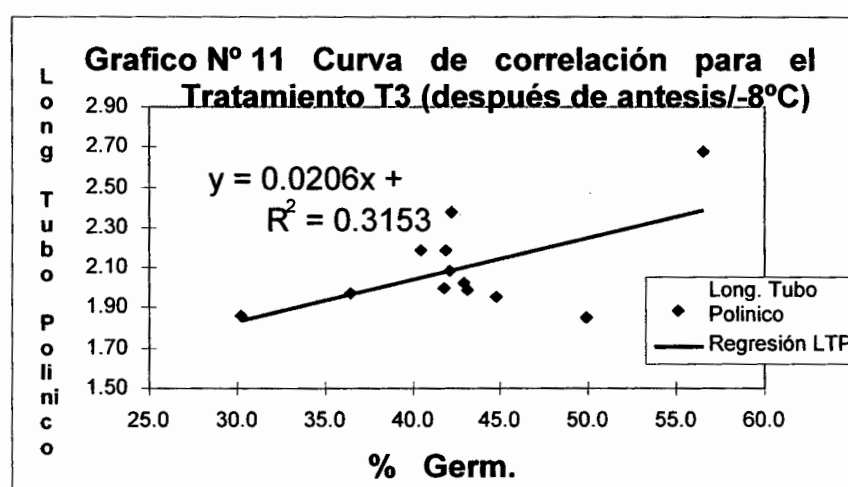
4.4.3 Después de la Antesis y -8° C

El análisis de varianza indica que el coeficiente de regresión entre las 2 variables en estudio no es significativo ($P \leq 0.0575$), es decir, no existe una relación lineal entre la Longitud del Tubo Polínico y el % de Germinación; el ajuste es de apenas el 31.5% de las observaciones (R^2).

<i>Estadísticas de la correlación y regresión</i>	
Coefficiente de determinación R^2	0.3153
R^2 ajustado	0.2468
Error típico	0.2037
Observaciones	12
Intercepción	1.2151
Germ.	0.0206

Cuadro N° 15. Análisis de regresión para el tratamiento T3

	G.L.	C.M.	F	Prob
Regresión	1	0.1910	4.6052	0.0575
Residuos	10	0.0415		
Total	11			



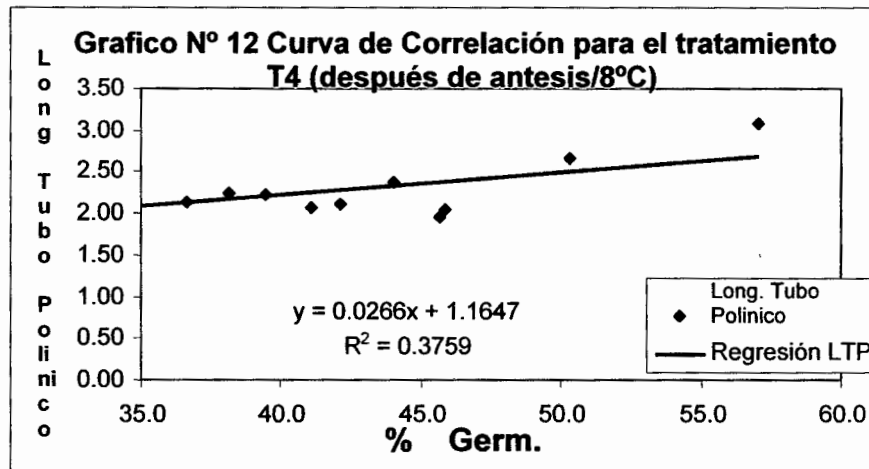
4.4.4 Después de la Antesis y 8° C

El análisis de varianza indica que el coeficiente de regresión entre las 2 variables en estudio es significativo ($P \leq 0.0340$), es decir, existe una relación lineal entre la Longitud del Tubo Polínico y el % de Germinación; el ajuste es del 37.6% de las observaciones (R^2) al modelo lineal.

Estadísticas de la correlación y regresión	
Coefficiente de determinación R^2	0.3759
R^2 ajustado	0.3135
Error típico	0.2585
Observaciones	12
Intercepción	1.1647
Germ.	0.0266

Cuadro N° 16. Análisis de Regresión para el tratamiento T4

	G.L	C.M	F	Prob
Regresión	1	0.4026	6.0238	0.0340
Residuos	10	0.0668		
Total	11			



4.4.5 Análisis en Conjunto: LTP Vs %Germinación

El análisis de varianza de los datos en conjunto, indica que el efecto del coeficiente de regresión (0.0282) es altamente significativo entre las variables ($P \leq 0.0000$); además el modelo lineal es adecuado hasta en 78.4% de las observaciones valor estadísticamente significativo.

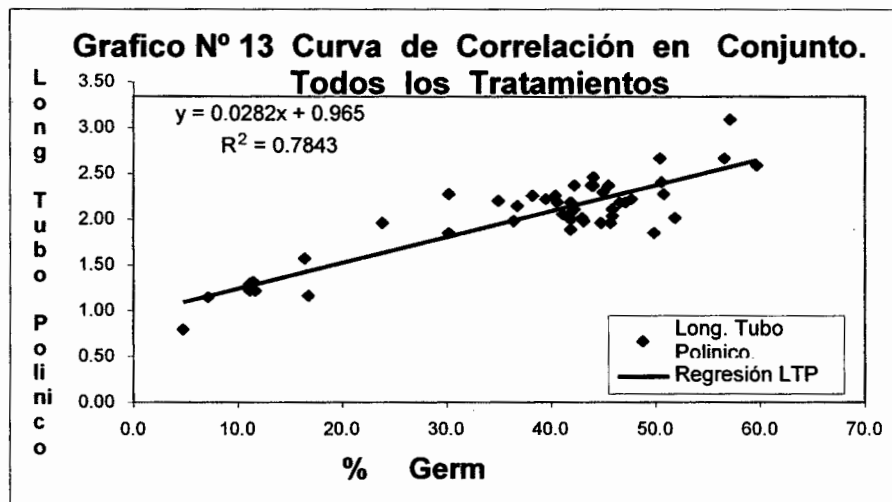
El gráfico, la ecuación de regresión y el gráfico de dispersión pueden observarse abajo. Puede notarse la mayor concentración de los datos entre los valores de 40 y 60% de germinación.

Estadísticas de la correlación y regresión	
R^2	0.7843
R^2 ajustado	0.7796
Error típico	0.2148
Observaciones	48
Intercepción	0.9650
Germinación	0.0282

Cuadro N° 17. Análisis de Regresión en conjunto. Todos los tratamientos

	G.L.	C.M	F	Prob
Regresión	1	7.7118	167.2201	0.0000*
Residuos	46	0.0461		
Total	47			

* Probabilidad menor que 0.0001



CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- El grano de polen de camu-camu es relativamente pequeño con una longitud de 15 μ m en su eje polar; de forma convexa, radiosimétrica (con más de dos planos de simetría) y subprolato (cuya razón eje polar/diámetro ecuatorial es de 1.14u a 1.33u), tricolpado (posee tres aperturas o colpos): angulaperturado (las aperturas se encuentran en los ángulos del grano de polen).
- Respecto a la metodología de extracción del polen, la cantidad de polen extraído de flores antes de la antesis fue 3 veces mayor que después de la antesis.
- En cuanto a métodos de conservación, la temperatura de -8° C fue la mejor tanto para el porcentaje de germinación de polen, como para la longitud de tubo polínico.
- Se observó que el T1 (antes a la antesis a -8° C) mantiene un mayor porcentaje de germinación (50.64%) a la semana N°12 de evaluación con respecto a los demás tratamientos, T3 (posterior a la antesis a -8° C) con 45.10%, T4 (posterior a la antesis a 8° C) con 25.22% y por ultimo T2 (previo a la antesis a 8° C) con 0.71%, este ultimo bastante bajo en comparación con los demás tratamientos en estudio.
- Respecto a la influencia de la temperatura sobre la viabilidad, se encontró que el polen procedente de flores colectadas después de la antesis mantiene un porcentaje de viabilidad casi uniforme para los dos niveles del factor B (temperatura) hasta las 12 semanas.
- Mientras que polen colectado antes de la antesis solo mantiene un porcentaje de viabilidad casi uniforme para el nivel B1 (-8° C) en tanto que el porcentaje de viabilidad tiende a decrecer para el nivel B2 (8° C).
- El porcentaje de germinación de los granos de polen esta influenciado por el

estado de la antesis al momento de la recolección del polen. Así el mayor porcentaje de germinación fue obtenido en polen procedente de flores colectadas antes de la antesis, en comparación con el polen procedente de flores colectadas después de la antesis.

- En cuanto a longitud de tubo polínico se observa que hay un mayor crecimiento para el T3 (posterior a la antesis a -8°C) con 237.40um y un menor crecimiento para T2 (previo a la antesis a 8°C) con 78.75um, luego de 12 semanas de cultivo in vitro.
- El T1 (previo a la antesis a -8°C) alcanzó el mayor porcentaje de germinación y el T3 (posterior a la antesis a -8°C) mostró la mayor longitud del tubo polínico, así también el T2 (previo a la antesis a 8°C) tiene el menor desempeño con respecto a los demás tratamientos en estas dos variables en estudio.
- Para las dos variables dependientes en estudio se observa que los niveles de porcentaje de germinación y longitud de tubo polínico tiende a decrecer conforme pasa el tiempo. Lo cual indica una pérdida en el vigor de los granos de polen y por consiguiente a más tiempo de conservación encontraremos el polen menos viable.

5.2. Recomendaciones

- Se recomienda extraer el polen de flores colectadas antes de la antesis y almacenar a -8°C de temperatura para su conservación, obteniéndose un 50% de viabilidad hasta las 12 semanas.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- ASLANTAS R. *et al.* 1995. Almacenaje del polen de la fresa. En:
<http://actahort.org/books/567/56746.htm>.
- BEN S.P. WANG *et al.* 1993. Ex Situ Storage of Seeds, Pollen and In Vitro Cultures of Perennial Woody Plant Species. FAO. Roma, Italia.
- CHANON ANA *et al.* 1998. Desarrollo y potencial florales para la hibridación interespecifica de *Aesculus parviflora* y *A. Pavia*.
 En: http://ohioline.osu.edu/sc165/sc165_6.html
- DE ANDRADE MIRANDA I. P. 1986. Morfologia e Aspectos Praticos da Germinacao e do Armazenamento do Polen de "Pupunha" *Bactris gassipaes* H.B.K. (Arecacea). Universidad do Amazonas. Manaus. Pag: 12 – 14.
- FLORENT ENGELMANN. 1995. Breve Descripción de las Actividades de las Investigaciones del IPGRI en la Conservación In Vitro de la Especie de la Planta. Volumen N° 02. Roma, Italia.
- FLORES PAITAN S. 1997. Cultivos de Frutales Nativos Amazónicos. 1ra Edición. TCA. Lima – Perú. Pag: 55 – 58.
- GOLDMAN C. A. 1993. Formación del Tubo del Polen y el Dogma Central de la Biología. Los Estudios Probados Para la Enseñanza en Laboratorio. Volumen N° 16. Dpto. de Biología de la Universidad de Wheaton, Illinois.
- GRAHAM JOEL E 2002.
<http://panda.fat.org.br/pipermail/brom-1/2002-february/000075.htm>
- HODSON ROBERT C. 2000. Germinación de polen.
 En: <http://www.udel.edu/blc/hodson/exp04.pdf>
- HURTADO DANIEL *et al.* 1994. Cultivo de Tejidos Vegetales. 3ra Reimpresión. Editorial Trillas. México. Pag: 101 – 109.

- KWAN S. C. *et al.* 1969. Los Efectos de Diversos Productos Químicos en la Germinación del Polen y el Crecimiento del Tubo en Allium cepa. Universidad del Estado de Utah, Logan. Diario de la sociedad americana para la ciencia hortícola 94: 561 – 562.
- MCCORMICK. 1990. Crecimiento del Tubo del Polen. Germinación In Vitro del Tomate.
- MOREIRA C. *et al.* 1993. Estudos sobre a Preservacao do Polen do Urucueiro. TURRIALBA. Revista Interamericana de Ciencias Agrícolas. IICA. San José de Costa Rica. Volumen N° 43. Pag: 109 – 112.
- PICKER M. 1988. Germinación y Almacenaje In Vitro de Trinucleate Arabidopsis Thaliana (L.) Granos de Polen. En: <http://stein.csh.org/atir/general/book/eais/1988/picke-1988-aadeg.html>
- RIVA R. R. 1995. Tecnología del Cultivo de Camu camu en la Amazonía Peruana. INIA.
- ROCA W. M. *et al.* 1991. Cultivos de Tejidos en la Agricultura; Fundamentos y Aplicaciones. CIAT. Cali – Colombia.
- SAENZ C. 1978. Polen y Esporas. Introducción a la Palinología y Vocabulario Palinológico. Ediciones H. Blume. Madrid – España.
- SARASWATHYAMMA C. K. *et al.* 1990. Anthesis and Pollen Germination in Hevea brasilensis Muell. Arg. Turrialba. Revista Interamericana de Ciencias Agrícolas. IICA. San Jose, Costa Rica.
- SCHIMPF. D. J. 1992. Germinación rápida del polen in vitro.
<http://www.csun.edu/~vcbio001/teach.html>
- STANLEY R. G. *et al.* 1974. Pollen. Biology Biochemistry Management. Springer – Verlag Berlin Heidelberg New York.
- VASQUEZ F. *et al.* 1996. Nota sobre el Efecto de la Temperatura y Humedad en la Germinación In Vitro del Grano de Polen en Quercus rotundifolia Lam. Y Q. suber L. Investigación Agraria, Sistemas y Recursos

forestales. Volumen 5. N°2. Pág 351-359.

VASQUEZ M. A. 2000. El Camu-camu. Cultivo, Manejo e Investigación. Editorial Universal. Iquitos – Perú. Pag: 31 – 61.

YONG – JIONG JIA *et al.* 1992. Regeneración de la Planta por el Cultivo del Polen del Arroz. Facultad de Agricultura; Universidad de Nagoya, Chikusa-ku, Nagoya. Japon. Pag: 464.

YOUMBI E. *et al.* 1999. Morfología y germinación in vitro del polen de Dacryodes edulis (Burseraceae). Parámetros para la germinación óptima.

En: <http://www.soton.ac.uk/~icvc/dacrbib/dacr-p-v2.htm>

ZUNG J. *et al.* 1997. Una investigación sobre el crecimiento del tubo del polen.

En: <http://www.woodrow.org/teachers/biology/institutes/1997/pollen1>

A N E X O

ANEXO N° 1 *Análisis de varianza del Porcentaje de germinación a la Cosecha.*

F de V	GL	CM	Prob
Antesis	1	72.37	0.014
Error	6	6.22	
Total	7		

CV= 5.3%

ANEXO N° 2 *Poder germinativo del polen (%semanal).*

	S E M A N A S											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Antes antesis/-8°C	74	60	55	62	44	42	48	53	54	51	50	51
Antes antesis/8°C	60	48	17	8.1	8.4	3.9	4.1	3.9	3.8	3.7	1.5	0.7
Después antesis/-8°C	69	58	26	44	35	46	42	50	47	45	45	45
Después antesis/8°C	70	59	48	51	52	40	38	36	45	43	33	25

ANEXO N° 3 *Análisis de Varianza del Porcentaje de germinación a la Primera Semana. Datos Transformados Arc Seno.*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Tratamientos	3	58.865 ns	0.0551
Antesis	1	10.639 ns	0.4509
Temperatura	1	72.498 ns	0.0646
AxT	1	93.457 *	0.0395
EE	12	17.516	
Total	15		

CV= 7.48%

ANEXO N° 4 *Análisis de Efectos Simples del Porcentaje de germinación a la primera Semana.*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
A (T1)	1	20.516 ns	0.3004
A (T2)	1	83.580 *	0.0495
T (A1)	1	165.291 **	0.0097
T (A2)	1	0.664 ns	0.8488

ANEXO N° 5 *Prueba de Duncan al 5%*

Tratamientos	Promedios
A1B1	59.705 a
A2B2	57.079 a b
A2B1	56.502 a b
A1B2	50.614 b

ANEXO N° 6 *Análisis de Varianza del Porcentaje de germinación a la Segunda Semana. Datos Transformados Arc Seno.*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Tratamientos	3	40.345 *	0.036
Antesis	1	28.715 ns	0.119
Temperatura	1	39.596 ns	0.072
AxT	1	52.722 *	0.042
EE	12	10.198	
Total	15		

CV= 6.55%

ANEXO N° 7 *Prueba de Duncan al 5%*

Tratamientos	Promedios
A1B1	50.784 a
A2B2	44.07 a
A2B1	44.07 a
A1B2	44.007 b

ANEXO N° 8 *Análisis de Efectos Simples del Porcentaje de germinación a la Segunda Semana.*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
A (T1)	1	1.809 ns	0.681
A (T2)	1	79.628 *	0.016
T (A1)	1	91.849 *	0.011
T (A2)	1	0.469 ns	0.834

ANEXO N° 9 *Análisis de Varianza del Porcentaje de germinación a la Tercera Semana. Datos Transformados Arc Seno.*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Tratamientos	3	8.558 **	0.000
Antesis	1	8.558 ns	0.419
Temperatura	1	8.558 *	0.010
AxT	1	8.558 **	0.000
EE	12	10.558	
Total	15		

CV= 8.92%

ANEXO N° 10 *Prueba de Duncan al 5%*

Tratamientos	Promedios
A1B1	47.61 a
A2B2	44.03 a
A2B1	30.19 b
A1B2	23.88 c

ANEXO N° 11 *Análisis de Efectos Simples del Porcentaje de germinación a la Tercera Semana.*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
A (T1)	1	607.201 **	0.0000
A (T2)	1	811.564 **	0.0000
T (A1)	1	1126.218 **	0.0000
T (A2)	1	382.994 **	0.0001

ANEXO N° 12 *Análisis de Varianza del Porcentaje de germinación a la Cuarta Semana. Datos Transformados Arc Seno.*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Tratamientos	3	10.297 **	0.0000
Antesis	1	10.297 **	0.0006
Temperatura	1	10.297 **	0.0000
AxT	1	10.297 **	0.0000
EE	12	17.297	
Total	15		
CV=		10.68%	

ANEXO N° 13 *Prueba de Duncan al 5%*

Tratamientos	Promedios
A1B1	51.85 a
A2B2	45.66 a b
A2B1	41.76 b
A1B2	16.44 c

ANEXO N° 14 *Análisis de Efectos Simples del Porcentaje de germinación a la Cuarta Semana.*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
A (T1)	1	203.491 **	0.0050
A (T2)	1	1708.227 **	0.0000
T (A1)	1	2508.438 **	0.0000
T (A2)	1	30.376 ns	0.2098

ANEXO N° 15 *Análisis de Varianza del Porcentaje de germinación a la Sexta Semana. Datos Transformados Arc Seno*

F de V	G.L.	C.M.	Fc	Prob
Tratamientos	3	879.3**	103.687	0.0000
Antesis	1	934.5**	110.202	0.0000
Temperatura	1	1054.2**	124.317	0.0000
AxT	1	649.1**	76.541	0.0000
EE	12	8.481		
Total	15			
CV=		8.68%		

ANEXO N° 16 Prueba de Duncan al 5%

Tratamientos	Promedios	Sig(*)
A2B1	42.96	a
A1B1	40.41	a
A2B2	39.46	a
A1B2	11.44	b

ANEXO N° 17 Análisis de Efectos Simples del Porcentaje de germinación a la sexta Semana

F de V	G.L.	C.M.	Fc	Prob
A en T1	1	12.971ns	1.529	0.2399
A en T2	1	1570.753**	185.214	0.0000
T en A1	1	1678.980**	197.975	0.0000
T en A2	1	24.444ns	2.882	0.1153

ANEXO N° 18 Análisis de varianza del Porcentaje de germinación a la séptima Semana. Datos Transformados Arc Seno

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Tratamientos	3	871.095**	0.0000
Antesis	1	533.105**	0.0000
Temperatura	1	1193.379**	0.0000
AxT	1	886.800**	0.0000
EE	12	2.030	
Total	15		
CV=	4.25%		

ANEXO N° 19 Prueba de Duncan 5%

Tratamientos	Promedios	Sig(*)
A1B1	43.85	a
A2B1	40.50	b
A2B2	38.12	c
A1B2	11.68	d

ANEXO N° 20 Análisis de Efectos Simples del Porcentaje de germinación a la Séptima Semana.

F de V	G.L.	C.M.	Prob
A en T1	1	22.379**	0.0061
A en T2	1	1397.526**	0.0000
T en A1	1	2068.821**	0.0000
T en A2	1	11.358*	0.0357

ANEXO N° 21 *Análisis de varianza del Porcentaje de germinación a la octava Semana. Datos Transformados Arc Seno*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Tratamientos	3	1051.005**	0.0000
Antesis	1	550.238**	0.0000
Temperatura	1	1868.090**	0.0000
AxT	1	734.687**	0.0000
EE	12	2.309	
Total	15		
CV=	4.36%		

ANEXO N° 22 *Prueba de Duncan 5%*

Tratamientos	Promedios	Sig(*)
A1B1	46.55	a
A2B1	44.72	a
A2B2	36.66	b
A1B2	11.38	c

ANEXO N° 23 *Análisis de efectos simples del Porcentaje de germinación a la octava Semana.*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
A en T1	1	6.654ns	0.1154
A en T2	1	1278.271**	0.0000
T en A1	1	2472.910**	0.0000
T en A2	1	129.867**	0.0000

ANEXO N° 24 *Análisis de varianza del Porcentaje de germinación a la novena Semana. Datos Transformados Arc Seno*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Tratamientos	3	1106.356**	0.0000
Antesis	1	733.160**	0.0000
Temperatura	1	1367.392**	0.0000
AxT	1	1218.515**	0.0000
EE	12	2.640	
Total	15		
CV=	4.53%		

ANEXO N° 25 *Prueba de Duncan 5%*

Tratamientos	Promedios	Sig(*)
A1B1	47.05	a
A2B1	43.14	b
A2B2	42.10	b
A1B2	11.11	c

ANEXO N° 26 *Análisis de Efectos Simples del Porcentaje de germinación a la novena Semana.*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
A en T1	1	30.657**	0.0052
A en T2	1	1921.018**	0.0000
T en A1	1	2583.763**	0.0000
T en A2	1	2.145ns	0.3852

ANEXO N° 27 *Análisis de Varianza del Porcentaje de germinación a la décima Semana. Datos Transformados Arc Seno*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Tratamientos	3	1035.214**	0.0000
Antesis	1	692.503**	0.0000
Temperatura	1	1276.628**	0.0000
AxT	1	1136.513**	0.0000
EE	12	4.428	
Total	15		
CV=	6.01%		

ANEXO N° 28 *Prueba de Duncan 5%*

Tratamientos	Promedios	Sig(*)
A1B1	45.77	a
A2B1	42.07	b
A2B2	41.06	b
A1B2	11.05	c

ANEXO N° 29 *Análisis de Efectos Simples del Porcentaje de germinación a la décima Semana.*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
A en T1	1	27.356*	0.0287
A en T2	1	1801.660**	0.0000
T en A1	1	2411.105**	0.0000
T en A2	1	2.036ns	0.5106

ANEXO N° 30 *Análisis de Varianza del Porcentaje de germinación a la Semana n°11. Datos Transformados Arc Seno*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Tratamientos	3	1190.74**	0.0000
Antesis	1	616.18**	0.0000
Temperatura	1	2001.86**	0.0000
AxT	1	954.18**	0.0000
EE	12	2.664	
Total	15		
CV=	5.07%		

ANEXO N° 31 Prueba de Duncan 5%

Tratamientos	Promedios	Sig(*)
A1B1	44.90	A
A2B1	41.86	B
A2B2	34.94	C
A1B2	7.08	D

ANEXO N° 32 Análisis de Efectos Simples del Porcentaje de germinación a la Semana n°11.

F de V	G.L.	C.M.	Prob
A en T1	1	18.403*	0.0220
A en T2	1	1551.965**	0.0000
T en A1	1	2860.105**	0.0000
T en A2	1	95.943**	0.0001

ANEXO N° 33 Análisis de Varianza de Longitud de Tubo Polínico a la Cosecha.

F de V	GL	CM	Prob
Antesis	1	98.55	0.0003
Error	6	1.81	
Total	7		

ANEXO N° 34 Longitud de Tubo Polínico u/ Semana.

	S e m a n a s											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Antes antesis/-8°C	258.9	227.5	221.9	202.4	188.1	225.8	236.8	218.0	218.8	211.8	229.8	236.8
Antes antesis/8°C	241.7	245.4	196.6	156.9	115.8	131.7	123.1	130.8	121.9	130.4	114.0	78.8
Después antesis/-8°C	267.4	184.9	186.0	199.5	197.5	202.5	218.3	195.6	198.7	208.5	218.9	237.4
Después antesis/8°C	308.4	266.8	237.8	196.3	203.8	222.2	225.3	214.0	211.3	206.5	219.7	228.4

ANEXO N° 35 Análisis de Varianza de Longitud de Tubo Polínico a la Primera Semana. Datos Transformados Arc Seno.

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Tratamientos	3		
Antesis	1	0.321 ns	0.211
Temperatura	1	0.565 ns	0.105
AxT	1	0.056 ns	0.589
EE	12	0.340 ns	0.199
Total	15	0.184	
	CV=	15.93%	

ANEXO N° 36 Prueba de Duncan al 5%

Tratamientos	Promedios
A2B2	3.084 a
A2B1	2.674 a
A1B1	2.589 a
A1B2	2.417 a

ANEXO N° 37 *Análisis de Efectos Simples de Longitud de Tubo Polínico a la Primera Semana.*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
A (T1)	1	0.014 ns	0.785
A (T2)	1	0.891 *	0.048
T (A1)	1	0.060 ns	0.579
T (A2)	1	0.337 ns	0.201

ANEXO N° 38 *Análisis de Varianza de Longitud de Tubo Polínico a la Segunda Semana. Datos Transformados Arc Seno.*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Tratamientos	3	0.484 ns	0.126
Antesis	1	0.045 ns	0.649
Temperatura	1	0.997 *	0.049
AxT	1	0.410 ns	0.186
EE	12	0.208	
Total	15		
CV=		19.71%	

ANEXO N° 39 *Prueba de Duncan al 5%*

Tratamientos	Promedios
A2B2	2.668 a
A1B2	2.454 a b
A1B1	2.275 a b
A2B1	1.849 b

ANEXO N° 40 *Análisis de Efectos Simples de Longitud de Tubo Polínico a la Segunda Semana.*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
A (T1)	1	0.363 ns	0.211
A (T2)	1	0.091 ns	0.520
T (A1)	1	0.064 ns	0.588
T (A2)	1	1.342 *	0.026

ANEXO N° 41 *Análisis de Varianza de Longitud de Tubo Polínico a la Tercera Semana. Datos Transformados Arc Seno.*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Tratamientos	3	0.222 ns	0.157
Antesis	1	0.003 ns	0.875
Temperatura	1	0.070 ns	0.435
AxT	1	0.594 *	0.036
EE	12	0.107	
Total	15		
CV=		15.53%	

ANEXO N° 42 Prueba de Duncan al 5%

Tratamientos	Promedios
A2B2	2.38
A1B1	2.22
A1B2	1.97
A2B1	1.86

ANEXO N° 43 Análisis de Efectos Simples de Longitud de Tubo Polínico a la tercera Semana.

F de V	G.L.	C.M.	Prob
A (T1)	1	0.258 ns	0.146
A (T2)	1	0.339 ns	0.100
T (A1)	1	0.128 ns	0.295
T (A2)	1	0.536 *	0.045

ANEXO N° 44 Análisis de Varianza de Longitud de Tubo Polínico a la Cuarta Semana. Datos Transformados Arc Seno.

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Tratamientos	3	30.321ns	0.645
Antesis	1	30.321ns	0.532
Temperatura	1	30.321ns	0.406
AxT	1	30.321ns	0.470
EE	12	0.321 .	
Total	15		

CV= 30.02%

ANEXO N° 45 Prueba de Duncan al 5%

Tratamientos	Promedios
A1B1	2.02 a
A2B1	2.00 a
A2B2	1.96 a
A1B2	1.57 a

ANEXO N° 46 Análisis de Efectos Simples de Longitud de Tubo Polínico a la cuarta Semana.

F de V	G.L.	C.M.	Prob
A (T1)	1	0.002 ns	0.944
A (T2)	1	0.310 ns	0.345
T (A1)	1	0.414 ns	0.278
T (A2)	1	0.002 ns	0.937

ANEXO N° 47 *Análisis de Varianza de Longitud de Tubo Polínico a la sexta Semana. Datos Transformados Arc Seno.*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Tratamientos	3	0.767	0.000
Antesis	1	0.453	0.001
Temperatura	1	0.553	0.001
AxT	1	1.295	0.000
EE	12	0.025	
Total	15		

CV= 8.07%

ANEXO N° 48 *Prueba de Duncan 5%*

Tratamientos	Promedios	Sig*
A1B1	2.26	a
A2B2	2.22	a
A2B1	2.03	a
A1B2	1.32	b

ANEXO N° 49 *Análisis de Efectos Simples de Longitud de Tubo Polínico a la sexta Semana.*

F de V	G.L.	C.M.	Fc	Prob
A en T1	1	0.108	4.337	0.059
A en T2	1	1.640	65.803	0.000
T en A1	1	1.770	71.014	0.000
T en A2	1	0.078	3.124	0.103
CM EE =		0.025		

ANEXO N° 50 *Análisis de Varianza de Longitud de Tubo Polínico a la séptima Semana. Datos Transformados Arc Seno.*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Tratamientos	3	1.098**	0.000
Antesis	1	0.702*	0.013
Temperatura	1	1.137**	0.003
AxT	1	1.455**	0.001
EE	12	0.082	
Total	15		

CV= 14.27%

ANEXO N° 51 *Prueba de Duncan 5%*

Tratamientos	Promedios	Sx=
A1B1	2.37	1.890
A2B2	2.25	1.790
A2B1	2.18	1.742
A1B2	1.23	

ANEXO N° 52 *Análisis de Efectos Simples de Longitud de Tubo Polínico a la séptima Semana..*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
A en T1	1	0.068ns	0.382
A en T2	1	2.089**	0.000
T en A1	1	2.582**	0.000
T en A2	1	0.010ns	0.736
CM EE = 0.082			

ANEXO N° 53 *Análisis de Varianza de Longitud de Tubo Polínico a la octava Semana. Datos Transformados Arc Seno.*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Tratamientos	3	0.654**	0.000
Antesis	1	0.371**	0.005
Temperatura	1	0.474**	0.002
AxT	1	1.116**	0.000
EE	12	0.032	
Total	15		
CV= 9.36%			

ANEXO N° 54 *Prueba de Duncan 5%*

Tratamientos	Promedios	Sig(*)
A1B1	2.18	a
A2B2	2.14	a
A2B1	1.96	a
A1B2	1.31	b

ANEXO N° 55 *Análisis de Efectos Simples de Longitud de Tubo Polínico a la octava Semana.*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
A en T1	1	0.100ns	0.100
A en T2	1	1.386**	0.000
T en A1	1	1.523**	0.000
T en A2	1	0.068ns	0.169
CM EE = 0.032			

ANEXO N° 56 *Análisis de Varianza de Longitud de Tubo Polínico a la novena Semana. Datos Transformados Arc Seno.*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Tratamientos	3	0.796**	0.000
Antesis	1	0.480**	0.005
Temperatura	1	0.711**	0.001
AxT	1	1.198**	0.000
EE	12	0.041	
Total	15		
CV= 10.80%			

ANEXO N° 57 Prueba de Duncan 5%

Tratamientos	Promedios	Sig*
A1B1	2.19	a
A2B2	2.11	a
A2B1	1.99	a
A1B2	1.22	b

ANEXO N° 58 Análisis de Efectos Simples de Longitud de Tubo Polínico a la novena Semana.

F de V	G.L.	C.M.	Prob
A en T1	1	0.081ns	0.186
A en T2	1	1.598**	0.000
T en A1	1	1.877**	0.000
T en A2	1	0.032ns	0.397
CM EE = 0.041			

ANEXO N° 59 Análisis de Varianza de Longitud de Tubo Polínico a la décima Semana. Datos Transformados Arc Seno.

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Tratamientos	3	0.618**	0.000
Antesis	1	0.529**	0.000
Temperatura	1	0.695**	0.000
AxT	1	0.630**	0.000
EE	12	0.021	
Total	15		
CV=		7.57%	

ANEXO N° 60 Prueba de Duncan 5%

Tratamientos	Promedios	Sig*
A1B1	2.12	a
A2B1	2.08	a
A2B2	2.06	a
A1B2	1.30	b

ANEXO N° 61 Análisis de Efectos Simples de Longitud de Tubo Polínico a la décima Semana.

F de V	G.L.	C.M.	Prob
A en T1	1	0.002ns	0.749
A en T2	1	1.156**	0.000
T en A1	1	1.324**	0.000
T en A2	1	0.001ns	0.846
CM EE = 0.021			

ANEXO N° 62 *Análisis de Varianza de Longitud de Tubo Polínico a la Semana n°11. Datos Transformados Arc Seno.*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
Tratamientos	3	1.195**	0.0000
Antesis	1	0.900**	0.0000
Temperatura	1	1.324**	0.0000
AxT	1	1.360**	0.0000
EE	12	0.013	
Total	15		
CV=	5.84%		

ANEXO N° 63 *Prueba de Duncan*

Tratamientos	Promedios	Sig(*)
A1B1	2.30	A
A2B1	2.20	AB
A2B2	2.19	AB
A1B2	1.14	C

ANEXO N° 64 *Análisis de efectos simples de Longitud de Tubo Polínico a la Semana n°11.*

F de V	G.L.	C.M.	Prob
A en T1	1	0.024	0.20
A en T2	1	2.236	0.00
T en A1	1	2.683	0.00
T en A2	1	0.000	0.92
CM EE =	0.013		

MAPA DE UBICACION DEL RODAL NATURAL DE CAMU CAMU EN EL LAGO DE MORONA COCHA



BARBAS

ESCALA LINEAL

LEYENDA

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES DE LA AMAZONIA PERUVIANA
IIAP
 Unidad Ejecutora para el Manejo Forestal
 Oficina de Estudios de Diagnóstico y Planeación
 MAPA DE UBICACION DEL CAMU CAMU
 2010