

VIABILIDAD Y GERMINACIÓN DEL POLEN EN MANGO (*Mangifera indica* L.) cv. ATAÚLFO

Malc R. Gehrke-Vélez, Alfredo Castillo-Vera, Carmen Ruiz-Bello y José L. Moreno-Martínez

RESUMEN

Se caracterizó la morfología del polen del mango Ataúlfo en cuatro localidades de la región Soconusco, Chiapas, México. Se analizó su viabilidad y germinación *in vitro* e *in vivo*, así como la tasa y velocidad de crecimiento del tubo polínico (TP) dentro del gineceo floral, para detectar posibles disfunciones en el proceso polinizador que explicasen alteraciones tales como falta de amarre y producción excesiva de mangos estenospermocárpicos (*nubbins*), conocidos en México como 'mangos niño'. El polen mostró una viabilidad aceptable (70-85%) y niveles de germinación de 14,5 y 1,75% en flores hermafroditas y masculinas, respectivamente. El contenido promedio de polen en los estambres fue de 959 granos por antera en flores hermafroditas y 645 en masculinas. Se observó una tasa de crecimiento del TP inicialmente alta

($58\mu\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$) pero rápidamente decreciente 12h después de germinación ($12,8\mu\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$), lo que indica la posibilidad de que el crecimiento está restringido por algún factor ambiental o fisiológico que pudiera causar fecundación deficiente y consecuente atrofia embrionaria. La velocidad de crecimiento decrece vertiginosamente desde germinación hasta las 12h, acelera hasta las 24h, para después volverse errática. En la literatura no se encontraron descripciones morfológicas del polen de la variedad Ataúlfo ni referencias a la tasa y velocidad de crecimiento del TP en mango. Los resultados indican la posible existencia de disfunciones en el proceso fecundativo que expliquen las causas de una deficiente polinización/fecundación en el mango Ataúlfo y la consecuente baja productividad de esta variedad de mango.

Introducción

El mango (*Mangifera indica* L.) es una fruta ampliamente conocida en América tropical (Galán, 2000). En muchas regiones se conocen variedades que son consideradas 'criollas' pese a que esta fruta es originaria de India y del archipiélago indonesio (Chávez *et al.*, 2000). La variedad ahora conocida como Ataúlfo fue descubierta en forma casual en 1962 en un traspatio en Tapachula, México (Hanneman *et al.*, 2008). Debido a las características deseables que muestra esta variedad, se desarrolló su

cultivo como plantación frutícola comercial en la región cálido-húmeda del Soconusco, Chiapas, México. (IMPI, 2003). La propagación del cultivo aumentó a partir de 1980 hasta lograr extensiones considerables de esta variedad en monocultivo, obteniéndose buenas producciones y altas tasas de rendimiento. Sin embargo, en los últimos diez años la producción de mango Ataúlfo en la región del Soconusco se ha reducido de un nivel altamente productivo de 15ton de fruto fresco por ha a un rendimiento promedio en la zona de menos de 4ton (Hannemann, 2008;

Asociación Agrícola Local de Fruticultores del Soconusco, comunicación personal, 2009).

Esta drástica reducción en productividad ocurre pese a ciertos hechos tales como: 1) El cultivar Ataúlfo es originario del Soconusco, lo que descarta la posibilidad de una inadaptabilidad natural de la variedad a las condiciones ecoclimatológicas del lugar. 2) A lo largo de los últimos diez años no se han observado variaciones drásticas en el desarrollo vegetativo de las plantas que pudieran indicar cambios en la configuración morfológica vegetativa del cultivar. 3) La tecnología del

cultivo ha sido básicamente la misma desde que se inició el desarrollo de este cultivar en la zona, por lo que es poco probable que las alteraciones provengan de algún cambio en la tecnología de producción.

En el Soconusco la constante baja de la productividad coincide con altos índices de aborto floral, falta de amarre de frutos y la presencia de frutos con embrión abortado conocidos como 'mangos niño' (*nubbins*) según informó la Asociación Agrícola Local de Fruticultores del Soconusco en 2009.

En años recientes se han efectuado diversos trabajos

PALABRAS CLAVE / Atrofia Embrionaria / Fecundación / Mango Ataúlfo / Morfología del Polen / Tubo Polínico /

Recibido: 29/05/2010. Modificado: 05/04/2011. Aceptado: 12/04/2011.

Malc R. Gehrke-Vélez. Licenciado en Agronomía, Kansas State University, EEUU. Maestría en Horticultura tropical, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Costa Rica. Aspirante al Doctorado en Ciencias Naturales y Desarrollo, Universidad de Costa Rica. Docente investigador, Universidad Autónoma de Chiapas (UNACH). Dirección:

Facultad de Ciencias Agrícolas, UNACH. Entronque carretera costera, Huehuetán Pueblo, C.P.30660. Huehuetán, Chiapas, México. e-mail: malcgerhrke@hotmail.com

Alfredo Castillo-Vera. Licenciado en Química Agrícola, UNACH, México. Maestría en Ciencias Agropecuarias, CATIE, Costa Rica. Doctor en Entomología y Acarología, Colegio de Posgraduados, México.

Investigador, Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), México. e-mail: acastill@ecosur.mx

Carmen Ruiz-Bello. Ingeniera Agrónoma, Universidad Autónoma de Chapingo (UACH), México. Maestría en Ciencias en Agricultura Tropical, UNACH, México. Doctora en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM). Docente Inves-

tigadora, UNACH, México. e-mail: carubel@hotmail.com

José L. Moreno-Martínez. Ingeniero Agrónomo, UACH, México. Maestría en Ciencias Agropecuarias y de los Recursos Naturales Renovables, CATIE, Costa Rica. Doctorante en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, UAEM, México. Docente Investigador, UNACH, México. e-mail: jolmo59@hotmail.com

POLLEN VIABILITY AND GERMINATION IN MANGO (*Mangifera indica* L.) cv. ATAULFO

Malc R. Gehrke-Vélez, Alfredo Castillo-Vera, Carmen Ruiz-Bello and José L. Moreno-Martínez

SUMMARY

Morphological characteristics of 'Ataulfo' mango pollen are reported at four locations in Chiapas, Mexico. Pollen viability and germination was assessed *in vitro* and *in vivo* as well as pollen tube growth rate and velocity within the floral gynaecium, in order to detect possible malfunctions in the pollination process that could explain disorders such as lack of fruit set and excessive nubbin formation. Pollen showed acceptable (70-85%) viability and germination levels of 14.5 and 1.75%, respectively, in hermaphrodite and male flowers. Total pollen content averaged 959 grains per stamen in hermaphrodite flowers and 645 in male flowers. Pollen tube growth rate was initially high ($58\mu\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$) but decreased rapidly 12h after pollen germination ($12.8\mu\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$). This would in-

dicade that pollen tube growth seems to be hindered by some physiological or atmospheric factor which may be causing deficient ovule fertilization and a consequent embryonic atrophy. Growth velocity decreases drastically from germination to the 12h interval, increases up to the 24h stage, and then becomes erratic. Morphological descriptions of pollen growth and development in 'Ataulfo' were not found in the literature, nor were references to pollen tube growth rate and velocity in mango. Results obtained help explain possible malfunctions in the fertilization process and shed light on the causes of a deficient pollination/fertilization observed in Ataulfo mango and a severe crop reduction occurring in this mango cultivar.

VIABILIDADE E GERMINAÇÃO DO PÓLEN NA MANGUEIRA (*Mangifera indica* L.) cv. ATAÚLFO

Malc R. Gehrke-Vélez, Alfredo Castillo-Vera, Carmen Ruiz-Bello e José L. Moreno-Martínez

RESUMO

Caracterizou-se a morfologia do pólen da mangueira Ataulfo em quatro localidades da região Soconusco, Chiapas, México. Analisou-se sua viabilidade e germinação *in vitro* e *in vivo*, assim como a taxa e velocidade de crescimento do tubo polínico (TP) dentro do gineceu da flor, para detectar possíveis disfunções no processo polinizador que explicassem alterações tais como falta de amare e produção excessiva de mangas estenospermocárpicas (nubbins), conhecidos no México como 'mangos niño'. O pólen mostrou uma viabilidade aceitável (70-85%) e níveis de germinação de 14,5 e 1,75% em flores hermafroditas e masculinas, respectivamente. O conteúdo médio de pólen nos estames foi de 959 grãos por antera em flores hermafroditas e 645 em masculinas. Observou-se uma taxa de crescimento do TP inicialmente alta ($58\mu\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$) mas, rápi-

damente decrescente 12h depois de germinação ($12,8\mu\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$), o que indica a possibilidade de que o crescimento está restringido por algum fator ambiental ou fisiológico que pudera causar fecundação deficiente e consequente atrofia embrionária. A velocidade de crescimento diminui vertiginosamente desde germinação até as 12h, acelera até as 24h, para depois se tornar errática. Na literatura não se encontraram descrições morfológicas do pólen da variedade Ataulfo nem referências à taxa e velocidade de crescimento do TP no mango. Os resultados indicam a possível existência de disfunções no processo fecundativo que expliquem as causas de uma deficiente polinização/fecundação na manga Ataulfo e a consequente baixa produtividade desta variedade de manga.

científicos y empíricos cuyos resultados tienden a descartar la incidencia de factores bióticos invasivos, como plagas y enfermedades, que los identifique como agentes causales únicos o directos del fenómeno (Magallanes-Cedeño 2004), pero después de más de 30 años de desarrollo empírico del cultivo, todavía se carece de información básica que pudiese explicar fenómenos como el del mango niño y las alteraciones fisiológicas y morfológicas que pudieran causarlos. Se desconocen las funciones reproductivas que puedan explicar los procesos causales de los fenómenos observados. La incidencia creciente de este fenómeno se

ha atribuido a diversas causas, desde nutricionales (Lerma 2001) y fitopatológicas (Pérez-Quintanilla, 2001), hasta cambios evidentes en las condiciones eco-climatológicas (Mario Ernesto Cabrera, comunicación personal, 2001), pero hasta el momento no se ha encontrado una causa que ayude a comprender el fenómeno y permita solucionar el problema. En el presente trabajo se observaron y describieron las características morfológicas del polen de la variedad Ataulfo y se estudió su viabilidad y germinación en condiciones *in vitro* e *in vivo*, estableciéndose medios de cultivo idóneos para germinar el polen. Se compararon las

estructuras morfológicas del polen recolectado en diferentes localidades, para asociarlas con la incidencia de las alteraciones fisiológicas observadas en esta variedad. Así mismo, se cuantificó el número promedio de flores por inflorescencia, y se determinó la proporción sexual de las panículas.

Materiales y Métodos

Área de estudio

El estudio se realizó en la región costera del Soconusco, Chiapas, México, que constituye la zona de mayor concentración de siembras de mango Ataulfo. Se seleccio-

naron cuatro municipios que representan las áreas en donde ha sido más notoria la incidencia del fenómeno en estudio. El municipio más al sur fue Suchiate ($14^{\circ}41'N$, $92^{\circ}09'O$), seguido hacia el noreste por Tapachula ($14^{\circ}41'N$, $92^{\circ}16'O$), luego Mazatán ($14^{\circ}52'N$, $92^{\circ}27'O$) y finalmente Tuzantán ($15^{\circ}04'N$, $92^{\circ}25'O$). El orden en que se seleccionaron los municipios se basó en el orden en que progresó el desarrollo de la baja de productividad desde su inicio, ocurrido en el Municipio de Suchiate y progresando hacia el noreste, habiéndose observado en ese orden su mayor incidencia, según informó la Asociación

Agrícola Local de Fruticultores del Soconusco en 2009). El clima predominante en el área seleccionada se clasifica como cálido con abundantes lluvias en verano; la precipitación total anual varía entre 1500 y 2000mm y el mes más seco es <60mm. La temperatura promedio anual es de 28°C registrándose temperaturas día/noche en los meses más cálidos de 40°C/20°C (INEGI, 2009). Las observaciones se llevaron a cabo durante la época de floración, de noviembre 2008 a marzo 2009. Dentro del área se eligió un sitio de Iha en cada uno de los cuatro municipios previamente escogidos; los sitios fueron:

Municipio de Mazatán. Huerto Santa Lucía: 14°49'23,82"N, 92°25'98"O. Huerto de ~5 años de edad, manejado bajo el sistema tradicional pero sin un programa de fertilización.

Municipio de Tapachula. Predio Santa Rosa: 14°48'43,13"N, 92°19'33,76"O. Huerto de 18 años de edad manejado bajo sistema tradicional.

Municipio de Suchiate. Predio Altamira: 14°40'44,49"N, 92°17'86"O. Huerto de 15 años de edad manejado bajo sistema orgánico.

Municipio de Tuzantán. Huerta Guadalupe. 15°7'11,35"N, 92°26'39,16"O. Huerto de 15 años de edad bajo sistema de cultivo tradicional.

Arquitectura de la inflorescencia y relación sexual

Se recolectaron al azar 10 panículas en cada uno de los sitios experimentales, se midieron la longitud y número de sub raquis florales y se contabilizaron las flores masculinas y hermafroditas totales en cada panícula muestreada.

Recolección y extracción de polen

Con el fin de extraer y obtener flores hermafroditas y polen para efectuar poliniza-

ciones *in vitro* e *in vivo* bajo condiciones de laboratorio, se recolectaron panículas de mango Ataúlfo en cada uno de las localidades seleccionadas. En cada sitio de muestreo se eligió al azar un árbol del cual se recolectaron tres panículas sanas conformando la muestra correspondiente a cada sitio. La recolecta de las inflorescencias se realizó entre 6:00 y 8:00 de la mañana, para aprovechar la antesis que normalmente tiene lugar en la noche o en la madrugada en mangos poliembrionicos como Ataúlfo (Pimentel, 1984 citado por Litz, 1997). Las panículas fueron transportadas al laboratorio envueltas en papel toalla humedecido, en una hielera a ~13°C.

En el laboratorio se prepararon muestras compuestas con flores extraídas de las tres panículas escogidas de cada sitio. Se seleccionaron al azar cinco flores hermafroditas y cinco flores masculinas de cada muestra compuesta (sitio) a fin de determinar posibles diferencias en las características entre tipos de flor y de polen, antes y después de antesis. Se depositaron las flores en cajas de Petri con un medio nutritivo Brewbaker-Kwack (1973) para evitar su deshidratación durante la extracción y observación del polen. Se procedió a extraer el polen de los estambres frescos antes de la dehiscencia, abriendo el saco polínico y removiendo los granos con agujas de disección. Se repitió este procedimiento 2min después de la antesis, agregándoles 2-3 gotas de agua destilada para lavar las agujas y los sacos polínicos y de esta manera obtener la mayor cantidad posible de granos de polen.

Caracterización morfológica del polen

El polen extraído de los estambres se colocó en portaobjetos para su observación en un microscopio de contraste de fases marca VELAB Mod.VE-B3 con objeti-

vos 10× y 40×. Se realizó un conteo de los granos de polen cosechados de cada saco polínico, para obtener valores cuantitativos por cada saco observado.

Posteriormente, los granos de polen extraídos de cada antera antes y después de antesis fueron depositados en portaobjetos con una gota de colorante acetocarmín 1% (Radford *et al.*, 1974) y se examinaron bajo el microscopio. Se contó el número de granos de polen, se registró su tamaño, su forma y sus características morfológicas utilizando una cámara digital marca Motic modelo Moticam 1000. Se calculó el porcentaje de cada forma y tamaño de los granos con relación al total observado.

Viabilidad del polen

La viabilidad de los granos de polen se determinó según Radford *et al* (1974), quienes consideran viables los granos que adquieren un color rojo al ser entintados con acetocarmín 1%; y no viables los que permanecen de color café oscuro. Se depositó el polen en un portaobjetos, se agregó una gota de acetocarmín 1% (Radford *et al.*, 1974) y fueron observados en un microscopio marca VELAB Mod. VE-B3 con objetivo 40×. Se determinó la viabilidad de los granos de polen obtenidos antes de antesis, abriendo físicamente los sacos y extrayendo los granos, y después de antesis recolectando el polen 2min después de dehiscencia natural. El objetivo fue observar alguna diferencia en su viabilidad relacionada con este evento reproductivo.

Germinación del polen in vitro

Se corrieron pruebas preliminares con los diferentes medios que se describen más adelante, a base de agar solo, agar con sacarosa a diferentes concentraciones y agar con sacarosa más diferentes compuestos, a fin de determinar el medio mas fa-

vorable para que germinara el polen.

En base a los resultados de estas pruebas preliminares y utilizando la metodología de Brubaker-Kwack (1963) se preparó el medio de germinación con los siguientes ingredientes: agar 2000mg + sacarosa 100mg + solución nutritiva 70mg + agua destilada 100ml. La solución nutritiva completa (basada en el medio Brubaker-Kwack (1963)) contiene ácido bórico (H₃BO₃) 10mg, sulfato de magnesio heptahidratado (Mg₇SO₄ 7H₂O) 20mg, nitrato de calcio (Ca(NO₃)₂·4H₂O) 30mg, nitrato de potasio (KNO₃) 10mg, y agua 40ml.

Una vez solidificado el medio, se sembró el polen en cajas de Petri, se incubó a una temperatura constante de 28°C; y se realizaron observaciones a las 12, 24, 36 y 48h, registrándose el crecimiento inicial del tubo polínico en µm.

Germinación del polen in vivo

Se realizaron pruebas de germinación *in vivo* para observar el crecimiento y desarrollo del tubo polínico en mango Ataúlfo. Las anteras producto de la emasculación (ver párrafo sobre recolección y extracción de polen), se separaron y se colocaron en agua destilada en un portaobjetos, para que estas maduraran y abrieran sus sacos polínicos exponiendo el polen.

Con el material recolectado en el paso anterior se polinizaron manualmente las flores emasculadas, anotando la hora promedio de la polinización. Se separaron los ovarios de los estilos para su posterior observación en forma individual. Se aplastaron los pistilos a partir de las primeras 4h después de la polinización, observando y midiendo el crecimiento del tubo polínico. Se repitieron los primeros cuatro pasos del procedimiento, en lapsos de tiempo de 8, 16, 24, 32 y 48h.

Con los datos registrados, se calculó la tasa y velocidad

TABLE I
LARGO Y ANCHO PROMEDIO DE PANÍCULAS
DE MANGO ATAÚLFO Y NÚMERO DE FLORES
TOTALES POR PANÍCULA*

Panícula	Largo de la panícula (cm)	Ancho de sub-raquis (cm)	Número de sub-raquis por panícula	Número de flores totales*
1	53	29	28	3155
2	48	29	32	2920
3	48	31	30	2083
4	56	40	31	4595
5	45	23	27	4122
6	57	35	34	3321
7	51	30	30	3266
8	39	18	22	1441
9	42	18	28	2420
10	41	19	26	1736
Totales	480	272	288	29059
Promedio	48	27,2	28,8	2905,9
σ	6,3	7,5	3,4	1006,9
Media (μ m)	47,6	26,2	28,6	2740,2
CV	13,2%	28,6%	11,9%	36,7%

* Incluye flores hermafroditas, masculinas y botones.

de crecimiento del tubo polínico dentro del gineceo floral desde adhesión del grano al estigma hasta la llegada del TP al micrópilo del ovario. Se cuantificaron los granos de polen totales de: flores hermafroditas antes de antesis (HAA), flores hermafroditas después de antesis (HDA), flores masculinas antes de antesis (MAA) y flores masculinas después de antesis (MDA).

Se observaron y midieron las siguientes variables: características macro morfológicas del polen, viabilidad del grano de polen expresado como percentil de granos vivos, tamaño del grano de polen, germinabilidad *in vivo* e *in vitro* del polen, medida en base al crecimiento inicial del tubo polínico.

Se colectaron muestras compuestas de tres panículas tomadas de un árbol seleccionado al azar en cada sitio de estudio; correspondiendo a cada árbol una unidad experimental.

El análisis de los datos se hizo con base en el modelo completamente al azar, considerando cuatro tratamientos o sitios de estudio y 10 repeticiones o inflorescencias, analizados con el programa SAS 9.0. Se realizaron comparaciones múltiples con el test de

Tukey ($\alpha=0,05$). Para la caracterización morfológica se monitoreó mediante fotografías del material, con una cámara digital portátil Samsung modelo EC170ZZPBC.

Resultados y Discusión

Arquitectura de la inflorescencia y relación sexual

La observación ocular de las panículas muestreadas mostró que el mango Ataúlfo produce inflorescencias racimosas en forma de panículas cónicas que se tornan cilíndricas según maduran y crecen las sub-raquis laterales. La disposición de estos sub-raquis es en espiral. La longitud promedio de la raquis principal fue de 48cm. y el ancho total de las ramas ó sub-raquis mas desarrolladas fue de 27cm cada una, lo que da un ancho total de la panícula de 54cm en promedio, emitiendo cada raquis un promedio de 29 sub-raquis. El promedio de flores por inflorescencia fue de 2906 (Tabla I). Esto coincide con lo observado por Muhkerjee (1953), quien reporta características muy similares en otras variedades de *M. indica*. No se observó un patrón determinado en el posicionamiento de

TABLE II
RELACIÓN DE FLORES ABIERTAS HERMAFRODITAS
Y MASCULINAS EN UNA PANÍCULA
DE MANGO ATAÚLFO

Inflorescencia	Flores hermafroditas	Flores masculinas	Flores abiertas totales
1	465	56	521
2	554	489	1043
3	589	79	668
4	985	795	1780
5	983	652	1635
6	586	412	998
7	198	973	1171
8	439	149	588
9	528	6	534
10	286	20	306
Totales	5613	3631	9244
Promedio	561,3	363,1	924,4
Porcentaje	60,7	39,3	

las flores masculinas o hermafroditas en relación con la arquitectura general de la panícula o inflorescencia.

La Tabla II muestra los resultados del conteo de flores abiertas de mango Ataúlfo en diez panículas maduras en floración. Pese a que en esta prueba el error estándar es muy amplio, se aprecia una tendencia en las flores abiertas altamente favorable para las flores hermafroditas frente a las masculinas (60:40). Esto es similar a lo reportado por diversos investigadores (Baghel *et al.*, 1988; Hussein *et al.*, 1989; Joubert *et al.*, 1993, citados por Davenport y Núñez-Elisea (1997)), quienes coinciden en que la relación de flores perfectas es comúnmente <50%; y concluyen además que la relación sexual es un componente variable entre panículas y árboles, así como entre cultivares de mango, habiéndose observado que en árboles de mayor edad aumenta la proporción de flores perfectas (Pandey1989). Sin embargo, según Davenport y Núñez-Elisea (1997) la relación sexual es menos crítica que otros factores que afectan el amarre y la retención de frutos en mango, dada la gran cantidad de flores emitidas en esta especie en relación con el número de frutos requeridos para lograr cosechas rentables.

Según Whiley y Searle, citados por Davenport (1997),

una reducción en la relación de flores perfectas es más notoria en grupos de cultivares poliembriónicos tropicales, como es el Ataúlfo. También es importante considerar lo expuesto por Joubert *et al.* (1993), quienes expresan que ciertos factores bióticos endógenos como la edad del árbol, el tipo de porta injerto o las diversas orientaciones de la copa afectan la proporción de flores perfectas a masculinas. Se considera que otros factores, tales como la viabilidad del polen, así como el crecimiento y fertilización del óvulo, son más importantes en cuanto a su efecto sobre la falta de amarre de frutos en estas condiciones.

Caracterización morfológica del polen

Los granos de polen tienen un diámetro de 10-20 μ m. Su forma individual es oblonga globular con una superficie exterior o exina papilonada. Al observarse en el microscopio en estado hidratado adquieren una forma globular rugosa provista de salientes o picos. Esto concuerda con lo observado por diversos autores citados por Davenport y Núñez-Elisea (1997), quienes exponen que al estar secos, los granos de polen adquieren una forma oblonga, mencionando tamaño promedio de 20-45 μ m.

Con respecto a las dimensiones, se observaron en los granos globulares diámetros promedio de 10-25µm y en los oblongos 35×17µm (Figura 1). Esto concuerda con lo observado por Singh (1961), quien registró longitudes medias de granos de polen de 23,5-28,3µm al estudiar 50 cultivares de mango en la India. Lo anterior indica que en la variedad Ataúlfo el polen es más pequeño que en las variedades estudiadas de la India (Davenport y Núñez-Elisea 1997). Dichas diferencias en tamaño del polen se observaron en variedades amarillas poliembriónicas de origen Indonesio similares al Ataúlfo, un cultivar que procede de mangos de este tipo, en comparación con lo observado en las variedades Indias monoembriónicas a las que hacen mención los autores citados. En relación con la morfología del polen, en un muestreo de 500 a 900 granos de polen, 700 mostraron ser tricolpados y el resto poliplicados según la clasificación descrita por Faegri (1964). Esto indica que los granos de polen en la variedad Ataúlfo son normalmente tricolpados (Figura 1a.), en concordancia con lo señalado por Mukherjee (1953) para otros cultivares de mango.

Se cuantificaron en promedio 810 granos de polen por cada antera en las flores hermafroditas y 531 en las flores masculinas observadas (Tabla III). Este dato revela menor contenido promedio de polen en las anteras de flores masculinas (20%). Al comparar estos datos con lo encontrado en diversos estudios citados por Davenport y Núñez-Elisea (1997), quienes mencionan contenidos de 250 a 650 granos por antera, con una media de 410. Sin considerar tipo de flor, se observa que el mango Ataúlfo produce mayor cantidad de granos de polen que éstos en flores hermafroditas y una cantidad menor en las masculinas.

Se presentaron diferencias significativas ($\alpha = 0,05$) en

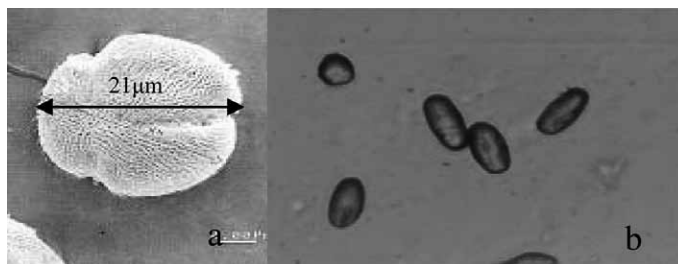


Figura 1. Granos de polen de mango Ataúlfo. A: imagen electrónica y b: polen de forma globular (hidratado) y cilíndrico (deshidratado).

TABLA III
COMPARACIÓN DE MEDIAS* DE GRANOS DE POLEN
TOTALES DE FLORES HERMAFRODITAS Y
MASCULINAS EN DIFERENTES SITIOS DE OBSERVACIÓN

Sitio	Granos de polen totales			
	FHAA	FHDA	FMAA	FMDA
Tuzantán	946,3 a	945,0 a	628,1 a	627,0 a
Suchiate	924,9 a	922,0 a	640,4 a	640,0 a
Tapachula	635,0 b	634,5 b	342,0 b	342,0 b
Mazatán	736,8 ab	737,4 ab	516,6 ab	511,5 ab
Media	810,8	809,7	531,8	530,1
DMS	217,65	218,93	177,53	193,09

* Letras diferentes en cada columna denotan diferencias significativas (Tukey $\alpha = 0,05$).

FHAA: flores hermafroditas antes de antesis, FHDA: flores hermafroditas después de antesis, FMAA: flores masculinas antes de antesis, FMDA: flores masculinas después de antesis.

los contenidos de polen por saco entre los sitios muestreados. En la Tabla III se presenta la comparación de medias entre los diferentes sitios. Se observa diferencia significativa entre el polen producido en Tapachula y Mazatán con respecto a los demás sitios, lo que indicaría alguna diferencia en los factores exógenos en estos sitios. El conteo de granos de polen reveló que no existe diferencia significativa entre el número de granos producidos por las anteras antes y después de antesis en los cuatro sitios observados (Tabla III).

En la Figura 2 se observa una diferencia en promedio de 279 granos de polen en-

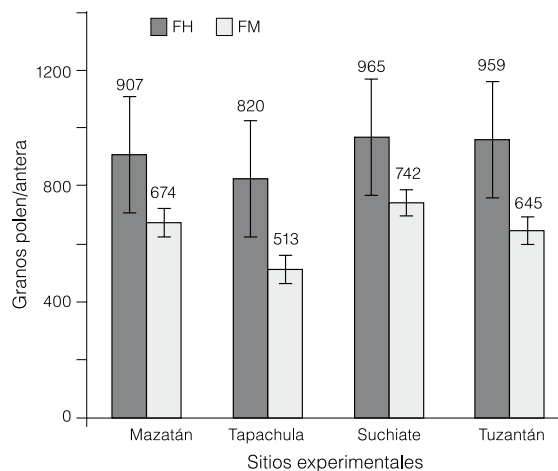


Figura 2, Producción de polen de flores masculinas (FM) y hermafroditas (FH) de mango Ataúlfo en cuatro sitios experimentales.

tre flores masculinas y hermafroditas, lo que refleja 34% menos en las primeras. Esto sugiere que en la variedad Ataúlfo las flores están en condiciones físicas de auto polinizarse ya que hay más polen proveniente de sus anteras en la vecindad de los órganos femeninos cuando estos están receptivos.

Viabilidad del polen

Los granos de polen fueron observados a los 20, 50 y 180s después de tinción con acetocarmín 1%. El 30% de los granos de polen reaccionaron con el colorante en 20-50s, el 60% se tiñeron después de 1-3min y el 10% restante no reaccionó, quedando intactos. La coloración roja de la íntima, indicativa de viabilidad, apareció progresivamente hasta llegar al 90%. El 10% de los granos no se tiñó fueron considerados como no viables.

Lo anterior refleja un promedio de 90% de viabilidad de polen en el mango Ataúlfo, valor similar al observado por varios autores desde Popenoe (1917), Mukherjee (1949a, b) y hasta Singh(1961), quienes manifiestan que el porcentaje de polen viable es generalmente $\geq 90\%$ en climas cálidos.

De acuerdo a lo observado, el polen proveniente de flores hermafroditas muestra índices de viabilidad constantemente mayores que los de flores masculinas, habiéndose observado diferencias de 36 a 59% y un promedio de 43.3% en los cuatro sitios experimentales. Esta situación, aunada a que en la variedad Ataúlfo las flores hermafroditas producen más polen que las masculinas, indica que en el proceso polinización/fecundación es mucho mayor la probabilidad de que los órganos receptivos del gineceo reciban polen proveniente de flores hermafroditas, facilitándose así la fecundación.

Sin embargo, las pruebas de tinción con acetocarmín (Figura 3) muestran una situación diferente, observándose que si bien la viabilidad de granos provenientes de flores perfectas es constantemente mayor que la de granos de flores estaminadas, hay diferencias considerables entre sitios, siendo la viabilidad del polen de flores de ambos tipos en Tapachula significativamente mayor que la

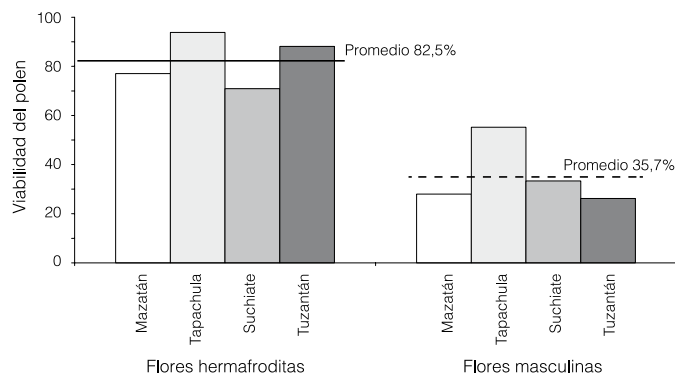


Figura 3. Viabilidad del polen (acetocarmin 1%) de mango Ataúlfo.

TABLA IV
GERMINACIÓN DEL POLEN DE MANGO ATAÚLFO
EN AGAR SOLO A DIFERENTES CONCENTRACIONES
Y AGAR CON DIFERENTES COMPUESTOS

Medio de cultivo	Granos totales	Granos germinados	% de germinación
Agar solo	10	3	30
Agar + Sacarosa (0,1gr)	10	1	10
Agar + Sacarosa (0,05g)	10	1	10
Agar + Sacarosa (0,04g)	10	1	10
Agar + Sacarosa (0,03g)	10	1	10
Agar + Sacarosa (0,025g)	10	1	10
Agar + Sacarosa (0,02g)	10	2	20
Agar + Sacarosa (0,015g)	10	2	20
Agar + Sacarosa (0,010g)	10	4	40
Agar + Sacarosa (0,007g)	10	1	10
Agar + Sacarosa + CaNO ₂ (0,03g)	10	0	0
Agar + Sacarosa + KNO ₃ (0,01g)	10	1	10
Agar + Sacarosa + MgSO ₄ (0,02g)	10	0	0
Agar + Sacarosa + B(OH) ₃ (0,01g)	10	0	0
Agar + Sacarosa 0,1g + Sol, Nutr, 0,1g	10	3	30

de los demás sitios (Figura 3), siguiéndole la situación notada en Tuzantán. Esto debe atribuirse a diferentes condiciones ecológicas de cada sitio, pero si se considera que Tapachula mostró ser el sitio en donde ambos tipos de flor produjeron la menor cantidad de polen (Tabla III), cabe la conjetura que las flores de mango Ataúlfo tienden a compensar la baja producción de polen con un alza en su viabilidad.

Germinación del polen *in vitro*

Se observó que los mejores medios de germinación para polen de mango fueron

los de agar solo, agar + sacarosa 0,01g y agar + sacarosa 0,1g + solución nutritiva 0,1g (Tabla IV). La germinación se presentó a las 24h después de la siembra. En la Figura 4 se pueden ver las fases progresi-

vas observadas de germinación del polen de mango Ataúlfo y consecuente desarrollo del TP *in vitro*. En la Figura 5 se muestran los resultados obtenidos en las pruebas finales de germinación *in vitro*.

En las pruebas preliminares (Tabla IV) se obtuvieron con agar + sacarosa 0,01g y con agar + sacarosa + solución nutritiva, porcentajes de germinación de 40 y 30% respectivamente. Sin embargo, los promedios de germinación cambiaron considerablemente en las pruebas definitivas (Figura 5), donde se observó una media de germinación de 14,5%, muy por debajo de lo observado por Spencer y Kennard (1955), quienes reportan medias de 78% para diversos cultivares, pero en concordancia con lo encontrado por Mukherjee (1950), quien observó tasas de germinación mucho más bajas, y concuerda con lo manifestado por Davenport y Nuñez-Elisea (1997) en el sentido que el polen de mango tiene su máxima viabilidad in-

citados por Kearns e Inouye (1993), quienes observan que la germinación exitosa de polen *in vitro* en muchas especies varía en función de factores fisiológicos tales como la presencia de calcio y boro y la densidad de granos de polen en el medio, así como la hora de recolección del polen y las condiciones de almacenamiento.

En observaciones hechas cada hora durante las primeras 48h, la máxima longitud del tubo polínico fue de 300µm en promedio, después de 40h posteriores a la germinación (Figura 4d). Posteriormente se detuvo el crecimiento, observándose crecimiento continuado del tubo polínico únicamente en 10% de los casos. Esto concuerda con lo observado por Heslop-Harrison y otros (1984) citados por Kearns e Inouye (1993), quienes manifiestan que el crecimiento de tubos polínicos *in vitro* es generalmente más lento que *in vivo* y no alcanza la misma longitud. (Figura 6).

Germinación del polen *in vivo*

Se observó una germinación del tubo polínico de 80%, que concuerda con lo reportado por Spencer y Kennard (1955), quienes observaron 78% de germinación media en varios cultivares. Se detectaron 2 a 3 tubos polínicos por estilo, aunque es posible la presencia de mayor número de TP al observarse bajo microscopia de mayor aumento.

Según Heslop-Harrison y otros (1984), citados por Kearns e Inouye (1993), la prueba definitiva de la viabilidad de polen esta en su habilidad de fertilizar los óvulos, por lo que en el presente trabajo el parámetro de

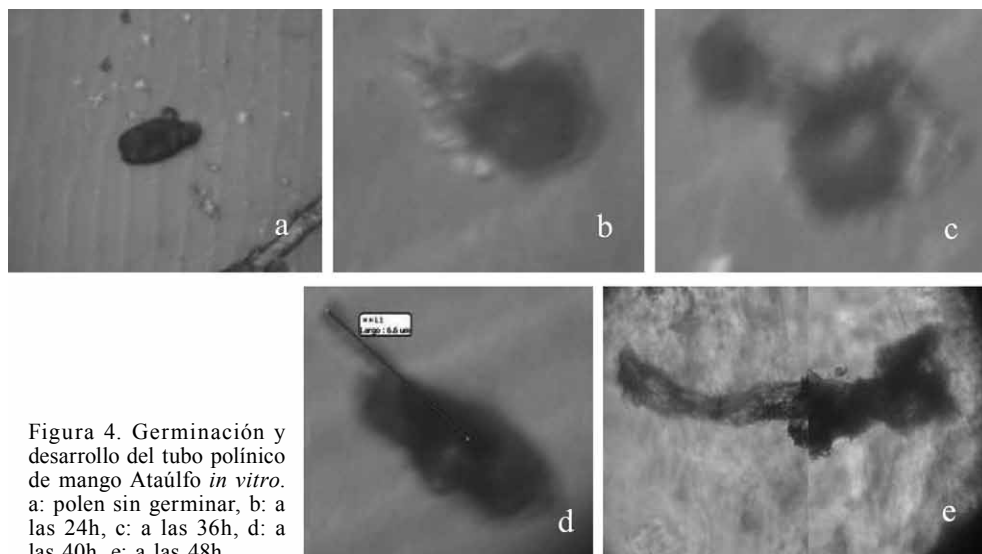


Figura 4. Germinación y desarrollo del tubo polínico de mango Ataúlfo *in vitro*. a: polen sin germinar, b: a las 24h, c: a las 36h, d: a las 40h, e: a las 48h.

medida de germinación tanto *in vitro* como *in vivo* fue el desarrollo y crecimiento del tubo polínico. A las 36h. de germinación, el TP registró una longitud de 550-580µm y comenzó a rodear el ovario, y a las 48h se observó el TP llegando al micrópilo. Esto

es congruente con lo establecido por Singh (1961), quien manifiesta que la fertilización del óvulo en mango ocurre a las 48-72h después del depósito del polen. Cabe notar que estos resultados se obtuvieron en condiciones de laboratorio, bajo temperaturas constantes de 28°C y humedad relativa de ~60-65%, lo que es indicativo de un ambiente adecuado para el óptimo desarrollo del TP según lo comentado por Whiley y otros (1988), de que las temperaturas frescas reducen la germinación y el crecimiento del tubo polínico.

En la Figura 7 se aprecian las tasas y velocidades de crecimiento del tubo polínico según las horas de observación. La tasa de crecimiento inicia alta (58µm·h⁻¹) pero decrece rápidamente a las 2,4 y hasta 12h después de germinación, cuando llega a 12,8µm·h⁻¹. Luego se mantiene estable con un ligero aumento a 14,4µm·h⁻¹ hasta las 36h, momento en el que llega al ovario y sigue estable en 11-13µm·h⁻¹ hasta las 48h, cuando marca una ligera trayectoria decreciente. Cabe notar que en las ocasiones en que se pudo observar el TP penetrando el micrópilo para llegar al óvulo, esto ocurrió a las 48h después de polinización, habiendo recorrido una distancia lineal de ~145µm. Se considera que este ‘frenado’ de la tasa de crecimiento del TP se debe a factores microclimáticos en la flor del mango, ya que ha sido demostrado por diversos autores, citados por List (1997), que las bajas temperaturas y

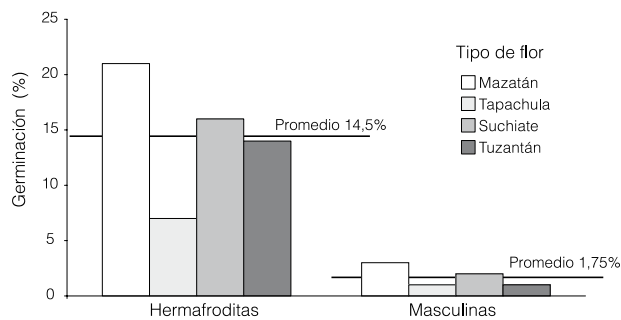


Figura 5. Germinación *in vitro* de polen de mango Ataúlfo.

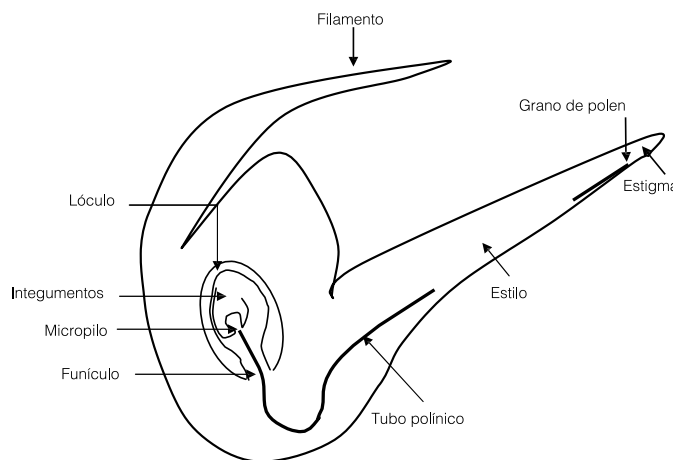


Figura 6. Diagrama de un gineceo típico de mango Ataúlfo a las 46-56h después de polinización cruzada.

humedad relativa ambientales tienen un efecto inhibitorio sobre el desarrollo y crecimiento del tubo polínico en mango. Sin embargo, los autores se refieren a temperaturas nocturnas <15°C, situación común en regiones subtropicales pero que raramente

aumento o disminución de la tasa de desarrollo del polen entre lapsos de observación, sigue una curva descendente, aunque mas drástica que la tasa general de crecimiento. Este escenario conduce a dos hipótesis. La primera es que las deceleraciones y lo errático

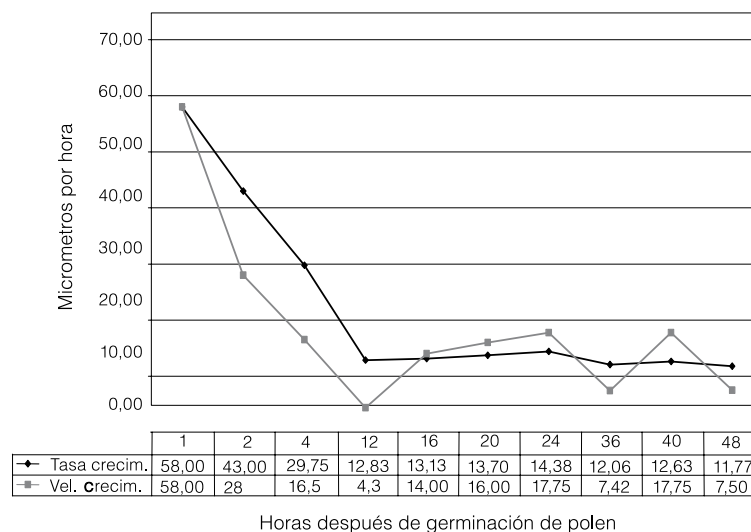


Figura 7. Tasa y velocidad de crecimiento del tubo polínico *in vivo* en mango Ataúlfo.

ocurre en la región de este estudio. No obstante, es posible que temperaturas nocturnas de 17°C ocurrentes en esta zona, desaceleren el crecimiento sin detenerlo completamente. La velocidad de crecimiento, o sea el

co de la tasa de crecimiento ocurren por causas endógenas y normales en esta variedad de mango; la segunda es que son anormales y son causadas por factores exógenos tales como las variaciones microclimáticas (Davenport y Núñez-Elisea, 1997) o por elementos endógenos como inhibiciones de origen genético (Singh y Singh, 1975).

Conclusiones

Se han presentado las características morfológicas más importantes del aparato reproductivo del mango Ataúlfo, sentando las bases para estudiar la problemática reproductiva que está causando un serio problema para la producción de mango en la región del Soconusco, Chiapas, México.

Los métodos utilizados para determinar la viabilidad y germinación del polen *in vitro* e *in vivo* son confiables y congruentes con lo encontrado en investigaciones similares en situaciones parecidas con mango en diferentes sitios pero orientadas a solucionar problemáticas similares.

En cuanto a las características particulares de viabilidad del polen de mango var. Ataúlfo en condiciones simulativas de las condiciones de campo, se han determinado porcentajes de viabilidad suficientes para asegurar una polinización adecuada para una producción rentable de fruta. Lo observado se compara favorablemente con lo reportado en otros estudios de este cultivo en condiciones similares.

La cantidad y viabilidad de granos de polen provenientes de flores hermafroditas es siempre superior a la de flores masculinas, lo que indica una posible interacción entre la relación sexual de las inflorescencias y la productividad del árbol. Esto, de acuerdo a lo observado por diversos autores citados por Da-

venport y Núñez-Elisea (1997), está gobernado por diversas condiciones fisiológicas y ambientales.

En cuanto a la germinabilidad *in vitro* del polen de mango Ataúlfo, esta variedad presenta niveles relativamente bajos en comparación con lo observado en otros cultivares (Spencer y Kennard, 1955), pero que se asemejan a los resultados reportados por autores como Mukherjee (1950). Sin embargo, las pruebas *in vivo* demuestran porcentajes de germinación más altos, congruentes con lo observado por Spencer y Kennard (1955).

Se ha observado una alta tasa de crecimiento del tubo polínico del mango Ataúlfo en el momento de adhesión y germinación del polen, con un decrecimiento rápido en las primeras 12h posteriores y manteniéndose baja durante las siguientes 36h, lo que indica que el crecimiento está frenado por algún factor ambiental o fisiológico que pudiera ser causal de una fertilización deficiente y consecuente atrofia embrional.

La velocidad de crecimiento muestra características que corroboran lo anterior y apuntan hacia una posible inhibición del proceso fecundativo a nivel polen/

óvulo en el mango Ataúlfo. Con base en lo anterior, cabe pensar que existen algunas disfunciones en el proceso fecundativo de esta variedad que expliquen las causas de una deficiente polinización/fecundación. Su determinación posibilitará la generación de tecnologías adecuadas para contrarrestar sus efectos nocivos y aportar a los productores de mango de la región las bases para solucionar la problemática de baja productividad en este cultivo.

Finalmente, no parece que bajo las condiciones de este ensayo sean problemas de polinización los que determinen la falta de productividad de Ataúlfo. Se conjetura que puede existir un factor genético interviniendo en este fenómeno. Queda para futuras investigaciones determinar si esto es cierto.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Autónoma de Chiapas, al Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), a la Junta Local de Sanidad Vegetal de Fruticultores del Soconusco por su apoyo logístico y técnico, así como a la Fundación Produce Chiapas A.C. por el apoyo financiero nece-

sarios en la ejecución del actual trabajo.

REFERENCIAS

- Alexander, MP (1969) Differential staining of aborted and non-aborted pollen. *Satin Technol.* 44: 117-122.
- Brewbaker JL, Kwack BH (1963) The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. *Am. J. Bot.* 50: 747-858.
- Caraballo HBM (2001) Biología floral del guayabo (*Psidium guajava* L.) en la Planicie de Maracaibo, Zulia, Venezuela. *Rev. Fac. Agron. (LUZ).* 18: 41-55
- Faegri K, Iversen J (1964) *Textbook of Pollen Analysis*. Hafner. Nueva York, EEUU. 237 pp.
- Galan Saúco V (2000) The mango in Latin America. *Acta Hort.* 509: 123-131.
- Hanemann P, Bourns N, Fertziger I (2008) *Ataúlfo Mango in Chiapas. A Value Chain Analysis*. USAID micro report # 109. 51 pp.
- IMPI (2003) *Declaración General de Protección de la Denominación de Origen Mango Ataúlfo del Soconusco Chiapas*. Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial. Diario Oficial de La Federación 27/08/2011. México. 23 pp.
- INEGI (2009) *Tipos de Clima de Chiapas*. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. México. <http://mapserver.inegi.gob.mx/geografia/espanol/estados/chis/climas.cfm>
- Joubert J, Robbertse PJ, Coetzer LA, Wishart DL (1993) Inflorescence characteristics and flower sex ratio studies of container-grown mango trees. *South African Mango Grower's Association Yearbook* 13: 27-33.
- Kearns CA, Inouye DW (1993) *Techniques for Pollination Biologists*. 2ª imp. Colorado University Press. Niwot, CO, EEUU. 583 pp.
- Lerma MJN (2001) *Diagnostico Fenológico y Nutricional del Mango Ataúlfo en el Soconusco, Chiapas*. Tesis. Universidad Autónoma de Chiapas. México. 188 pp.
- Magallanes-Cedeño R (2004) Area-wide assessment of the 'Ataúlfo' mango cultivation in the Soconusco Region of Chiapas, Mexico. *Acta Hort.* 645: 361-363.
- Mukherjee SK (1953) The mango: Its botany, cultivation, uses and future improvement, especially as observed in India. *Econ. Bot.* 7: 130-162.
- Radford AE, Dickison WC, Massey JR, Bell CR (1974) *Vascular Plant Systematics*. Harper and Row. Nueva York, EEUU. 891 pp.
- Pandey RM (1989) Physiology of flowering in mango. *Acta Hort.* 231: 361-380.
- Singh UR (1961) Studies in the fruit-drop of mango IV. Embryo development, its degeneration and studies of fruit-pedicle and abscission zone. *Hort. Adv.* 5: 218-246.
- Singh UR, Singh AP (1973) Studies on morphology and viability of pollen grains of mango *Punjab Hort. J.* 13: 237-246.