

TÉCNICA PARA PRODUCIR HÍBRIDOS EN NOCHEBUENA (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch)

TECHNIQUE USED TO PRODUCE HYBRIDS IN POINSETTIA (*Euphorbia pulcherrima* Wild. ex Klotzsch)

Canul-Ku, J.^{1*}; García-Pérez, F.¹; Barrios-Gómez, E. J.¹; Campos-Bravo, E.²; Osuna-Canizalez, F. de J.¹; Ramírez-Rojas, S.¹; Rangel-Estrada, S.E.¹

¹Campo Experimental Zacatepec. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias Av. Progreso No. 5. Santa Catarina, Coyoacán, D.F. CP. 04010 México. ²Posgrado en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Cuernavaca, Morelos.

*Autor responsable: canul.jaime@inifap.gob.mx

RESUMEN

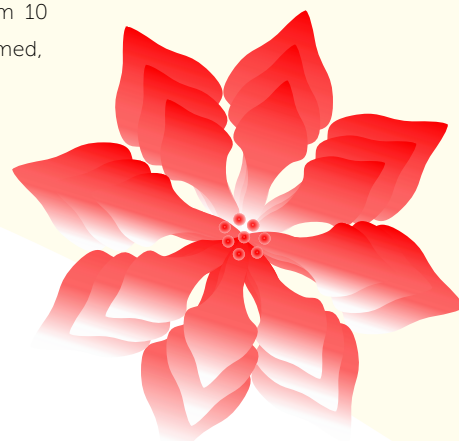
La planta ornamental en maceta más vendida en el mundo es la nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) considerada símbolo de la navidad. En México, el productor de nochebuena tiene la oportunidad de elegir para su cultivo entre más de 60 variedades e híbridos, todos mejorados en el extranjero. En este trabajo se presenta la técnica para producir híbridos en nochebuena, para lo cual se utilizaron colectas provenientes de 10 estados de México. Se realizaron pruebas de viabilidad de polen y receptividad de estigma, además se modificó la técnica de emasculación. En los resultados, con la emasculación se obtuvo 61% de prendimiento de frutos en 2010 y en 2013 como tercer año de su aplicación, se incrementó hasta 68%; en cambio, cuando no se aplica la técnica el prendimiento o fecundación es nulo. La modificación de la técnica de emasculación fue factor clave para producir híbridos empleando germoplasma de origen mexicano. Esto permitirá a los productores contar con material adaptado a las condiciones locales de producción en menor tiempo.

Palabras clave: Emasculación, viabilidad de polen, receptividad de estigma, colectas.

ABSTRACT

The highest sold ornamental plant in pots in the world is poinsettia (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch), considered a symbol of Christmas. In México, the poinsettia producer has the opportunity to choose for this crop among more than 60 varieties and hybrids, all of them improved outside the country. In this study, a technique to produce poinsettia hybrids is presented, for which collections from 10 Mexican states were used. Tests for pollen viability and stigma receptivity were performed, in addition to modifying the emasculatation technique. In the results, with emasculatation there was 61 % of fruit taking root in 2010 and in 2013, as third year of its application, it increased to 68 %; instead, when the technique is not applied the fertilization and taking root is null. Modifying the emasculatation technique was a key factor to produce hybrids using germplasm of Mexican origin. This will allow the producers to have material adapted to the local production conditions in less time.

Keywords: Emasculatation, pollen viability, stigma receptivity, collections.



INTRODUCCIÓN

La planta en maceta más vendida en el mundo es la nochebuena (*Euphorbia pulcherrima*) usado como símbolo de las fiestas de navidad. En el estado de Morelos, México, se comercializan en promedio seis millones de plantas al año, cifra igual al que se vende en Noruega, mientras que, a nivel país es de aproximadamente 25 millones de plantas, la cual representa el 50% del que se comercializa en Estados Unidos (Lutken *et al.*, 2012).

El productor de flor de nochebuena tiene la oportunidad de elegir para su cultivo entre más de 60 variedades e híbridos de obtención extranjera. En México, existen viveros que se dedican a ofertar esquejes previo convenio con las empresas mejoradoras, y por lo regular, las variedades que se ofrecen no vienen con alguna especificación de manejo agronómico, requerimientos ambientales para su cultivo; así como, nutrición, sustratos y de control de enfermedades.

La condición anterior no permite obtener planta terminada de buena calidad, la respuesta más clara es la falta de pigmentación de brácteas, elongación de la planta y vida de contenedor muy corto; además, cuando las plantas logran pigmentar no son aptas para el manejo poscosecha y transporte. Estas condiciones provocan pérdidas económicas, lo cual desalienta al productor para continuar con la producción de las variedades ofertadas, por lo que, se podría decir que la evaluación final y de adaptación se realiza en cada zona de producción por los mismos productores.

En el mercado de México, solamente se encuentra la flor de nochebuena de origen nacional las denominadas de sol (Galindo *et al.*, 2012), que son de dominio público registrados en el Catálogo Nacional de Variedades Vegetales del SNICS-SAGARPA. Estas variedades se emplean para decorar espacios de exterior, y no existen en México genotipos mejorados para interiores, a pesar de que México es centro de origen de la nochebuena (Trejo *et al.*, 2012), provocando dependencia tecnológica, fuga de divisas y altos costos de producción. Bajo este contexto se requiere implementar acciones estructuradas de mejoramiento genético empleando como fuente de germoplasma la amplia diversidad genética que existe en México, determinando en forma paralela la técnica para producir híbridos, y con ese fin se desarrolló una metodología para la producción sistemática de materiales híbridos de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar del estudio

La investigación fue desarrollada en el Campo Experimental Zacatepec del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), ubicado a 18° 39' 16" N, y 99° 11' 54.7" O, y altitud de 911 m. El clima predominante es cálido subhúmedo (Aw₀), con lluvias en verano, precipitación y temperatura promedio anual de 800 mm y 24 °C, respectivamente (Ornelas *et al.*, 1997).

Material genético

Se utilizó germoplasma de origen nacional obtenido por varetas y semilla de los estados de Sinaloa, Nayarit, Michoacán, Estado de México, Puebla, Veracruz, Oaxaca, Guerrero, Morelos y Distrito Federal, México. La característica principal fue que presentaran brácteas de color rojo, tamaño medio a grande y estructuras reproductivas bien diferenciadas y desarrolladas.

Manejo del cultivo

El germoplasma obtenido fue enraizado de acuerdo a (García *et al.*, 2013) para obtener plantas nuevas, las cuales fueron establecidas en maceta de 12 pulgadas con sustrato a base de ocochal (hojarasca de ocote descompuesta), atocle (suelo de vega de río), polvillo de coco en block $\frac{3}{4}$ (Pelemix[®]) y lombricomposta (compostaje de residuos de plantas mediante lombrices) en proporción 48:16:16:20 v/v. Cuando la planta desarrolló cuatro nudos, se aplicó una poda suave con la finalidad de favorecer la brotación de más ramas. De igual manera, cuando las nuevas ramas tuvieron cuatro nudos se aplicó una poda con el fin de estimular la formación de una bráctea potencial en cada ramificación. Bajo este sistema se mantuvo el crecimiento hasta la etapa de pigmentación de brácteas. La condición general para que ocurra la polinización de la flor es la sincronización de la floración masculina y femenina; además el polen debe ser viable y el estigma receptivo.

Viabilidad de polen

En la etapa de anthesis, antes de la liberación del polen, se seleccionaron anteras de los genotipos recolectados para determinar la viabilidad de polen con el método propuesto por Dempsey (1993). Las anteras elegidas se colocaron en porta objetos, y enseguida se cortaron de forma longitudinal con un bisturí; se hizo presión sobre la antera cortada con la finalidad de liberar los granos de polen y se les aplicó aceto carmín (Solución colorante Meyer[®]). Finalmente se observó la tinción de los granos

de polen en un microscopio compuesto a 40x, mostrando una coloración roja como indicativo de su viabilidad, mientras que los de tonalidad rosa no fueron viables.

Receptividad del estigma

El método que se empleó para determinar la receptividad del estigma fue el de Osborn *et al.* (1988). Previo a esto, se seleccionaron flores en estado de botón, con el estilo de aproximadamente dos cm de longitud. Se cubrieron con bolsa encerada para evitar la contaminación con polen ajeno, y cada día se abrió la bolsa con la finalidad de observar su desarrollo, cuando el estigma se dividió en tres partes y éstos a su vez se bifurcaron, se aplicó una gota de peróxido de hidrógeno al 3% sobre la superficie, lo cual provocó un burbujeo evidenciando que el estigma es receptivo.

Emasculación tradicional

La nochebuena presenta flores masculinas y hermafroditas agrupadas en una inflorescencia llamada ciatio. Las primeras flores en aparecer y crecer son las masculinas, observando la primera en el centro de la inflorescencia, después van apareciendo en los tres ejes de la misma. Posteriormente se desarrollan en la periferia de la inflorescencia las flores hermafroditas (Horvath *et al.*, 2011), que son las de interés para realizar la hibridación en nochebuena. La hibridación tradicional consiste en eliminar las estructuras masculinas (emasculación) en estado de botón floral y dejar solamente las femeninas. De forma específica, en estado de botón se eliminaron todos los estambres

de la flor hermafrodita y se dejó solamente la estructura femenina. El crecimiento fue diferencial, ya que primero emergieron los estambres y después el pistilo. En este caso se dejó solamente el pistilo con el ovario expuesto (Figura 1).

Emasculación modificada

Con la finalidad de producir híbridos de nochebuena de origen nacional se generó la técnica cortando dos terceras partes la bráctea, en sentido del ápice hacia la base de la inflorescencia, eliminando todas las estructuras masculinas, dejando entre tres y cinco flores femeninas no receptivas que guarden el mismo estadio fenológico y cubrirlas con bolsa encerada anotando la fecha en que se llevó a cabo, ya que después de tres días se revisó para programar la polinización (Figura 2).

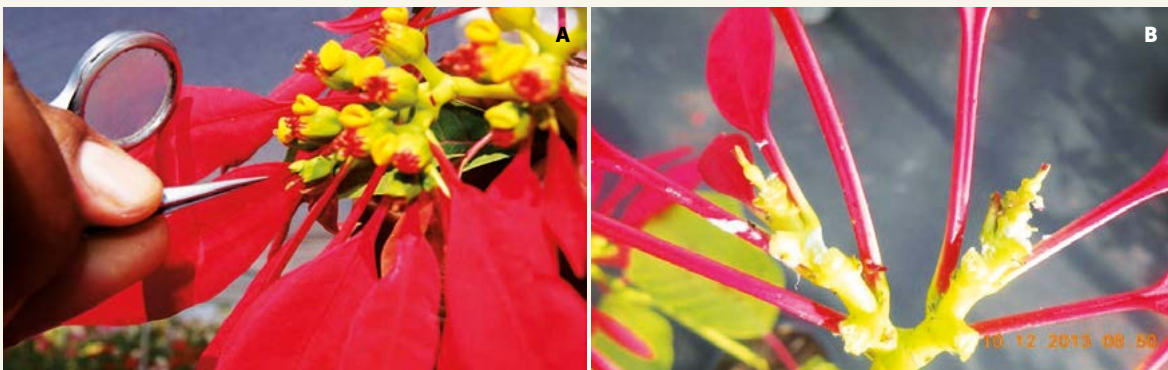


Figura 1. A: Flor femenina apta para ser emasculada. B: Flor emasculada de manera tradicional (derecha).



Figura 2. Emasculación modificada de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima*) y protección con bolsa encerada.

Polinización

Tres días en promedio después de la emasculación, las flores mostraron receptividad, ya que el estigma se separó en tres porciones y se bifurcó. Entre las 10:00 am y 12:00 pm, se revisó el polen de las flores masculinas que funcionaron como progenitor; con la ayuda de pinzas de disección se recogió el polen sujetando el filamento; enseguida se impregnó abundante polen en los estigmas. Posteriormente se volvió a cubrir la flor ya polinizada con bolsa encerada, e inmediatamente se colocó la etiqueta con información de los parentales que intervinieron, tales como, fecha, número de flores polinizadas y hora en que se realizó (Figura 3).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Viabilidad de polen

Los genotipos que se utilizaron como donadores de polen fueron fértiles. En el microscopio compuesto a 40x

se observaron granos de polen con tonalidad roja en mayor proporción considerados viables; mientras que, los de tono rosa fueron pocos y no viables (Figura 4).

Receptividad del estigma

La flor femenina que se eligió para determinar la receptividad del estigma fue observado por varios días. En ella se dieron cambios visibles, tales como, elongación del estilo hasta que se dividió en tres partes, y después cada uno se bifurcó. El estigma en esta etapa se expuso en un plano longitudinal. En este momento se aplicó el peróxido de hidrógeno al 3%. La reacción que se observó fue un burbujeo, esto fue indicativo de que en ese momento el estigma es receptivo para la polinización (Figura 5).

Emasculación tradicional

En estado de botón floral se eliminaron las estructuras que conforman la flor hermafrodita, y se dejó el ovario, estilo y estigma. La Figura 6 muestra que la hibridación



Figura 3. Proceso de polinización en nochebuena (*Euphorbia pulcherrima*). A: Corte y preparación de bráctea; B: Emasculación de flor masculina y hermafrodita; C: Polinización; D: Días después de la polinización.

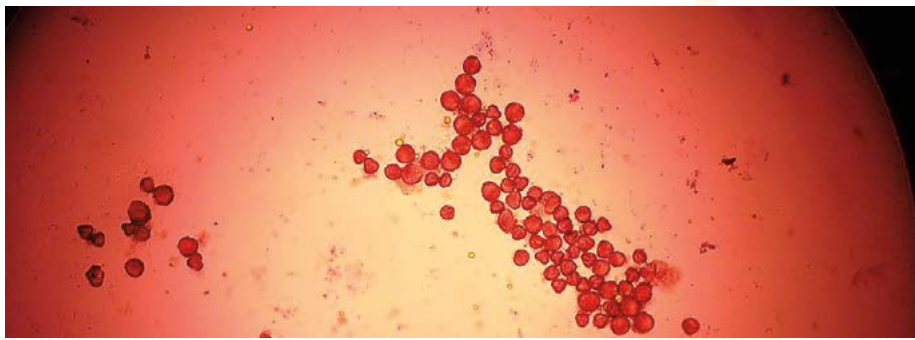


Figura 4. Resultado de la prueba de viabilidad de polen de *Euphorbia pulcherrima*.



Figura 5. Resultado de la prueba de receptividad de estigma de *Euphorbia pulcherrima*.



Figura 6. Evidencia de la deshidratación y muerte de estigmas de *Euphorbia pulcherrima* mediante la emasculación tradicional.

tradicional en nochebuena no se logró, ya que el ovario es muy sensible a las condiciones ambientales de alta temperatura, y con baja humedad relativa, tiende a desecarse

y el estigma al deshidratarse pierde receptividad.

Emasculación modificada

Con la técnica de emasculación

modificada se logró que la porción de brácteas que no se eliminó, protegiera la flor femenina, de tal forma que al no estar expuesto el ovario alcanzó su desarrollo normal, asegurando la receptividad del estigma, su fecundación y obtención de frutos. La Figura 7 muestra frutos en pleno crecimiento y desarrollo, resaltando que cuando se nota un cambio en la coloración, indica que está por alcanzar la madurez fisiológica.

Con la técnica de emasculación modificada para *E. pulcherrima*, se obtuvo 61% de prendimiento de frutos en el año 2010, y en el tercer año de su aplicación se incrementó en 7% hasta llegar a 68%, y los frutos obtenidos producen semilla viable, iniciando así la obtención de híbridos, sin embargo, cuando no se aplica la técnica modificada, el prendimiento es nulo (Figura 8).

En el año 2010 se realizaron los primeros cruzamientos entre germoplasma de origen nacional y variedades comerciales que llevan muchos años en el mercado. Al final del ciclo se cosechó la semilla, la cual formó la progenie F_1 (híbrido). En el segundo año (2011), la semilla F_1 se sembró en charolas de 50 cavidades con sustrato Sunshine® Núm. 3, cuando la plántula tuvo cuatro hojas verdaderas se cambiaron a maceta de 3.5 L de capacidad con sustrato a base de ocochal (hojarasca de ocote descompuesta), atocle (suelo de vega de río), polvillo de coco en block $\frac{3}{4}$ (Pelemix®) y lombricomposta (a base de residuo de planta con estiércol de ganado vacuno) en proporción 48:16:16:20 v/v, donde se mantuvo hasta la pigmentación de brácteas. En esta etapa se identificaron los híbridos más sobresalientes y se seleccionaron. Estos a su vez fueron empleados como planta



Figura 7. Fruto en desarrollo producto de la polinización de *Euphorbia pulcherrima*.

madre, se aprovechó la ventaja que ofrece la nochebuena, su fácil propagación a través de esquejes.

En 2012 se obtuvieron esquejes de la planta madre seleccionada y se establecieron bajo las mismas condiciones que en 2011. En la etapa fenológica de pigmentación de brácteas se realizó nuevamente la selección. Este proceso se repitió en 2013 y después de dos ciclos de selección se obtuvieron varios híbridos clonales potenciales.

Se sugiere que los híbridos generados sean validados en ambientes contrastantes para la confirmación de sus características fenotípicas. Una vez realizada la validación se pueden aprovechar para ser cultivados de manera comercial, si estos cumplen con los parámetros de calidad de los productores, comercializadores y consumidores.

CONCLUSIONES

La técnica de emasculación modificada aplicado en *E. pulcherrima*, fue factor clave para producir híbridos empleando germoplasma de origen mexicano. Esto puede facilitar que los productores de flor de nochebuena, cuenten con genotipos adaptados a condiciones locales de producción. El uso de germoplasma nacional permitirá diversificar la oferta de nuevos genotipos en el mercado y puede garantizar su producción de alta calidad sin dificultades, tales como, las registradas cuando se intro-

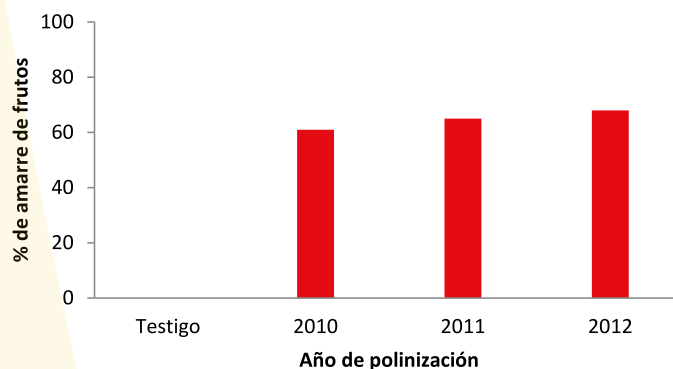


Figura 8. Porcentaje de amarre de frutos en nochebuena (*Euphorbia pulcherrima*), durante tres años en Zacatepec, Morelos, México.

ducen materiales sin evaluar, por haber sido generados en ambientes distintos a su comercialización.

LITERATURA CITADA

- Dempsey E. 1993. Traditional analysis of maize pachytene chromosomes. In: Freeling, M; Walbot, V. (eds.) The Maize Handbook. New York: Springer-Verlag. p. 432-441.
- Galindo-García D., Alía-Tejacal I., Andrade-Rodríguez M., Colinas-León M., Canul-Ku J. Sainz-Aispuro M. 2012. Producción de nochebuena de sol en Morelos, México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 3(4):751-763.
- García P.F., Canul K.J., Ramírez R.S., Osuna C.F.J., Portas F.B. 2013. Propagación asexual de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch). Agroproductividad 6(3):37-41.
- Horvath D., Wurdack K., Pullin K. 2011. Euphorbia. In: C. Kole. (Ed.). Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources, Plantation and Ornamental Crops. Springer – Verlag Berlin.
- Lutken H., Clarke J.L., Muller R. 2012. Genetic engineering and sustainable production of ornamentals: current status and future directions. Plant Cell Rep 31:1141-1157.
- Ornelas R.F., Ambriz C.R., Bustamante O.J. 1997. Delimitación y definición de agrohábitats en el estado de Morelos. Secretaría de Agricultura, Ganadería, y Desarrollo Rural. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Campo experimental Zacatepec, Morelos, México. Publicación especial Núm.11. Zacatepec, Morelos, México. 19 p.
- Osborn M., Kevan P., Meredith A. 1998. Pollination biology of *Opuntia polycantha* and *Opuntia phaeacantha* (cactaceae) in Southern Colorado. Plant. Syst. Evol. 159:139-144.
- Trejo L., Feria T.P., Olsen K.M., Eguarte L.E., Arroyo B., Gruhn J., Olson M.E. 2012. Poinsettia's wild ancestor in the Mexican dry tropics: historical, genetic, and environmental evidence. American Journal of Botany 99:1146-1157.