

Fertilidad conseguida en especies del género "Gasteria" Duval mediante tratamiento hormonal

por

ARTURO CABALLERO LOPEZ

(Trabajo entregado el 15 de agosto de 1948)

INTRODUCCION

El género *Gasteria* Duval se incluye en las *Aloinae*, de las *Aloineae*, de las Liliáceas.

Está constituido por plantas vivaces de hojas carnosas, procedentes de Africa del Sur y se vienen cultivando, desde hace mucho tiempo, principalmente en los jardines botánicos.

Sus especies florecen generalmente en primavera, produciendo racimos flojos, y las flores, casi siempre vivamente coloreadas, presentan un perigonio de piezas soldadas en tubo más o menos globoso hacia la base, son hermafroditas y, como es típico en las aloinas, tienen propensión a la autopolinización y autoesterilidad. Las anteras de tales flores alcanzan corrientemente la altura de los estigmas y la autopolinización se da con mucha frecuencia, si bien suele resultar estéril. (Véase Berger, Bibl. 1, pg. 16, y Resende, Bibl. 2, pg. 49.)

Los colores vivos del perigonio ya indican cierta adaptación a la zoidofilia, y Berger, en su monografía (Bibl. 1, pg. 16), indica cómo en la patria de estas plantas puede darse la polinización realizada por insectos (abejas, avispas) e incluso, en algunas especies de aloinas, por pájaros y por ratas. También es interesante a este respecto el que las flores suelen ser protándricas.

El fruto es una cápsula tricarpelar, más o menos trígona, elíptica hasta alargado-cilíndrica, con paredes apergaminadas o algo leñosas y con dehiscencia loculicida (véanse fots. 11 y 12). Las cápsulas tienden a disponerse erguidas, lo cual facilita la diseminación. La dehiscencia se inicia en el ápice y va permitiendo salir las semillas, que son deprimidas, con frecuencia ligeramente aladas y se encuentran sueltas y dispuestas en dos pilas en el interior de cada lóculo. Las semillas germinan fácilmente.

Según Berger, estas plantas deben fructificar normalmente en condiciones naturales en su patria, pero las cultivadas en Europa suelen resultar estériles. Tan es así, que muchas de las descripciones de las especies de su monografía (Bibl. 1) carecen de los caracteres del fruto.

En el Jardín Botánico de Madrid hemos podido observar personalmente durante tres años, cómo diversos insectos (abejas, sirfidos, moscas) visitan con frecuencia estas flores, pero, aun en el caso de que lleguen a realizar la polinización, los resultados son negativos, nunca fructifican. Solamente hemos podido sorprender en la primavera de 1948 la formación de dos cápsulas, en un ejemplar adulto de *Gasteria verrucosa* Haw.

Según Straub (Bibl. 3) el género *Gasteria* es autoestéril y considera el «tipo *Gasteria*» como una de las tres formas generales de esterilidad que, según este autor, podrían presentarse en las plantas superiores.

Para el doctor Flavio Resende (Bibl. 2, pg. 50) el comportamiento de las aloinas, en lo que se refiere a su autoesterilidad o esterilidad en general, depende de las condiciones del medio. Este investigador ha observado en el Jardín Botánico de Hamburgo, que de unas 200 especies y variedades de aloinas, sólo un híbrido (*Aloe striata* Haw. × *Aloe saponaria* (Ait.) Haw.) produce normalmente semillas por autofertilidad. Aparte de este caso, la formación de fruto se presenta raras veces en otras especies, por ejemplo, *Aloe Eru* Berg. y *Gasteria verrucosa* Haw. Sin embargo, en los Jardines Botánicos de Lisboa y Coimbra, donde existe una colección relativamente rica en aloinas, observa que algunas de las especies que en Alemania son estériles, producen aquí una gran cantidad de semillas, por ejemplo, *Aloe striatula* Haw. Cita un caso de un ejemplar de *Gasteria verrucosa* Haw., que en Berlín

nunca dió semilla, y después de trasladado a Portugal fructificó abundantemente en una ocasión, después de autofecundación natural. Incluso menciona algún caso, como el de un ejemplar de *Aloe ciliaris* Haw., que una vez resultó autofértil en el Jardín Botánico de Berlín-Dahlem, mientras que siempre se encontró estéril en Portugal.

En el género *Haworthia* cita varios ejemplos de autofertilidad y fertilidad por cruzamiento que no se daban en Alemania, y de estudios realizados con especies y variedades de este género, deduce que son notables las diferencias de sensibilidad en la autofertilidad y fertilidad cruzada, respecto a las influencias del medio, pareciendo variar incluso de una especie a otra.

Después de pasar revista a éstos y otros casos, deduce Resende que la fertilidad en general, y más especialmente la autofertilidad en muchas especies de aloinas, necesita para lograrse de una serie de circunstancias de orden externo—acaso temperatura y otros factores de difícil comprobación—y posiblemente también circunstancias de orden interno, que denomina «factores de predisposición». Solamente así se podrían comprender los «caprichos» en la autofertilidad que observa en algunas especies. Los procesos influenciados por las condiciones externas—señala Resende—es posible que sean: la formación o desenvolvimiento del cigoto o de los gamobiontes (*), o, principalmente, la velocidad relativa de la maduración de las esporas, pues el desarrollo de ésta se hace normalmente en condiciones de esterilidad.

Para este autor habría que atender en los casos de autofertilidad a dos categorías distintas de fenómenos:

a) Al proceso mecánico que lleva la microspora al estigma (contacto, insectos, hombre) y al desarrollo de las esporas.

b) A la fisiología de la fecundación entre los gametos de los gamobiontes ♀ y ♂ de la misma flor y a la fisiología del desarrollo de la fase embrionaria del zigobionte.

A este respecto indica casos en los que se pone de manifiesto la influencia del medio sobre a) y sobre b).

Este mismo autor menciona, por último, que todos los ejemplares de *Gasteria* existentes en Coimbra comienzan a florecer con

(*) Nomenclatura de Winkler, H., planta, 33, 1942.

gran intensidad a partir de enero ; que las primeras flores resultan estériles, o que solamente se forma a veces una cápsula y las flores siguientes continúan estériles ; pero que a medida que la primavera va avanzando—hacia fines de mayo y principio de junio— las flores resultan fértiles con más frecuencia (por ejemplo, en *Gasteria verrucosa* Haw.). Asimismo cita los ensayos realizados en esta misma época del año en dicho Jardín Botánico por el señor Cabral, consistentes en envolver con papel de celofán algunas inflorescencias, en los que resultó que se impedía casi siempre la formación de fruto.

* * *

Resulta indudable por los estudios del profesor Resende, anteriormente reseñados, que la autopolinización en las especies de *Gasteria*—y en las aloinas, en general—no es causa obligada de esterilidad. La esterilidad general que suelen presentar estas plantas en nuestro hemisferio debe ser considerada como debida a circunstancias del medio, distintas a las normales para ellas.

Por otra parte, esta esterilidad no ocasiona gran perjuicio a la planta, porque las aloinas suelen presentar muy exaltada la multiplicación vegetativa. De una manera natural suelen formar hijuelos más o menos abundantemente (véanse fots. 2, 13, 16). Artificialmente, y, en concreto, en el caso de las especies de *Gasteria*, basta desgajar una de sus hojas carnosas, abandonarla al aire para que cicatrice la herida y ponerla después en medio húmedo, arena o carbón de madera, para que regenere fácilmente la planta completa.

* * *

Nos venía interesando este problema de la esterilidad aparecida en plantas cultivadas que en condiciones naturales eran fértiles, principalmente en su relación con las fitohormonas, y creímos encontrar en las especies del género *Gasteria* un material apropiado para continuar nuestros estudios.

En otras monocotiledoneas que presentan esterilidad como consecuencia del cultivo, por ejemplo, *Sternbergia lutea* Gawl. et Ker., sólo habíamos logrado la obtención de fruto partenocárpico estéril (Bibl. 4, pg. 404). El año 1946 conocimos la publicación de Resende

sobre las aloinas (Bibl. 2) que nos facilitó el trabajo y animó en estos estudios.

Como ya hemos indicado anteriormente, resultaba de las observaciones de este autor que la esterilidad aparece en estas plantas cuando no se dan determinadas condiciones exteriores. Es curioso que en Portugal fructifiquen con bastante facilidad, mientras que en el Jardín Botánico de Madrid las plantas se comporten como en otros Jardines del centro y Norte de Europa. Indudablemente la temperatura debe ser factor principal, pero no suficiente. Con posterioridad hemos mantenido ejemplares florecidos de *Gasteria* en estufas a diversas temperaturas controladas, y no por ello hemos conseguido vencer la esterilidad (véase pg. 102).

Sabido es que con frecuencia la autopolinización trae como consecuencia la esterilidad. No son siempre bien conocidas las causas de esta esterilidad, pero en algunos casos se debe a que el polen germina debilmente en el pistilo de la misma flor y los tubos polínicos no llegan a fecundar los óvulos. En ocasiones se ha conseguido con una excitación adecuada vencer esa inercia y, por lo tanto, la esterilidad. Eyster consigue en 1941 (Bibl. 5) vencer la esterilidad en *Petunia violacea* L., pulverizando las flores con una disolución acuosa de alfa-naftalenacetamida al 0,001 por 100. Aparte de este caso, en otras plantas sólo se ha conseguido, con un tratamiento semejante, incrementar la fertilidad propia; así, por ejemplo, en *Tagetes erecta*, *Brassica oleracea* y *Trifolium pratense* (Bibl. 6, pg. 178).

Se ha indicado en determinadas ocasiones una mejor germinación del polen de algunas plantas, después de suministrarle adecuadamente algunas fitohormonas (Bibl. 7), pero, a nuestro juicio, en este caso es más importante la influencia de las auxinas en el desarrollo del fruto.

Las auxinas intervienen en la transformación del ovario en fruto. Por ser necesarias en todo fenómeno de crecimiento en las plantas, gobiernan el desarrollo de los carpelos (Bibl. 8) y de los óvulos (Bibl. 9).

Al demostrarse, al principio, que en el polen existían auxinas, se supuso que la polinización suministraba las sustancias de crecimiento necesarias, pero más tarde se llegó a la conclusión de que la auxina que podía facilitar el polen era totalmente insuficiente

para un proceso de crecimiento tan grande y continuado como era este del desarrollo del fruto. Van Overbeek, Conklin y Blakeslee (Bibl. 9) opinaron que el polen, al germinar sobre el pistilo, suministraba a éste un agente responsable de la activación de precursores auxínicos que se encontrarían en grandes cantidades en los tejidos del ovario. Esta conclusión fué confirmada por Muir (Bibl. 10), al encontrar en flores de tabaco que después de la polinización se incrementaba notablemente la cantidad de auxina que se difundía del ovario. Murneek y Wittwer (Bibl. 11) consiguieron en el tomate frutos mayores que los normales, por tratamiento con extractos alcohólicos de granos de maíz sin madurar. En estos extractos existen grandes cantidades de precursores auxínicos, que serían los responsables de este desarrollo incrementado del fruto (Bibl. 12).

Es interesante señalar que la auxina movilizada en el ovario después de la polinización es utilizada también para inhibir la capa de escisión del pedúnculo floral, con lo que se evita la caída del fruto en formación.

Si al ovario se le suministran adecuadamente las auxinas necesarias, se puede conseguir el desarrollo artificial del mismo. Naturalmente, en este caso el fruto resulta estéril, es decir, carece de semillas, puesto que se ha suprimido el proceso de la fecundación. Estos frutos desarrollados sin fecundación se denominan *partenocárpicos*. Es necesario indicar que *no siempre la partenocarpia supone falta de semillas, puesto que éstas se pueden haber originado sin previa fecundación por apomixia, es decir, asexualmente*. Sin embargo, todo fruto sin semillas siempre será partenocárpico si se prescinde de los casos raros de frutos maduros sin semillas, por aborto de éstas al final.

Existen casos naturales de frutos sin semillas, por ejemplo, las naranjas Navel y Wáshington, el plátano, las uvas Corinto y Sultán, la toronja (variedad sin semilla), el nispero de la China y otros menos frecuentes. Por aplicación de hormonas se ha conseguido artificialmente en otras muchas plantas.

El primero que consiguió el desarrollo del fruto sin previa fecundación fué Fitting en 1909 (Bibl. 13 y 14). Este investigador aplicó extractos acuosos de polen de algunas orquídeas sobre el pistilo de estas flores y encontró que se inducía el desarrollo del

fruto. Laibach (Bibl. 15 y 16) y otros autores, como el japonés Yasuda, continuaron estos ensayos con distintas clases de polen para estimular el desarrollo de los frutos en orquídeas, berenjenas, pepinos y tabaco. Pero el investigador que destaca en estos estudios es Gustafson, que en 1937 (Bibl. 17), utilizando extractos diversos de polen de calabaza, maíz, malva real, petunia y pino, consigue en algunas ocasiones frutos maduros sin semilla en berenjena, calabaza, pepino, pimiento, salpiglosis y tabaco. Un año antes este mismo autor (Bibl. 8) había conseguido por vez primera la partenocarpia con ayuda de sustancias químicas sintéticas, tales como los ácidos: beta-indolacético, beta-indolpropiónico, beta-indolbutírico y fenilacético, todas ellas utilizadas con anterioridad como hormonas vegetales.

Hoy día son innumerables las sustancias sintéticas con carácter de sustancias de crecimiento, que se utilizan en la partenocarpia artificial, pero es muy interesante el que *se hayan empleado con el mismo fin sustancias muy distintas de estas hormonas, por ejemplo, colchicina, estrina, sulfanilamida y otras* (Bibl. 6, pg. 158).

Se han conseguido frutos partenocárpicos por tratamiento hormonal en bastantes plantas, pero son muchas más las que no han respondido. Gran parte de la dificultad en obtener resultados positivos se supone que estriba en que cada especie exige características especiales en el tratamiento, puesto que hasta ahora no se ha logrado un método general, y por la experiencia actual, no parece probable que se pueda conseguir.

Una de las plantas en las que se logran con más facilidad es el tomate, tanto que actualmente el tomate sin semillas se obtiene en escala comercial y por tratamientos muy sencillos y rápidos (Bibl. 6). Hasta hace poco tiempo se perseguía exclusivamente en esta planta la obtención de fruto sin semilla, pero *hoy día está alcanzando mayor interés el tratamiento hormonal, para sustituir una polinización defectuosa como la que se realiza en las plantas cultivadas en invernadero durante los meses de temperaturas bajas* (Bibl. 18 y 19).

Las plantas comestibles en las que se ha conseguido hasta ahora fruto sin semilla son: berenjena, calabaza, fresa, pepino, pimiento y tomate. En el pepino y pimiento se obtienen difícilmente. En el melón y la sandía sólo se han obtenido experimentalmente

frutos partenocárpicos, y aún así, en estos casos presentan semilla aunque estéril (Bibl. 6, psg. 172 y 176.)

En plantas no comestibles se ha indicado la partenocarpia artificial en un par de docenas de géneros (Bibl. 6, pg. 179).

Los frutos partenocárpicos, aparte de carecer de semillas, muestran características análogas a los normales, aunque en algunos casos pueden variar ligeramente en cuanto al tamaño (mayor o menor), sabor, calidad, etc. (Bibl. 6, pg. 178).

* * *

De los conocimientos actuales sobre la fisiología del desarrollo del fruto y especialmente de la misión de las auxinas en el mismo proceso, podemos deducir lo siguiente:

El tubo polínico tiene dos misiones:

1.ª Fertilizar los óvulos.

2.ª Excitar el ovario provocando en él la iniciación del proceso de su transformación en fruto. (No es imprescindible la fecundación para que se inicie esta transformación.)

A.—La excitación parece originar en el ovario la liberación de las auxinas necesarias para los fenómenos de crecimiento que se verifican en el proceso de la fructificación. Estas auxinas se liberarían de precursores existentes en los tejidos del ovario.

B.—La acción excitante del tubo polínico puede sustituirse:

a) Suministrando al ovario las auxinas necesarias.

b) Por otras excitaciones artificiales, como las originadas por tratamientos con colchicina, estrina, sulfanilamida, etc.

A propósito de a), se tiene la duda de que la excitación natural provocada por el tubo polínico se reduzca simplemente a la liberación de auxinas, debiendo ser un proceso más complicado. También podría ocurrir que las auxinas liberadas tuvieran acción excitante sobre el ovario. Este último aspecto de la acción excitante de las auxinas, aparte de su función típica como sustancias de crecimiento, ha tenido siempre sus partidarios (Bibl. 9 y 20).

C.—En el caso de que por causas diversas (autopolinización, etcétera) la excitación provocada por el tubo polínico sea débil o insuficiente, se podrá ayudar o completar:

a) Por suministro artificial de auxinas.

b) Por excitación artificial apropiada.

Ahora bien, en este caso C, se podrán dar dos situaciones muy distintas e importantes:

C₁.—Que el tubo polínico haya fertilizado el óvulo, aunque no haya sido capaz de excitar suficientemente el ovario.

C₂.—Que no se haya verificado tampoco la fertilización.

En ambos casos, C₁ y C₂ se dará esterilidad natural. En C₁, incluso después de fecundación normal, por lo que será un caso de aborto. En C₁ el tratamiento artificial *a*) o *b*) permitirá conseguir la fertilidad, pero en C₂ sólo se originará, como consecuencia, fruto partenocárpico estéril. Todavía en este último aspecto podría darse el caso de que el tratamiento artificial no sólo excitara al ovario, sino también al tubo polínico y se realizara la fecundación, con lo cual se lograría asimismo la obtención de fruto fértil. Pero a raíz de los conocimientos actuales, no parece probable que llegara a ocurrir tal cosa, ya que se sabe, aunque se ignoran las causas, que la movilización hormonal del ovario evita la fecundación posterior (Bibl. 21 y 9). Siempre cabrá, sin embargo, la posibilidad de que el tubo polínico sea influido en su desarrollo por excitación del ovario, dada su sensibilidad para los estímulos que recibe del pistilo durante su crecimiento.

* * *

La esterilidad en el género *Gasteria* nos pareció que quedaba claramente comprendida dentro del caso C. La excitación provocada por el desarrollo del tubo polínico en el pistilo, y acaso por la misma fecundación, de llegar a realizarse ésta, era insuficiente para permitir los procesos de la fructificación. Esta excitación insuficiente podría ser ayudada o complementada lo necesario de una manera natural, por estímulos diversos, térmicos, químicos (humedad, etc.), etc., o lo que es lo mismo, esta esterilidad no aparecería cuando se dieran en el ambiente determinados factores. Por lo tanto se podría conseguir la fertilidad en las especies de *Gasteria*, si en las regiones donde presentan esterilidad se las estimulara adecuadamente, modificando los factores externos necesarios, por ejemplo, la temperatura, etc. Ahora bien, ya Resende (Bibl. 2, pg. 54) indica como posible que no sólo intervenga la temperatura, sino también otros factores de difícil comprobación, y por nues-

tra experiencia (véase más adelante, pg. 102) llegamos al mismo resultado: no sólo debe ser la temperatura, sino también otros factores y hasta es posible que sea necesaria una acción en conjunto y concreta. Además, para estimular artificialmente por estos procedimientos, es decir, modificando lo necesario el ambiente, como se comprende con facilidad, sería un problema de difícil y costosa solución, aún en condiciones experimentales (véase pg. 102).

En vista de ello, y después de habernos planteado el problema como se indica en el caso C (véase pg. 96), iniciamos la experimentación por el método *a*), es decir, por tratamientos hormonales. Con ello esperábamos aclarar, aparte de las causas de la esterilidad y fertilidad en *Gasteria*, problemas generales sobre la fisiología del fruto, particularmente en el terreno de las hormonas vegetales.

PARTE EXPERIMENTAL

Las especies del género *Gasteria* Duval, utilizadas en la experimentación del presente trabajo, han sido clasificadas por la monografía de Berger (Bibl. 1, pg. 122), y son las siguientes:

Sección <i>Verrucosae</i>	}	<i>Gasteria verrucosa</i> (Mill.) Haw.
		— <i>subverrucosa</i> (Salm.) Haw.
		— <i>brenifolia</i> Haw.
Sección <i>Nigricantes</i>	}	<i>Gasteria nigricans</i> Haw.
		— <i>fasciata</i> (Salm.) Haw.
Sección <i>Caulescentes</i>		<i>Gasteria maculata</i> (Thunb.) Haw.
Sección <i>Carinatae</i>	}	<i>Gasteria excavata</i> (Willd.) Haw.
		— <i>decepiens</i> Haw.
		— <i>glabra</i> Haw.

Además se han aprovechado híbridos diversos de varias de estas especies.

Todas las plantas utilizadas en los ensayos pertenecen a la colección de aloinas del Jardín Botánico de Madrid, y debido a la abundancia de ejemplares de la especie *glabra*, la parte principal de la investigación se ha realizado con ésta.

Técnicas de los tratamientos hormonicos utilizados

Todos los tratamientos hormonicos ensayados se pueden clasificar en dos grupos:

A.—Tratamientos por pulverizaciones con hormonas disueltas en agua.

B.—Tratamientos con hormonas al estado de vapor.

A.—Tratamientos por pulverizaciones con hormonas disueltas en agua.

Las hormonas utilizadas fueron:

1.ª Acido alfa-naftalenacético (Merck).

2.ª Acido 2,4-diclorofenoxiacético (sal sódica).

3.ª Acido beta-naftoxiacético (sal sódica).

La primera de estas sustancias nos ha sido proporcionada por el profesor Dr. Florencio Bustinza, y las dos restantes han sido sintetizadas por nosotros.

Las tres hormonas se aplicaron individualmente en disoluciones acuosas con ayuda de pulverizadores corrientes (de tipo nasal, para insecticidas, etc.) hasta que las flores quedaron suficientemente mojadas.

Por lo general sólo se aplicó una pulverización, pero en algunas ocasiones se repitieron una o dos veces, transcurriendo entre cada dos de ellas un intervalo de tres días.

Las disoluciones se hicieron en agua destilada, ajustándose después el pH de las mismas entre 6 y 7.

Las concentraciones hormonicas aplicadas en estos tratamientos fueron:

Para ácido alfa-naftalenacético:

1:100.000, 5:100.000, 1:10.000 y 3:10.000.

Y para ácido 2,4-diclorofenoxiacético y ácido beta-naftoxiacético (sales sódicas):

1:100.000, 5:100.000, 1:10.000, 5:10.000, 1:1.000, 1,5:1.000, 2:1.000 y 4:1.000.

Las inflorescencias de los controles se pulverizaron con agua sola al mismo pH de 6 a 7.

B.—Tratamientos con hormonas al estado de vapor.

Las hormonas volátiles utilizadas en estos casos fueron:

- 1.^a Alfa-naftalenacetato de metilo.
- 2.^a 2,4-diclorofenoxiacetato de metilo.
- 3.^a Beta-naftoxiacetato de metilo.

Estas tres sustancias fueron sintetizadas químicamente puras por nosotros y se han ensayado aisladamente o en mezcla de la primera y segunda (tres y una partes, respectivamente), y de la segunda y tercera (a partes iguales).

Dentro de este tipo de tratamientos con vapores de hormonas, unos afectaron a la planta completa (a) y otros exclusivamente a la inflorescencia (b).

a) Tratamientos de la planta completa.

Dentro de esta modalidad se siguieron, a su vez, dos técnicas distintas:

I. Bajo campana de vidrio, dentro de la cual se encerró la planta durante uno a seis días, y donde se dejó volatilizar la hormona a la temperatura ambiente, utilizándose la disposición que se ofrece en la fot. 1. La hormona se coloca en un vidrio de reloj (H), sostenido por un soporte (S), que a su vez mantiene un termómetro (T), que sirve para determinar la temperatura durante el tratamiento.

Las plantas utilizadas simultáneamente como controles se encerraron dentro de campanas iguales, pero sin hormona.

II. En recinto cerrado de 20 m³ de capacidad, donde se colocaron las plantas para su tratamiento, el cual se realizó volatilizando, con ayuda de calor, la cantidad exacta de hormona.

La disposición utilizada en este caso es aproximadamente la descrita por Zimmerman, P. W. (Bibl. 21), y que se representa en la fot. 3. En la cápsula (H) se dispone la cantidad pesada de hormona que se volatiliza con la ayuda de suave calefacción eléctrica (E). El ventilador (V) esparce homogéneamente los vapores por todo el recinto. El termógrafo (T) se utiliza para registrar la temperatura durante el tratamiento. Después de la volatilización el recinto se mantuvo cerrado sin ventilar durante seis a catorce horas.

Las cantidades de hormona que se volatilizaron fueron:

25 mg., 50 mg., 100 mg., 150 mg., 200 mg. y 300 mg.

Esta técnica resultó, como se verá más adelante, la más apropiada para tratamientos con hormonas volátiles de plantas cultivadas en tiestos o invernadero.

b) *Tratamiento exclusivo de la inflorescencia.*

Esta modalidad es una adaptación del método a) I para poder tratar solamente la inflorescencia, y se utilizó la disposición indicada en la fot. 4. La inflorescencia se encierra dentro de una bolsa de papel celofán (C), junto con una tirita de papel de filtro (H) impregnada con la hormona. La duración de los tratamientos fué la misma que para a) I, es decir de uno a seis días.

Para el registro de la temperatura se incluyó al principio un termómetro dentro de la bolsa de celofán, pero, después de comprobar que siempre que la planta no estuviera expuesta al sol, la temperatura del interior era aproximadamente la misma que la del ambiente, se encontró más cómodo utilizar el termógrafo colocado entre las plantas sometidas a tratamiento.

Aunque hasta la fecha con este último método hemos realizado relativamente pocos ensayos, los resultados coinciden bastante bien con los obtenidos siguiendo la técnica a) I. En este caso, el método b) ofrecería indudables ventajas sobre el a) I, puesto que aparte de afectar el tratamiento sólo a la inflorescencia y de ser más cómodo, permite a la planta una transpiración casi normal durante la hormonización, puesto que incluso la inflorescencia dentro de la bolsa de celofán puede transpirar en grado suficiente.

COMPARACION E INDICACIONES GENERALES DE LOS METODOS UTILIZADOS
PARA TRATAMIENTOS CON HORMONAS VOLATILIZADAS (METODOS B):

El método a) I, y especialmente el b), están recomendados para tratamientos individuales y poco enérgicos de plantas cultivadas en tiestos o en el terreno.

El método a) II es el que en general da mejores y más constantes resultados para tratamientos con hormonas al estado de va-

por, pero sólo se puede utilizar con plantas cultivadas en tiestos o invernaderos.

* * *

Aclaración.—Todos los métodos y variaciones descritos no se pudieron aplicar completamente sobre cada una de las especies estudiadas que se mencionan en la pg. 98, dada la escasez de ejemplares de algunas de ellas; aun a pesar de que los ensayos se realizaron durante dos años. (Véase la experimentación en cada especie, pg. 107.)

OTROS TRATAMIENTOS NO HORMÓNICOS REALIZADOS.
TRATAMIENTOS TERMICOS.

Con el fin de contribuir a aclarar la influencia del medio y especialmente del factor temperatura, en la esterilidad del género *Gasteria*, realizamos una serie de ensayos que consistieron en mantener ejemplares florecidos de distintas especies dentro de estufas a temperaturas determinadas y constantes. Estas temperaturas fueron: 20°, 25°, 30° y 35°, y el tiempo que estuvieron sometidas a ellas: uno y cinco días.

No dieron ningún resultado positivo. Es posible que sea necesario mantener las plantas a temperatura controlada, no sólo durante la floración, sino durante todo el año, pero carecemos por ahora de instalación adecuada para ello.

EXPERIMENTACIÓN.

Parte general.—Conocíamos la técnica utilizada por Eyster (Bibl. 5), que consiste en pulverizar las flores con disoluciones diluidas de alfa-naftalenacetamida, con la cual este autor consiguió en *Petunia violacea* L. el primero y único caso de esterilidad vencida por tratamiento hormonal. Por carecer nosotros de la amida de este ácido, utilizamos su sal sódica en disolución acuosa y a las concentraciones indicadas en la parte anterior (pg. 99).

Estos primeros ensayos se realizaron en los meses de febrero, marzo y abril de 1947, con ejemplares florecidos de las especies:

G. verrucosa Haw. (9 ejemplares), *G. subverrucosa* Haw. (10 ejemplares), *G. nigricans* Haw. (5 ejemplares) y *G. glabra* Haw. (6 ejemplares). Se hicieron pulverizaciones sencillas en las cuatro especies y repetidas una y dos veces, con intervalo de tres días, en *verrucosa*, *subverrucosa* y *glabra*. Las plantas se encontraban en invernadero y la temperatura dentro del mismo osciló aproximadamente entre 7° y 22°.

Todos los resultados fueron negativos, lo que no nos extrañó, porque conocíamos el distinto comportamiento de las monocotiledóneas y de las dicotiledóneas, en lo que se refiere a los tratamientos hormonicos. Sin embargo, como Eyster había utilizado la amida y nosotros su sal sódica, decidimos continuar los ensayos con otros compuestos del mismo ácido, y aprovechamos el ester metílico de que disponíamos, y que tenía la ventaja de que siendo volátil se podía aplicar en forma de vapor. Seguimos la técnica B a) I (pg. 00), y la ensayamos durante los meses de abril y mayo del mismo año con las especies *verrucosa* (3 ejemplares), *subverrucosa* (2 ejemplares), *nigricans* (4 ejemplares), *excavata* (2 ejemplares) y *glabra* (8 ejemplares). Desistimos, en seguida, de aplicar esta hormona por dicho procedimiento, puesto que, o no tenía efecto, o, por lo contrario, las inflorescencias quedaban anormalmente inhibidas durante mucho tiempo, terminando por secarse (los capullos, incluso sin llegar a abrirse). Esta técnica bajo campana la habíamos aplicado con éxito por vez primera para la obtención de la partenocarpia en *Sternbergia* (Bibl. 4, pág. 94), pero utilizando el 2,4-diclorofenoxiacetato de metilo, por lo que decidimos continuar los ensayos con este mismo método, pero sustituyendo el alfa-naftalenacetato de metilo por esta última. Ya en el primer lote de plantas tratadas con esta nueva sustancia, una de ellas de *G. nigricans* Haw. nos dió tres frutos (véanse fots. 1 y 2), y precisamente de flores que se encontraban abiertas durante el tratamiento. Al principio supusimos que con esta hormona habíamos conseguido frutos partenocárpicos, pero nos sorprendió encontrarlos llenos de semillas. Ya antes de abrirse las cápsulas se mostraban llenas y tensas, lo que no es frecuente en los frutos partenocárpicos de este tipo, que suelen desarrollarse con pliegues y aplastados, como consecuencia de la falta de semillas. Como sabíamos que en algunos frutos partenocárpicos se pueden formar las cubiertas semi-

nales, estudiamos las semillas maduras y pudimos reconocer muchas vanas, pero bastantes más con tejidos vivos en su interior. Faltaba la comprobación de su poder germinativo, que no pudimos realizar hasta la primavera de 1948, en cuya época las semillas de los tres frutos, sembradas en tierra arenosa, proporcionaron más tarde *11 plantitas*.

La obtención de tres frutos en esta especie nos animó a continuar la experimentación con el 2,4-diclorofenoxiacetato de metilo, y así conseguimos algunas veces cápsulas en *G. verrucosa*, *subverrucosa*, *brevifolia* y *glabra*, no lográndolas en *G. fasciata*, *maculata*, *excavata* y *decipiens*. Es posible que estos últimos resultados negativos sean consecuencia de los pocos ensayos que nos vimos obligados a realizar a causa del reducido número de ejemplares disponibles.

Con este primer procedimiento los resultados eran muy irregulares, lo cual atribuimos a la influencia indiscutible de la temperatura en el mismo. Por este motivo empezamos a utilizar el método B a) II (pg. 100), en el cual la hormona se volatiliza calentando, por lo que su concentración en la atmósfera ya no depende de la temperatura ambiente. Esta técnica se demostró en seguida mucho más constante y eficaz que la anterior (B a) I), obteniéndose los frutos fértiles con más frecuencia y en mayor número. Sin embargo, hemos de señalar que la germinación de las semillas obtenidas con esta técnica sólo dió un tanto por ciento algo mayor que la precedente. Por otra parte, es necesaria una comprobación posterior, dado el escaso número de ensayos cuantitativos que hemos realizado hasta la fecha.

A finales de la primavera de 1947 experimentamos también con el beta-naftoxiacetato de metilo, pero con peor resultado, exigiendo además, por lo general, concentraciones mucho mayores ($\times 10?$). Así se consiguieron unos pocos frutos en *G. glabra* Haw. (Véanse detalles en la parte especial correspondiente a esta especie, pg. 111.)

El ensayo con algunas mezclas de las hormonas volátiles (página 100) nos demostró que los efectos eran peores que cuando las sustancias se utilizaban individualmente (durante la primavera de 1948 hemos comprobado esto mismo). Sin embargo, creemos muy probable que con otras mezclas distintas a las ensayadas o varian-

do las técnicas, se puedan obtener iguales o mejores fructificaciones que con las hormonas aisladas.

Resultaba de todos nuestros ensayos que el 2,4-diclorofenoxiacetato de metilo era la sustancia más eficaz de todas las que utilizábamos, y buscando un procedimiento más sencillo que el necesario para tratamientos con hormonas al estado de vapor, resolvimos seguir la técnica de Eyster, pero con esta hormona; es decir, la pulverización de las flores con disoluciones acuosas del ácido 2,4-diclorofenoxiacético (sal sódica), en lugar de la alfa-naftalenacetamida. Al principio no dieron resultados estas pulverizaciones, pero pronto nos dimos cuenta de que podía ser debido a que utilizábamos disoluciones demasiado diluidas. Sabíamos por nuestra experiencia en la aplicación de este ácido 2,4-diclorofenoxiacético como herbicida selectivo, que las monocotiledóneas resisten, por lo general, concentraciones muy grandes de esta sustancia, y en vista de ello fuimos aumentando la concentración de las disoluciones hasta que con las próximas a 1 por 1.000 obtuvimos inmediatamente los mejores resultados. Con esta técnica tan sencilla logramos frutos abundantes y con facilidad en *G. verrucosa* (fot. 5), *subverrucosa* (fot. 7), *brevifolia* (fot. 9), *nigricans*, *fasciata* (fot. 13), *decipiens* y *glabra* (fot. 16). La concentración más apropiada para todas estas especies suele encontrarse alrededor del 1,5 por 1.000. Por encima del 2 por 1.000 suele ser perjudicial.

La germinación de las semillas logradas por el procedimiento de la pulverización con disoluciones de 2,4-diclorofenoxiacetato sódico ha sido indudablemente la mejor.

La pulverización repetida de la misma inflorescencia con intervalos de tres días, permite lograr en ocasiones mayor número de frutos (véase *G. glabra*, pg. 111), pero en este caso, la concentración hormonal óptima de la disolución debe ser algo más baja que para el tratamiento único.

Con el ácido beta-naftoixiacético en disolución acuosa no conseguimos un solo fruto, aunque es posible que concentraciones mayores que las ensayadas hasta ahora sean también eficaces.

Durante la floración de 1948 ensayamos por vez primera el procedimiento B b), es decir, el tratamiento exclusivo de las inflorescencias con hormona volátil, dentro de bolsa de celofán, y aunque lo consideramos, por los resultados, algo más perfecto que el B a) I

(bajo campana), no parece tan constante y eficaz como el B a) II (volatilización hormónica por calor dentro de recinto cerrado).

Los procedimientos A, por pulverización con disoluciones acuosas de la sal sódica del ácido 2,4-diclorofenoxiacético, han resultado, con mucho, los más eficaces y sencillos.

Es necesario destacar que hasta ahora ningún tratamiento nos ha permitido obtener frutos de una manera absolutamente constante. Muchas plantas no responden a la hormonización, aunque hayan sido tratadas adecuadamente. La experimentación simultánea y homogénea con numerosos ejemplares de la misma especie nos ha permitido observar que puede ser muy variable la fructificación provocada por un mismo tratamiento. En ocasiones, una técnica puede dar magníficos resultados en unos ejemplares, mientras que en otros de la misma especie no llega a producir una sola cápsula («Factores internos de predisposición», de Resende?, Bibliografía 2, pg. 54). El tanto por ciento de cápsulas que se pueden obtener de flores abiertas, después de un tratamiento óptimo, se indica en la parte especial (pg. 107). Este tanto por ciento se incrementa, en general, a medida que avanza la estación, y estos resultados están de acuerdo con las observaciones de Resende (Bibl. 2, página 55), que señalan un incremento de la fertilidad natural en *Gasteria* al aumentar la temperatura ambiente con la aproximación del verano. También depende del lugar que ocupe en el racimo la flor tratada la probabilidad de lograr fruto, después de un tratamiento óptimo. Las flores apicales ofrecen un tanto por ciento mucho más reducido.

En algunas especies (*G. verrucosa* y principalmente *G. glabra*) hemos podido observar que llegan a producir fruto no sólo las flores abiertas, sino también las próximas a la antesis (véase fot. 15), y como las semillas pertenecientes a los frutos de éstas son también viables, resulta que procederían de flores «cleistógamas» (véase Discusión, pg. 114).

Nota.—En la primavera de 1948 hemos conseguido la fructificación en otras aloinas, por ejemplo, especies de *Aloe* y *Haworthia*, por tratamientos a base de ácido 2,4-diclorofenoxiacético aplicado por la técnica A, pero hasta la fecha ignoramos si las semillas producidas son también fértiles.

Parte especial.

Experimentación especial y resultados obtenidos en

Estadillo núm. 1.

Planta experimentada: *Gasteria verrucosa* (Mill.) Haw.*Sustancia activa utilizada:* Acido 2,4-diclorofenoxiacético (sal sódica).*Características del tratamiento:* Pulverización de las flores abiertas con disoluciones acuosas. (Método A.)

Núm.	Cantidad de sustancia activa	Duración	Temperatura	Fecha	Flores abiertas	RESULTADOS
1	1 0/100	1 pulv.	8°-16°	4 marzo	5	Frutos : 0
2	»	»	—	29 marzo	6	» : 2
3	»	»	10°-17°	7 abril	6	» : 0
4	»	»	8°-18°	16 abril	8	» : 0
5	»	»	10°-23°	21 abril	6	» : 5
6	»	»	11°-20°	28 abril	6	» : 0
7	»	»	14°-23°	3 mayo	6	» : 3
8	»	»	—	4 mayo	8	» : 6
9	»	»	10°-12°	12 mayo	7	» : 0
10	»	»	—	15 mayo	8	» : 5
11	»	»	13°-22°	29 mayo	7	» : 6 (Fotos 5 y 6)
12	»	»	11°-24°	5 junio	7	» : 0
13	»	»	12°-25°	6 junio	7	» : 6
14	»	»	13°-28°	11 junio	6	» : 3

Observaciones: (La experimentación se realizó con plantas cultivadas en tiestos.)

Gasteria verrucosa (Mill.) Haw.

En esta especie se ensayaron las diversas técnicas durante toda la primavera, demostrándose como una de las que permiten lograr con mayor facilidad la fructificación por tratamiento hormonal.

El mejor tratamiento parece ser la pulverización de las flores abiertas con disolución acuosa de 2,4-diclorofenoxiacetato sódico al 1 por 1.000. En una sola inflorescencia y con una sola pulverización se puede conseguir fácilmente una media docena de fru-

tos (fots. 5 y 6). El tanto por ciento aproximado de cápsulas obtenidas de flores abiertas, por tratamiento durante el mes de mayo, viene a ser de un 50.

Esta especie sigue la norma general de aumentar la producción de frutos previo tratamiento, a medida que avanza la estación (véase estadillo 1).

Los frutos obtenidos se ciñen completamente a las características de los naturales, descritos en la monografía de Berger (Bibliografía 1, pg. 130): son alargado-cilíndricos, trígono y de una longitud de $\pm 2,5$ cm.

Estadillo núm. 2.

Planta experimentada: *Gasteria subverrucosa* (Salm.) Haw.

Sustancia activa utilizada: Acido 2,4-diclorofenoxiacético (sal sódica).

Características del tratamiento: Pulverización de las flores abiertas con disoluciones acuosas. (Método A.)

Núm.	Cantidad de sustancia activa	Duración	Temperatura	Fecha	Flores abiertas	RESULTADOS
1	0,5 ⁰ / ₁₀₀	1 pulv.	—	29 marzo	6	Frutos : 0
2	»	»	10°-18°	8 abril	5	» : 0
3	»	»	11°-20°	28 abril	7	» : 2
4	»	»	—	4 mayo	7	» : 0
5	1 ⁰ / ₁₀₀	»	8°-16°	3 marzo	5	» : 3
6	»	»	10°-19°	21 marzo	7	» : 6
7	»	»	10°-18°	8 abril	7	» : 0
8	»	»	8°-18°	16 abril	6	» : 0
9	»	»	11°-20°	28 abril	6	» : 4
10	»	»	14°-21°	14 mayo	6	» : 1
11	1,5 ⁰ / ₁₀₀	»	8°-16°	3 marzo	5	» : 3
12	»	»	10°-23°	21 marzo	8	» : 5
13	»	»	11°-20°	28 abril	7	» : 4
14	»	»	11°-20°	28 abril	8	» : 10
15	»	»	10°-20°	29 abril	7	» : 4
16	»	»	—	4 mayo	7	» : 0
17	2 ⁰ / ₁₀₀	»	10°-17°	7 abril	6	» : 0
18	»	»	10°-23°	21 abril	7	» : 3

(Fotos 7 y 8)

Observaciones: (La experimentación se realizó con plantas cultivadas en tiestos.)

Gasteria subverrucosa (Salm.) Haw.

Esta especie da resultados muy variables con todas las técnicas ensayadas; pero los mejores los hemos obtenido después de pulverizar las flores con una disolución de 2,4-diclorofenoxiacetato sódico al 1,5 por 1.000 (véanse fots. 7 y 8). Los frutos obtenidos representan el 30 por 100 de las flores tratadas al final de la primavera.

No parece seguir la norma general de facilitarse la fructificación al progresar la primavera (estadillo 2).

En la obra de Berger (Bibl. 1, pg. 132) *no se describe el fruto* de esta especie. Nosotros lo hemos obtenido siempre elipsoideo, trígono y de dimensiones muy constantes (1,5 cm. de longitud). Para la dehiscencia, véase fot. 11.)

Las cápsulas no quedan erguidas al madurar. (Compárese en las fotografías la fructificación de esta especie con las de *verrucosa*, *brevifolia* y *glabra*.)

Gasteria brevifolia Haw.

La escasez de ejemplares de esta especie nos ha obligado a realizar solamente algunos ensayos, sin que podamos recomendar, por lo tanto, ninguna técnica determinada. Por lo general, fructifica bastante fácilmente después de tratamiento.

En la fot. 9 se presenta una planta sometida en mayo de 1947 a tres pulverizaciones consecutivas, con intervalos de tres días, con disolución de 2,4-diclorofenoxiacetato sódico al 1 por 1.000, que originó una gran cantidad de frutos (27 entre las dos inflorescencias). Sin embargo, este mismo ejemplar, en mayo de 1948, presentando dos inflorescencias y tratado de la misma manera, no dió ni una sola cápsula (?).

En la bibliografía (Bibl. 1, pg. 132) *tampoco se describe el fruto de esta especie*. Como se puede apreciar en las fotografías (fots. 9, 10 y 12) son alargado-cilíndricos, trígono y algo estrechados hacia los extremos, erguidos y de una longitud de ± 2 cm. En fot. 12 se distinguen sus paredes apertgaminadas y su dehiscencia típica.

Gasteria nigricans Haw.

Resulta, como *G. verrucosa*, bastante variable en la fructificación provocada, y aunque fué la primera especie en la que conseguimos la fertilidad (pg. 103), se ha demostrado después como de las más resistentes a los tratamientos (fots. 1 y 2).

De nuestros ensayos resulta que el tratamiento mejor es la pulverización con 2,4-diclorofenoxiacetato sódico al 1-2 por 1.000.

El fruto viene descrito en la obra de Berger (Bibl. 1, pg. 137) con análogas características a los obtenidos artificialmente en nuestros experimentos.

Gasteria fasciata (Salm) Haw.

Hemos realizado muy pocos ensayos con esta especie, pero previo tratamiento nos ha fructificado siempre con bastante facilidad.

En la fot. 13 aparece una planta fructificada (10 cápsulas) que se trató en abril de 1947 con 2,4-diclorofenoxiacetato sódico al 0,75 por 1.000. Este mismo ejemplar, tratado a principios de abril de 1948 con la misma técnica, volvió a dar cuatro cápsulas.

Los frutos de esta especie se describen por Berger (Bibl. 1, página 139) como cilíndrico-trígonos, iguales por lo tanto a los obtenidos por nosotros (fot. 14).

Gasteria maculata (Thunb.) Haw. ; y*Gasteria excavata* (Willd.) Haw.

Hasta la fecha no hemos logrado ni una sola cápsula en los escasos ejemplares de que disponíamos de estas dos especies.

Todavía faltan por aplicar los tratamientos más enérgicos, pero las disoluciones de 2,4-diclorofenoxiacetato sódico al 0,5, 0,75 y 1 por 1.000, así como las aplicaciones de hormonas volátiles por la técnica B a) II (pg. 100), ha fallado en todas las ocasiones.

Gasteria decipiens Haw.

A pesar de que hemos podido disponer de muy pocos ejemplares de esta especie para la experimentación, los resultados indican que responde a los tratamientos como *Gasteria glabra* Haw. ; sin

embargo, es necesaria todavía una experimentación mucho más completa.

Sus frutos ya descritos (Bibl. 1, pg. 194) son cilindraco-tri-gonos.

Estadillo núm. 3.

Planta experimentada: Gasteria glabra Haw

Sustancia activa utilizada: Acido 2,4-diclorofenoxiacético (sal sódica).

Características del tratamiento: Pulverización de las flores abiertas con disoluciones acuosas. (Método A.)

Núm.	Cantidad de sustancia activa	Du-ración	Tem-peratura	Fecha	Flores abiertas	RESULTADOS
1	1 0/00	pulv.	10°-23°	21 abril	6	Frutos : 3
2	»	»	14°-23°	3 mayo	5	» : 0
3	»	»	—	4 mayo	8	» : 3
4	»	»	12°-22°	21 mayo	7 + 4	» : 4 + 0
5	»	»	13°-28°	11 junio	7	» : 0
6	»	»	13°-28°	11 junio	6	» : 6
7	1,5 0/00	»	10°-23°	21 abril	7	» : 0
8	»	»	11°-20°	28 abril	7 + 5	» : 4 + 1
9	»	»	14°-23°	3 mayo	6	» : 4
10	»	»	12°-21°	8 mayo	7	» : 6
11	»	»	10°-21°	12 mayo	7	» : 3
12	»	»	10°-21°	12 mayo	8	» : 7
13	»	»	11°-24°	5 junio	6	» : 0
14	»	»	13°-28°	11 junio	8 + 5	» : 6 + 2
15	2 0/00	»	12°-21°	8 mayo	6	» : 3
16	»	»	10°-21°	12 mayo	5	» : 1
17	»	»	11°-24°	5 junio	7 + 4	» : 7 + 0 (Foto 15)
18	»	»	11°-24°	5 junio	7	» : 0

Observaciones: (La experimentación se realizó con plantas cultivadas en tiestos.)

Gasteria glabra Haw.

En esta especie hemos realizado durante los años 1947 y 1948 un total de 129 ensayos con 54 comprobaciones, es decir, la experimentación más completa de todo el presente trabajo. Ello ha sido posible gracias a la abundancia de ejemplares que hemos podido utilizar y a la gran cantidad de flores que produce cada inflorescencia, lo que permite distintos ensayos de exploración sobre cada una.

Estadillo núm. 4.

Planta experimentada: *Gasteria glabra* Haw.

Sustancia activa utilizada: Acido 2,4 dicloro-fenoxiacético (sal sódica).

Características del tratamiento: Pulverización repetida con intervalos de tres días de las flores abiertas sucesivamente en una misma inflorescencia. (Método A. modf.)

Núm.	Cantidad de sustancia activa	Du-ración	Tem-peratura	Fecha	RESULTADOS
1	1 0/100	3 pulv.	14°-23°	3 mayo	Frutos : 6
2	»	»	11°-22°	20 mayo	» : 6 + 4 + 1 (Fotos 16 y 17)
3	»	»	12°-26°	2 junio	» : 5
4	»	»	12°-25°	6 junio	» : 7
5	1,5 0/100	»	12° 21°	5 mayo	» : 4
6	»	»	11°-24°	16 mayo	» : 6
7	»	»	12°-27°	28 mayo	» : 5 + 2
8	»	»	11°-28°	8 junio	» : 3

Observaciones: (La experimentación se realizó con plantas cultivadas en tiestos.)

Las disoluciones del ácido 2,4-diclorofenoxiacético (sal sódica) permiten obtener las mejores fructificaciones cuando alcanzan una concentración próxima a 1,5 por 1.000 (véase estadillo 3). Con ellas se pueden lograr en mayo y junio, de las flores abiertas o próximas a la antesis, más de un 50 por 100 de frutos (fot. 15).

Las pulverizaciones repetidas incrementan la fertilidad, y hemos observado que en este caso conviene una concentración algo más baja (véase estadillo 4). Así, en la fotografía 16, aparece el resultado de un tratamiento por pulverización repetida dos veces con intervalos de tres días (disolución al 1 por 1.000). En la fotografía 17 se representan con detalle seis cápsulas de la misma planta. Se pueden distinguir en ella los frutos turgescientes que muestran los relieves producidos por las semillas de su interior. Estos tratamientos repetidos logran frutos en muchas ocasiones, que en otros casos terminarían abortando antes de alcanzar la madurez.

Los ensayos con hormonas volatilizadas proporcionan también fructificaciones aceptables, especialmente la técnica B a) II. Para el 2,4-diclorofenoxiacetato de metilo parece convenir durante los

Estadillo núm. 5.

Planta experimentada: *Gasteria glabra* Haw.

Sustancia activa utilizada: Acido 2,4-diclorofenoxiacético (sal sódica).

Características del tratamiento: En recinto cerrado de 20 m.³ y vaporización hormonal por calefacción. (Método B. a. II.)

Núm.	Cantidad de sustancia activa	Duración	Temperatura	Fecha	Flores abiertas	RESULTADOS
1	50 mg	14 hs	14°-18°	11 mayo	6	Frutos : 0
2	»	»	16°-20°	3 junio	8 + 4	» : 4 + 0
3	»	»	16°-20°	10 junio	7	» : 0
4	100 mg	»	13°-18°	13 mayo	7	» : 0
5	»	»	13°-18°	13 mayo	7	» : 3
6	»	»	17°-23°	18 junio	8	» : 1
7	»	»	17°-23°	18 junio	6	» : 2
8	150 mg	»	14°-19°	15 mayo	5	» : 3
9	»	»	14°-19°	15 mayo	7	» : 5
10	»	»	16°-19°	17 mayo	8	» : 0
11	»	»	16°-19°	17 mayo	7	» : 0
12	»	»	18°-22°	19 junio	8	» : 5
13	»	»	18°-22°	19 junio	6	» : 2
14	200 mg	»	12°-17°	9 mayo	7	» : 0
15	»	»	15°-19°	20 mayo	8 + 5	» : 3 + 0
16	»	»	16°-21°	16 junio	8	» : 0
17	»	»	16°-21°	16 junio	7	» : 1 (apical)

Observaciones: (La experimentación se realizó con plantas cultivadas en tiestos.)

meses de mayo y junio la volatilización de 100 a 150 mg. para un recinto de 20 m.³ (véase estadillo 5).

Las semillas de todos estos frutos conseguidos por tratamiento suelen germinar inmejorablemente (fots. 18, 19 y 21), salvo las originadas de flores cerradas algo jóvenes, que, en varias ocasiones, han resultado estériles. ¿Partenocarpia? (Véase *Discusión*, página 114). Esta circunstancia se está estudiando en la actualidad.

Ensayado el beta-naftoxiacetato de metilo en junio de 1947, resultó inactivo en los primeros experimentos, pero en un lote de diversas especies de *Gasteria*, en el que se encontraban cuatro ejemplares florecidos de *G. glabra*, la volatilización de 1 gr. de

betanaftoxiacetato de metilo proporcionó tres frutos en una planta y uno en otra (este último no llegó a madurar).

El fruto de esta especie no se describe en la obra de Berger (Bibl. 1, pg. 152). Es alargado-cilíndrico, algo trígono y con pequeñas rugosidades transversales. Su longitud oscila entre 2 y 3 centímetros.

* * *

Los diversos híbridos aprovechados para la experimentación demuestran en general una gran facilidad para la fructificación provocada.

DISCUSION

Resulta indudable, según se deduce de lo que precede, que con determinados tratamientos hormonícos es posible vencer la esterilidad que presentan las especies de *Gasteria*. Esta esterilidad, que podríamos llamar «climática», pues se ha observado (Resende, Bibliografía 2, pg. 50) que no se presenta cuando se dan determinados factores en el ambiente, puede evitarse prácticamente sometiendo las flores a la acción de algunas sustancias de crecimiento sintéticas. La falta de los agentes excitantes naturales ocasionaría la esterilidad por interferir determinados procesos de la reproducción en estas plantas. En algunas especies de *Gasteria*, sobre todo en *G. glabra*, puede observarse que después de la polinización el ovario comienza a aumentar de volumen, pero que en seguida pierde turgescencia y termina marchitándose, fenómeno que podría interpretarse como inercia ocasionada en los procesos encadenados de la fructificación por factores climáticos anormales, lo cual conduciría al aborto. Por otra parte, no queda excluida la posibilidad de que incluso esta inercia no permitiera la fecundación. La función o una de las funciones principales de estos agentes sería favorecer la liberación suficiente de las auxinas imprescindibles para el crecimiento del fruto. En consecuencia, estos factores del medio podrían sustituirse suministrando al pistilo las sustancias de crecimiento necesarias (tratamiento hormoníco).

Los tratamientos eficaces son los que utilizan sustancias reguladoras del crecimiento de acción muy enérgica, como el ácido

2,4-diclorofenoxiacético y a concentraciones muy elevadas (1 a 1,5 por 1.000) que para otras muchas plantas serían mortales (*). A nuestro juicio, es muy interesante que no den resultado tratamientos con otras hormonas, por ejemplo, el ácido alfa-naftolenoacético, que poseen constitución y actividad más próximas a las que presentan las naturales de las plantas.

El ácido 2,4-diclorofenoxiacético, ¿interviene como auxina, es decir, como verdadera sustancia de crecimiento, o solamente como agente excitante que provoque la liberación de las auxinas de los precursores existentes en el ovario? Todo parece indicar que funciona más bien como excitante, aunque no queda excluida una posible acción de auxina.

Las semillas obtenidas en *Gasteria* mediante tratamiento hormonal germinan normalmente. Ahora bien, ¿estas semillas se han formado por fecundación normal o son debidas a un caso de apomixia artificial, provocada por excitación hormonal? Lo más probable es que se trate de semillas normales, pues que los frutos sólo se originan por tratamiento de flores abiertas o próximas a ello, es decir, en las que ha podido verificarse la polinización (autopolinización y «cleistogamia?»). Pero no es imposible tampoco la posibilidad de un caso de partenocarpia artificial fértil. Así, en efecto, el ácido 2,4-diclorofenoxiacético a concentraciones próximas al 1 por 1.000 nos ha permitido obtener la partenocarpia en diversas monocotiledóneas, por ejemplo, *Iris germánica*, *Iris florentina*, *Sternbergia lutea*, *Canna* sp. (**), y esta experiencia nos inclinó a suponer partenocárpico los primeros frutos que logramos en *Gasteria nigricans* por tratamiento con el ácido indicado. De ser partenocárpico extraña que estén llenos de semillas, pero dada la facilidad y frecuencia con que se presentan los fenómenos de regeneración en estas plantas carnosas, podría ocurrir que una de las células del óvulo, excitada por la hormona, originara un embrión por partenogénesis provocada (si la célula era gameto) o simplemente por apomixia artificial (si la célula no era sexual). De una forma u otra, iniciado el desarrollo del embrión y de la se-

(*) Esta misma sustancia se utiliza hoy día a estas concentraciones como herbicida selectivo y permite destruir rápidamente gran número de plantas.

(**) Estos trabajos se publican aparte.

milla, puesto que, por otra parte, la presencia del ácido 2,4-diclorofenoxiacético activaría las auxinas necesarias de los precursores existentes (en el caso de no intervenir este ácido como auxina). Nos inclina también a que pueda tratarse de un caso de partenocarpia, el que en ocasiones (véase *G. glabra*, pg. 00) algunos frutos presentan todas las semillas estériles.

Actualmente tenemos en estudio estos problemas, porque los datos que hemos podido reunir hasta la fecha no nos permiten todavía inclinarnos decididamente hacia ninguna de las posibilidades expuestas.

En el caso de esterilidad vencida en *Petunia violacea* L. con alfa-naftalenacetamida por Eyster, así como en los incrementos de la fertilidad natural logrados por tratamientos análogos en *Tagetes erecta*, *Brassica oleracea* y *Trifolium pratense*, es muy probable que esta hormona actúe también más como excitante que como auxina.

Por último, señalamos la importancia práctica que puedan tener estos tratamientos hormonales, orientados a vencer la esterilidad que se presenta en muchas plantas cultivadas o en experimentos genéticos diversos, así como la ayuda que pueden prestar al sistemático en Botánica, para la descripción y estudio de frutos en especies o variedades estériles.

RESUMEN

Conseguimos vencer la esterilidad que presentan diversas especies del género *Gasteria* Duval, mediante tratamientos hormonales diversos, especialmente a base de ácido 2,4-diclorofenoxiacético.

Las especies en las cuales conseguimos la fertilidad son: *G. verrucosa* (Mill.) Haw., *G. subverrucosa* (Salm.) Haw., *G. brevifolia* Haw., *G. nigricans* Haw., *G. fasciata* (Salm.) Haw., *G. decipiens* Haw. y *G. glabra* Haw. No la logramos, posiblemente a causa de los pocos experimentos que realizamos, en: *G. maculata* (Thunb.) Haw. y en *G. excavata* (Willd.) Haw.

Las semillas de los frutos obtenidos previo tratamiento germinan normalmente.

Creemos que estas fructificaciones fértiles constituyen casos de excitación hormonal del ovario fecundado, excitación que activa-

ría la inercia que se presenta en la reproducción de estas plantas cuando se desarrollan en nuestros climas.

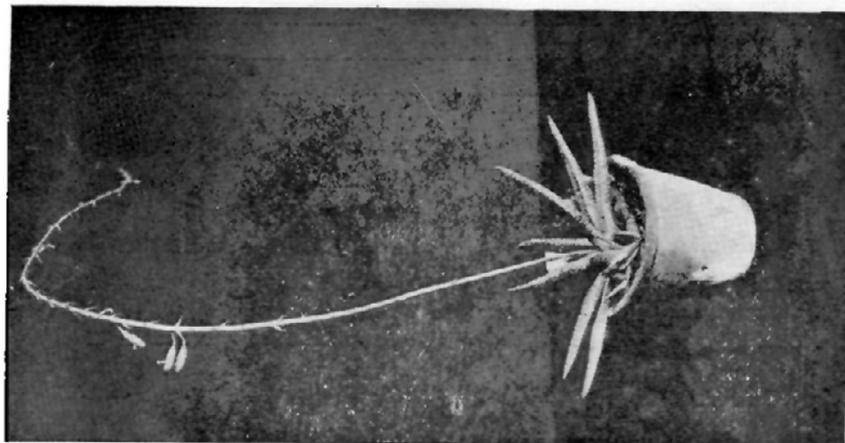
Discutimos la posibilidad de una «partenocarpia artificial fértil».

Según nuestra bibliografía, estos son los primeros casos de esterilidad vencida en monocotiledóneas mediante tratamiento fitohormónico, y los segundos de todas las plantas superiores.

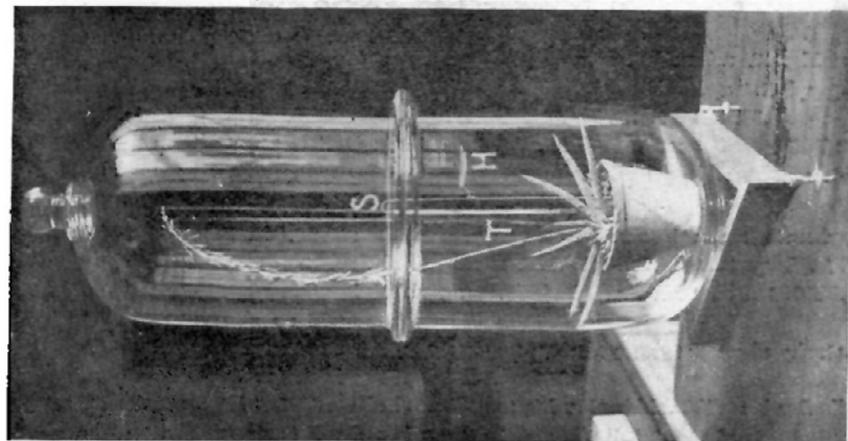
BIBLIOGRAFIA

- 1.—BERGER (A.), 1908: Liliaceae-Asphodeloideae-Aloineae, Das Pflanzenreich, A. Engler, Heft 33, 1-347.
- 2.—RESENDE (F.), 1943: Succulentos Aficaines, III. *Memórias Soc. Brot.*, vol. II, 7-119.
- 3.—STRAUB (J.), 1941: Die Beseitigung der Selbststerilität durch Polyploidisierung. *Ber. Deut. Bot. Ges.*, 59, 296-304.
- 4.—CABALLERO (A.), 1917: Estudios fisiológicos relacionados con las fitohormonas en *Sternbergia lutea* Gaw. et Ker. *An. Inst. Esp. Ed., Ec. y Fisiol. Veg.*, 6, II, 325-432.
- 5.—EYSTER (W. H.), 1941: The induction of fertility in genetically self-sterile plants. *Science*, 94, 144-145.
- 6.—AVERY (G. S.) and JOHNSON (E. B.), 1947: Hormones and Horticulture. McGraw-Hill, N. Y.
- 7.—SCHOFFER (W. H.), 1943: Plants and Vitamins. *Chronica Bot. Mass.*
- 8.—GUSTAFSON (F. G.), 1936: Inducement of fruit development by growth-promoting chemicals. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 22, 628-636.
- 9.—Van OVERBEEK (J.), CONKLIN (M. E.) and BLAKESLEE (A. F.), 1941: Chemical stimulation of ovule development and its possible relation to parthenogenesis. *Am. J. Botany*, 28, 647-656.
- 10.—MUIR (R. M.), 1942: Growth hormones as related to the setting and development of fruit in *Nicotiana tabacum*. *Am. J. Botany*, 29, 716-720.
- 11.—MURNEEK (A. E.) and WITTWER (S. H.), 1943: *Science*, 98, 384-385. (Por referencia en 12.)
- 12.—Van OVERBEEK (J.), 1944: Growth regulating substances in plants. *Ann. Rev. Biochemistry*, 13, 691-666.
- 13.—FITTING (H.), 1909: Die Beeinflussung der Orchideenblüten durch die Bestäubung und durch andere Umstände. *Z. Botan.*, 1, 1-86.
- 14.—FITTING (H.), 1909: Entwicklungsphysiologische Probleme der Fruchtbildung. *Biol. Zentr.*, 29, 193-206, 225-239.
- 15.—LAIBACH (F.), 1932: Pollenhormon und Wuchsstoff. *Ber. Deut. Bot. Ges.*, 50, 333-390.
- 16.—LAIBACH (F.), 1933: Versuche mit Wuchsstoffpaste. *Ber. Deut. Bot. Ges.*, 51, 336-392.

- 17.—GUSTAFSON (F. G.), 1937: Parthenocarpy induced by pollen extracts. *Am. J. Botany*, 24, 102-107.
- 18.—HOWLETT (F. S.), 1940: Experiments concerning the practicability of certain chemicals as a means of inducing fruit setting in the tomato. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, 37, 886-890.
- 19.—HOWLETT (F. S.), 1944: Synthetic plant hormones in relations to greenhouse tomato production. *Ohio. Veg. Pot. Growers' Rept.*, 31, 223-236.
- 20.—SKOOG (F.), 1947: Growth substances in higher plants. *Ann. Rev. Biochemistry*, 16, 529-564.
- 21.—ZIMMERMAN (P. W.), 1943: Present status of plant hormones. *Ind. Eng. Chem.*, 35, 596-601.

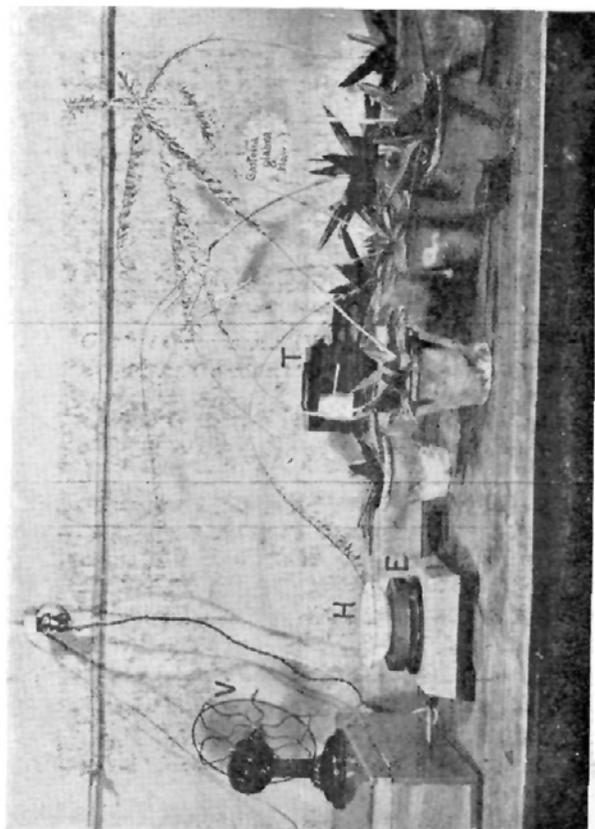


Fot. 2.

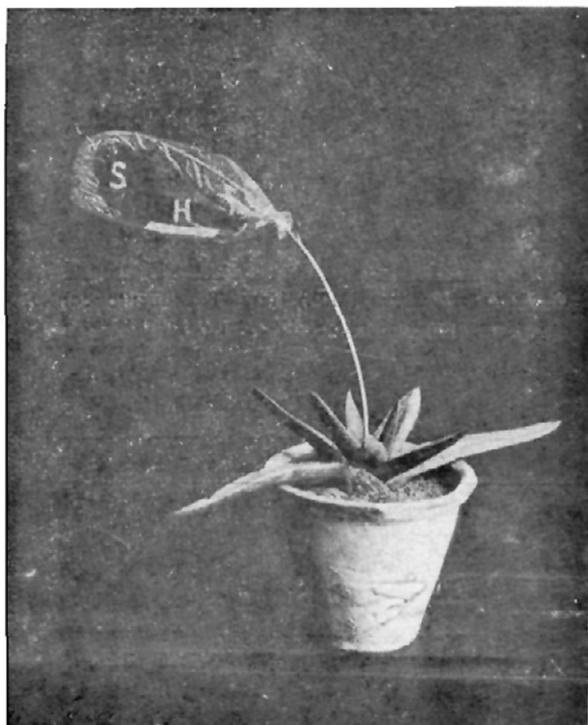


Fot. 1.

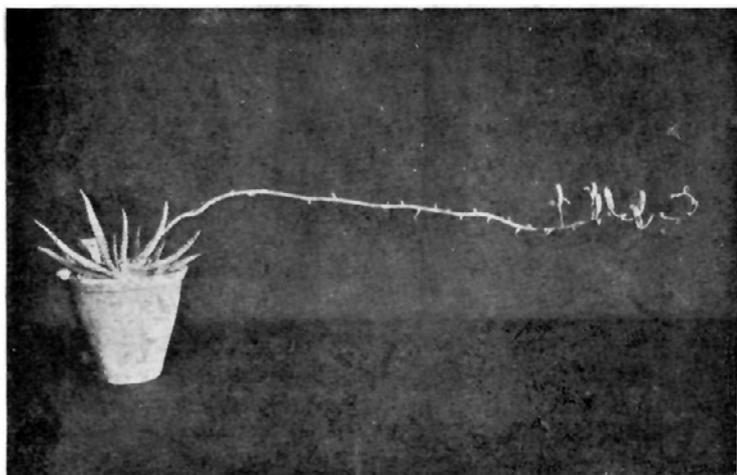
Tratamiento con hormonas volátiles bajo campana. Técnica B. a. I. *Gasteria nigricans* Haw., 2,4-diclorofenoxiacetato de metilo, 2 días, 15°-18°, 23 abril, 1947.



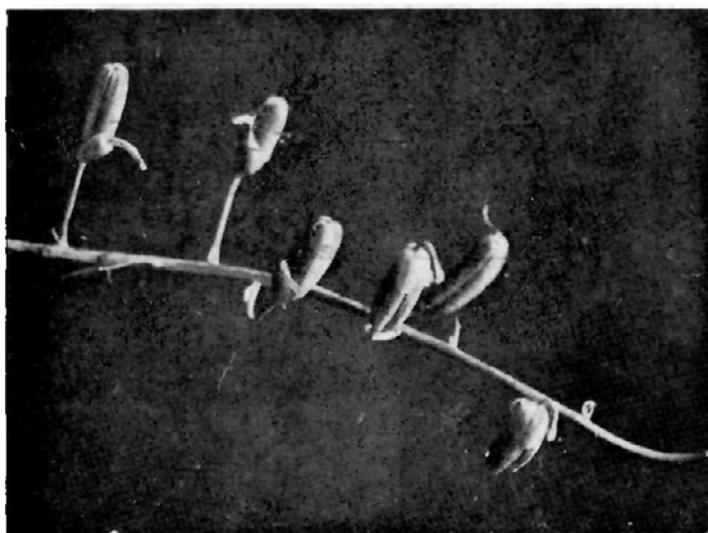
Fot. 31.—Tratamiento con hormonas volátiles en recinto cerrado. Técnica B. a. II.
(Véase texto pag. 100.)



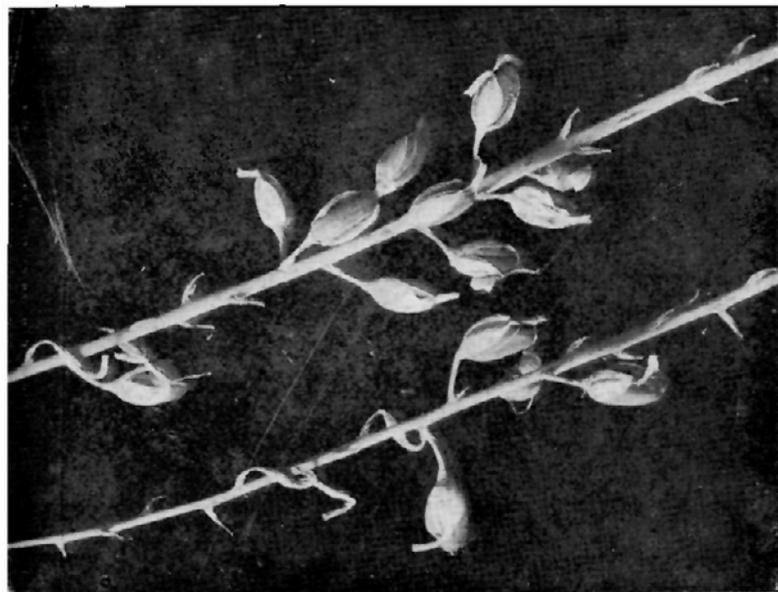
Fot. 4. Tratamiento con hormonas volátiles en bolsa de celofán. Técnica *b*. (Véase texto pág. 101.)



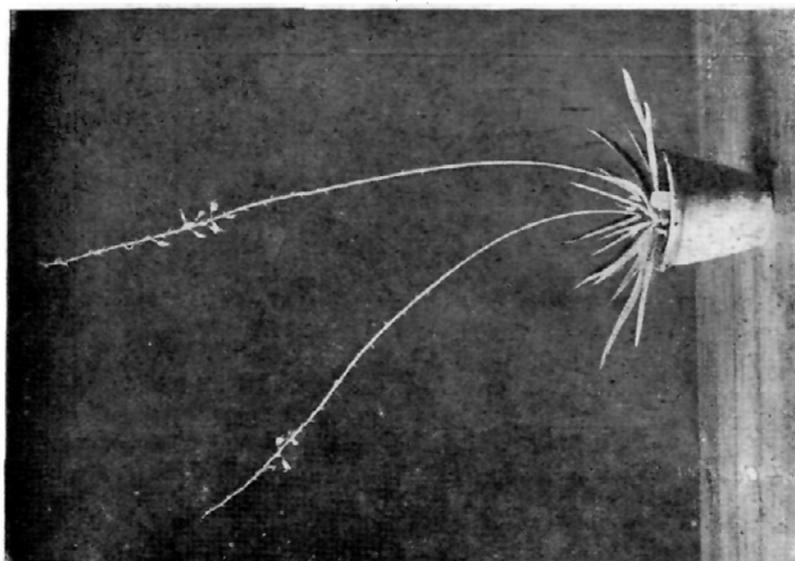
Fot. 5.—*Gasteria verrucosa* (Mill.) Haw. Tratamiento con 2,4-dicloro-
fenoxiacetato sódico al 1 por mil.



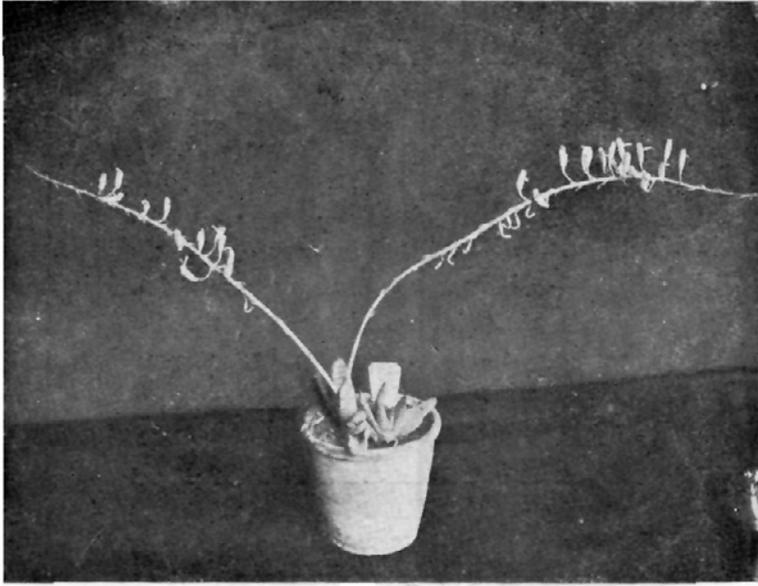
Fot. 6.—*Gasteria verrucosa* (Mill.) Haw. Detalle de los frutos de la fot. 5.



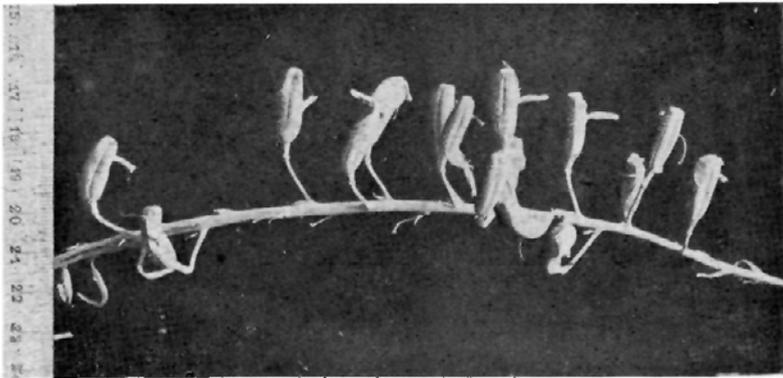
Fot. 8.—*Gasteria subaequalis* (Salm.) Haw. Detalle de los frutos de la fot. 7.



Fot. 7.—*Gasteria subaequalis* (Salm.) Haw. Tratamiento con 2,4-diclorofenoxiacetato sódico al 1,5 por mil. (Técnica A.)



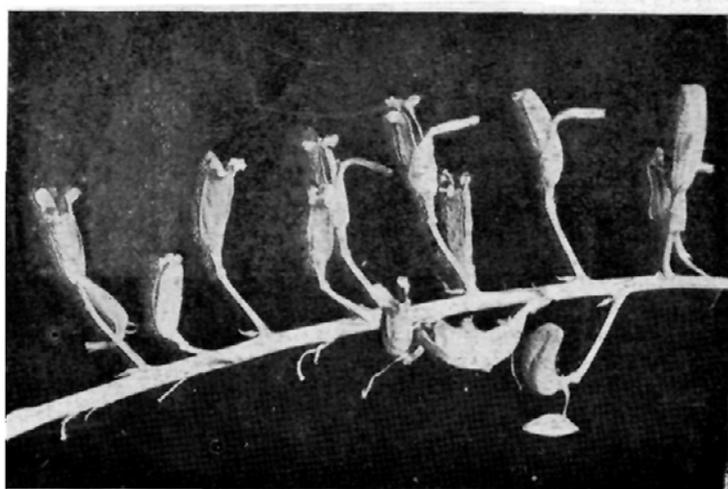
Fot. 9.—*Gasteria brevifolia* Haw. Tratamiento con 2,4-diclorofenoxiacetato sódico al 1 por mil. (Pulverización triple.)



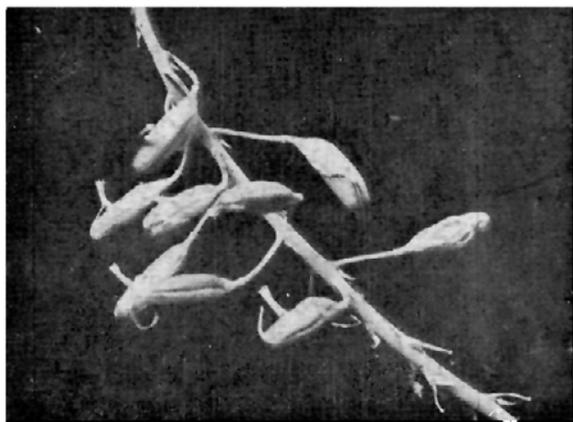
Fot. 10.—*Gasteria brevifolia* Haw. Detalle de los frutos de la derecha de la fot. 9.



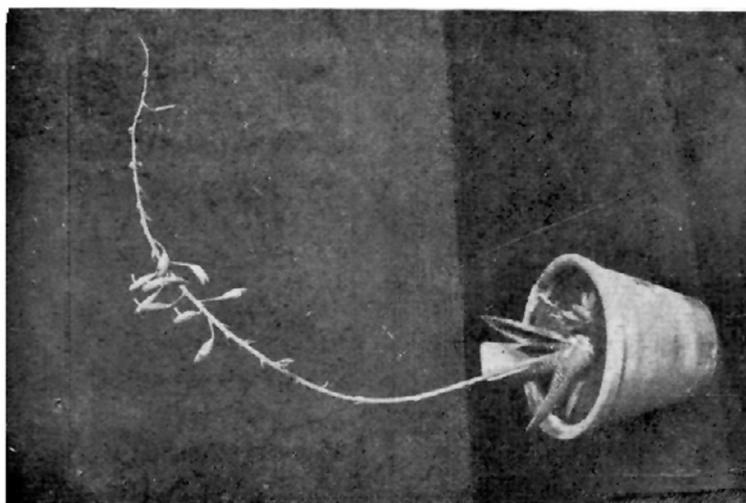
Fot. 11.—*Gasteria subverrucosa* Haw. Dehiscencia de los frutos. Técnica (B. a. II.)



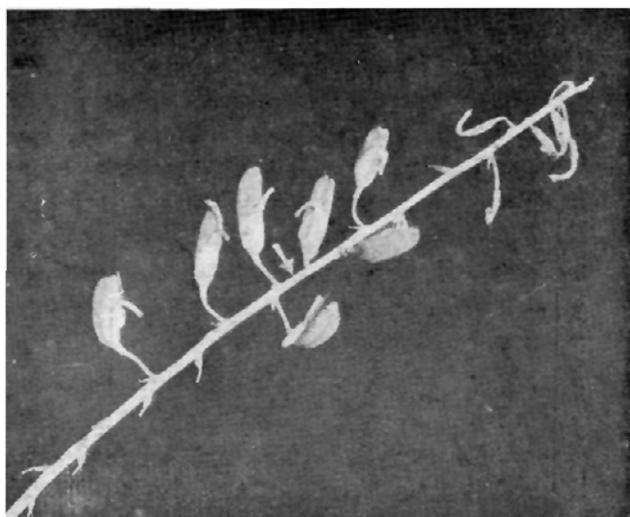
Fot. 12.—*Gasteria brevifolia* Haw. Deshiccencia de los frutos de la fot. 10.



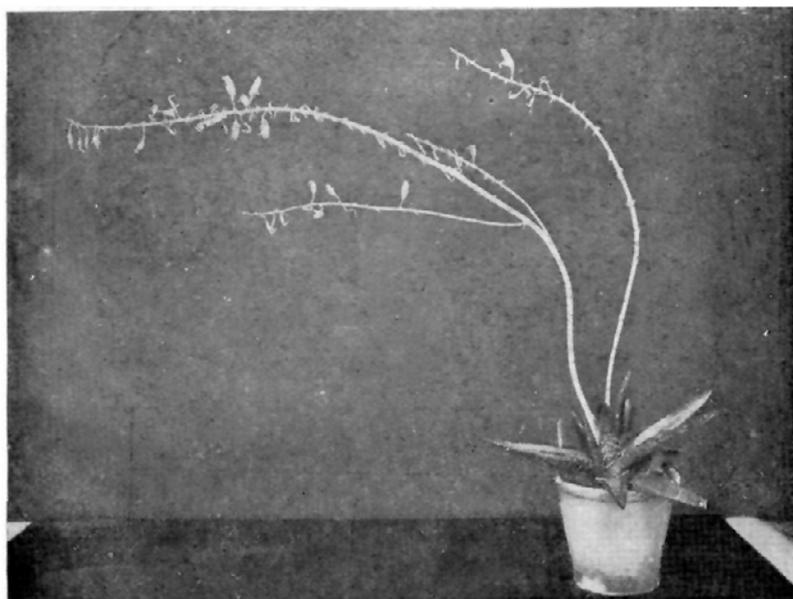
Fot. 14.—*Gasteria fasciata* (Salm.) Haw. Detalle de los frutos de la fot. 13.



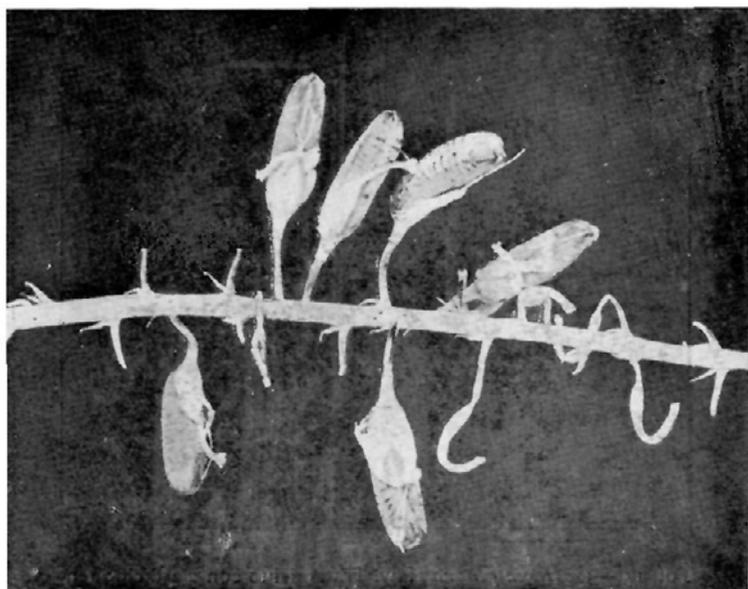
Fot. 13.—*Gasteria fasciata* (Salm.) Haw. Tratamiento con 2.4-diclorofenoxiacetato sódico al 0,75 por mil. (Técnica A.)



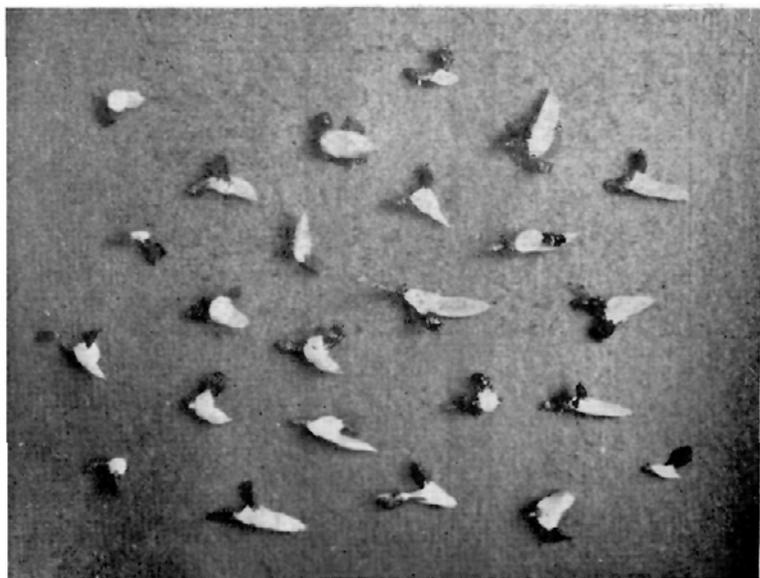
Fot. 15.—*Gasteria glabra* Haw. Tratamiento con 2,4-diclorofenoxiacetato sódico al 1,5 por mil. (Técnica A.)
La flecha indica el límite entre las flores abiertas y las cerradas en el momento del tratamiento hormonal.



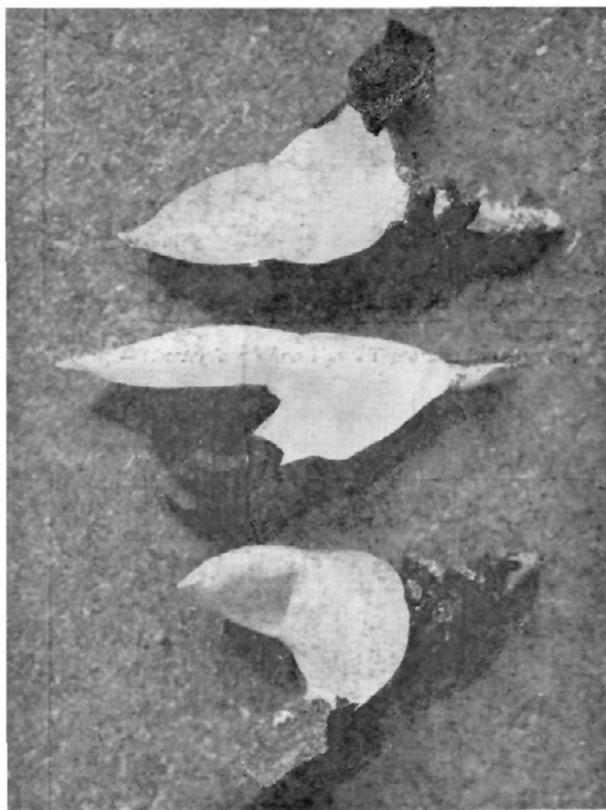
Fot. 16.—Tratamiento con 2,4-diclorofenoxiacetato sódico al 1 por mil. Triple pulverización. (Técnica A. mod.)



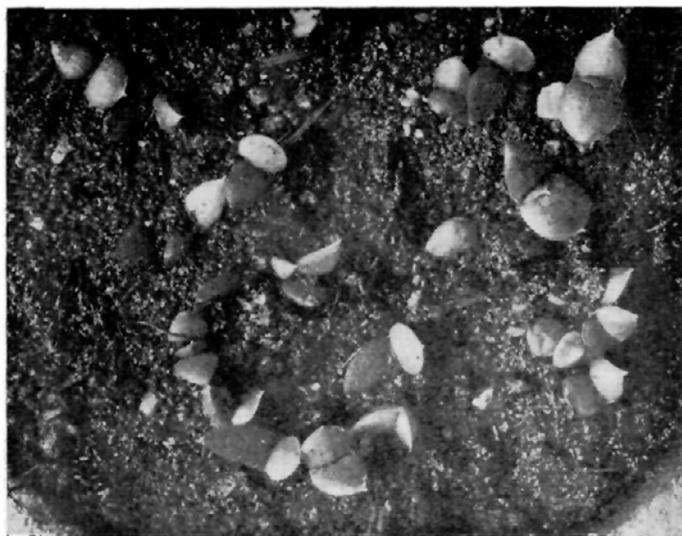
Fot. 17. — *Gasteria glabra* Haw. Detalle de los frutos de la fot. 16.



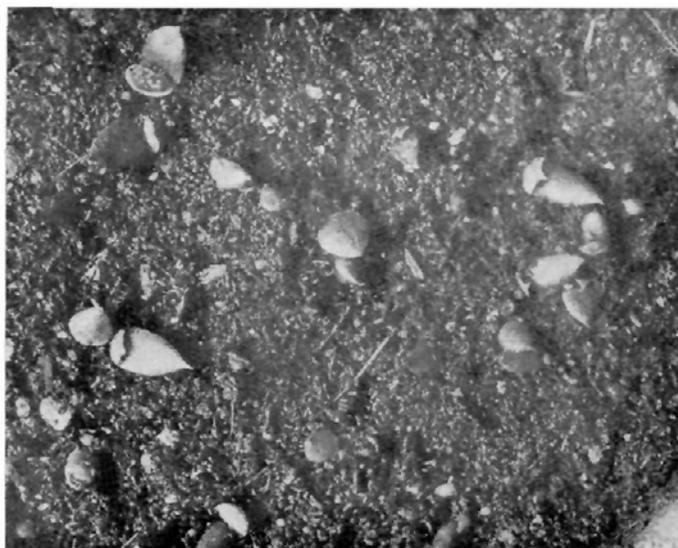
Fot. 18. — *Gasteria glabra* Haw. Semillas germinadas (marzo 1948).
(Tamaño natural.)



Fot. 19 — *Castanea glabra* Haw. Detalle de las semillas germinadas de la fot. 18.
(Aumentadas cinco veces su tamaño natural)



Fot. 21. — *Gasteria glabra* Haw. Plantitas obtenidas de semilla. (Tamaño natural.)



Fot. 20. — *Gasteria nigricans* Haw. Plantitas obtenidas de semilla. (Tamaño natural.)