

## GERMINACION DEL POLEN DE CACAO, CRECIMIENTO DEL TUBO POLINICO Y CUAJAMIENTO (\*)

Sus relaciones con el sombrero, el pH del estigma,  
estados del árbol y períodos estacionales

P o r

HERNANDO POLANIA TRUJILLO

### I. INTRODUCCION

Una gran parte de las investigaciones agronómicas que se adelantan hoy día, respecto al cultivo del cacao, tienden a determinar los principales factores que, directa ó indirectamente, influyen en el proceso de la fecundación de las flores, ya que de él depende, en gran parte, la escasa o abundante producción de la plantación.

Entre la inmensa cantidad de flores que un árbol de cacao produce cada temporada y la cantidad de frutos que en él logran cuajar, hay una desproporción marcada desfavorable al rendimiento, fenómeno en el cual intervienen causas internas y externas; éstas últimas son, en parte conocidas, fácilmente apreciables y, en ciertos casos, evitables, a diferencia de las primeras que actúan directamente impidiendo la realización del proceso de la fecundación, tales son las causas genéticas peculiares a la variedad, las cuales se presentan con mayor frecuencia y llegan a ser inevitables.

Una fecundación deficiente ocasionada por una mala germinación del grano de polen o por un crecimiento demasiado lento del tubo polínico, es responsable, en gran parte, de la baja fructificación y de la reducida cantidad de almendras por mazorca de cacao, y por tanto, de los bajos rendimientos del cultivo. Observaciones realizadas en plantaciones de cacao en el Valle del Cauca, especialmente en la Estación Experimental Agrícola de Palmira, han demostrado que de los frutos formados solamente de 0,5% a 1,5% cuajan y que la cantidad de almendras por mazorca varía entre 12 y 22, dato demasiado estrecho, pues teóricamente puede aumentarse de 35 a 40, siempre y

---

(\*)— Tesis presentada para optar al título de Ingeniero Agrónomo bajo la dirección del Dr. Gerard Naundorf. El autor hace público su agradecimiento por tan acertada y franca dirección.— Recibida para publicación en Octubre 25 de 1.952.

cuando se aseguren al máximo la germinación del grano de polen y el crecimiento del tubo polínico.

Se trata de buscar en el presente trabajo algunos de los factores que más directamente intervienen en la germinación del polen, crecimiento del tubo polínico y cuajamiento de las flores, y para ello se parte del supuesto de que dicho proceso puede estar relacionado con el pH del estigma, con el sombrío, con la brotación de yemas foliares y con los períodos estacionales.

Uno de los requisitos indispensables que aseguran el proceso de la fecundación está dado por el mayor o menor crecimiento que realice el tubo polínico, una vez que el grano de polen haya germinado sobre las papilas estigmáticas. De ahí, entonces, que nuestro trabajo trate de abarcar este aspecto, con la tendencia de hallar las condiciones bajo las cuales se realice su mayor y más rápido crecimiento.

#### A. Fecundación.—

Alvarez (1), refiriéndose a frutales en general, señala los siguientes puntos indispensables para que se realice una buena fecundación:

- 1º—"El contacto de diez granos de polen con la superficie estigmática en el momento en que ésta se encuentra en estado receptivo.
- 2º—Que esos granos de polen germinen.
- 3º—Que sus respectivos tubos polínicos se desarrollen con la prontitud debida en el interior del pistilo y lleguen a ponerse en contacto cada uno con un óvulo antes de la marchitez de la flor.
- 4º—Que en el interior de los sacos embrionarios se realice la fusión de los núcleos gaméticos.

Tomando la fecundación desde el punto de vista genético, Riera (18) dá las siguientes características cuando dicha fecundación se efectúa entre formas que poseen un mismo número de cromosomas pero diferentes construcciones cromosomáticas:

- a)—"Tienen una mala calidad de polen y viabilidad unilateral, por cuanto sólo uno de los padres dá bivalentes y el otro univalentes.
- b)—"Se forman pocos frutos, ya que se producen números diversos de cromosomas y sólo son viables los gametos que contienen  $X$  ó un múltiplo de  $X$ .

- c)—Desde el punto de vista de hibridación han producido novedades magníficas, pero a costa de difíciles cruzamientos a causa de la mala calidad de polen.
- d)—Los frutos tienen pocas semillas y éstas germinan mal.

### Factores que intervienen en la fecundación y fructificación

Para mayor conveniencia los dividimos en Externos é Internos.

Entre los **Externos** están:

a)—**Temperatura.** El cacao, al igual que todas las especies frutales, requiere para la iniciación de la florescencia una temperatura determinada, la cual debe mantenerse regularmente sin bruscas ni pronunciadas variaciones hasta la finalización del proceso, tal como se ha observado a lo largo de nuestras experimentaciones.

El tiempo que transcurre entre la germinación del grano de polen sobre el estigma de la flor y la fecundación es, según Cheesman (5), de seis horas. Si durante este tiempo se presentan cambios bruscos de temperatura se puede interrumpir el proceso de la fecundación y aún provocar la destrucción de los gametos (Voelcker, 25).

b)—**La sequedad atmosférica.** Cuando ésta se presenta con una elevación marcada de temperatura, puede afectarse la fecundación por el hecho de provocarse una rápida maduración de los granos de polen, en cuyo caso la ruptura del saco polínico es imprescindible, dificultándose el alcance del ovario por parte del tubo polínico (Duhan, 7).

c)—**La humedad.** Acompañada de lluvia y de tiempo nublado puede provocar el hinchamiento y ruptura prematura del saco polínico perdiéndose, en gran parte, el polen por no hallar viable el órgano femenino. En nuestras polinizaciones artificiales no se observó este fenómeno pero, en cambio, se dificultaron las fecundaciones cuando la temperatura ambiente era bastante baja y las flores estaban impregnadas de rocío, quizá por no verificarse fácilmente el desprendimiento de los granos de polen.

d)—**La luz.** Además de tener influencia sobre el gusto, aroma y colorido de los frutos, la tiene también sobre el proceso de la fecundación (Tamaro, 23). La intensidad provoca, así mismo, la dehiscencia de las anteras y **acelera la maduración del grano de polen.** Posnette (16) afirma que las primeras horas de la mañana aseguran un mayor porcentaje de fecundación debido a la menor intensidad de la luz. Intimamente relacionado con este factor está el sombrío el cual, como prueba de nuestras experiencias, ejerce su influencia en el por ciento de fecundación y muy especialmente en el crecimiento del tubo polínico.

e)—**El suelo.** A pesar de tener una influencia indirecta, el balanceo adecuado de nutrientes y su disponibilidad, hacen que este factor intervenga en la fecundación y cuajamiento de los frutos (Bastidas, 2). La presencia de sales nutricias en el suelo estimula la producción de flores y portanto es mayor la probabilidad de la fecundación, a pesar de que no todas ellas actúan del mismo modo (Kobel, 13). Las aplicaciones de fertilizantes nitrogenados al suelo han aumentado la floración y la capacidad de retención del fruto en manzanos y otros árboles frutales (Gardner, Brandfor y Hooker, 9). Tema de otro estudio podría basarse en la determinación de la influencia que pueda ejercer el pH del suelo en relación con la fecundación y fructificación.

Hablando de las condiciones climáticas en general, Voelcker (25) dice que ellas no tienen influencia en el proceso de fertilización a menos que se presenten bajas temperaturas en el momento en que las anteras realizan su apertura.

Los principales factores **Internos** pueden resumirse así:

a)—La falta de **simultaneidad** entre la maduración del grano de polen y la receptibilidad del estigma. Tal ocurre generalmente cuando dicha maduración se efectúa antes o después de efectuarse la del ovario, y en este caso, las condiciones ambientales pueden ejercer su influencia, especialmente si se trata de una prolongada y elevada temperatura (Westh, 27. Kobel, 13).

b)—**La capacidad germinativa del polen.** Se considera que un polen en árboles frutales es bueno, cuando la reducción cromática es normal, es decir, cuando los cromosomas pueden aparearse convenientemente de modo que los gametos contengan el número fundamental de cromosomas (Riera, 18). El mismo autor considera que "muchas de las variedades frutales en cultivo son formas más o menos híbridas que tienen con frecuencia su polen defectuoso e infértil (a pesar de proceder muchas veces de formas originalmente fértiles), ya que los padres pueden contener distintos números cromosómicos o bien por una mala división reduccional de las células sexuales".

c)—**El pH del estigma.** Conjuntamente con Naundorf se hallaron amplias oscilaciones en cuanto al pH del estigma, y es probable que dichas oscilaciones tengan influencia en el proceso de la fecundación y fructificación.

d)—**La vida breve de la flor.** A pesar de que la planta de cacao permanece florecida durante gran parte del año, la vida de la flor es demasiado efímera (12 a 48 horas). Sin embargo, Gardner y Naundorf (10) y García (8), han logrado prolongar la vida y período de permanencia de la flor en el árbol (6 a 7 días) mediante pulveriza-

ciones hormonales de ácido para-clorofenoxi-acético en concentraciones de 10 a 100 p. p. m.

### B.— Descripción del grano de polen y crecimiento del tubo polínico

Según Dejean (6), Wodehouse hace la siguiente descripción del grano de polen del cacao: "Un grano de polen es una partícula microscópica en la que, en un espacio muy reducido, se han acumulado todos los caracteres fitogenéticos. El grano es tan pequeño como las esporas de ciertos hongos y presenta movimientos brownianos. Los granos de polen varían de 4,5 a 200 micrones de diámetro. Muchas plantas se han clasificado por la forma y constitución de los granos de polen. Esta identificación aún no ha sido hecha en cacao. Tal estudio ayudaría a clasificar el cacao como planta anemófila o entomófila".

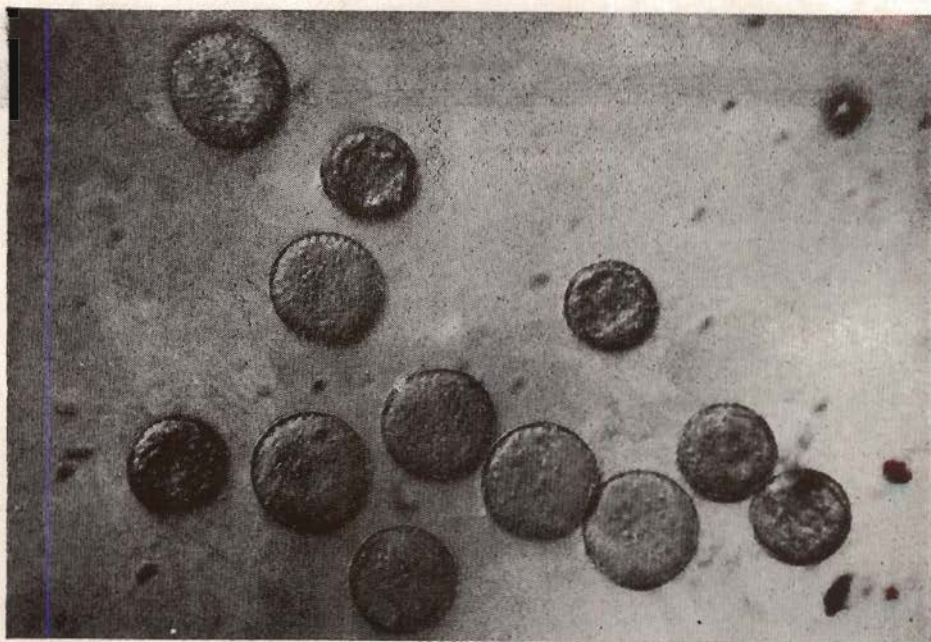
Haigh (12) halló una diferencia entre los granos de polen de árboles compatibles y autocompatibles: los granos procedentes de los primeros alcanzaron las 30 micras en diámetro y presentaban una pared delgada; en cambio, los granos procedentes de los árboles autoincompatibles poseían una pared gruesa y su tamaño no pasaba de 0,20 micras.

El polen de cacao, de acuerdo con algunas observaciones preliminares, no solamente es capaz de germinar al ponerse en contacto con el estigma de la flor, sino también en medios artificiales prefiriendo especialmente las soluciones azucaradas del 5%, siempre y cuando el pH de dichas soluciones no sea mayor de 7.0 ni menor de 4.0

La Figura N<sup>o</sup> 1 muestra unos granos de polen procedentes de árbol autocompatible empleado en nuestros ensayos.

La germinación del grano de polen se efectúa inmediatamente después de la polinización y desde este momento se inicia el crecimiento del tubo polínico, el cual cesa cuando los gametos se fusionan, alcanzando así su máxima longitud. Observaciones microscópicas llevadas a cabo dentro de nuestros experimentos preliminares con granos de polen puestos a germinar sobre placas de agar-agar, muestran que este crecimiento se inicia en dos horas después de verificada la siembra. Cheesman (5) afirma que el tiempo empleado por el tubo polínico en alcanzar el óvulo es de seis horas.

Mediante un fermento producido por el polen, ó talvez por substancias con carácter de fermento producidas por el mismo, el tubo polínico se abre paso a través del estigma hasta alcanzar el óvulo (Straub, 22. Buening, 3). Se acepta que el crecimiento del tubo polínico está dirigido, en gran parte, por influencias quimotrópicas suministradas por los tejidos del ovario, óvulo, estilo y estigma, así



h FIGURA Nº 1.— Granos de polen procedentes de árboles autocompatibles.

como también se tiene por cierto el hecho de las influencias galvanotrópicas sobre dicho crecimiento (Buening, 3).

Dentro de las sustancias que facilitan el paso del tubo polínico a través del estigma están las antibióticas de las cuáles se ocupa Kobel (13). Buening (3), Naundorf (15) y Riern (19) incluyen fitohormonas y vitaminas. Scharrer (21) y Buening (3) incluyen, en parte, sustancias menores como por ejemplo el Zn, Bo, Mn, etc.

Ultimamente, Sanclemente (20), trabajando con árboles autoincompatibles de cacao, demostró la existencia de sustancias inhibidoras por las cuales se impide parcialmente la germinación del polen y el crecimiento del tubo polínico.

### C. Causas determinantes en la iniciación del trabajo.-

El presente trabajo surgió de varias observaciones realizadas en el curso de los últimos dos años y las cuales pueden resumirse como sigue:

a)—La pérdida de compatibilidad que mostraban, durante ciertas

épocas del año, los clones número "5" y "6" utilizados en nuestra investigación, hasta el punto de hacerse prácticamente nulo el cuajamiento tanto en polinizaciones naturales como artificiales.

- b)—La influencia ejercida por el sombrío sobre el cuajamiento de los frutos.
- c)—La influencia que, sobre el mismo cuajamiento, ejercía el estado del árbol.
- d)—El bajo número de almendras por mazorca.

#### D. Revisión de literatura.

Una revisión bibliográfica nos permite conceptualizar que muy pocos son los trabajos llevados a cabo sobre el tema que aquí se pretende desarrollar, por lo cual nos limitamos a presentarlos siguiendo el orden de nuestro titular.

En cuanto a la relación existente entre el sombrío y la germinación del grano de polen prácticamente se desconocen trabajos realizados hasta ahora y creemos sea éste el primero que al respecto se elabora. Llano (14) supone que el sombrío es, parcialmente, un factor influyente en la caída prematura y marchitamiento de los frutos jóvenes, pero sus apreciaciones no llegan hasta determinar sus relaciones con el proceso de la germinación. Chamorro (4) llega a la conclusión de que el fenómeno de la transpiración se realiza óptimamente, en árboles de cacao, bajo las condiciones de un sombrío que varía del 25% al 50%.

Tampoco ha sido determinada la relación entre la germinación del polen y el pH del estigma.

La brotación de yemas foliares ha sido factor que no se ha tenido en cuenta respecto a sus relaciones con la germinación del polen, crecimiento del tubo polínico y cuajamiento de las flores, Greenwood y Posnette (11) estudiaron la brotación de yemas en relación con el sombrío teniendo en cuenta la humedad del suelo, la rata de evaporación, temperatura y brillo solar, llegando a la conclusión de que los árboles a plena exposición solar están en condiciones más apropiadas a la brotación de yemas foliares que aquellos localizados bajo sombra.

Las relaciones existentes entre los períodos estacionales y la germinación del polen y crecimiento del tubo polínico tampoco han sido estudiadas.

Teniendo en cuenta otros factores diferentes a los que en el presente trabajo se investigan, se han hecho algunos estudios respecto a la germinación del polen de cacao: Haigh (12), utilizando cajas de Petri y sobre agar al 1.5%, puso a germinar polen procedente de los árboles: uno compatible y otro autoincompatible. Haciendo lecturas a las 24 horas después de la siembra encontró que el 72,4% del polen procedente del árbol autocompatible había germinado y emitido tubo polínico, a diferencia del 0,36% del polen procedente del árbol autoincompatible. Vos (26), trabajando con árboles híbridos de tres años de edad y obtenidos por semilla, consiguió los mejores resultados de germinación con una concentración de glucosa al 4% y 1,5% de agar-agar, haciendo la siembra sobre cajas de petri.

## II. MATERIAL Y METODOS

### A. Material.—

Los experimentos se llevaron a cabo en una plantación de cacao propiedad de la Estación Experimental Agrícola de Palmira, sobre clones número "5" y "6". Estos clones son, según información verbal de Naundorf y García, autocompatibles y pierden, durante ciertas épocas del año, la compatibilidad.

Siguiendo las características dadas por Llano (14) en la diferenciación de las diversas variedades, se pueden situar estos clones den-

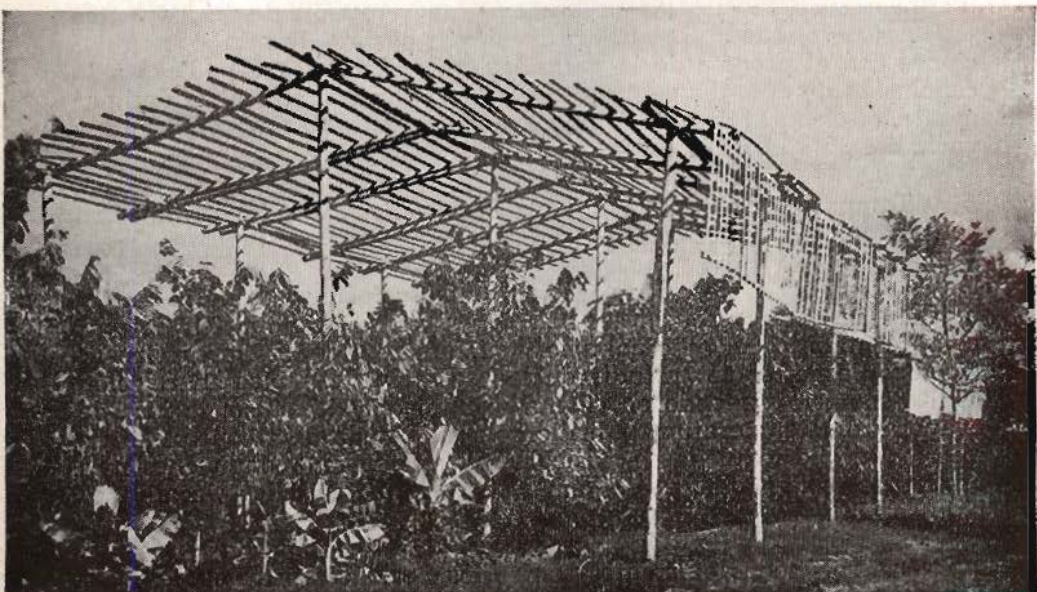


FIGURA N° 2.— Rancho o casilla con 25% de sombrio.



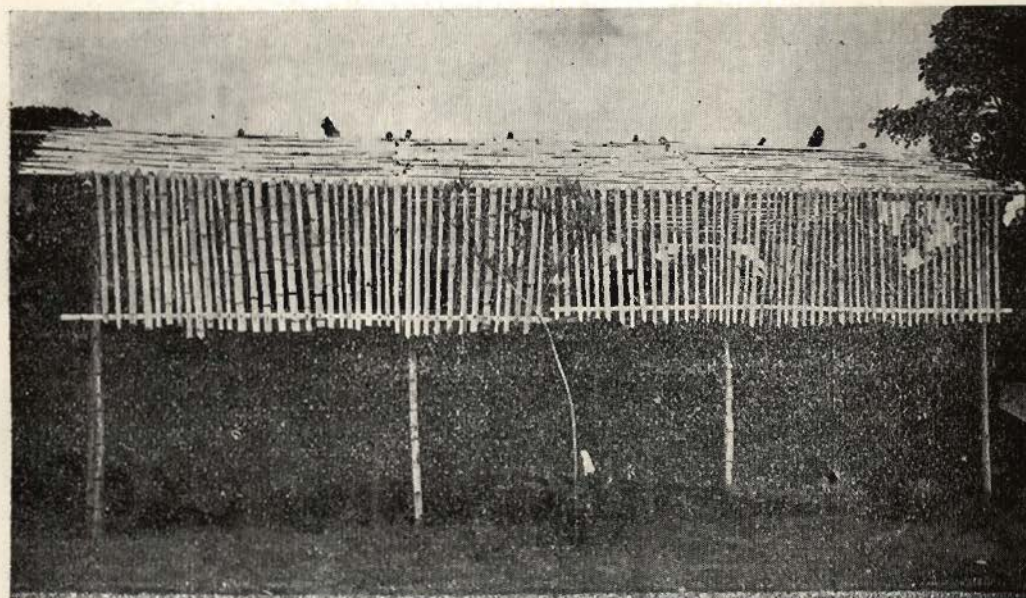


FIGURA N° 3.— Rancho o casilla con 50% de sombrío.

tro del sub-tipo Angoleta. Además, la edad de los árboles oscila entre los seis y los siete años, obtenidos por injertación. El estado sanitario de la plantación es aceptable y el sombrío distribuido regularmente.

#### B. Métodos.-

1º—Sombrío artificial.- Las figuras Nros. 2 y 3 muestran las casillas o ranchos de guadua, los cuales cubren algunos de los árboles utilizados en los experimentos de sombrío. Con el fin de aprovechar la mayor luminosidad (emitida por el sol en el recorrido diario de la tierra), se les dió a las varetas de guadua la disposición Sur - Norte. El rancho que muestra la Figura N° 2 cubre 9 árboles y su sombrío es del 25%; el rancho que muestra la Figura N° 3 cubre 8 árboles y su sombrío es del 50%. Estos sombríos artificiales se midieron fotométricamente.

2º—Polinizaciones.- Todas las polinizaciones artificiales se efectuaron a partir de las seis y media de la mañana, procurando no prolongar el trabajo más allá de las 9 a.m. en días de intensa iluminación solar, ni más allá de las 10 a.m. en días nublados y frescos, siguiendo así las instrucciones de Posnette (16) y Voelsker (25).

La técnica empleada en las polinizaciones artificiales puede describirse como sigue: con unas pinzas se retiran tres de los cinco estaminoides que forman la corona, cortándolos más o menos a un tercio de su longitud y procurando que el estigma quede descubierto. La flor polinizante, es decir aquella cuyo polen se va a utilizar, se la separa del árbol con parte del pedúnculo y se descubren los estambres cuidadosamente con el fin de evitar la expulsión de los granos



FIGURA N<sup>o</sup> 4.— Aplicación de la gota sobre el estigma.

---

de polen. Así quedan también descubiertas las tecas de los estambres sobre las cuales están los sacos polínicos; estas tecas son las que se ponen en contacto con la punta del estigma, procurando hacerlo con diferentes estambres (2 ó 3) para asegurar así un mayor porcen-

taje de fecundación. De acuerdo con Pound (17), no es necesario cubrir las flores en polinizaciones artificiales.

3º—Preparación de los árboles.- Consiste en quitar todas las flores abiertas el día anterior, a los árboles que, al día siguiente, van a emplearse tanto en las polinizaciones artificiales como en los "tets" de germinación. Esta labor asegura la presencia de flores nuevas abiertas durante la noche, con lo cual se facilita el trabajo de la polinización.

4º—Preparación y aplicación de las soluciones.- Para efecto de los ensayos tendientes a demostrar la relación entre el pH del estigma y la germinación del polen, se prepararon soluciones ácidas y alcalinas a partir de agua destilada. Para efecto de las variaciones deseadas del pH de las soluciones, se emplearon: ácido cítrico e hidróxido de potasio. La determinación del pH en cada caso se hizo colorimétricamente. A estas soluciones se añadió adherente líquido "Spreader Sticker" en proporción de una gota adherida a la cabeza de un alfiler por cada 100 c. c. de solución, con el fin de asegurar la permanencia de la gota sobre el estigma y entre los estaminoides, y por tanto un mayor tiempo de contacto. La Figura N° 4 muestra el momento en que se está haciendo la aplicación de una de las soluciones por medio de un gotero. Cada flor así tratada permanecía 15 minutos con la go-

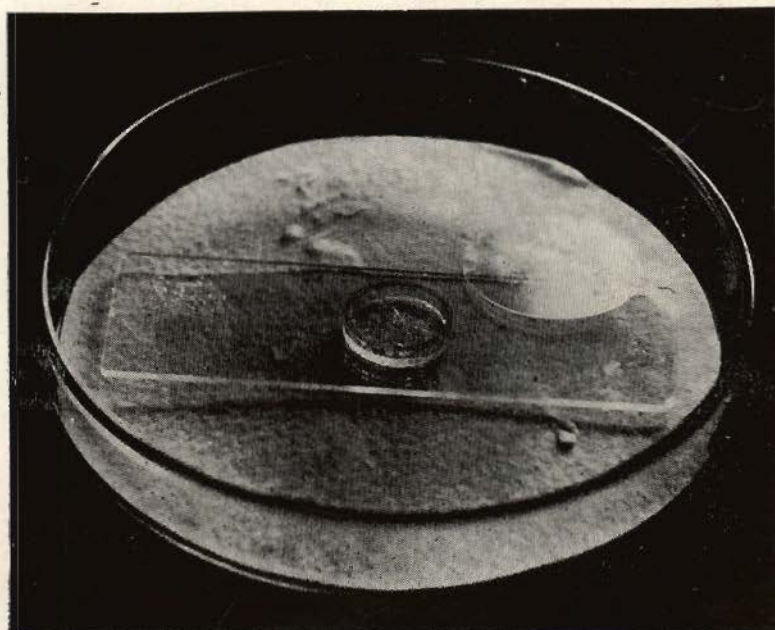


FIGURA N° 5.\* Cámara húmeda con placa de agar-agar empleada para la siembra del polen.

ta suspendida, después de los cuales, mediante una suave sacudida, se provocaba la caída de la gota, y cinco minutos después, se procedía a efectuar las polinizaciones.

5º—Medios empleados para la siembra.— Inicialmente, en la determinación del pH óptimo para la germinación del polen en medios artificiales, se emplearon concentraciones de glucosa al 5% y 1,5 gramos de agar con diferentes pH. Obtenido el dato, objeto de los ensayos, las siembras posteriores se efectuaron sobre la misma concentración de azúcar con un pH de 5,5.

6º— Siembra.— A continuación se describe el método seguido para efectuar la siembra del polen: el árbol, cuyas flores van a utilizarse en la obtención del polen, debe estar previamente preparado como se indicó en el numeral 3 del presente capítulo. Obtenidas las flores en estas condiciones, se trasladan al lugar en donde se encuentran las cajas de Petri con sus respectivas placas de siembra. Mediante una pinza se descubren cuidadosamente los estambres de cada flor quitando, además, sus pétalos y sépalos. Por medio de un pincel fino se rozan suavemente, y por repetidas ocasiones, las cabezuelas de los estambres, procurando tomar diferentes posiciones a fin de lograr una buena distribución de los granos de polen sobre el medio de siembra que, en nuestro caso, está rodeado por el anillo de la placa. Los cinco estambres de cada flor pueden sacudirse sobre un mismo anillo y la mayor parte de las veces se hace indispensable el empleo de dos o tres flores más a fin de asegurar la caída de suficiente polen. La presencia de los granos y su distribución se comprueban mediante examen microscópico después del cual, si las condiciones anteriores se cumplen favorablemente, las placas se colocan dentro de las cajas de petri en cuyo fondo va un papel de filtro humedecido con el fin de proporcionar una especie de cámara húmeda. (Fig. N° 5).

Los porcentajes de germinación se hicieron cinco horas después de la siembra y para ello se tuvo en cuenta la emisión de tubo polínico como signo de germinación (Vos, 26). Los contajes se hicieron en áreas microscópicas definidas procurando escoger las zonas de mejor apreciación y distribución.

7º—Marcada de las flores.— Todos los ensayos llevaron sus respectivos controles y, con el propósito de hacer distinción de los diferentes tratamientos, se emplearon hilos de diversos colores con los cuales se enlazaba individualmente cada flor, tal como se muestra en la Figura N° 6.

8º—Contajes y número de flores.— Posnette (16) afirma que cuando el 50% de las flores polinizadas artificialmente cuaja, el árbol puede considerarse como compatible. Pound (17) acepta como cuajada una flor cuando si, después del sexto día, aún permanece en el árbol. Siguiendo estas instrucciones en nuestros experimentos se hicieron contajes diarios desde el primero hasta el sexto día después

de realizada la polinización artificial, Todos los experimentos se llevaron a cabo sobre base de 25 flores en varias repeticiones (5 a 10).

### III. INVESTIGACION Y RESULTADOS

#### A. Influencia de las estaciones sobre la germinación del polen, crecimiento del tubo polínico y cuajamiento de las flores.

Los primeros ensayos realizados en la iniciación del presente

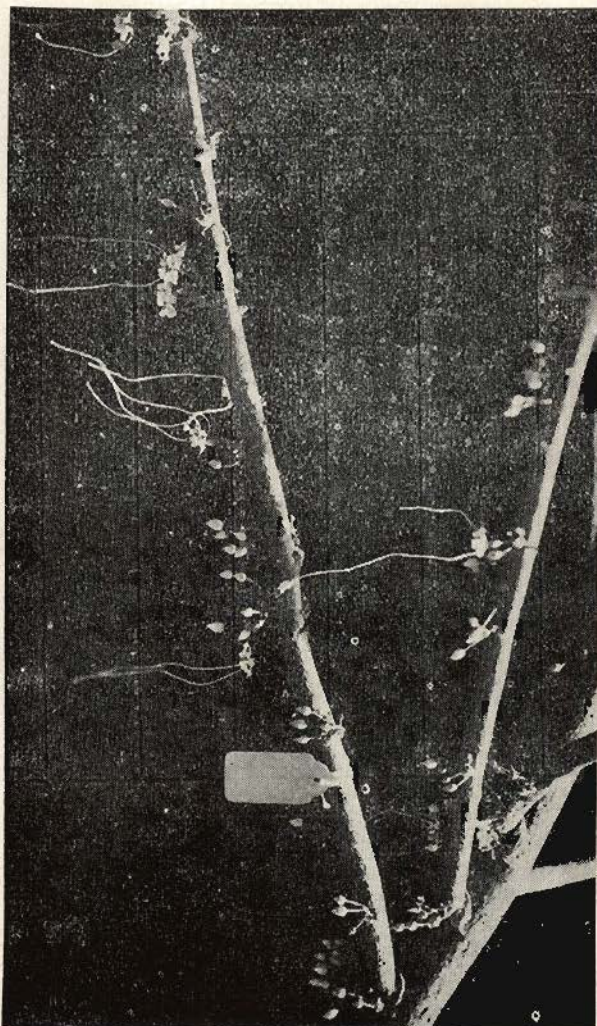


FIGURA N° 6.— Flores marcadas con hilos individualmente.

trabajo fueron encaminados a determinar las épocas del año en las cuales se apreciara un aumento o disminución en el cuajamiento, factor éste que podía estar relacionado con cambios fisiológicos de la planta y muy especialmente con la diferencia en la germinación del polen y crecimiento del tubo polínico. Los resultados de estos experimentos se dan en las Tablas I, II y III y en la curva representada por la Gráfica N° 1.

TABLA I.

## La vida de las flores de cacao.

| Nro. *<br>del<br>dato | Fecha          | Flores<br>marcadas | Flores restantes al |           |           |           |           |           |
|-----------------------|----------------|--------------------|---------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|                       |                |                    | día<br>1º           | día<br>2º | día<br>3º | día<br>4º | día<br>5º | día<br>6º |
| 1                     | VII-14<br>1950 | 100                | 60                  | 26        | 10        | 5         | 3         | 2         |
| 2                     | II-26<br>1951  | 100                | 28                  | 13        | 0         | 0         | 0         | 0         |
| 3                     | VII-19<br>1951 | 100                | 50                  | 25        | 4         | 1         | 1         | 1         |
| 4                     | X-20<br>1951   | 100                | 34                  | 10        | 0         | 0         | 0         | 0         |
| 5                     | II-12<br>1952  | 100                | 25                  | 8         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| 6                     | VII-15<br>1952 | 100                | 64                  | 28        | 2         | 1         | 1         | 1         |
| 7                     | IX-29<br>1952  | 100                | 61                  | 32        | 1         | 0         | 0         | 0         |

\* 1— Según Gardner y Naundorf (10).

2—4. Comunicación verbal de Naundorf y García.

En la Tabla I se dan los datos de los años 1950, 1951 y 1952 obtenidos de la literatura existente y de las propias observaciones, sobre el transcurso de la vida de la flor de cacao bajo las condiciones de polinización natural.

De acuerdo con esta Tabla puede observarse que un elevado

TABLA II.

**Relación entre el porcentaje de germinación y fecundación y los períodos estacionales.**

| Fecha<br>1952 | Por ciento de flores polinizadas y fecundadas |           |           |           |           |           |
|---------------|---|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|               | día<br>1º                                     | día<br>2º | día<br>3º | día<br>4º | día<br>5º | día<br>6º |
| II - 15       | 100   | 90        | 83        | 80        | 64        | 32        |
| III - 30      | 100   | 90        | 70        | 54        | 40        | 32        |
| IV - 29       | 100   | 80        | 60        | 49        | 37        | 21        |
| V - 30        | 100   | 72        | 60        | 52        | 32        | 32        |
| VI - 13       | 100   | 80        | 68        | 52        | 48        | 44        |
| VI - 27       | 100   | 96        | 72        | 64        | 64        | 48        |
| VII - 11      | 100   | 88        | 80        | 68        | 68        | 60        |
| VII - 25      | 100   | 72        | 68        | 60        | 60        | 48        |
| VIII - 8      | 100   | 60        | 52        | 52        | 52        | 48        |
| VIII - 22     | 100   | 84        | 80        | 72        | 68        | 60        |
| IX - 5        | 100   | 68        | 60        | 52        | 44        | 36        |
| IX - 20       | 100   | 72        | 51        | 47        | 28        | 0         |
| X - 5         | 100   | 64        | 48        | 26        | 20        | 16        |
| X - 19        | 100   | 54        | 46        | 23        | 18        | 12        |

porcentaje (casi 60 %) de las flores fecundadas naturalmente, cae en el transcurso del primer día, mientras un porcentaje muy reducido (10 %) permanece hasta el segundo y tercero días. Esta Tabla nos indica además, el cuajamiento bajo condiciones naturales, según las diferentes épocas del año.

En la Tabla II se dan los valores obtenidos en fecundaciones artificiales realizadas a intervalos de catorce días, desde el 15 de Febrero hasta el 19 de Octubre. La curva que representa el Gráfico N° 1 muestra la cantidad de flores restantes al sexto día, y nos permite observar claramente el aumento o disminución del cuajado en fecundaciones artificiales durante casi todo el año. Si se comparan los datos dados por la Tabla II con los representados por la curva del gráfico N° 1 se observa: un máximo en el cuajamiento, especialmente en los meses de Junio - Agosto, y dos mínimos en los meses de Abril - Mayo y Septiembre - Octubre.

Si se comparan los datos de la Tabla II y los representados en el Gráfico N° 1 con los datos de la Tabla III, puede observarse que el porcentaje de germinación del grano de polen varía de acuerdo con las diferentes épocas del año, coincidiendo, tanto con el transcurso de la curva que representa el Gráfico N° 1, como con la longitud del tubo polínico alcanzada en esas épocas.

TABLA III.

**Relación entre el crecimiento del tubo polínico y las diversas épocas del año.**

| Fecha<br>1952 | Porcentaje de<br>germinación | Longitud del tubo<br>polínico en mm. |
|---------------|------------------------------|--------------------------------------|
| II - 15       | 100                          | 0,125                                |
| III - 30      | 100                          | 0,063                                |
| V - 6         | 65                           | 0,042                                |
| V - 21        | 68                           | 0,042                                |
| VII - 6       | 100                          | 0,096                                |
| VII - 23      | 100                          | 0,167                                |
| VIII - 27     | 100                          | 0,126                                |
| IX - 18       | 60                           | 0,021                                |
| X - 7         | 65                           | 0,032                                |

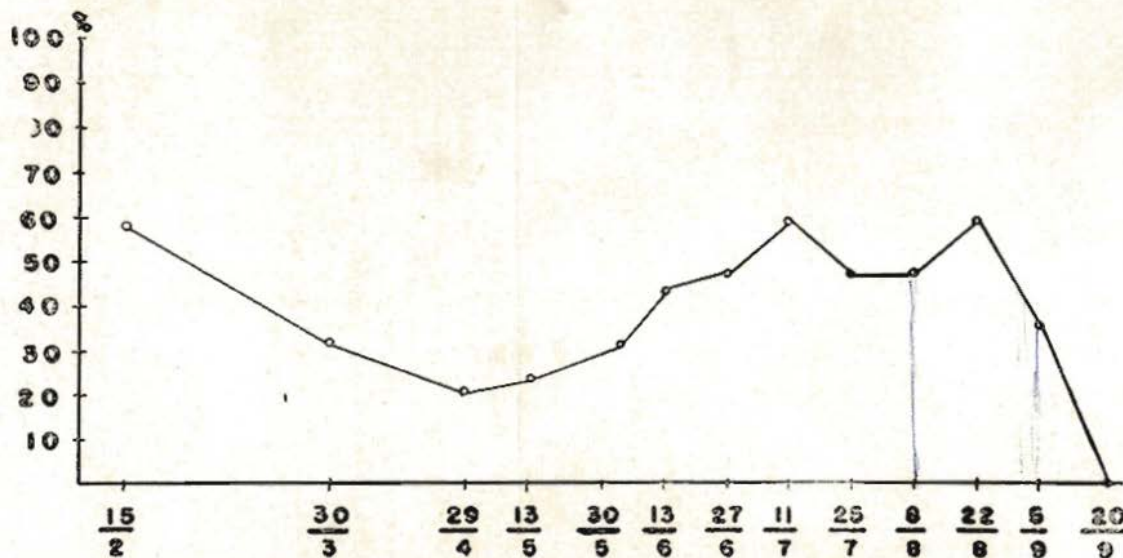
**B. Influencia del sombrío sobre el cuajamiento de las flores, germinación del polen y crecimiento del tubo polínico.**

Como anteriormente se dijo, el cuajamiento y el número de almendras por mazorca varían de acuerdo con el sombrío bajo el cual se desarrollan los árboles de cacao. Para efecto de estudiar esta diferencia de sombrío se construyeron las casillas descritas en el Capítulo II, empleando en nuestros ensayos, los sombríos de 0, 25, 50 y 75 por ciento.

En la curva representada en la Gráfica N° 2 se da el transcurso de la flor polinizada artificialmente hasta el sexto día. Si se comparan las cuatro curvas representadas en esta Gráfica y correspondientes a los diferentes sombríos propuestos, se nota que el mayor porcentaje de flores fecundadas y cuajadas corresponde al sombrío del 50%, siguiéndole muy de cerca el % dado por el sombrío del 25%. El menor porcentaje está dado por los árboles situados a plena exposición y bajo sombrío del 75%, valor que oscila, más o menos, en un 18% de cuajamiento. Los valores de esta curva representan el promedio de tres experimentos para cada uno de los sombríos.

Al mismo tiempo se recogió polen de los árboles bajo los diferentes porcentajes de sombrío con el fin de observar el tanto por ciento de germinación y determinar, además, la longitud alcanzada por el tubo polínico. La Tabla IV da los diferentes valores obtenidos en dichas observaciones. Al estudiarlos se nota que el poder germinativo del grano de polen no se altera en relación con los diversos sombríos. Existe, en cambio, una amplia diferencia en cuanto

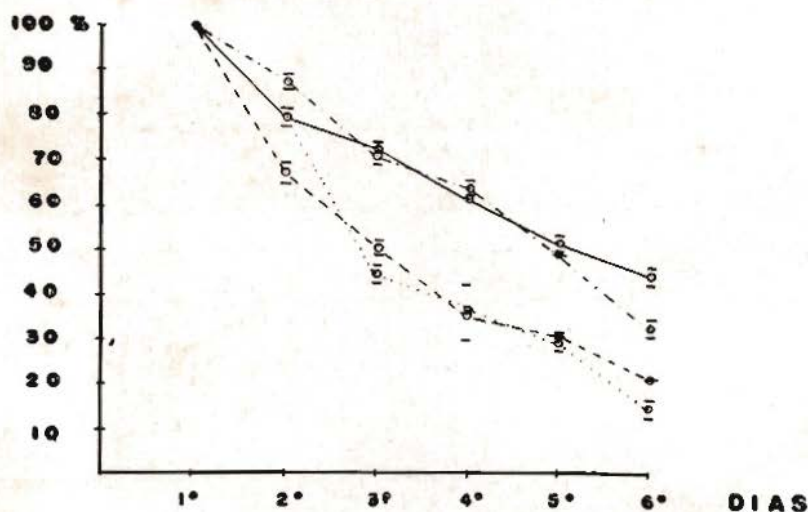




GRAFICA N° 1.— La curva representa el porcentaje de cuajamiento de polinizaciones artificiales desde el 15 de Febrero hasta el 20 de septiembre de 1952, mostrando que en algunas épocas el cuajamiento es muy bajo ó nulo.

ABSCISA— Por ciento de flores restantes al 6º día.

ORDENADA— Fecha de las polinizaciones artificiales.



GRAFICA N° 2.— Influencia del sombrío sobre la fecundación y el cuajamiento. Las curvas representan el transcurso de la vida de la flor hasta el 6º día.— Convenciones: ——— 0% ——— 50%  
 -.-.-.- 25% ..... 75%

Ordenada .. Días.

Abscisa .. Porcentaje de flores restantes al 6º día.

al crecimiento del tubo polínico, correspondiendo al menor valor al polen de árboles bajo sombrío del 75% y siguiendo inmediatamente, un crecimiento algo mejorado por el polen de árboles localizados a plena exposición solar. Los valores más elevados de la Tabla están dados por la longitud del tubo polínico correspondiente a polen de árboles bajo 25 y 50 por ciento de sombrío, siendo esta longitud 5 a 6 veces mayor que la alcanzada por los tubos polínicos procedentes de polen obtenido en árboles bajo 75 por ciento de sombrío y a plena exposición.

Al comparar los valores de la Tabla IV con los representados en la Gráfica N° 2, se observa una relación particular entre la cantidad de flores restantes al sexto día y la longitud alcanzada por el tubo polínico, es decir, que los árboles localizados bajo 25 y 50 por ciento de sombrío presentan un mejor cuajamiento y más rápido crecimiento del tubo polínico. De esta coincidencia se puede deducir que el mayor cuajamiento está determinado, en parte, por el mayor y más rápido crecimiento del tubo polínico, el cual llega a tiempo a realizar el proceso de la fecundación.

Se ha observado, además, que las mazorcas en árboles del 25 y 50 por ciento de sombrío tiene mayor número de almendras como

TABLA IV.

**Germinación del polen y crecimiento del tubo polínico en relación con el sombrío. (Tres ensayos realizados en fechas diferentes, siempre mostrando la misma relación).**

| Por ciento de sombrío | Por ciento de germinación | Longitud del tubo polínico en mm. |
|-----------------------|---------------------------|-----------------------------------|
| 75                    | 100                       | 0,021                             |
| 50                    | 100                       | 0,105                             |
| 25                    | 100                       | 0,105                             |
| 0                     | 100                       | 0,042                             |
| 75                    | 75                        | 0,021                             |
| 50                    | 100                       | 0,126                             |
| 25                    | 100                       | 0,105                             |
| 0                     | 100                       | 0,042                             |
| 75                    | 100                       | 0,042                             |
| 50                    | 100                       | 0,147                             |
| 25                    | 100                       | 0,168                             |
| 0                     | 80                        | 0,063                             |

puede verse en la Tabla V, y lo cual, posiblemente se debe al mayor y más rápido crecimiento logrado por el tubo polínico.

### C. Influencia del pH sobre el cuajamiento de las flores, germinación del polen y crecimiento del tubo polínico.

Al hacer los primeros ensayos sobre la germinación del grano de polen en medios artificiales, se observó que dicho proceso fué diferente según el agua empleada (agua destilada, agua corriente) para hacer el medio artificial. Este hecho nos indicó que el pH del medio juega un papel importante en la germinación del polen. Por este motivo se hicieron los diferentes experimentos para encontrar el mejor pH bajo el cual se realizaba la mejor germinación del grano de polen y el mayor crecimiento del tubo polínico.

Otras observaciones llevadas a cabo sobre el pH del estigma de la flor mostraron grandes oscilaciones de éste en relación con las diferentes épocas del año. De este hecho se supuso que dichas oscilaciones (pH 3,5 y 5,6) podrían ser las causas responsables de una mala

TABLA V.

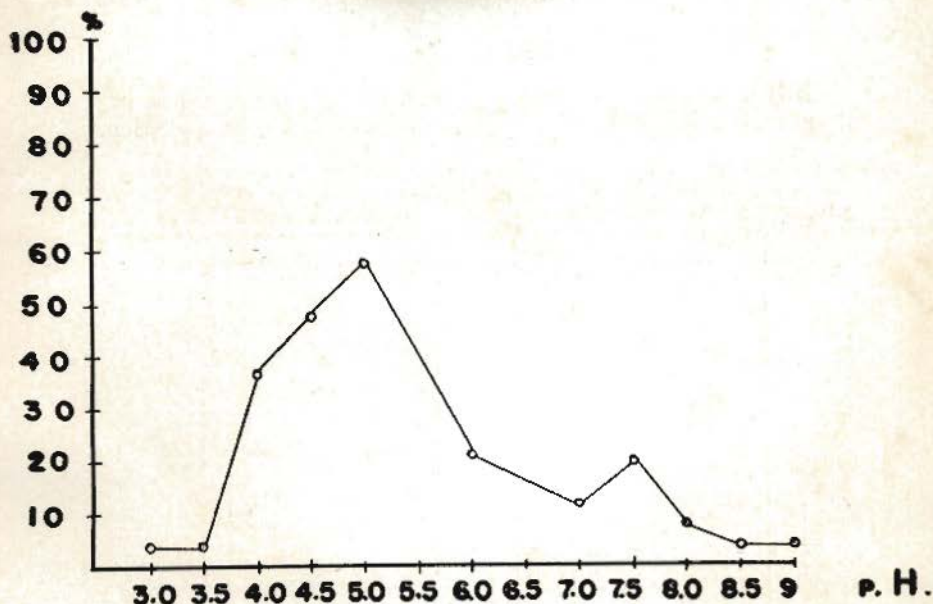
Relación entre el porcentaje de sombrío y el número de almendras.

| Porcentaje de sombrío | Nro. de almendras por mazorca |
|-----------------------|-------------------------------|
| 0                     | 22,8 + 1,8<br>—               |
| 25                    | 27,5 + 1,5<br>—               |
| 50                    | 33,5 + 2,0<br>—               |
| 75                    | 22,3 + 3,1<br>—               |

germinación del grano de polen, de un crecimiento demasiado lento del tubo polínico para realizar el proceso de la fecundación y de la fecundación y de la falta de cuajado en determinadas épocas del año.

Al realizar los experimentos sobre la germinación del polen en medio artificial, se observó que en ellos el proceso de la germinación no tenía lugar cuando poseían un pH de 3.0, 8.0 y 9.0. En cambio, la mejor germinación se realizó en un medio artificial con un pH de 5.0, aunque una apreciable cantidad de granos germinó en aquellos medios de pH 4.0, 6.0 y 7.0 Tales resultados se dan en la Tabla VI la cual nos demuestra, además, que el máximo crecimiento alcanzado por el tubo polínico también se realizó bajo un pH de 5.0.

Como anteriormente se dijo, las oscilaciones más o menos amplias halladas en cuanto al pH del estigma, constituyeron el motivo para iniciar una serie de experimentos mediante el cambio del pH estigmático, tal como se indicó en el Capítulo II. Los resultados de estos experimentos se presentan en la Gráfica N° 3 por medio de una curva. Esta curva, que representa las flores restantes al sexto día, flores cuyos estigmas se trataron con diferentes soluciones para cambiarles el pH y después de lo cual se sometieron a polinizaciones artificiales, nos indica que el proceso de la fecundación no se efectúa prácticamente a pH de 3.0 y 3.5. Una mejor fecundación se obtuvo a pH de 4.0 y 4.5 con un porcentaje que oscila entre 37 y 48. Los mejores resultados se obtuvieron a pH 5.0 alcanzando un 58% de fecundación. Este porcentaje desciende nuevamente a pH de 6.0, 7.0, 8.0 y 9.0.



GRAFICA N° 3.— Influencia del pH del estigma sobre el transcurso de la vida de la flor y el cuajamiento. La curva representa las flores restantes al 6º día en el árbol.

Ordenada = pH.

Abscisa = Porcentaje de flores restantes al 6º día.

Todos estos experimentos se hicieron en la época de poco cuajamiento tanto en las polinizaciones artificiales como en las naturales. Los testigos con polinización artificial mostraron, durante estos días, una fecundación y un cuajamiento bastante bajos, hasta el punto de encontrarse, al sexto día, solamente un 10% de las flores polinizadas. Con el cambio artificial en el pH del estigma a 5.0 se presentó una fecundación excelente más o menos igual a la que se realiza en épocas de buen cuajamiento. (Ver Gráfica N° 1).

Los resultados muestran claramente que uno de los factores que intervienen en el proceso de la fecundación, en épocas de mal cuajamiento, es el cambio que sufre el pH del estigma. Al hacer determinaciones de pH en el estigma de flores recién abiertas y durante esta época, se observaron oscilaciones entre 3.5 y 4.0, es decir, un pH no muy favorable para la germinación del polen y crecimiento del tubo polínico, hecho éste por el cual se explica el bajo cuajamiento que se presenta en algunas épocas del año. Las determinaciones del pH en estigma de flores recién abiertas, pero en la época de buen cuajamiento, oscilaron entre 4.5 y 5.0.

TABLA VI.

Influencia del pH de las placas de agar-agar sobre la germinación del polen y crecimiento del tubo polínico.

| pH | Por ciento de germinación | Longitud en mm. del tubo polínico a las 5 horas |
|----|---------------------------|---|
| 3  | 0                         | —   |
| 4  | 48                        | 0,065 + 0,002<br>—                              |
| 5  | 90                        | 0,115 + 0,032<br>—                              |
| 6  | 83                        | 0,084 + 0,004<br>—                              |
| 7  | 15                        | 0,021 + 0,003<br>—                              |
| 8  | 0                         | —   |
| 9  | 0                         | —   |

TABLA VII.

Relación entre el pH del estigma y el número de almendras.

| pH         | Número de almendras por mazorca. |
|------------|----------------------------------|
| 4,64 (Nat) | 31,0 + 1,0<br>—                  |
| 4,50       | 32,6 + 1,3<br>—                  |
| 5,00       | 35,4 + 0,8<br>—                  |
| 4,00       | 25,8 + 2,1<br>—                  |

La Tabla VII indica la diferencia en cuanto al número de almendras correspondientes a las mazorcas obtenidas en los diferentes ensayos sobre la influencia del pH.

**D. Influencia del estado de brotación de yemas foliares sobre el cuajamiento de las flores, germinación del polen y crecimiento del tubo polínico.**

Observaciones generales durante varios años indican que el cuajamiento, en árboles de cacao, es diferente según el estado de brotación. No existen datos exactos sobre el cuajamiento en árboles con y sin brotación; la impresión general es la de que árboles con brotación presentan mejor cuajamiento.

TABLA VIII

Influencia del estado de brotación del árbol sobre la fecundación.

| Nro. del<br>Fecha y<br>Ensayo. | Estado de<br>brotación | Porcentaje de flores fecundadas al |           |           |           |           |           |
|--------------------------------|------------------------|------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|                                |                        | 1º<br>día                          | 2º<br>día | 3º<br>día | 4º<br>día | 5º<br>día | 6º<br>día |
| - I -<br>IV - 30<br>1952       | Sin                    | 100                                | 76        | 20        | 20        | 16        | 8         |
|                                | Con                    | 100                                | 64        | 52        | 36        | 32        | 16        |
| - II -<br>VI - 15<br>1952      | Sin                    | 100                                | 92        | 84        | 84        | 64        | 40        |
|                                | Con                    | 100                                | 72        | 68        | 52        | 48        | 40        |
| - III -<br>VII - 15<br>1952    | Sin                    | 100                                | 76        | 56        | 52        | 44        | 40        |
|                                | Con                    | 100                                | 56        | 56        | 48        | 48        | 48        |
| - IV -<br>VII - 30<br>1952     | Sin                    | 100                                | 72        | 40        | 32        | 28        | 20        |
|                                | Con                    | 100                                | 80        | 68        | 60        | 48        | 44        |
| - V -<br>VIII - 25<br>1952     | Sin                    | 100                                | 72        | 52        | 40        | 24        | 20        |
|                                | Con                    | 100                                | 88        | 76        | 72        | 60        | 52        |

TABLA IX.

**Germinación del polen y crecimiento del tubo polínico con relación al estado del árbol**

| Estado de brotación | Porcentaje de germinación | Longitud del tubo polínico en mm. |
|---------------------|---------------------------|-----------------------------------|
| Sin                 | 55                        | 0,084 + 0,004<br>—                |
| Con                 | 100                       | 0,178 + 0,036<br>—                |

Para investigar el comportamiento de estos clones en sus diferentes estados de brotación (\*), se hicieron varias fecundaciones artificiales durante distintas épocas del año. Los resultados de estos experimentos se dan en la Tabla VIII, la cual indica que árboles en brotación tienen mejor cuajamiento que los árboles sin brotación. Este efecto se puede apreciar en los 5 diferentes experimentos que muestra la Tabla VIII. Los resultados se presentan separadamente por haberse realizado en épocas distintas.

Una de las causas que determinan esta diferencia entre fecundación y cuajamiento, es el diferente poder germinativo que presentan los granos de polen procedentes de los dos grupos de árboles. En la Tabla IX se ve claramente que el porcentaje de germinación del polen procedente de árboles en brotación es muy alto (100%), a diferencia del porcentaje de germinación alcanzado por el polen procedente de árboles sin brotación.

Al observar el crecimiento del tubo polínico se nota también una diferencia muy grande, tal como lo indica la Tabla IX. A las cinco horas después de la siembra, los pólenes procedentes de árboles en brotación presentaron un tubo polínico cuya longitud es dos veces mayor a la lograda por los granos de polen procedentes de árboles sin brotación.

La Gráfica N° 4 y la Figura N° 9 muestran la diferencia en cuanto al crecimiento del tubo polínico de granos de polen procedentes de árboles con y sin brotación.

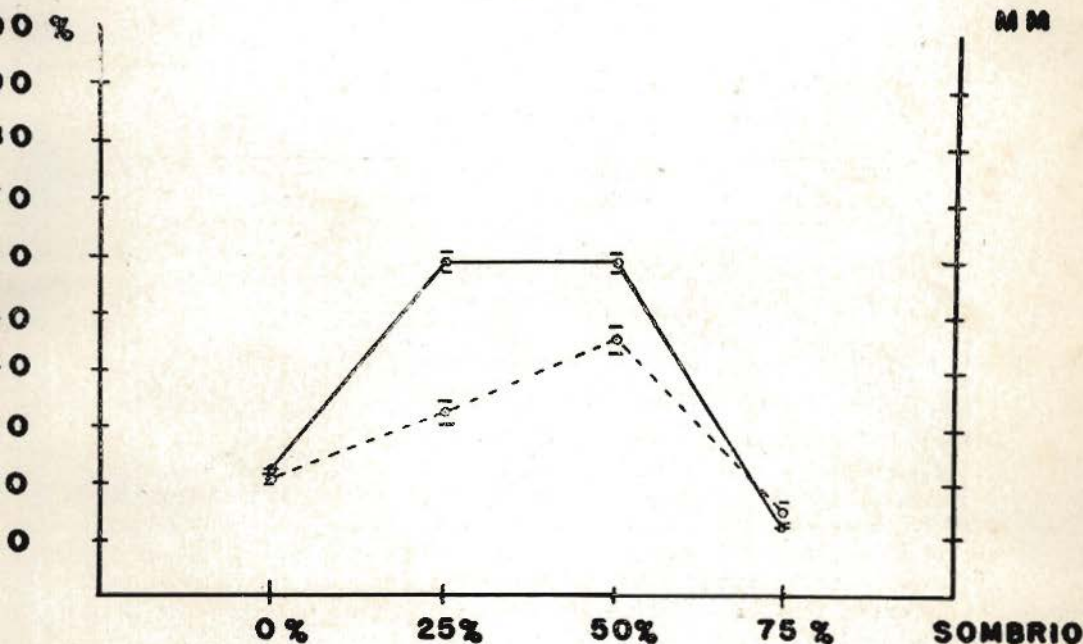
La Tabla X muestra la diferencia en cuanto al número de al-

\* Cuando decimos "estados de brotación" nos referimos a:

CON BROTAION.— Dicese del período durante el cual el árbol presenta abundante germinación de yemas foliares.

SIN BROTAION.— Sinónimo de "estado de reposo".



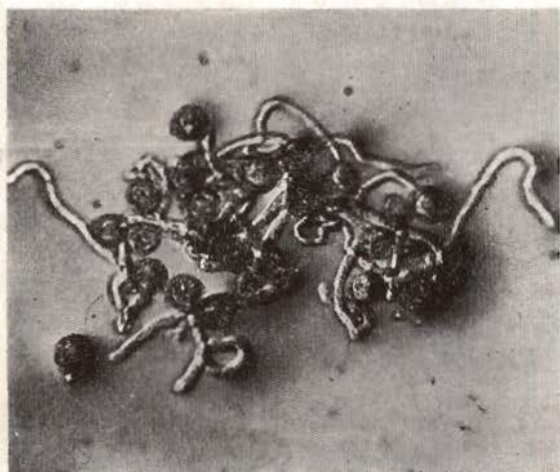


GRAFICA N° 4.— Relación entre la longitud del tubo polínico el sombrío y el cuajamiento.— Convenciones: ——— Longitud del tubo polínico. — — — — Cuajamiento. Abscisa (derecha) Longitud en mm. del tubo polínico. Abscisa (izquierda) Porcentaje de flores restantes al 6º día.

TABLA X  
Relación entre el estado del árbol y el número de almendras.

| Estado de brotación | Número de almendras por mazorca |
|---------------------|---------------------------------|
| Con                 | 29,5 + 1,8<br>—                 |
| Sin                 | 25,7 + 1,3<br>—                 |

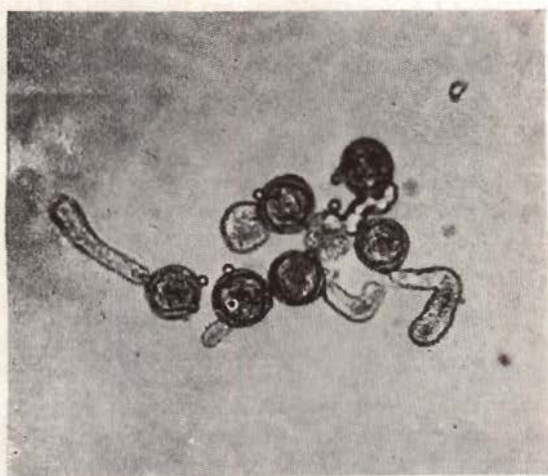
almendras por mazorca de árboles con brotación y en reposo. Se da el promedio de cinco observaciones.



Polen de árboles  
con brotación

A

Polen de árboles  
sin brotación



B

FIGURA N° 9.— Diferencia entre el crecimiento del tubo polínico correspondiente al polen de árboles con y sin brotación.

#### IV. DISCUSION

Al analizar los resultados obtenidos en nuestras investigaciones respecto a la influencia de los diversos factores que actúan sobre el cuajamiento de las flores, germinación del polen, crecimiento del tubo polínico y número de almendras por mazorca, se presentan relaciones íntimas entre el cuajamiento en general y los factores que constituyen la parte fundamental del presente trabajo. Nótase, además, relaciones entre la formación y desarrollo de frutos con mayor o menor número de semillas y el comportamiento del polen, respecto a su germinación, y del tubo polínico, respecto a su crecimiento.

Sobre la base de estas investigaciones se pueden deducir los siguientes puntos:

**Primero.**- El sombrío juega un papel importante en el cuajamiento de los frutos, pues éste varía según los diferentes porcentajes de aquél. El mayor o menor cuajamiento que se realiza de acuerdo con los diferentes sombríos, está, a la vez, relacionado con el mayor o menor crecimiento alcanzado por el tubo polínico, fenómeno muy importante, pues es sabido, que de la rapidez con que éste realice su crecimiento para alcanzar el óvulo, depende el elevado o bajo porcentaje de fecundación. De este crecimiento depende, según las investigaciones de Buenning (3) y Vallecilla (24), también la formación de substancias activas, como por ejemplo la auxina y sus derivados, las cuales actúan sobre la zona de abscisión de la flor, impidiendo la caída prematura de la misma.

Sobre la base de los ensayos realizados se puede aconsejar, hoy en día, un sombrío que oscile entre 25 y 50 por ciento, sombrío ya recomendado por Chamorro (4) en sus ensayos sobre transpiración. Además, bajo estas condiciones de sombrío, los árboles proporcionan mazorcas que contienen un mayor número de almendras, lo cual seguramente, está también relacionado con el mayor crecimiento estimulado del tubo polínico.

**Segundo.**- Las investigaciones respecto al pH nos ponen de presente que existe, al igual que en el sombrío una estrecha relación entre el pH del estigma y del medio artificial con la germinación del polen, crecimiento del tubo polínico y cuajamiento de frutos con mayor o menor número de almendras.

Los experimentos en medios artificiales con diferentes pH nos indican que la zona, dentro de la cual se realiza una germinación normal del polen y un óptimo crecimiento del tubo polínico, es muy estrecha, correspondiéndole valores de pH comprendidos entre 4.0 y 5.0. Los porcentajes de germinación fueron más bajos para el primero de estos valores que para el segundo. Parece que el pH ejerza

una influencia positiva sobre la longitud alcanzada por el tubo polínico.

El hecho de haber encontrado, en épocas de mala fecundación, un cuajamiento excelente mediante el cambio del pH del estigma, nos demuestra que, tanto la falta de formación y desarrollo de frutos, como la pérdida de la compatibilidad durante ciertas épocas del año de los clones N<sup>o</sup> 5 y 6 utilizados en nuestros ensayos— se deben en gran parte, a los cambios en el pH sufridos por el estigma de la flor. Este hecho adquiere mayor afirmación al encontrar un mayor número, de almendras en frutos que se formaron de pistilos cuyos estigmas sufrieron un cambio artificial del pH y sobre los cuales se realizó la polinización artificial. Así se obtuvo en el pH 5.0, que es el mejor para el crecimiento del tubo polínico y la germinación en general, el mayor número de almendras por mazorca, dato que alcanza casi el 80% más que en las mazorcas desarrolladas de flores cuyo estigma tenía un pH de 4.0.

**Tercero.**— En las investigaciones sobre la influencia del estado del árbol los experimentos muestran claramente que árboles en estado de reposo tienen un menor cuajamiento que aquellos con brotación. También se deduce que existe una relación entre el estado del árbol y la germinación del polen y desarrollo del tubo polínico. Así, por ejemplo, los árboles en brotación dan valores dos veces más elevados, tanto en la germinación como en el crecimiento del tubo polínico, que los valores correspondientes a los árboles sin brotación.

**Cuarto.**— La curva sobre el cuajamiento en las diferentes épocas del año con sus dos máximas y mínimas, nos señala dos mínimas expresadas en las cuales no existe prácticamente ningún cuajamiento, ni aún en polinizaciones artificiales. Sobre esta disminución del cuajamiento influyen, naturalmente, muchos factores uno de los cuales es, sin duda, el cambio en el pH del estigma, ya que este cambio no proporciona condiciones favorables para que se realice la germinación del polen y se estimule el crecimiento del tubo polínico. Otro factor que influye en esta disminución, en menor grado, es el estado del árbol de acuerdo con sus períodos de brotación.

## V. RESUMEN

En este estudio el autor se ocupa de buscar relaciones entre el sombrío, el pH del estigma, estado del árbol y períodos estacionales con la germinación del polen, crecimiento del tubo polínico y cuajamiento.

Al principio el autor hace una breve introducción sobre los problemas al respecto, dá una revisión sobre la literatura y describe el

material y los métodos empleados para llevar a cabo sus investigaciones.

Resumiendo brevemente, el autor encuentra los siguientes resultados:

- 1º)—Sobre el cuajamiento, la germinación del polen y crecimiento del tubo polínico, influye, en alto grado, el sombrío. El mejor sombrío para obtener una buena fructificación y conseguir un mayor número de almendras por mazorca, oscila entre 25% y 50%.
- 2º)—Influye sobre la fructificación, germinación del polen, crecimiento del tubo polínico y número de almendras, en alto grado, el pH del estigma en el momento de realizarse la fecundación de acuerdo con las diferentes épocas del año. Cambios desfavorables del bajo cuajamiento en determinadas épocas del año.
- 3º)—El estado del árbol respecto a su brotación influye especialmente en la fructificación, germinación del polen, crecimiento del tubo polínico y número de almendras. La mejor fructificación se presenta en árboles en estado de brotación.
- 4º)—Las disminuciones en la fructificación son causadas por varios factores entre los cuales, el pH del estigma y el estado del árbol, juegan un papel importante.

## VI. BIBLIOGRAFIA

1. **Alvarez, M.** La caída de la flor y falta de cuajado en las plantas frutales. La Hacienda. 35 (10): 374-375. 1940.
2. **Bastidas, R. L.** Arboricultura frutal. 2ª Ed. pp. 94-100. Chile, Galcon. 1941.
3. **Buening, E.** Entwicklungs, und Bewegungsphysiologie der Pflanze. pp. 139, 412, 437. Berlín, Springer. 1948.
4. **Chamorro, R.** Contribución al problema del sombrío en el Cacao. Acta Agronómica. Rev. de la Fac. Nat. de Agronomía. Palmira. 3 (3): 23-45. 1951.
5. **Cheesman, E. E.** Fertilization and Embrogeny in Theobroma cacao. Annals Botany, London. 41: 107-126. 1927.
6. **Dejean, M.** Floración del Cacao. Boletín Informativo del Cacao (Turrialba). 1(13): 2. 1948.

7. **Duhan, K.** Untersuchungen über die Blüheverhältnisse un den Einfluss der Pollensorte auf die Fruchtausbildung bei Äpfeln. Bodenkultur, Viena. 3: 63-82. 1949.
8. **García, C.** Efectos del Acido Para-clorofenoxi-acético en el cuajamiento de las flores de cacao. Notas Agronómicas. Est. Exp. Agr. Palmira. 4 (1-3): 58. 1950.
9. **Gardner, R. V., Brandford, C. F. and Hooker, D. H.** Fundamentals of Fruit Production. pp. 566. Mc Graw-Hill Book Co. Inc. 1939.
10. **Gardner, V. R. y Naundorf, G.** El empleo de las Fitohormonas para aumentar el cuajamiento de frutos en el Cacao. Notas Agronómicas. Est. Exp. Agr. Palmira. 3(3): 175-183. 1950.
11. **Greenwood, M. and Posnette, A. F.** The grow flushes of Cacao. Jour. Hort. Sci. 25(3): 164-174. 1950. (Research en Biol. Abst. 24: 37528. 1950).
12. **Haigh, J.C.** Cacao Polination. Trop. Agr. (Trinidad). 8 (2): 39. 1931.
13. **Kobel, F.** Befruchtung und Fruchtbildung der Obstbaume Mitteilungen der Eidgenossischen Versuchsanstalt für Obst, Wein-u. Gartenbau in Wädenswil. Flugschrift N° 16. 1946.
14. **Llano, E.** El cultivo del Cacao. pp. 28-29, 86. Ministerio de la Economía Nal. Bogotá. 1947.
15. **Naundorf, G.** Las Fitohormonas en Agricultura. pp. 295-306. Barcelona, Salvat. 1951.
16. **Posnete, A. F.** Natural Pollination of Cocoa in the Gold Coast. Jour. Hort. Sci. 25: 155-163. 1950.
17. **Pound, P. J.** Studies of fruitfulness in Cacao. Trop. Agr. (Trinidad). 9: 288-290. 1932.
18. **Riera, F.** Poliploidía, esterilidad e incompatibilidad sexual en Fruticultura. pp. 66, 68. Instituto de Biología Aplicada, Barcelona. Tomo 2º 1945.
19. ....Contribución al estudio de las Fitohormonas.- Anales de Peritos Agrícolas y Superiores de Agricultura, Barcelona. 4: 113-153. 1944
20. **Sancllemente, M.** Problemas de Incompatibilidad en Cacao. (Manuscrito no publicado). Fac. Nal. de Agronomía, Palmira. 1952.

21. **Scharrer, K.** Biochemie der Spurenelement. pp. 220-235.- Berlín, Verlag. 1940.
22. **Straub, J.** Quantitative und qualitative Verschiedenheiten innerhalb von polyploiden Pflanzenreihen. Biol. Zentralbl. **60** (11-12): 559-569. 1940.
23. **Tamaro, D.** Tratado de Fruticultura. pp. 180. Barcelona, Gustavo Gill. 1920.
24. **Vallecilla, C. A.** Germinación del polen de Cacao en relación con substancias nutritivas, activas y menores.- (Manuscrito no publicado). Fac. Nal. de Agronomía, Palmira. 1952.
25. **Voelcker, O. J.** A study of controlled pollination in cacao (*Theobroma cacao*). Nigeria Agr. Dep. Bull. 11:39-44. 1936.
26. **Vos, H. C. A. A.** Germination of Cacao pollen. Chronica Naturae. **104**: 99-101. 1948.
27. **Westh, J.** Experiments of Cacao regeneration. West African Agr. Conf. Papers. 3: 259-263. 1938.