Fenología reproductiva y producción de polen en clones de cacao (*Theobroma cacao* L), tipo Nacional y CCN-51

Andrés Zamora Macías[1], John Cedeño Ortega[1], Luz García Cruzatty[1]*

[1]Facultad de Ingeniería Agronómica, Universidad Técnica de Manabí, Campus La Teodomira, Lodana, Manabí, Ecuador

*Correspondencia: cecilialuz29@hotmail.com

RESUMEN

El cacao es uno de los principales rubros del sector agrícola y agroindustrial en Ecuador. No obstante, la vulnerabilidad del cultivo a diferentes factores climáticos como la precipitación, temperatura o humedad relativa, limitan la su producción de polen, flores e inclusive frutos, y asi mismo pueden alterar la fenología en *T. cacao*, esto impulsa constantemente nuevos estudios relacionados con las diferentes problemáticas del cultivo. El presente estudio se realizó en el campus experimental "Teodomira" perteneciente a la Universidad Técnica de Manabí. Se planteó como objetivos: estudiar la fenología reproductiva y la producción de granos de polen en *T. cacao* tipo Nacional y CCN-51. Se evaluaron los cambios morfológicos de las diferentes fenofases, por medio de observaciones directas, se realizó un registro fotográfico y mediciones de las estructuras florales. Para estimar la producción de granos de polen por flor, se colectaron 10 botones florales por 12 clones (un rameto por clon), durante 12 meses consecutivos. El total de granos de polen por flor se estimó por conteo directo bajo microscopio óptico, utilizando una cámara de Newbahuer. La significancia de la relación entre los factores determinantes de la producción de polen se valoró a través de análisis de regresión y coeficiente de determinación (r2). Se describieron 14 etapas fenológicas, con una duración de 165 días a partir de la presencia de yemas hasta la madurez del fruto. Se obtuvo un promedio de 32611 granos de polen por flor, siendo el clon Trinitario CCN-51 el que produjo más polen (44000) y clon Tipo Nacional L29-H04 (30017) el que generó menos granos de polen durante el periodo evaluado. En los meses correspondientes a la época lluviosa, específicamente: diciembre, enero, febrero y marzo se registró la mayor producción de polen por flor. Se evidenció una correlación positiva moderada entre las variables ambientales evaluadas (temperatura, r=0.33; p=0.028, y precipitación, r=0.43; p=0.0025) y la producción de polen. La información de las diferentes fenofases en *T. cacao* es considerado un aporte importante para planificar cruzamientos controlados. Por otro lado, los genotipos identificados con una

mayor producción de polen por flor, pueden ser utilizados en programas de mejoramiento genético, debido a que la producción de polen es un indicador importante en un proceso de selección de genotipos altamente productivos. La mayor producción de polen está condicionada a mayores temperaturas y precipitación, por lo que coincide con los meses de la época lluviosa.

Palabras clave: fenofase, granos de polen, variables ambientales, morfología.

ABSTRACT

Cocoa is one of the main items of the agricultural and agroindustrial sector in Ecuador. However, the vulnerability of the crop to different climatic factors such as precipitation, temperature or relative humidity, limit the production of pollen, flowers and even fruits, and likewise can alter the phenology in T. cacao, this constantly drives new related studies with the different problems of the crop. The present study was carried out in the experimental campus "Teodomira" belonging to the Technical University of Manabí. The objectives were: to study the reproductive phenology and the production of pollen grains in T. cacao National type and CCN-51. The morphological changes of the different phenofases were evaluated, through direct observations, a photographic record and measurements of the floral structures were made. To estimate the production of pollen grains per flower, 10 flower buds were collected by 12 clones (one rameto per clone), during 12 consecutive months. The total pollen grains per flower was estimated by direct counting under an optical microscope, using a Newbahuer camera. The significance of the relationship between the determinants of pollen production was assessed through regression analysis and coefficient of determination (r2). Fourteen phenological stages were described, with a duration of 165 days from the presence of buds until the fruit maturity. An average of 32611 pollen grains per flower was obtained, being the Trinitario clone CCN-51 (44000) the one that produced more pollen and National Type clone L29-H04 (30017) the one that generated less pollen grains during the period evaluated. In the months corresponding to the rainy season, specifically: December, January, February and March the highest pollen production per flower was registered. There was a moderate positive correlation between the environmental variables evaluated (temperature, r = 0.33, p = 0.028, and precipitation, r

= 0.43, p = 0.0025) and pollen production. The information of the different phenofases in T. cacao is considered an important contribution to plan controlled crosses. On the other hand, the genotypes identified with a higher production of pollen per flower, can be used in breeding programs, because pollen production is an important indicator in a process of selection of highly productive genotypes. The greater production of pollen is conditioned to higher temperatures and precipitation, reason why it coincides with the months of the rainy season.

Key words: fenofase, pollen grains, environmental variables, morphology.

INTRODUCCIÓN

El cacao es uno de los rubros agrícolas más importantes en el Ecuador, su calidad organoléptica le ha dado prestigio en el mercado internacional, aportando con un 54% de la producción mundial de cacao fino de aroma, lo cual lo convierte en el máximo productor (Acebo, 2016). Sin embargo, en las huertas cacaoteras tradicionales, la producción no supera los 300 kg ha^{-1} $año^{-1}$, debido a la influencia de distintos factores, tanto genéticos como ambientales que se relacionan con estos bajos rendimientos (Quiroz & Amores, 2002).

Theobroma cacao L. es una especie cauliflora, las flores nacen a partir de cojinetes florales y el tiempo en que emerge un botón floral hasta su apertura es de aproximadamente 30 días, este proceso está influenciado directamente por factores ambientales como la temperatura, precipitación y humedad relativa principalmente (Pinargote, 2015). La flor de *T. cacao* inicia su apertura en horas de la tarde, este proceso inicia con el movimiento lento de los sépalos, que dan paso, a la separación de los mismos, y en la noche termina su apertura. En general, las anteras ya están abiertas en la mañana y los granos de polen listos para el proceso de fecundación (Pinargote, 2015).

Por otra parte, los procesos de germinación y formación de granos de polen, también se ven afectados por variables ambientales: fotoperiodo, irradiación, precipitación, temperatura, humedad relativa, entre otros (García, 2014), estas variaciones climáticas alteran la fenología e inclusive interfieren en la producción de flores y granos de polen (Adjaloo & Oduro, 2013).

La fenología floral, proporciona información significativa, para el conocimiento de los atributos funcionales de crecimiento y de reproducción en *T. cacao* (Adjaloo & Oduro, 2013).Conocer la producción de polen, es fundamental para el proceso de selección de genotipos masculinos que se usarán como parentales en cruzamientos asistidos (polinización manual). Con estos antecedentes, se planteó como objetivos: estudiar la fenología reproductiva y producción de polen en clones de *T. cacao* tipo Nacional y CCN-51. Estos conocimientos son primordiales en el establecimiento de planes de conservación y mejoramiento genético de la especie, en especial, en genotipos Nacionales, pues escasa la información en Ecuador, lo cual dificulta el inicio de estudios para tales fines. La literatura científica actual no registra trabajos referentes a la producción de polen de *T. cacao* y la fenología reproductiva, a pesar de la importancia socioeconómica de la especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

El presente trabajo se realizó en el ensayo multiclonal de *T. cacao,* ubicado la Finca Experimental "La Teodomira", propiedad de la Facultad de Ingeniería Agronómica, Universidad Técnica de Manabí, localizada geográficamente a 01° 20' 25'' latitud Sur, y 80° 23' 14''longuitud Oeste, a una altitud de 60 msnm. Según la clasificación de Holdridge (1947) esta área corresponde a la formación ecológica de un bosque seco–tropical. Las características climáticas durante los meses de estudio se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Promedio de las principales variables ambientales de la hacienda experimental "La Teodomira" correspondiente a los meses del 2017* y 2018.

Meses	Precipitación (mm)	Temperatura (°C)	Humedad R (%)
Enero	45.4	26.7	77.00
Febrero	284.7	26.4	84.00
Marzo	180.3	26.9	81.50
Abril	180.7	26.9	81.50
Mayo	33.4	26.5	79.00
Junio	8.0	25.3	78.50
Julio	0.7	21.1	80.50
Agosto	0.0	25.8	77.50
Septiembre	0.0	26.4	73.00
Octubre	0.1	26.5	75.00
Noviembre*	0.0	26.6	67.00
Diciembre*	22.0	26.2	76.00

Fuente: estación meteorológica Finca Experimental "La Teodomira"

Material vegetal

Se evaluaron 11 clones de *T. cacao* Tipo Nacional, originarios de la colección CCAT (Centro de cacao fino y de aroma Tenguel) y un trinitario. Los clones están codificados de la siguiente manera: L11-H19, L21-H38, L21-H43, L26-H64, L29-H04, L46-H57, L46-H75, L46-H88, ETT-103, L18-H58, L49-H98 y CCN-51 (trinitario) (Sánchez, 2015).

Patrón fenológico

Se realizaron observaciones y registros de los cambios morfológicos en las diferentes etapas fenológicas, desde la aparición de la yema inicial hasta el fruto en madurez fisiológica. Se identificaron y etiquetaron 10 yemas florales para cada clon y se hizo un registro fotográfico de las diferentes etapas de desarrollo de las flores. Los cambios progresivos desde la yema inicial hasta fruto en madurez fisiológica fueron resumidos en las siguientes 14 etapas de desarrollo:

Fase A-B (yema inicial), Fase C (yema hinchada), Fase D-E (elongación inicial del pedicelo), Fase F (cambio de color del botón floral), Fase G (elongación máxima del pedicelo), Fase H (madurez del botón floral), Fase I-J (inicio de preantesis), Fase K (antesis), Fase L (formación de fruto), Fase M (fruto en crecimiento rápido), Fase N (inicio del llenado de granos), Fase O (terminación del llenado de granos), Fase P (fruto en madurez fisiológica).

Producción de polen

El total de granos de polen por flor se estimó por conteo directo utilizando la metodología de García et al (2015), resumida a continuación: se colectaron 10 botones florales al azar a 1.50 m de altura en los 12 clones (un rameto por clon), durante 12 meses seguidos, los cuales se conservaron en FAA (formaldehido, alcohol, ácido acético) a 4°C hasta su utilización. Las cinco anteras fueron colocadas en tubos de ensayo con una suspensión de 200 µL (agua destilada (100 µL), azul de metilo (75 µL), glicerina (25 µL), para macerarlascon una varilla de vidrio, luego se extrajo 1 µL de la suspensión que se colocó sobre las ranuras de una cámara de Neubauer (Marienfeld, modelo 0610130) para el conteo de los granos de polen usando un microscopio óptico. Por último, el número de granos de polen por anteras (GPA) se determinó utilizando la fórmula 1, y este valor se multiplicó por el total de anteras de cada flor.

$$\text{GPA} = \frac{\text{Granos de polen en suspensión (volumen total de la suspensión)}}{\text{Volumen de la suspensión usada para el conteo}} \quad [1]$$

Diseño experimental y análisis estadístico

Para el análisis de los componentes determinantes, los niveles del factor clon y el factor mes fueron ordenados de manera factorial y distribuidos en un diseño completamente al azar con 4 repeticiones por flor (10 flores por rameto). La significancia de los factores y su interacción se estableció a través del nivel de probabilidad derivados del análisis de varianza. Para contrastar las medias se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskall Wallis ($p \leq 0.01$) previo al análisis de normalidad y homocedasticidad. La significancia de la relación entre los factores determinantes de la producción de polen se valoró a través de análisis de regresión y coeficiente de determinación (r^2) y el valor crítico de Pearson a un nivel de 0,01. Se realizó un análisis de regresión entre el número de granos de polen por flor con respecto a las variables climáticas temperatura y precipitación. Para estos análisis se utilizó el software Statistica 7.

RESULTADOS

***Fenología y morfología floral en Theobroma cacao* L.**

Etapa A-B: *yema inicial:* esta etapa inicia cuando en los cojinetes florales se originan yemas reproductivas, que cuando son visibles alcanzan un diámetro aproximado de 0.98 (±0,4) mm. Presentan una coloración verde claro, y pequeños tricomas; en esta fase se observa una aparente inactividad temporal del crecimiento de la yema (de tres a cuatro días) (Fig. 1A y 2A). Esta fase termina con la diferenciación de un botón floral.

Etapa C: *yema hinchada:* esta etapa inicia con el hinchamiento de las yemas, las cuales llegan a alcanzar un diámetro de 1.10 (±0,5) a 1.22 (±0.4) mm, adquiriendo una coloración verde claro. Esta fase dura aproximadamente entre 24 y 72 horas, y esta se logra diferenciar con una elongación en la parte basal del botón floral, dando origen al pedicelo (Fig. 1C).

Etapa D-E: *elongación del pedicelo:* esta etapa empieza con un alargamiento prolongado del pedicelo, llegando a alcanzar una longitud de 1.92 (±0.4) mm

aproximadamente (Fig. 1D y 1E). Este estado empieza nueve días después de la aparición de yemas reproductivas. La gran variabilidad genética de *T. cacao* permite la abundante gama de colores de las estructuras florales, y está influenciado por el genotipo.

Etapa F: *cambio de color del botón floral:* esta etapa inicia a los 13 días después de la emergencia de yemas, pudiéndose observar unas líneas marcando los sépalos, estos toman un color verde oscuro, coloración que varía según la edad fisiológica y el genotipo. Su diámetro va desde 2.57 (±0.1) a 2.87 (±0.4) mm y de 4.51 (±0.9) a 4.64 (±0.7) mm de longitud. El pedicelo adquiere un color púrpura pálido con presencia de pequeños tricomas (Fig. 1F).

Etapa G: *elongación máxima del pedicelo:* esta etapa se origina con una rápida elongación del pedicelo, la misma que puede alcanzar una longitud aproximada de 15.70 (±0.4) mm, empezando normalmente a los 17 días después de las primeras emergencias de yemas, y su coloración puede ser de marrón claro a violeta oscuro y de verde claro a verde oscuro (Fig. 1G). Cabe destacar, que en esta etapa se detiene el crecimiento del pedicelo, el mismo que después empieza a lignificarse.

Etapa H: *madurez del botón floral:* esta etapa empieza aproximadamente a los 22 días luego de la presencia de la yema inicial. Ocurre una hinchazón máxima en el botón floral, llegando a medir entre 4.65 (±0.3) a 4.70 (±0.4) mm de diámetro, presenta un amarillamiento o aclareo en los sépalos, lo cual es un indicador de la madurez (Fig. 1H).

Etapa I-J: *inicio de preantesis:* esta etapa se origina a los 25 días después de la presencia de la yema inicial, inicia con una separación lenta entre los sépalos. Cuando el botón floral empieza abrirse, las aberturas entre los sépalos permiten observar a los pétalos en el interior del botón floral, el mismo que alcanza una medida aproximada de 4.90 (±0.2) mm de diámetro (Fig. 1I). Este proceso ocurre en las horas comprendidas de 18:00 a 06:00. La preantesis termina en las primeras horas de la mañana, cuando los sépalos se encuentran totalmente desplegados en forma horizontal (Fig. 1J).

Etapa K: antesis: esta etapa empieza a las 24h después de la preantesis. Sus estigmas se encuentran fisiológicamente receptivos y los granos de polen maduros. Los sépalos se abren tomando una curvatura hacia el pedicelo, a su vez, las anteras se encuentran

recubiertas por una lígula y los estaminoides comienzan a separar del estilo y estigma (Fig. 1K). En esta fase el androceo y gineceos están listos para el proceso de reproducción.

Etapa L: *formación de fruto inicial:* en esta etapa se observa una leve hinchazón en el ovario, el estilo se encuentra totalmente deshidratado, por lo cual toma una coloración marrón. Los sépalos y pétalos se contraen hacia atrás, en la mayoría de los casos tienden a caerse; así mismo los estaminoides se deshidratan y cambian de color (Fig. 1L). El fruto inicial se observa aproximadamente a los 30 (±1) días desde la presencia de yema inicial.

Etapa M: *fruto en crecimiento***:** se observa claramente la presencia de una baya (fruto) sostenida por un pedúnculo fibroso y ligeramente flexible, esta baya presenta cinco surcos bien marcados, y la coloración va desde un verde pálido a un verde intenso y brilloso. En esta etapa el fruto alcanza un diámetro de 10.63 (±1.1) mm y una longitud de 34.97 (±2.3) mm, se puede apreciar que en esta edad, el fruto se prepara para el llenado de granos (Fig. 1M). Cabe destacar, que los diferentes tonos de color, ya sea de flores o frutos, son resultantes de la alta variabilidad genética de la especie y esta puede variar en función al genotipo.

Etapa N: inicio del llenado de granos: en esta etapa se puede observar que existe un aumento considerable en el diámetro del fruto, ya que en esta edad fisiológica empieza el llenado de granos, los surcos empiezan a abrirse como consecuencia de la ganancia de diámetro, a partir del crecimiento de las semillas en el interior del ovario, el fruto adopta un color verde oscuro con tonalidades brillosas (Fig. 1N).

Etapa O: terminación del llenado de granos: en esta edad ocurre un engrosamiento en la parte media del fruto, alcanzando un diámetro aproximado de 26.98±2.1 mm, con una longitud de 68.63±2.5 mm. Los rasgos rugosos cambian a lisos y se puede apreciar una pérdida del color, apareciendo tonos blancos entre los surcos, dando inicio al proceso de maduración (Fig. 1O).

Etapa P: fruto en madurez fisiológica: en esta edad, el fruto alcanza un diámetro de 96.61 (±2.6) mm y una longitud de 178 (±0.8) mm, tomando una apariencia típica de la forma angoleta y una coloración amarilla intensa, propia de la maduración fisiológica del fruto en los genotipos Nacionales (Fig. 1P).

***Figura 1. Patrón fenológico de la floración en Theobroma cacao* L.**

(A-B= yema en inicial, C= yema hinchada, D-E= elongación inicial del pedicelo, F= cambio de color del botón floral, G= elongación máxima del pedicelo, H= maduración del botón floral I-J= inicio de preantesis, K= Antesis, L= formación de fruto, M= fruto en crecimiento rápido, N= inicio del llenado de granos, O= terminación del llenado de granos, P= fruto en madurez fisiológica).

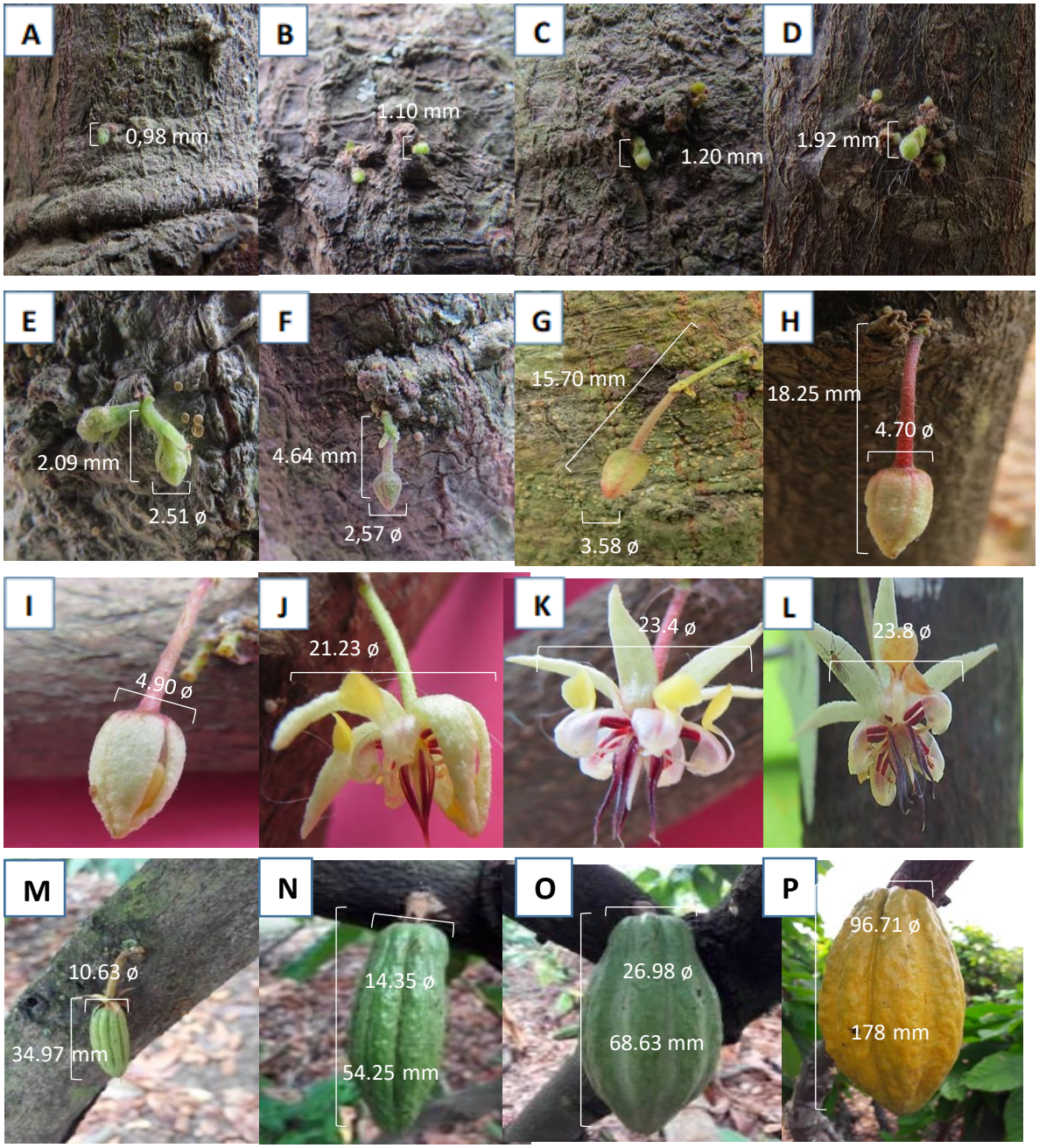


Tabla 2. Duración de las etapas fenológicas y medidas de las estructuras florales en clones de *Theobroma cacao* L.

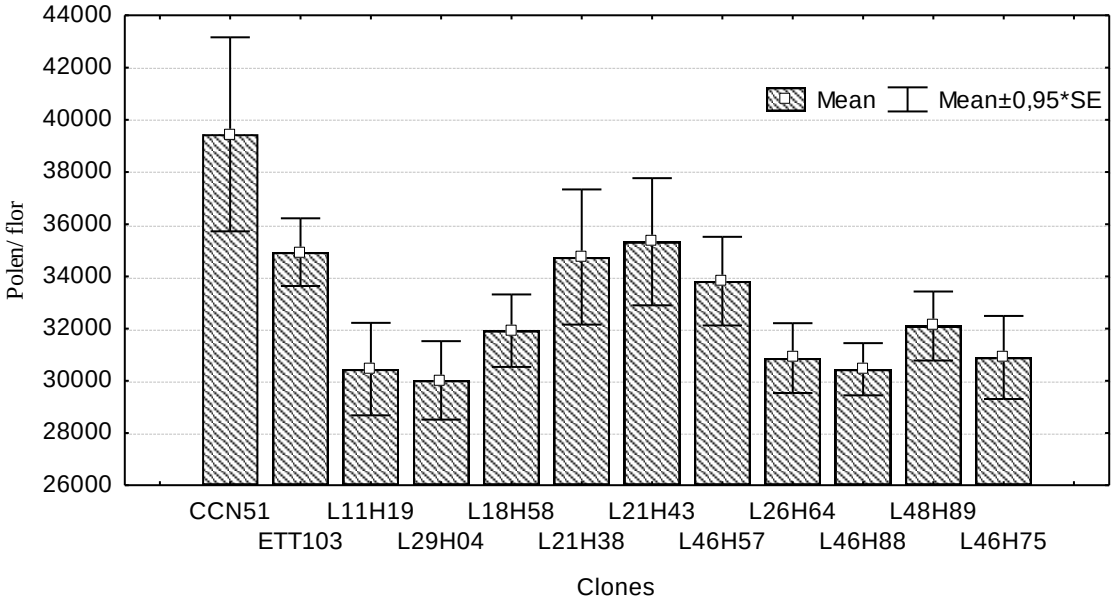
Etapas	**A-B**	**C**	**D-E**	**F**	**G**	**H**	**I-J**	**K**	**L**	**M**	**N**	**O**	**P**
Días	3-4	2-3	9	13	17	22	25	27	30	31	92	125	165
Diámetro (mm)	0.98	1.20	2.09	2.57	3.58	4.70	4.90	23.40	23.80	10.63	14.35	26.98	96.61
Longitud (mm)	0.00	0.00	1.92	4.64	15.70	18.25	18.30	18.37	18.43	34.97	54.25	69.63	178

Las medidas corresponden a los promedios de 11 genotipos de tipo Nacional.

***Producción de polen en clones de Theobroma cacao* L.**

Los clones de cacao producen aproximadamente 32611 granos de polen por flor. Se comprobó diferencia estadística entre clones, siendo el CCN-51 el genotipo que produce una mayor cantidad de granos de polen (44000), seguido por L21-H43 (35329). Por el contrario, el clon L29-H04 produce la menor cantidad de polen por flor (30017) similar al clon L46-H88 (30444 granos de polen) (Fig. 2).

Figura 2



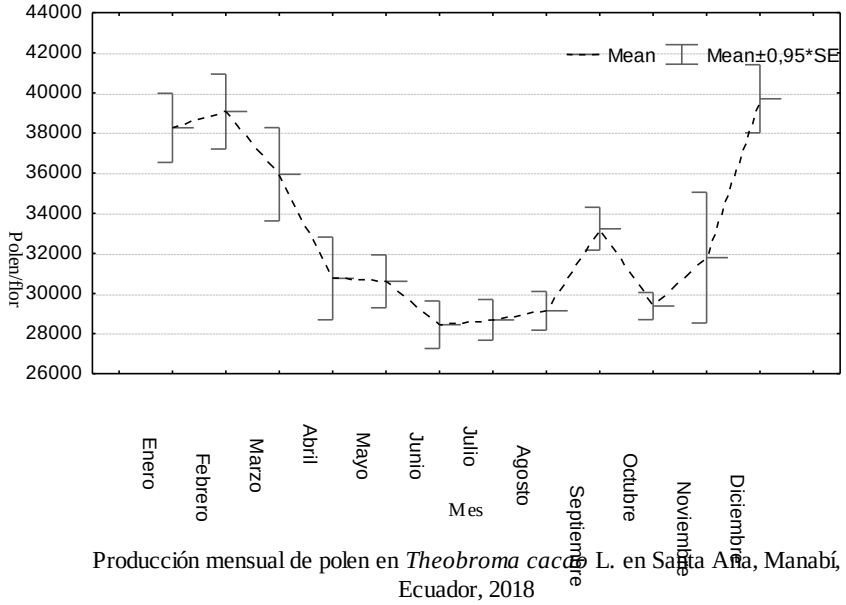
Polen/ flor: KW-H(11;144) = 21,9412; p = 0,0248; F(11;132) = 1,8898; p = 0,0460

Granos de polen por flor en 12 clones de *Theobroma cacao* L.

Pollen grains per flower in 12 clones of *Theobroma cacao* L.

Se evaluó la producción mensual de polen en *T. cacao*, durante 1 año, siendo mayor en los meses de diciembre, enero, febrero y marzo, que corresponden a la época lluviosa. En el mes de diciembre, se produjo la mayor producción de polen (40606), mientras los meses de menor producción de polen fueron junio y julio (28440, 28673 respectivamente) que corresponden a la época seca (Fig. 3).

Figura 3

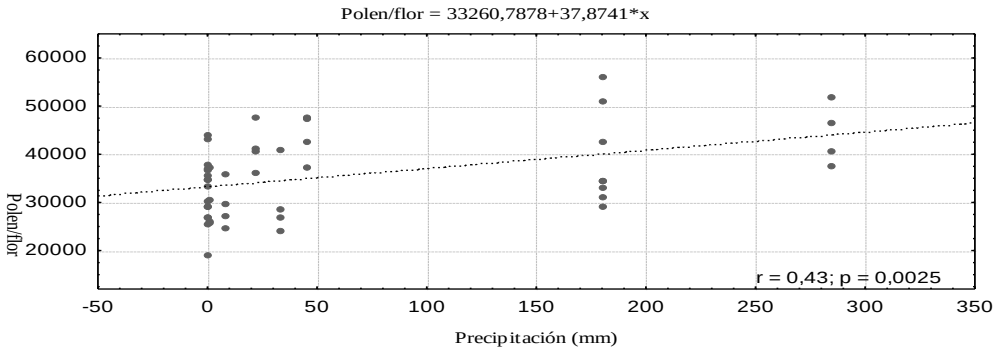


Producción mensual de polen en *Theobroma cacao* L. en Santa Ana, Manabí, Ecuador, 2018

Monthly production of pollen in *Theobroma cacao* L. in Santa Ana, Manabí, Ecuador, 2018

Hubo una buena correlación entre la precipitación mensual y la producción de polen por flor (r=0.43), los resultados demuestran una mayor producción de granos de polen por flor en los meses donde se registraron las mayores precipitaciones. Así mismo, en los meses donde no existió registro de precipitaciones, la producción de polen fue menor (Fig. 4).

Figura 4

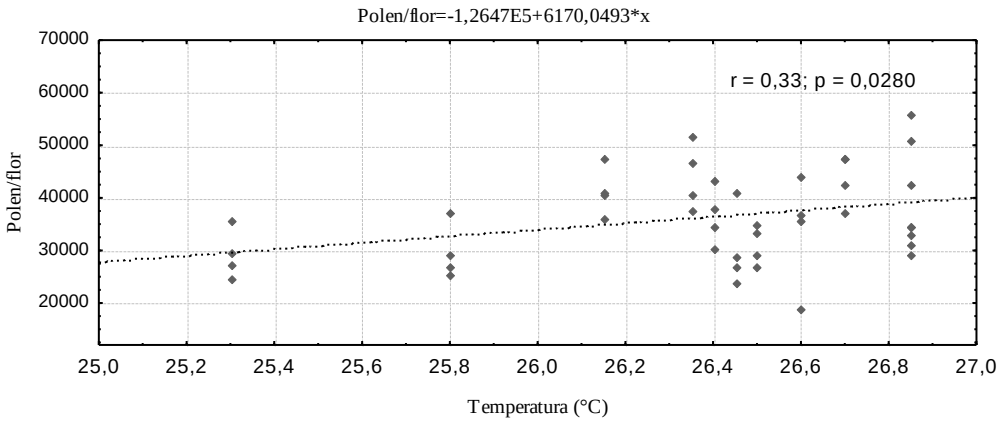


Correlación entre la producción mensual de polen en *Theobroma cacao* L. y la precipitación (%)

Correlation between monthly pollen production in *Theobroma cacao* L. and precipitation (%)

La temperatura condiciona la producción de polen. Existe una correlación directa positiva entre las variables de temperatura promedio mensual y producción de polen por flor (r=0.33), a mayor temperatura se registró una mayor producción de polen (Fig. 5).

Figura 5



Correlación entre la producción mensual de polen en *Theobroma cacao* L. y la temperatura

Correlation between the monthly production of pollen in *Theobroma cacao* L. and the temperature

DISCUSIÓN

Fenología y morfología floral en Theobroma cacao L.

La fenología reproductiva en *T. cacao* está marcada por diferentes cambios morfológicos que varían con respecto a las edades fisiológicas de las yemas, flores y frutos. Otros autores que han estudiado la fenología reproductiva en especies siempre verdes, han llegado a subdividir la etapa de formación de yemas en: yema floral antes de meiosis, yema floral en meiosis, yema floral con granos de polen y yema floral al fin del desarrollo (García, 1992). A diferencia de la presente descripción realizada en este trabajo, donde se valoraron únicamente los cambios morfológicos progresivos desde la formación de yemas hasta la madurez de fruto. Por otra parte, se detalló como primeras etapas fenológicas a la aparición de yemas reproductivas e hinchamiento de las mismas, las mismas que mediante a procesos celulares dan origen a otras estructuras florales. Cabe destacar, que en el presente trabajo las yemas reproductivas en *T. cacao*, sufrieron un proceso de diferenciación, que dio lugar a la aparición de flores. No obstante, se deduce que las etapas fenológicas descritas por García (1992), en cuanto a yema floral

antes de meiosis y yema floral en meiosis corresponden a las etapas A-B (yema inicial) y C (yema hinchada) descritas en este documento.

El pedicelo es una estructura muy importante para el soporte de la flor, la longitud y el diámetro de este varía según el estado de desarrollo de la flor. En este estudio se determinó que puede alcanzar una longitud de 18.43 (±1.3) mm, similar a lo reportado por Ayllón, (2000) pedicelos con una longitud en un rango de 20 a 30 mm en genotipos de *T. cacao* forasteros y criollos. Autores mencionan que los cambios observados en las diferentes etapas fenológicas en *T. cacao,* pueden diferir entre genotipos, con lo que respecta al tamaño de estructuras florales y la pigmentación de las mismas, lo que se atribuye a la gran variabilidad genética de *T. cacao* y así mismo a las condiciones agroclimáticas de las diferentes regiones donde se evaluó esta especie (Adjaloo, Oduro, & Banful, 2012; Ayllón, 2000). Por otro lado, los botones florales formados a partir de la diferenciación de yemas se formaron a los 13 (±1.0) días, seguido de la preantesis a los 25 (±1.0) días y antesis a los 27 (±1.0) días. Lo que difiere con los resultados reportados por Pinargote (2015), quien afirma que la apertura floral en *T. cacao* es a los 30 días después de la aparición de las primeras yemas. Se puede atribuir esta variación en los días para la antesis a la alta variabilidad genética de *T. cacao*, lo cual permite que los diferentes grupos genéticos de la especie tengan diferentes comportamientos (Adjaloo et al., 2012). Asi mismo, estudios realizados en “Tingo María”, Perú, detallan que la apertura de los botones florales ocurre a partir de los 30 días desde la iniciación de yema (Ayllón, 2000; Ríos, 2015). La apertura de los sépalos es considerado un indicador del estado de preantesis (Soria, 1964), esta etapa fenológica generalmente en especie frutales ocurre entre los 10 y 25 días en condiciones agroclimáticas normales. La permanencia para que ocurra esta etapa fenológica puede estar atribuida a las variaciones ambientales y estado nutricional de la planta (Adjaloo et al., 2012), aunque existen varios autores que atribuyen la abscisión de flores con la incompatibilidad genética o esporofítica de la especie (Knight & Rogers, 1955; Lanaud et al., 2017; Rea & Nasrallah, 2008).

La formación de fruto previo a una polinización efectiva, ocurrió a las 48 horas, lo cual se evidencia por la hinchazón del ovario debido al crecimiento de los óvulos. Esto concuerda con Knight & Rogers (1955), quienes mencionan que en *T. cacao* transcurridas las 48 horas después de la polinización, empieza el proceso de formación de fruto. Por lo contrario, si esto no ocurre, podría relacionarse con la incompatibilidad

gametofítica de *T. cacao*. Por otra parte, la madurez del fruto en este estudio de evidenció a los 165±1 días donde ocurre la pigmentación típica de madurez fisiológica. No obstante, existen reportes en *T. cacao* sobre esta etapa fenológica, los cuales indican que la formación de fruto inicial puede ocurrir a los 40 días a partir de la formación de yema, llegando al punto de madurez fisiológica a los 150 días (Veenman & Zonen, 1969). Existen muchos componentes que intervienen en la variación de los días para la madurez en *T. cacao*, donde se pueden mencionar principalmente la alta variabilidad genética de la especie, lo cual crea muchos grupos genéticos con distintas variaciones atribuibles a factores de interacción ambiental (Cilas, Machado, & Motamayor, 2010). Asi mismo, para el proceso de formación de fruto es necesario que den todas las condiciones favorables para el proceso de polinización y fecundación de las flores, ya que de esto va a depender el número de frutos llevados hasta su madurez fisiológica (Bawa et al., 2001; Mena & García, 2014).

***Producción de polen en Theobroma cacao* L.**

Según el presente estudio, *T. cacao* produce entre 26000 y 44000 granos de polen por flor, cantidad similar a *Salmalia malabárica* Sch. & Endl especie entomófila de la familia Malvaceae que produce aproximadamente 42000 granos de polen por flor (Reddi & Reddi, 2009). Cantidad muy superior a la reportada para la especie de la misma familia *Malva hispanica* (6586 granos de polen por flor) (Hidalgo, Recio, & Cabezudo, 1996). Esta variación es normal en especies vegetales, inclusive en especies pertenecientes a la misma familia, pueden ocurrir casos de variaciones extremas con lo que respecta a variables de producción (Fernández, Bellet, & García, 2008). Por otra parte, las variaciones climáticas juegan un rol importante en la producción de polen en *T. cacao*, y estas se encuentran directamente relacionadas con la variación de los estados fenológicos y funciones reproductivas de la especie (Landa, 2015; Torres, 2012; Vargas & Rivera, 2004; Vera et al., 2016).

Los resultados de esta investigación determinaron que la producción mensual de granos de polen fue mayor en los meses donde hubo mayor temperatura, considerando que la producción de flores por árbol y la producción de granos de polen por flor están directamente relacionados con la producción de frutos, coincide con un estudio realizado en Ghana, donde se comprobó una fuerte correlación (r=0.63) entre la temperatura y la producción en *T. cacao*(Adjaloo et al., 2012).

La producción de polen en *T. cacao* es influenciada en los meses donde se registró la mayor precipitación (febrero; 285 mm, marzo; 180 mm, abril; 180 mm). Según Torres (2012), un adecuado suministro de agua es fundamental para los procesos metabólicos en *T. cacao,* donde la precipitación es el factor más involucrado con otras variables climáticas durante todo el año y afectar o favorecer los procesos reproductivos y productivos de la especie (Torres, 2012; Vargas & Rivera, 2004). Generalmente los procesos reproductivos de especies vegetales están formados por una serie estructuras especializadas que cumplen funciones específicas (Shaw et al., 1988; Pacini, 1997). El filamento cumple un rol importante en los procesos de transporte de agua y nutrientes a la antera (Shaw et al., 1988), así como también el paso de proteínas vitales que protegen las paredes del polen en los procesos de deshidratación (Schwacke, Grallath, Kevin, & Stransky, 1999). La disponibilidad de agua en el suelo permite la eficiencia de la producción de granos de polen viables, ayudando a la dispersión de los mismos (Shaw et al., 1988; Stanley & Linskens, 1974).

CONCLUSIONES

El desarrollo de *T. cacao* tipo nacional desde la yema inicial hasta el fruto maduro ocurre en 165 días aproximadamente. El conocimiento de las diferentes etapas de desarrollo y su duración es esencial para realizar estudios sobre biología reproductiva y para planificar cruzamientos controlados entre genotipos seleccionados.

El clon trinitario CCN51 produce más polen que los genotipos nacionales evaluados, sin embargo los clones de *T. cacao* Tipo Nacional producen cantidades similares de polen. Estos genotipos podrían ser utilizados en programas de mejoramiento genético, debido a que la producción de polen es un indicador importante en un proceso de selección de genotipos promisorios.

En los meses correspondientes a la época lluviosa se registró una mayor producción de polen, justamente por la mayor temperatura y precipitación que condicionan la producción de polen.

BIBLIOGRAFÍA

Acebo, M. (2016). Industria de Cacao. *Escuela Superior Politécnica del Lítoral (ESPAE)*, *1*, 1-42.

Adjaloo, M. K., & Oduro, W. (2013). Insect assemblage and the pollination system in cocoa ecosystems. *Journal of Applied Biosciences*, *62*(1975), 4582–4594. https://doi.org/10.4314/jab.v62i0.86070

Adjaloo, M. K., Oduro, W., & Banful, B. K. (2012). Fenología floral de Alto Amazonas Cacao Árboles : Implicaciones para la reproducción y la productividad de cacao. *International Scholarly Research Network*, 1-8.

Ayllón, R. (2000). *Estudio fenológico del botón floral y de la mazorca en siete clones de cacao (Theobroma cacao L.) en Tingo María*.

Bassani, M., Pacini, E., & Franchi, G. G. (1994). Humidity stress responses in pollen of anemophilous and entomophilous species. *Grana*, *33*(3), 146-150. https://doi.org/10.1080/00173139409428991

Bawa, K. S., Ashton, P. S., Primack, R. B., Terborgh, J., Mohd., Ç., Nor, F. S. P. N., & Hadley, M. (2001). Reproductive Ecology Of Tropical Forest Plants.

Cilas, C., Machado, R., & Motamayor, J. C. (2010). Relations between several traits linked to sexual plant reproduction in Theobroma cacao L.: Number of ovules per ovary, number of seeds per pod, and seed weight. *Tree Genetics and Genomes*, *6*(2), 219-226. https://doi.org/10.1007/s11295-009-0242-9

Enriquez, A. (1985). *Curso sobre el cultivo del Cacao* (Centro Agr). Turrialba, Costa Rica.

Fernández, I., Bellet, M., & García, E. (2008). Las plantas y las alergias. *Real Jardín Botánico*, 1-8.

Garcia, L. C. (2014). Biología de la reproducción de Nothofagus alpina (P . et E .) Oerts .

García, L., Rivero, M., & Droppelmann, F. (2015). Descripción morfológica y viabilidad del polen de Nothofagus nervosa (Nothofagaceae). *Bosque (Valdivia)*, *36*(3), 487-496. https://doi.org/10.4067/S0717-92002015000300015

Hidalgo, M. I., Recio, M., & Cabezudo, B. (1996). Producción De Polen En Un Matorral Del Sur De España. *Acta Botanica Malacitana*, *21*, 49-55.

Holdridge, L. (1947). Determination of World Plant Formations From Simple Climatic Data. *In the Laboratory*, 1-2.

Knight, R., & Rogers, H. H. (1955). Incompatibility in Theobroma cacao. *Heredity*, *9*(1), 69-77. https://doi.org/10.1038/hdy.1955.3

Lanaud, C., Fouet, O., Legavre, T., Lopes, U., Sounigo, O., Eyango, M. C., … Clément, D. (2017). Deciphering the Theobroma cacao self-incompatibility system: From genomics to diagnostic markers for self-compatibility. *Journal of Experimental Botany*, *68*(17), 4775-4790. https://doi.org/10.1093/jxb/erx293

Landa, C. (2015). *El ambiente y su efecto en el comportamiento de la planta de cacao*. Atlántida, Honduras. Recuperado a partir de http://www.latribuna.hn/2017/07/01/ambiente-efecto-la-planta-cacao/

Ma, H. (2005). Molecular Genetic Analyses of Microsporogenesis and Microgametogenesis in Flowering Plants. *Annual Review of Plant Biology*, *56*(1), 393-434. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141717

Mena, M. &, & García, L. (2014). Eficiencia reproductiva y receptividad estigmática en clones de cacao (Theobroma cacao L .) en la zona central del Litoral Reproductive efficiency and stigmatic receptivity in cocoa clones (Theobroma cacao L .) in the central area of the Ecuadorian coas. *MAGAP*, *1*, 1-10.

Pinargote, M. (2015). *Comportamiento productivo de cacao (Theobroma cacao L.) CCN-51 ante diferentes formulaciones de fertilización.*

Quiroz, J., & Amores, F. (2002). *Rehabilitación de plantaciones tradicionales de cacao en Ecuador* (No. 63). *Manejo Integrado de Plagas* (Vol. 63). Costa Rica.

Rea, A. C., & Nasrallah, J. B. (2008). Self-incompatibility systems: Barriers to self-fertilization in flowering plants. *International Journal of Developmental Biology*, *52*(5-6), 627-636. https://doi.org/10.1387/ijdb.072537ar

Reddi, S., & Reddi, N. S. (2009). La producción de polen en algunas angiospermas anemófilas. *Grana*, *25*, 55-61.

Ríos, D. (2015). *Descripción de la diversidad entomológica asociada a la flor de Theobroma cacao L*. Pontifica Universidad Católica del Ecuador.

Sánchez, F. (2015). Potencial productivo de clones experimentales de cacao tipo "Nacional". *La Técnica*, *14*, 24-29.

Schwacke, R., Grallath, S., Kevin, E., & Stransky, E. (1999). LeProT1, a trsnsporter for proline, Glycine Betaine, and V-Amino Butyric Acid in Tomato Pollen. *The Plant Cell*, *11*, 377-391.

Shaw, G., Sykes, M., Humble, R. W., Mackenzie, G., marsden, D., & Pehlivan, E. (1988). The use of modified sporopollenin from Lycopodium clavatum as a novel ion- or ligand-exchange medium. *Reactive Polymers, Ion Exchangers, Sorbents*, *9*(2), 211-217. https://doi.org/10.1016/0167-6989(88)90034-7

Torres, L. A. (2012). Manual De Producción De Cacao Fino De Aroma a Través De Manejo Ecológico, 141.

Vargas, A., & Rivera, J. (2004). Manual Del Cultivo Del Cacao. Perú: Ministerio de Agricultura, Perú.

Veenman, H., & Zonen, N. (1969). Outlines of Perennial Crop Breeding in the Tropics. *Landbouwhogeschool Wageningen*, *4*, 1-507.

Vera, J., Cabrera, R., Morán, J., & Neira, K. (2016). Evaluation of three methods of artificial pollination in clones CCN-51. *Idesia*, *34*, 35-40.