

ESTUDIOS CROMOSOMICOS EN EL GENERO THEOBROMA L.

POR

JUAN MANUEL MUÑOZ ORTEGA

**Tesis presentada a la Facultad del Instituto
Interamericano de Ciencias Agrícolas, como
requisito parcial para optar el grado
Magister Agriculturae**

J U N I O

1948

BIOGRAFIA

Nació el 19 de septiembre de 1921 en Puerta de San Juan Gto. México.

Hizo sus estudios primarios (1927-32) en Querámere, Guanajuato.

Sus estudios de carácter agrícola secundarios (1933-35) los llevó a cabo en la Escuela Normal Agrícola de León, Gto.

A principios de 1936 ingresó en el Centro Industrial Vocacional "Rafael Donde" en México D. F. donde terminó sus estudios vocacionales.

En 1939 ingresó a la Escuela Nacional de Agricultura en Chapingo, Edo. de México donde permaneció hasta fines de 1945, cuando terminó sus estudios de Ingeniero Agrónomo, Especialista en Fitotecnia.

En noviembre del mismo año recibió nombramiento de la Secretaría de Agricultura y Fomento de su país, con adscripción a la Dirección General de Agricultura y Ganadería, Oficina de Campos Experimentales.

En marzo de 1946 el Comité Permanente de Becas Internacionales le concedió la Beca que el Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas ofrecía a México para estudiar el Cultivo y Mejoramiento del Cacao y la Secretaría de Agricultura lo comisionó para el mismo objeto.

En noviembre de 1946 fué enviado por el Instituto al Imperial College of Tropical Agriculture en Trinidad (Indias Occidentales

Inglemas), para realizar estudios post-graduados. También por este Instituto visitó en viaje de estudios otras Islas de las Antillas Inglesas y las Repúblicas de Venezuela y Colombia.

En enero del presente año fué adscrito por la Secretaría de Agricultura, al Instituto de Investigaciones Agrícolas de México.

CONTENIDO

| | Pág. No. |
|---|----------|
| AGRADECIMIENTOS | |
| INTRODUCCION | 1 |
| STATUS TAXONOMICOS DEL GENERO | 5 |
| PREVIAS INVESTIGACIONES CITOLOGICAS | 7 |
| MATERIALES Y METODOS | 8 |
| RESULTADOS | 10 |
| DISCUSION | 38 |
| SUMARIO | 39 |
| LITERATURA CITADA | 40 |

AGRADECIMIENTOS

Hago presente mi reconocimiento al Profesor K. S. Dodds por haberme permitido hacer uso de las especies que forman la colección del Imperial College of Tropical Agriculture (I.C.T.A.). Sus valiosas sugerencias fueron muy importantes para el desarrollo del presente trabajo.

Al Profesor E. E. Cheesman le guardo una deuda de gratitud por sus enseñanzas del asunto aquí tratado y por haberme facilitado la literatura pertinente.

De la Estación Agrícola Experimental de Palmira (E. A. E. F.), Valle del Cauca, Colombia le estoy muy agradecido al Ing. Agro. Rafael Obregón S. por haberme permitido usar las especies con las que cuenta la citada Estación, así como a todos sus investigadores por haberme brindado facilidades de laboratorio, reactivos, etc.

Le guardaré mucha gratitud al Director del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, Dr. Ralph H. Allen por haber sido el principal promotor para que yo viajara a las regiones cacaeteras más importantes del Hemisferio como complemento de mis estudios y por ende del tema aquí tratado.

Al Sr. Jorge León le estoy muy agradecida por sus interesantes sugerencias en el aspecto botánico.

El Ing. E. H. Cásseres revisó el manuscrito y le hizo muy valiosas críticas, por lo cual le expreso mi amplio reconocimiento.

INTRODUCCION

Estos trabajos fueron iniciados a principios de 1947, cuando el autor estudiaba en el Imperial College of Tropical Agriculture, Trinidad, Indias Occidentales Inglesas.

Posteriormente, viajando por las zonas cacaoteras de Colombia, aprovechó una corta estancia en la Estación Agrícola Experimental de Palmira, Valle del Cauca, para estudiar las especies de cacao silvestres con las que cuenta dicha Estación.

En este Instituto se trabajó con algunas nativas del país y varias otras fueron objeto de repetición para corroborar los resultados y prometerles así una mayor confianza.

Los objetivos del presente trabajo se constituyeron en principio, en la iniciación de tres metas a llegar con los estudios de quizás varios años:

1. Académico
2. Taxonómico
3. Filogénico

Sin embargo lo que aquí se esboza es un principio del aspecto citológico que más que todo acentúa la dificultad para juzgar desde este ángulo los dos últimos objetivos.

La presente disertación abarca primordialmente el número de cromosomas en varias especies de cacao silvestres y cultivados y secundariamente, la morfología y tamaño de ellos.

Las observaciones morfológicas de los cromosomas de las especies agrupadas en las secciones en que se ha dado en dividir al género se hacen acompañar de idiogramas tentativos los cuales no llevan sino la idea de hacer más objetivo este trabajo.

Lo que se reporta incluye particularmente los estudios de cromosomas en tejidos somáticos, aunque algunas inferencias han sido hechas sobre los cromosomas de las células madres del polen.

ESTATUS TAXONÓMICO DEL GÉNERO

El género Theobroma data de 1763 cuando Linneo (1763),* en su Philosophia Botánica lo insertó en la familia Tiliaceae del grupo de las Culmíneas y orden de las Malvales. Bentham y Hooker (1867) en su Génera Plantarum, lo colocan en la familia de las Esterculiáceas sin diferenciación clara entre ésta y la familia Tiliaceae. También se establece en esta ocasión la inserción del género Herrania que Goudot (1834) había creado unos años antes.

K. Schumann (1896) en Engler y Pranti, Die Pflanzenfamilien, asimila el género Herrania al Theobroma, reduciéndolo así a la categoría de sección. Sin embargo Schumann no cita en su nueva clasificación a las especies de Herranias que Goudot ya había descrito, sino sólo una, de la cual él era autor.

Así que, a esa fecha el género Theobroma constaba de 3 secciones,

I. Sección - Herrania K. Sch.

II. Sección - Euthobroma K. Sch.

III. Sección - Bubroma K. Sch.

las cuales pertenecían a la familia de las Esterculiáceas, tribu Euttneriáceas - Euttnerinae y orden de las Malvales.

Edlin (1935) apoyándose en las observaciones de Sprague (1916) y sobre los trabajos anatómicos de Dumont (1837) y de Chattaway (1933), (1939), (1939a) procedió a una revisión completa de las Malvales. Separó el género Sterculias, para constituir con solo él, la familia Esterculiaceae y pasando el resto que formaban parte de esta familia (entre ellos el género Theobroma) a la

* Las citas entre parentesis se refieren a "Literatura Citada"

familia Byttneriaceae - Byttneriaceae.

Los sistemáticos modernos, en su mayoría, han aceptado esta nueva clasificación por considerarla más natural y porque ha sido basada sobre bases filogénicas, así como morfológicas y anatómicas. De esta manera el Profesor Cheesman (comunicación personal) se expresa: "La inclusión por los sistemáticos antiguos de demasiados géneros en una sola familia, (la Esterculiaceae) crea muy difíciles problemas de relaciones. Algunos botánicos modernos dividen a la familia, y de acuerdo con ellos, Theobroma pertenece a las Byttneriaceae, la cual es un agregado más pequeño y de más estrecha afinidad" (Sic).

Cercanas a las Esterculiáceas, están las siguientes familias, algunas de significativa importancia económica: las Malváceas que producen algodón, fibras, etc; las Bombáceas valiosas maderas algunas de las cuales son las de menor peso que se conocen; las Tiliáceas tienen entre sus productos el yute y otras fibras.

El orden comprende algunos 223 géneros con unas 2380 especies distribuidas en regiones tropicales y sub-tropicales de ambos hemisferios. Son arborescentes principalmente, pero pueden variar desde árboles gigantescos a hierbas de sólo unos cuantos centímetros de altura.

El género Theobroma no es altamente típico de su familia. Su origen es exclusivamente neotropical. Son americanos también los géneros Quazuma, Basiloxylon y sus parientes más cercanos en el Viejo Mundo se atribuyen a los géneros: Glossostemon, Scaphopetalum, Abroma y Cola.

Del género Theobroma se han descrito multitud de especies, muchas de las cuales han sido desentadas como sinónimos y otras permanecen descritas defectuosamente. Sin embargo ha merecido el estudio de algunos botánicos sobresalientes y así tenemos entre los estudios más completos y relativamente más recientes al de Bernoulli; (1869). Pittier (1930) ha hecho la más autorizada revisión del género en la cual considera las tres secciones siguientes:

Sección I - Herrania Sch. (Estambres generalmente de 3 anteras).

1. *Theobroma albiflorum* (Goudot)
2. Th. *purpureum* Pitt.
3. Th. *harise* (Mart.) Schum.
4. Th. *balsensis* (Pruess)
5. Th. *pulcherrimum* (Goudot)
6. Th. *atrorubens* Huber.

Sección II - Euthobroma Schum. (Estambres con dos anteras).

Sub-sección - Bernoulli, Pitt.

7. *Theobroma cacao* L.
8. Th. *leiocarpum* Bern.
9. Th. *pentagonum* Bern.

Sub-sección - Rhytidocarpus, Bern.

10. *Theobroma bicolor* H. B. K.
11. Th. *Bernoulli* Pitt.

Sección III - Eubroma Schum. (Estambres con 3 anteras).

Sub-sección - Talmatocarpus Bern.

12. *Theobroma microcarpum* Mart.

Sub-sección - *Craenthes* Bern.

13. *Theobroma spruceanum* Bern.
14. Th. *speciosum* Spreng.
15. Th. *simiarum* Donn. Sm.

Sub-sección - *Glossopetalum*, Bern.

16. *Theobroma angustifolium* D.C.
17. Th. *grandiflorum* Willd
18. Th. *subincanum* Mart.
19. Th. *sylvestre* Mart.

Ducke (1940), al revisar las especies del Brasil, considera que el *Theobroma sylvestre* es sinónimo del *Theobroma abovatum* Bern. y al *Th. leiocarpum* lo pasa a ser forma del *Th. cacao*.

García Barriga (1941) describe tres nuevas especies, las cuales coloca en el género *Herrania*, reviviendo de esta suerte la controversia en considerar este género como sección del *Theobroma* o darle curso independiente. Las especies: *Herrania laciniifolia* Coudot ex Triana et Planchon apud García-Barriga; *Herrania Cuatrecasana* García-Barriga; *Herrania Dugandii* García-Barriga, encuentran refuerzo cuando Schultes (1942) describe otra nueva especie también encontrada en la cuenca Amazónica Colombiana. (*Herrania brevili-gulata*, Schultes).

A medida que las exploraciones botánicas de las regiones tropicales de la América van siendo más intensas, el grupo de las *Theobromas* se enriquece. Así Schery (1943) describe una más, *Theobroma asclepiadiflorum* Schery, de la Flora de Panamá. El profesor Cuatrecasas (1944), (1946) describe las más recientes especies encontradas: *Theobroma Cirmolinae* Cuatr. y *Th. capilliferum* Cuatr.,

para así aumentar grandemente el número.

Cheesman (1944) después de muchos años de investigación, considera que todas las especies cultivadas comercialmente no constituyen sino una sola de amplia variación. Así las antes especies Theobroma laiocarpum, Th. pentagonum no son sino formas del Theobroma cacao de Linneo.

PREVIAS INVESTIGACIONES CITOLÓGICAS

Kuyper (1914) fué el primero en emprender trabajos citológicos en Theobroma cacao. Contó 8 cromosomas en la división de reducción de los Megaspóroцитos y 16 en células de puntas de raíz.

Posteriormente Cheesman (1927) trabajando con material de St. Augustine Experiment Station, (Trinidad), contó en las células en división del núcleo, 16 cromosomas.

Heyn (1930) en Java, confirmó los resultados de sus predecesores al encontrar para la especie, 16 cromosomas como número diploide.

En un artículo posterior Davie (1935) reporta que el número diploide de cromosomas en Theobroma cacao, es 20.

Finalmente, cuando el autor estaba realizando el presente trabajo, revisó el trabajo del Agrónomo Carlette (1946), en el cual reporta para la especie en mención y otras tres más, 20, como número de cromosomas somáticos.

MATERIALES Y METODOS

La presente investigación ha sido confinada a divisiones somáticas. El recuento de los cromosomas y demás observaciones fueron hechas en puntas de raíz.

Las plantas de donde se tomaron esas puntas de raíz variaron en condiciones. Algunas fueron sembradas ex-profeso en macetas de arcilla y puestas en los invernáculos, otras fueron tomadas de plantas creciendo en viveros y finalmente otras se obtuvieron de estacas puestas a enraizar en los propagadores ideados por Cheesman y Spencer (1936) con la modificación de Stahel (1947).

Las mejores puntas de raíces resultaron aquellas de crecimiento rápido, de color blanco, con un diámetro de 1 a 2 milímetros y las cuales eran desprendidas de plantitas de unos 3 meses de edad puestas en macetas de barro y en condiciones de invernadero.

En Trinidad y Colombia se fijaron de 8 a 9 de la mañana, pero en Costa Rica fué necesario hacerlo a media noche por estar las raíces a esa hora con mayor actividad divisional.

Fuó difícil en muchos casos obtener buenas fijaciones de los cromosomas somáticos porque las células de la epidermis generalmente están llenas de mucilagos que hacen difícil la penetración de los fijadores y aquellos con los que se usaba ácido crómico oscurecían las células (tanizaban) no permitiendo por este motivo obtener contrastes agudos.

Muchos fijadores se probaron pero se obtuvieron mejores resultados con el de Navashin, con la modificación de Belling y el fijador Crai. (Randolf, 1935).

El material fué deshidratado en mezclas de alcohol etílico

- m - butílico hasta llegar a 100% de alcohol Normal Butílico, cuando se incluyó en parafina (p.f. 56°C). Los cortes en el micrótopo se hicieron a 10 μ . Para colorear se usó principalmente el método Iodado de Violeta de Genciana de Newton, pero también se usó el de la Hematoxilina-Férrica de Heidenhain con mejores resultados que el primero.

Sin embargo, en varias ocasiones se trató de obtener mejores preparaciones y para eso se probaron sin éxito otros varios colorantes.

En algunos de los casos cuando no se contaba sino con reducido número de plantas de una especie y no se encontraban raíces en buenas condiciones, se trató de obtener el recuento de los cromosomas en las hojas tiernas (Baldwin, 1934), sin ningún éxito, debido principalmente a que nunca pudieron separarse bien las células entre porta y cubre objetos por la gran cantidad de vellos que permanecían sin macerar.

El tipo de microscopio y lentes usados variaron con el progreso del estudio pero se trabajó generalmente con un microscopio Bausch & Lomb con lentes ocular compensado 25x y objetivo Apberomático de 100x. Los dibujos fueron preparados con la ayuda de una cámara lúcida del mismo fabricante.

En todos los casos se prepararon cuando menos 10 placas de cada especie con el objeto de cubrir una variación relativamente amplia. Al número de cromosomas, así como a sus caracteres morfológicos, no se llegó sino después de examinar cuando menos el número de placas arriba especificado.



Fig. 1

Metafase de los cromosomas de
Theobroma cacao L. en tejido
meristemático de puntas de raíz
(2500 X) Idiograma tentativo
(2500 X)

Para el reconocimiento individual de los cromosomas, se dibujaron con la ayuda de la cámara lúcida sobre papel marcado en milímetros y haciendo uso de alfileres al marcarles puntos interesantes. Sin embargo, aún con esto, no probó ser satisfactorio debido a la baja amplificación de los lentes con que se contaba.

No se obtuvo éxito al experimentar diligentemente con frotis (smears) temporales, en botones florales de las especies que florecían durante el desarrollo del trabajo en los distintos lugares. Se probó por el método del carmin acético de Belling (1930) con o sin diferentes modificaciones así como por el de la Leuce-Fucsina Básica.

Se hicieron preparaciones permanentes de meiosis de las células madres del polen por el método de Newton con Violeta de Genesiana y usando distintos fijadores. Se obtuvieron resultados parcialmente buenos, pero no se prestaron para hacer estudios de la morfología de los cromosomas durante la media-profase.

RESULTADOS

Theobroma cacao L.

Las raíces de esta especie se tomaron de estacas del clon I.C.S. 45 (Imperial College Selection) el cual es una de las selecciones que más se acercan al tipo criollo.

Los cromosomas somáticos fueron estudiados en metafases de mitosis en puntas de raíz. En gran número de placas y campos fueron contados 20 cromosomas.

Los cromosomas aparecen como pequeñas hececillas o bastoncillos, rara vez bien separados. Puedan abarcar formas de V, J, S e I indicando de esta manera que la unión con el huso puede ser central (media), submedia o terminal. Existen 5 pares de cromosomas marcadamente más grandes que el resto; sin embargo, la diferenciación individual de cromosomas resultó imposible debido a su pequeñez.

El cromosoma mas grande escasamente mide 2 μ por 1 μ del menor, pero dentro de estos límites existen todas las variaciones.

La aparente diferencia en la longitud de los cromosomas de un mismo par se considera como no significativa.

Frecuentemente se notó que la diferencia que parecía existir entre distintos cromosomas se debía al acortamiento de la imagen de uno de ellos por su posición no perpendicular en toda su longitud al eje del microscopio, ó porque estaban separados en distintos planos. En muchos casos esto no sólo se traducía en mayor fuente de errores en cuanto a su forma y tamaño, sino que podrían estar en planos tan diferentes que se pedían emitir en el número total. Sin embargo no se desestima la posibilidad de la existencia de algunas diferencias discretas en la longitud de cromosomas de un mismo par, las cuales no resultan mesurables con los métodos usados.

La poca afinidad contrastante en los pequeños cromosomas con los colorantes usados y la tendencia de permanecer agrupados durante la fase de observaciones, hicieron muy difíciles los estudios morfológicos detallados.

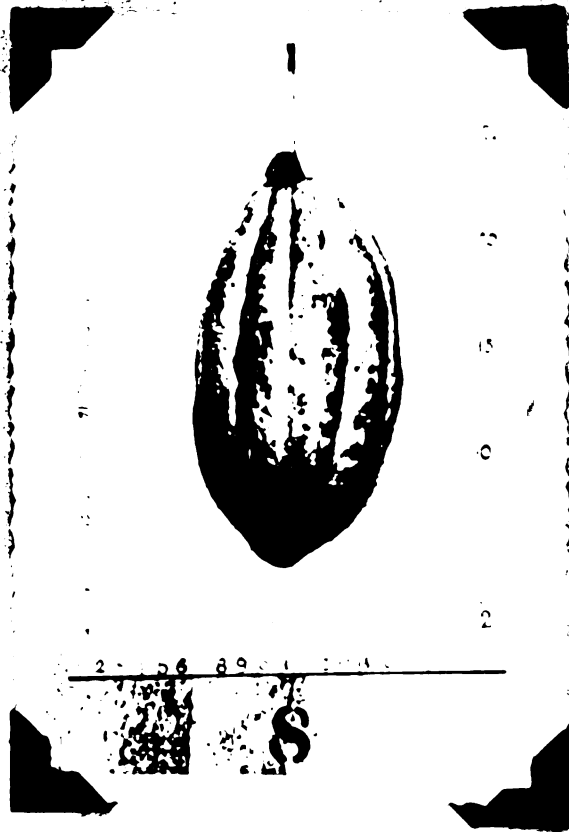
Después de examinar gran número de placas de preparaciones, en las cuales se usaron los mismo fijadores, colorantes, etc. amén, de raíces en semejantes condiciones provenientes de plantas en el mismo estado de desarrollo, etc., se tuvo que concluir forzosamente

que usando procedimientos citológicos ordinarios no sería posible determinar con certeza los idiogramas.

Theobroma leiocarpum Bern.

Los cromosomas somáticos de esta especie se observaron en puntas de raíz de estacas provenientes del árbol M-6 (Miscelaneous genotypes) de la Colección del I.S.T.A.

Es progenie de un árbol aparentemente silvestre en los bosques de Manaboen Creek en Surinam, (Guayana Francesa), el cual fué traído por el Dr. J. G. Myers en 1929 (ver un artículo en Kew Bull. 1930, 1-10).



Fot. No. 1

Fruto de Theobroma leiocarpum



Fig. 2

Cromosomas en metafase de células
de puntas de raíz de Th. leiocarpum
Bern. (2500 X)

La planta es de una corpulencia excepcional y de 15 mazorcas a las cuales se les examinaron el color de las almendras; ninguna de ellas resultó blanca o rosada, sino intensamente púrpuras a pesar de que el árbol está plantado entre otros muchos en los cuales figuran cacaos criollos.

La forma del fruto podrá apreciarse en la fotografía No. 1.

Progenie de esta planta se está usando actualmente como patrón en los experimentos del Colegio.

Se encontró ~~en una muestra de almendras púrpuras~~. No se encontró diferencias morfológicas con los cromosomas de la especie anterior.

Theobroma pentagonum Bern.

Las raíces se obtuvieron del ejemplar I.C.S. 25 el cual es considerado como perteneciendo a esta especie. También se usaron de una progenie del árbol N 150 de la colección del Colegio el cual es referido al Th. pentagonum o muy cercano.

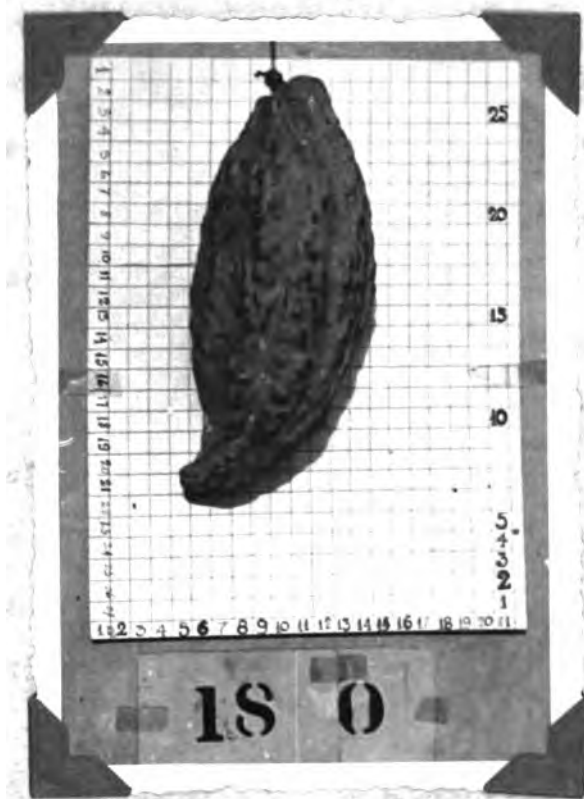
Se obtuvo una muestra de autopolinizaciones controladas y al examinarse las almendras ninguna se encontró de color. Sin embargo, la forma de las mazorcas que produce no exhibe los caracteres exactos del cacao "lagarto" de México y Nicaragua.

Se encontraron 20 cromosomas en el tejido somático de puntas de raíz. Como en las anteriores especies los cromosomas son pequeños y difíciles de investigar. Con la técnica citológica que se empleó, no fué posible probar diferencias entre los cromosomas de Th. cacao y Th. pentagonum.



Fig. 3

Vista polar metafásica de los
cromosomas somáticos de Th.
pentagonum Bern. (2500 X)



Fot. No. 2

Mazorca del árbol M 180

De los cacaoos cultivados esta especie ha sido muy poco estudiada desde todos los puntos de vista. Como las especies anteriores sus cromosomas no presentan trabantes ni satélites y sus constricciones se hacen difíciles de apreciar.

Varias veces se le dibujó su idiograma basándose en la longitud total de cada cromosoma, la longitud de sus brazos y posible número de constricciones (indicado por los puntos de curvatura) y en todos los casos se encontró más puntos de semejanza con el Th. cacao que reales puntos de diferenciación.

Theobroma cacao. (Planta Mutante)

Se tomó la oportunidad de trabajar citológicamente con una planta llevada al I.C.T.A. de St. Mary's Estate, Sangre Grande, Trinidad, que presentaba caracteres anormales. Es una planta que aparece etiquetada con la designación M 253. No existe registrada la fecha exacta de su introducción a la Colección del Colegio, pero se cree que fue más o menos en 1933, y procediendo de una planta de 30 años, aparentemente enana.

En 1948 no había alcanzado una altura mayor de 1.50 mts.. Sus hojas tienen aproximadamente 6" de longitud por 3" de ancho, son arrugadas, con peciolo muy corto, gruesos y pubescentes. (Fotografía No. 3-). Adquieren un color verde intenso y al tocarlas dan una sensación de suavidad. Su madera es más suave que la del cacao ordinario y las hojas son más quebradizas que las de este último.

Las mazorcas parecen normales aunque de menor tamaño. De cuatro de ellas que se examinaron se les sacó un promedio de 28 almendras, de color púrpura intenso y algunas otras rosadas. Muchas de ellas se encontraron abortadas.

Sus flores no presentan caracteres anormales en forma sobresaliente. Son ligeramente más pequeñas y al hacer algunas polinizaciones se notó que la cantidad de polen de cada antera era reducida.

De un fruto que se sembró hubo un 100% de germinación dando plantas enanas de hojas arrugadas, y plantas normales.

Aunque fue muy difícil enraizar estacas de esta planta se pudieron conseguir unas cuantas puntas de raíz.



Fig. 1

Vista metafásica de los cromosomas en células de la punta de raíz de una mutación de T. cacao l. (Planta con hojas arrugadas)



Fot. No. 3

Theobroma cacao L. (Planta Enana y arrugada)
(I.C.T.A.)

"Se hicieron los recuentos cromosomales y se encontró, como diferencia con las plantas normales la posesión de sólo 19 cromosomas somáticos."

Además se les hicieron los recuentos cromosomales a 6 plantas de la primera generación, las cuales exhibían las mismas características de la planta madre y a todas ellas se les encontró los mismos 19 cromosomas.

El cromosoma faltante en esta planta no parece ser ninguno de los más grandes, ni de los más pequeños sino uno del sexto o séptimo par.

Theobroma bicolor H. B. K.

Su nombre vulgar es "Patate" o "Patashte" en la América Central y "Bacao" o "Cacao Blanco" en algunos países de la América del Sur. En la región Amazónica se le nombra "Cacao del Perú" (Fotografía No. 4.-).

Esta especie indudablemente es la que alcanza un área mayor de dispersión. Se ha reportado su existencia en todos los países desde Bolivia hasta México.

Según Cook (1916) se debía formar un género por separado (Tribroma) con esta especie.

Según Preus (1901) aunque las poblaciones indígenas de Centro América lo usan para hacer chocolate, sus almendras tienen cantidades imperceptibles de theobromina. Algunas tentativas para usarlo como patrón del Th. cacao han fallado.

Las observaciones cromosómicas en esta especie se hicieron de plántulas creciendo en el invernáculo del I. C. T. A. y se volvieron a repetir en el Instituto Interamericano de Ciencias Agrí-



Fot. No. 4

Theobroma bicolor H. B. K.

(Al fondo samán con hojas más finas)

I. C. T. A.



Fig. 5

Cromosomas somáticos (puntas
de raíz de Th. bicolor (2000 x))

colas en puntas de raíz de semillas germinadas.

Se encontró para esta especie 20 cromosomas como número diploide.

Los cromosomas aparecen menores que las de los cacaos comerciales pero un poco más gruesos. Su apariencia es la de pequeños frijolillos y en otros casos la de diminutos bastoncitos.

Se observaron y dibujaron un número amplio de metafases con el objeto de comparar lo más completamente posible los cromosomas de esta especie con las anteriores.

Existen 3 pares de cromosomas un poco más grandes que el resto. Los demás varían muy poco en longitud y el par más pequeño alcanza el tamaño mínimo del correspondiente en Theobroma cacao. Sus constricciones son aún menos marcadas.

Esta especie no ha podido cruzarse con los cacaos comerciales.* Las flores son muy pequeñas y los granos de polen que producen son en extremo delicados.

Theobroma microrhizum Mart.

Hasta ahora sólo ha sido encontrada en el Amazonas brasileño, donde los nativos lo llaman "Cacau" o "Cacaurama".

* Quien escribe no tuvo éxito al tratar de cruzar esta especie con varios tipos de Theobroma cacao. Se hicieron 233 polinizaciones a mano, usando polen del patate sobre flores de cacao. No se pudo saber por qué los granos de polen no germinaban sobre los estigmas.



Fig. 6

Cromosomas somáticos en puntas
de raíz de Th. microcarpum (2000 X)

Es muy característica por sus hojas y flores, las cuales son las más pequeñas del género.

Resultaron inútiles varios esfuerzos para propagar esta especie por estacas.

Los cromosomas de esta especie varían entre 1μ y 0.5μ , resultando así más cortas que las del grupo anterior.

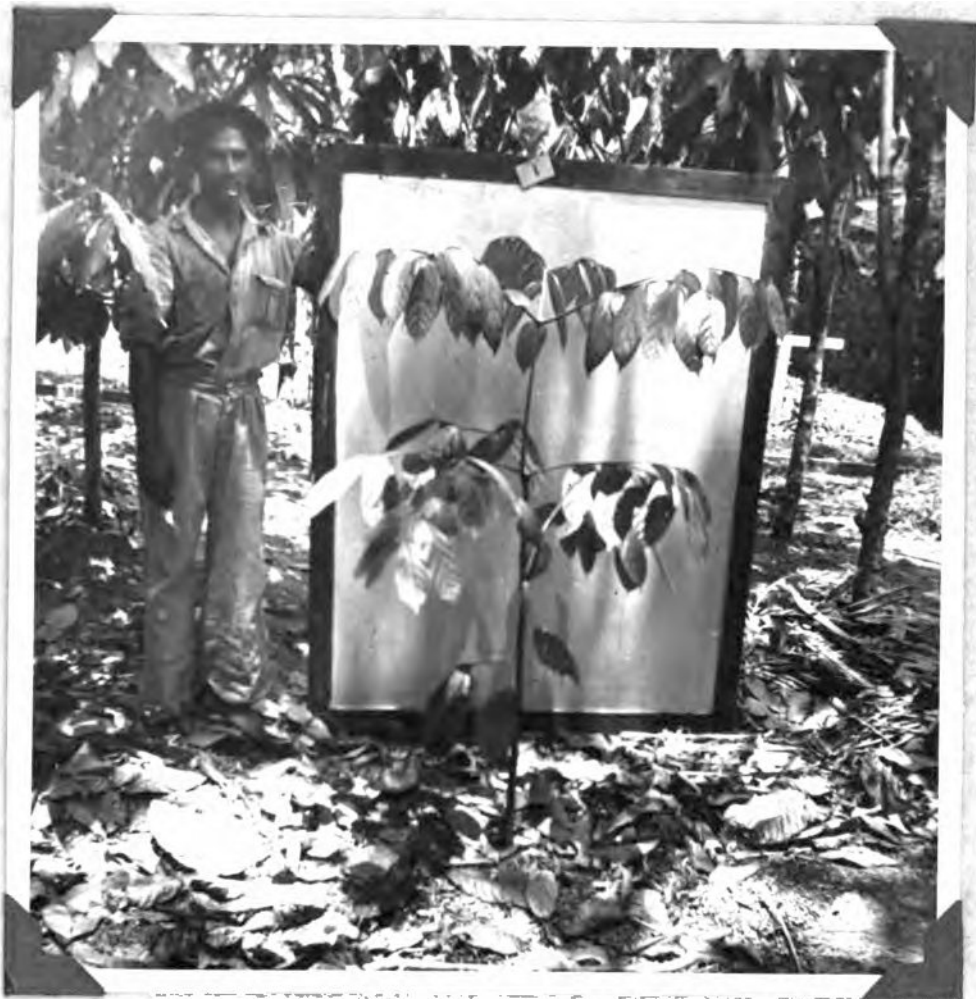
Las constricciones son en su mayoría centrales y sólo un par muestra forma de "J", indicando así que la unión con las fibras del huso es submedia.

Theobroma speciosum Spreng.

Esta especie se extiende en toda la Cuenca del Amazonas, donde le llaman al igual que la anterior "cacaarana" e "cacaú" se ha reportado hasta la parte sur de la América Central.

A pesar de llevar el mismo nombre común que la anterior, su fruto es muy distinto. Alcanza mayor tamaño y no tiene los 5 bordes longitudinales tan angulosos que exhibe el fruto de Th. microcarpum. El árbol tiene una apariencia distinta, más bien cuando está desprovista de flores es el que más se asemeja al Th. cacao. Según las observaciones de Pound (1933) parece ser inmune a la enfermedad "Escoba de Bruja", así como a la "putrición negra" de la mazorca o cáncer del tronco y ramas (*Phytophthora palmivora* = *Ph. faberi*.)

El carácter más conspicuo de esta especie es la abundancia de glomérulos de flores rojo oscuras nacidas sobre el tronco. Tal vez el nombre de speciosum le venga por la distribución periódica de la producción.



Theobroma speciosum Spreng.

I. C. T. A.



Fig. 7

Vista polar metafásica de los cromosomas somáticos en puntas de raíz de Th. speciosum.
Idiograma tentativo de la especie
(2500 X)

1951 - algunas grandes dimensiones (30-40 μ)

Los estudios cromosomales de esta especie fueron hechos en Trinidad, de raíces de estacas propagadas ex-profeso y en este Instituto, de raíces de semillas germinadas.

Los cromosomas somáticos en esta planta aparecen un poco más delgados que las del Th. cacao, aunque no se podría estar seguro que esto sea debido a la estructura en sí de los cromosomas, o a que el citoplasma circundante de la cromatina retenga o no al colorante en el supuesto grado de diferenciación adoptado.

En el diagrama adjunto se ha tratado de representar los cromosomas pero hay una gran duda en su interpretación. Las constricciones, de acuerdo con el tamaño de los cromosomas, se calcula que sean menores que el poder de resolución del juego de lentes usado.

Theobroma simiarum Donn.

"Cacao mico". Indudablemente es la especie más interesante que hasta ahora se ha descrito. Consta de un solo tronco cubierto de cojinetes florales, que más tarde producirán grandes frutos en forma de salchichas.

Difiere considerablemente del grupo speciosum en que se la coloca comunmente, porque si bien tiene estambres con 3 anteras y flores en el tronco, sus hojas y forma de enramaje son muy semejantes a las del Th. grandiflorum.

El árbol alcanza grandes dimensiones (30-40 metros). No es ya un árbol de la capa intermedia de la Formación del Bosque Tropical Lluvioso, sino de la primera capa superior donde ya puede competir por espacio y luz.



Fig. 8

Cromosomas somaticos de Tr.
simiarum (2000 X)

La especie es endémica de Costa Rica. Parece ser mas abundante en la parte oriental del país, en las regiones de mayor precipitación pluvial.

Se encontraron en esta especie 20 cromosomas en tejidos somáticos.

Tiene dos pares de cromosomas más grandes que el resto y un parecille demasiado pequeño al cual le sigue otro un poco menos reducido.

Todos indican tener el punto de unión con la fibra del huso cromático, en la parte central, con excepción de dos pares (7 y 8), los cuales pueden ser terminales o sub-terminales.

No tienen constricciones marcadas, ni satélites. Su apariencia es más indefinida que la de las demás especies.

Los cromosomas de esta especie tienen más semejanza en tamaño y forma con los del grupo grandiflorum, que con los del speciosum. Las reducciones en tamaños han sido demasiado pequeños, para expresarse con exactitud numérica, pero ciertamente existen.

Se ha probado que las cruzas interespecíficas Th. cacao x Th. simiarum son fértiles * en cambio cuando se toma polen de

* Se hicieron 353 polinizaciones en enero de 1948 de las especies Th. cacao x Th. simiarum, de las cuales resultaron 8 pequeños frutillos. Seis de ellos se marchitaron a diferentes tamaños y 2 estaban próximos a madurar en mayo del mismo año. El número de polinizaciones controladas que se hicieron no indica la facilidad o dificultad para la obtención de cruzas fértiles, ya que quien escribe desconocía por completo la biología de las flores de esas especies en las condiciones locales de Turrialba, las cuales resultaron tener amplias variaciones con las de Trinidad. Se hizo un número semejante de polinizaciones recíprocas, las cuales ni siquiera retardaron la caída de las flores en la especie simiarum.



Fig. 9

Cromosomas en los tejidos meris-
temáticos de puntas de raíz de
Th. capilliferum (2500 X)

cacao para polinizar simiarum, no han resultado satisfactorias. Esto sin embargo parece ser debido a diferencias estructurales en la flor, más que a irregularidades cromosómicas.

Theobroma capilliferum Cuatr.

Especie encontrada hace apenas dos años por el Prof. José Cuatrecasas en las costas del Pacífico de la República de Colombia.

El autor no ha tenido oportunidad de conocer esta planta en estado adulto. La cuenta de cromosomas se hizo en la Estación Agrícola Experimental de Palmira (Colombia), de unas plántulas con solo unos cuantos meses de crecimiento.

Su descripción original reza "árbol de 15-20 metros de altura, de las selvas húmedas de la región litoral del Pacífico. Llama la atención generalmente por la gran abundancia de ramillas fértiles caulinares que en época oportuna cubren de flores y luego de frutos al tallo".

De acuerdo con una excelente fotografía adjunta (véase: Cuatrecasas 1946, pág. 547), muestra mayor producción de frutos que cualquiera otra especie.

"La población nativa de esas regiones le llama "cacao de monte" o "chocolate del monte" y se dice que aprecian mucho su semilla" (sic). (Cuatrecasas 1946).

Se encontró 20 como número de cromosomas diploides en la especie.

Presenta un par de cromosomas más grande que el resto y las demás disminuyen de tamaño en forma pausada, hasta llegar al más pequeño que escasamente mide 0.5 μ . Son delgados en apariencia



Fig. 10

Vista polar metafásica de los
cromosomas somáticos de Th.
grandiflorum (2000 X)
Idiograma tentativo de la especie
(2500 X)

con brazos en su mayoría uniformes. Todos tienen una extremidad terminando mas o menos en punta.

Theobroma grandiflorum Willd.

Esta especie es la que más abunda en el Bajo Amazonas. El nombre que los nativos le dan es Guau-asaá. Es definitivamente una planta económica ya que en los mercados de Belem de Pará cada fruto se vende por 15 centavos. El fruto es estimado por su voluminosa pulpa ácida la cual rodea a las semillas. Se usa para hacer bebidas fermentadas y refrescos.

Según el Dr. Pound (1938) la especie es altamente susceptible a la "Eseba de Bruja" (Marasmius perniciosus) pero parece serlo solamente el follaje ya que el fruto no se ha observado que sea atacado. El árbol alcanza gran altura con ramas primarias formando andares (Fotografía No. 6) que nos indican la periodicidad de sus renuevos vegetativos (flushes). Produce flores grandes con estaminoides morados y sépalos cubiertas de vellocidades que le dan una apariencia amarillo-verdosa. Su producción de flores está confinada a las ramas.

Se encontraron 20 cromosomas en tejidos de puntas de raíz.

En esta especie se pudieron observar constricciones cromosómicas más marcadas que en ninguna otra.

Los cromosomas conservan, sin mucha variación, la forma y tamaño de los de la sección Eutheobroma.

Hasta donde la confianza en las observaciones nos lo permite, podemos decir que dos pares de cromosomas (3 y 4) son un poco más pequeños, permaneciendo constantes los demás.



Bot. No. 6

Theobroma grandiflorum Willd.

I. C. T. A.



Fig. 11

Cromosomas somáticos (2000 X)
de Th. obovatum.

Theobroma obovatum Bern.

Existe en el Atlo Amazonas y quizás en la Guayana Holandesa.

Según Ducke (1940) esta especie es muy afín con Th. subincanum de la cual se diferencia por sus hojas más pequeñas y su fruto característico, el cual presenta la particularidad de que cuando está maduro se desprende del árbol. Es muy pequeño y lleno de granulaciones en la superficie de la cubierta.

Veinte cromosomas se contaron en los tejidos de puntas de raíz.

Observan más o menos igual tamaño que las especies anteriores. No se pudieron apreciar marcadas diferencias en forma. Los mismos 5 pares permanecen más acentuados en tamaño que el resto, pero entre ellos hay también variaciones en la longitud de sus brazos.

Theobroma angustifolium D.C.

Es endémica de la parte ítmica de la América Tropical, llegando su distribución hasta la parte norte de Panamá.

Mucho se ha dicho de que esta especie contribuyó a la formación de los cacacs criollos de México.

Los cacacs de la región del Soconusco (México) se consideraban que eran de esta especie pero no hay la certeza de que alguna vez haya sido cultivada para usos comerciales (Preuss. 1901). Sin embargo Hernández (1615), ya en 1571-77 observó en cultivo una variedad, la cual se cree que era esta especie.

Los Nahuatl y Mayas de México usaban las flores de esta planta para curar la estupidez (Cruz, 1552) y no es pues remoto que haya sido objeto de cultivo.



Fot. No. 7

Theobroma angustifolium D.C.

I. C. T. A.



Fig. 12

Vista polar metafásica de los
cromosomas somáticos de Th.
angustifolium (2500 X)

En Trinidad han obtenido híbridos interespecíficos con el Th. cacao y Poanette (1945) ha logrado cruces fértiles entre las especies Th. angustifolium x Th. cacao y viceversa.

El árbol es más vigoroso que los de los cacaos comerciales. (Fotografía No. 6) con hojas más angostas y flores amarillas en las axilas de las hojas de las ramas.

Al árbol más antiguo de esta especie que existe en el I.C.T.A. nunca se ha observado que sea atacado por "Escoba de Bruja" o por Phytophthora spp.

Se encontraron 20 cromosomas somáticos para esta especie.

Los cromosomas observan la uniformidad en tamaños y formas propias de este género, sin embargo, más de eso no puede decirse porque las preparaciones hechas no fueron suficientes para hacer estudios morfológicos más detallados.

Theobroma Cirmolinus Cuatr.

Fue descrita en 1944 de especímenes encontrados en la parte Norte Occidental de Colombia.

Juntamente con el Th. sinjarum comparte la especie de frutos más alargados, y con el grandiflorum, las flores más grandes del género.

El tamaño del árbol es el más generalizado entre las especies (16-20 mts.); sus abundantes flores amarillas sobre el tronco y naciendo de pequeñas ramillas, le dan un aspecto característico.

El recuento de los cromosomas se hizo inicialmente de plantas existentes en la Estación Agrícola Experimental de Palmira, Colombia, y posteriormente se corroboraron de preparaciones hechas en este Instituto.



Fig. 13

Cromosomas en metafase en las
células de puntas de raíz de
Th. Cirmolinae (2000 X)

El número cromosómico también ha permanecido constante en esta especie. Se encontraron 20 cromosomas en tejidos somáticos.

La forma de los cromosomas, en lo general, no se observa que haya variado profundamente.

Cuenta con 3 pares de cromosomas más grandes que el resto. El par de cromosomas más pequeño casi afectan la forma de un punto. Las células de los tejidos de la raíz, en su generalidad, son grandes pero nunca se observa que los cromosomas ocupen toda su parte interna, sino que más bien se concentran en la parte central dando así dificultad al contarse o estudiarse morfológicamente.

Theobroma (Harr). albiflorum (Goudot)

Esta planta juntamente con casi todas las de este grupo reciben los nombres de "cacaítos del monte", "cacao cahoni" o "cacao cuadrado". Por lo general los nativos que habitan donde existen estos arbustos, no distinguen con nombres, las diferentes especies.

La fotografía No. 3 muestra una planta de esta especie, en la cual se pueden apreciar su hábito vegetativo en forma de una sembrilla, produciendo flores y más tarde frutos en el tronco. Las hojas son digitadas con grandes pecíolos. Tienen dos pulvinos, uno en la inserción al tronco y el otro en la unión al limbo.

No consta sino de un sólo tallo y su crecimiento es siempre a través de la yema terminal. Según se sabe puede alcanzar alturas de 8 a 10 metros pero su tallo permanece delgado y su crecimiento es muy retardado.



Fot. No. 8

Theobroma albiflorum (Goudot)

I. C. T. A.



Fig. 14

Cromosomas en metafase somática
en células de puntas de raíz de
Th. albiflorum.
Idiograma tentativo de la especie
(2500 X)

Una de los caracteres que más distinguen a las plantas de la sección a la cual pertenece esta especie (Herrania), es la posesión de semillas ya no convolucionadas como en las otras secciones, sino sólidas.

Su distribución geográfica abarca sólo la parte norte de la América del Sur incluyendo Colombia, Ecuador y Venezuela. Algunos botánicos lo han reportado hasta Costa Rica y Panamá. (Pittier, 1908), (Hemsley, 1879-88).

Se dice que los indios preparan una clase de chocolate con las almendras de estas plantas.

Abundantes raíces se obtuvieron de pecíolos con hojas puestos, en los propagadores.

Se contaron 20 cromosomas en metafases de células en división.

Los cromosomas no son definitivamente más grandes en esta especie. Aparecen más delgados y más contrastados que en las secciones anteriores.

Es sorprendente cómo varía la dificultad para fijar y colorear las preparaciones en las distintas especies. El Theobroma bicolor fue el más difícil de manipular y las especies de esta sección resultaron las más fáciles.

Realmente aquí la apariencia de los cromosomas es un poco distinta, pero, al estudiarse cuidadosamente resultan de mínima cuantía.

El esquema de los cromosomas en esta especie explicará por sí solo las formas y tamaños observados.

Theobroma purpurum Pitt.

"Cacao de ardilla".

Es un arbusto que alcanza hasta 4 metros de altura.

Tiene hojas digitadas con 5 folíolos, sin embargo este carácter no parece constante.

Las flores son pequeñas y naciendo en las 3/4 partes de la longitud del tronco. (Fotografía No. 9.)

El fruto es amarillo al madurar al igual que la especie anterior. Tiene muy poca pulpa y sus semillas ofrecen un sabor amargo a pesar de que son blancas; del tamaño de un grano de maíz. Tiene pétalos púrpuras de lo que se cree deriva su nombre.

Estas plantas nunca han sido estudiadas genéticamente, sin embargo no existe record de que sea atacada ya sea por la "Escoba de Bruja" (*Marasmius perniciosus* Stabel) o por *Phytophthora faberi*. Pound (1938) encontró que una especie de la sección *Herrania* con frutos rojos era atacada por la Escoba de Bruja y en cambio una con fruto verde nunca se vió afectada por esa enfermedad a pesar de crecer bajo árboles fuertemente atacados. (sic).

Según Pittier (1908) los indios Bribí de Costa Rica usan las semillas tostadas para hacer una bebida amarga. Su distribución geográfica no está bien definida, sin embargo todo hace pensar que sea nativa de Costa Rica.

Sus cromosomas somáticos también fueron preparados de raíces de hojas.

Se contaron 20 cromosomas como número diploide. Afectan formas muy semejantes al grado de aparecer con la amplificación usada iguales a los de la especie anterior.



Fot. No. 9

Theobroma purpuraceum

I. C. T. A.



Fig. 15

Cromosomas somáticos en metafase
de células en puntas de raíz de
Th. purpureum (2500 X)

Theobroma pulcherrimum (Goudot)

Esta planta fué descrita de los altos Llanos de Colombia y ahora se le puede observar creciendo en el Valle del Cauca * en plena insolación.

Se caracteriza por sus tallos sencillos con flores en densos glomérulos de 20 a 30. Los pétalos son rojos con venas oscuras.

El fruto es tan anguloso como el de las anteriores Herranias y abarca coloraciones rojizas que pueden cubrir todo o parte del fruto.

Se halló el mismo número 20 de cromosomas en los tejidos de puntas de raíz.

Los cromosomas son iguales a los de las otras dos especies de la Sección Herrania.

* Altura sobre el nivel del mar 1200; precipitación pluvial variando entre 900 y 1000 mms.; temperatura media mensual entre 18°C y 30°C.



Fig. 16

Cromosomas somáticos de
Th. pulcherrimum (2000 X)

DISCUSION

Este estudio indispensable de los cromosomas de unas cuantas especies * que constituyen la mayor parte del género Theobroma (incluyendo las del grupo Herrania), aunque abarca lo apenas mínimamente indispensable, permite formular lo siguiente:

1. Se adelanta la aserción de que el número básico de cromosomas en todo el género Theobroma es 10 y no 8 como los investigadores: Cheesman (1927), Nyper (1914) y Heyn (1930), inicialmente habían establecido.

2. Se han confirmado los estudios en este aspecto de Davis (1955) quien fué el primero en reportar para Theobroma cacao, un número cromosómico de 20 y el de Carletto (1946) reportando 20 como número diploide para las especies: Th. cacao, Th. bicolor, Th. spissimum y Th. grandiflorum.

3. La opinión del autor es que el hecho de haberse encontrado igual número de cromosomas, con formas y tamaños muy semejantes, no da idea de la cercanía filogénica de las especies, sino mas bien la dificultad para mutar en grupos completos (sets) o en cromosomas aislados. Las variaciones morfológicas entre las diferentes especies se podrían interpretar como resultado de selecciones naturales en mutaciones génicas (dentro de las especies), acompañadas de cruas interespecíficas.

* Además de las especies tratadas en el texto de esta nota, se trabajó con otras 3 más, las cuales no son expuestas por no estar seguro de su correcta identificación taxonómica.

Mientras los estudios genéticos no aseguren los hechos anteriores se puede apoyar en las cruces hasta ahora verificadas. Pognette (1945) ha logrado cruzar algunas especies silvestres con el *The. cacao* y O'Neill Addison (1947) ha obtenido cruces con *The. cacao* de todas las especies (a excepción de *The. bicolor*) que ocurran en el Amazonas.

4. En cuanto a la Filogenia del género como un todo, poco se ha podido adelantar con el presente estudio. Hasta donde quien escribe está enterado, no ha habido tentativa para estudiar a la familia conjuntamente. El género *Cola* morfológicamente parece muy relacionado al *Theobroma* y al revisar su número cromosómico pareciera ser diploide del primero; sin embargo en unas preparaciones hechas en *Cola acuminata* se observaron 40 cromosomas somáticos los cuales son bastante diferentes en tamaño y forma. No siendo el género *Theobroma* altamente típico de la familia y existiendo muchos huecos por llenar en su estudio sería muy aventurado adscribirle un estrecho parentesco con otros géneros. Quizás se encuentre utilidad al estudiar al *Sterculia* y *Quararuba*, dadas las aseveraciones de Chatelier (1940), de que las especies actuales (de las Buettnerianas) parecen derivar de linajes (strains) comunes, caracterizadas por flores diplostemonas y sin^o pétalos de fórmula floral: $5S - 5P + (2 \times 5) E + 5C$ ó de apétalas polistemonas de $5S + \infty + E 5C$.

5. En cuanto a las especies dentro del género y particularmente los cacaos cultivados, el presente estudio sugiere la conveniencia de tratar más cuidadosamente su aspecto genético. Morfológicamente son especies completamente características, pero con un conjunto bastante grande de caracteres comunes. El profesor

Cheesman en comunicación personal dice "to my mind Theobroma cacao (refiriéndose a todos los cacaos comerciales) is such a very distinct species that its differentiation must go a long way back" pero el olor de los cacaos del Ecuador (Var. Arriba), el vigor del árbol, los estambres rosados (en su mayoría) y en algunas ocasiones el aspecto recurrente de las ramas (caracteres del Ta. bicolor) nos hace pensar que la hibridación inter-específica aún en la actualidad complica la distinción clara entre diferentes especies.

6. La comparación del número cromosómico entre diferentes géneros y los aquí encontrados para los supuestos Theobroma y Herrania no sostiene por más tiempo la tendencia a separarlos. Sin embargo, muy a pesar de que ya se han obtenido cruces entre especies que pertenecen a estos distintos géneros, la solución final al problema la darán investigaciones genéticas y fisiológicas.

7. Como punto de inmediata utilidad práctica puede deducirse el hecho, de que la comprensión del mecanismo de la herencia demanda un conocimiento definido del número de cromosomas y su comportamiento durante la meiosis de las formas, no solo que el investigador desea mejorar, sino también de las especies más cercanas.

SUMARIO

1. Se ha discutido el estado taxonómico en que se encuentra el género, como parte integrante de una familia. Se induce la necesidad de estudiarlo desde varios ángulos para definir así, una clasificación más natural que implique las relaciones que puedan existir entre las distintas especies.
2. Se reporta el número y morfología de los cromosomas de 15 especies y una mutación, las cuales constituyen unidades relativamente bien definidas, y de mayor aceptación por los botánicos sistemáticos. Abarcan todas las secciones y subsecciones en que se ha dividido taxonómicamente al género.
3. Se ha encontrado como número de cromosomas somáticos 20 para todas las especies ($2n = 20$) y 19 para una planta de *Th. cacao* pero con hojas arrugadas y enana.
La morfología de los cromosomas se reporta como muy constante entre las distintas especies, creando de esta manera más que diferencias, puntos de contacto entre ellas y entre los distintos grupos.
4. Se señalan en cada caso los usos prácticos que hasta ahora han tenido esas especies, para terminar sugiriendo la posibilidad que existe de mejorar, las hasta ahora explotadas comercialmente, con los caracteres que a las silvestres se les han observado.

LITERATURA CITADA

ADDISON O'NEILL, G., 1947
Melhoramento do cacauzeiro
Instituto Agronômico do Norte, Brasil. (Sin publicar)

X BALDWIN, J.T., 1939
Chromosomes from leaves
Science 90:240

BELLING, J., 1930
The use of the microscope

BENTHAM, G. y HOOKER, J.D., 1862-1867
Genera Plantarum
Londres

BERNOLLI, G., 1869
Vebersicht der bis jetzt bekannten Arten von Theobroma
Denksch Schweiz. Natur. Gesell., 29 pp. 1-15

X CARLETTO, G. M., 1946
O número de cromossomos em cacauzeiros
Bol. Tec. No. 6. - Instituto do Cacau da Bahia

X COOK, G. F., 1916
Branching and flowering habits of cacao and patachte (Theobroma
bicolor)
Cont. U. S. Nat. Herb., 17, part. 8

CUATRECASAS, J., 1944
Notas a la Flora de Colombia, VI
Rev. de la Ac. Colombiana de Cien. Ex. Fis. y Nat. Vol. III,
p. 247, Colombia

CUATRECASAS, J., 1946
Notas a la Flora de Colombia IX
Rev. Acad. C. de C.E.F. y Nat., Vol. IV, No. 24, pag. 547,
Colombia

CHATELIER, Gérard, 1940
Recherches sur les Sterculiaceae
Thesis. Fac. Sci. Montpellier

X CHATTAWAY, M., 1938
The cell in the rays of Malvales
The New Phytologist t, XXXII, p. p. 261 - 273

X CHATTAWAY, M., 1939
The wood of the Sterculiaceae
The New Phytologist, t. XXXI, pp. 119-132

- X CHEESMAN, E.E., 1927
Fertilization and Embryogeny in *Theobroma cacao* L.
Ann of Bot., Vol. XLI, No. GLXI, pp. 107-126
- CHEESMAN, E.E., 1933
Recent botanical researches in cacao
The Empire Journal of Exper. Agric. Vol. VI, No. 23
- CHEESMAN, E.E., 1944
Notes on the nomenclature, classification and possible relationships of cacao populations
Trop. Agriculture, Vol. XXI, No. 8, pp. 144-150, Trinidad, B.W.I.
- CHEESMAN, E.E., y SPENCER, G.E.L., 1936
The vegetative propagation of cacao
Fifth Ann. Rep. on Cacao Res. pp. 4-6, Trinidad, B.W.I.
- CRUZ, Martin de la, 1940
The *Badianus* manuscript
Codex Barberini. Latin 241. An Aztec Herbal. of 1552.
Introduction, Translation and Annotations by Emily Walcott
Esmart. The Johns Hopkins Press, Baltimore.
- X DAVIE, J. H., 1935
Chromosome studies in the Malvaceae and certain related families -
II
Genetica. Vol. 17, No. 493, pp. 5-6
- X DUMONT, A., 1887
Recherches sur l'anatomie comparée des Malvacées, Bombacées,
Tiliacées et Sterculiacées
Ann. Sc. Nat. Bot. 7^e Serie, T. VI
- X DUCKE, A., 1940
As espécies brasileiras de cacau (Gênero *Theobroma* L). na
Botânica Sistemática e Geográfica
Rodriguesia Ano IV, No. 13, pp. 264-276, Brasil
- X EDLIN, H. L., 1938
A critical revision of certain taxonomic groups of the Malvales
The New Phytologist. Vol. XXXIV, No. 1
- ENGLER, A. y PRANTL, K., 1896
Die natürlichen Pflanzenfamilien
Leipzig
- X GARCIA BARRIGA, H., 1941
Tres especies de *Herrania* de la Flora Colombiana
Galsasia 2, pp. 55-59, t. 1, 2, 3, 4. Colombia
- GOUDOT, 1884
Ann. Sc. Nat. Ser. III 2 - 230 t-5

HENSLEY BOTTING, W., 1879-1888
Biologia Centrali - Americana
Londres

HERNANDEZ, F., 1615
Historia de las plantas de Nueva España

HEYN, A. N., 1930
Die Befruchtung bei Theobroma cacao
Proc. of the Royal Academy of Sciences. Amsteran. Vol. 33,
p. 633

LINNEO, C., 1763
Philosophia Botanica
Viena

KUYPER, J., 1914
Die Entwicklung des weiblichen Geschlechts-Apparats bei Theobroma
cacao
Recueil des Travaux botaniques néerlandais, XI, pp. 37-43

MYERS, J.G., 1930
Notes on wild cacao in Surinan and British Guiana
Kew Bull. 1-10

POUND, F.J., 1928
Cacao and Witchbroom Disease of South America
Trinidad

PITTIER, H., 1908
Ensayo sobre las Plantas Usuales de Costa Rica
Washington D.C.

PITTIER, H., 1930
A propos des cacaoyers spontanés
Rev. de Bot. Appl. & D'Agrie. Trop. Bul. No. 110. 10 anné

POBLETTE, A.F., 1945
Inter-specific pollination in Theobroma
Trop. Agric. Vol. XXII, No. 10, pp. 188-90

PREUS, P., 1901
Expedition nach Central und Sudamerika
Berlin

X **RANDOLPH, L.F., 1935**
A new fixing fluid and a revised schedule for the paraffin
method in plant cytology
Stain Technology, 10: pp. 395 - 6

SASS, J.E., 1940
Elements of Botanical Microtechnique, p. 76

× SCHULTES, R.E., 1942

A new species of *Herrania* from Putumayo
Caldasia, No. 4, pp. 19-24. Colombia

SPRAGUE, T.A., 1916

Tarristia utilis
Kew Bull. pp. 85-86

STAEHL, G., 1947

A New method for rooting *Hevea* cuttings and other trees
Trop. Agric. Vol. XXIV, Nos. 1 - 3, pp. 4-5

WOODSON, R.E., y SCHERY, R.W., 1942

Contributions toward a Flora of Panama, VI
Ann. of Mis. Bot. Gard., U.S.A. pp. 360-1