

Mezcla de ácido naftalenacético y polen, ¿se puede considerar una alternativa para la obtención de frutos normales dentro de la polinización artificial en el híbrido *Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis*?*

Mixing 1-Naphthaleneacetic Acid and Pollen, Could it be Considered as an Alternative for Obtaining Normal Fruits within Artificial Pollination in the Hybrid *Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis*?

CITACIÓN: Ruiz-R, R., Daza, E., Calpa, Á. & Romero, H. M. (2020). Mezcla de ácido naftalenacético y polen, ¿se puede considerar una alternativa para la obtención de frutos normales dentro de la polinización artificial en el híbrido *Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis*? *Palmas*, 41(2), 38-47.

PALABRAS CLAVE: germinabilidad, viabilidad, composición física del racimo, híbrido OxG.

KEYWORDS: Germinability, viability, physical composition of the bunches, OxG hybrid

* Artículo de investigación e innovación científica y tecnológica.

RECIBIDO: abril de 2020.

APROBADO: mayo de 2020.

RUIZ-ROMERO RODRIGO
Investigador Titular. Programa de
Mejoramiento de Cenipalma

DAZA EDISON
Asistente de Investigación. Programa
de Mejoramiento de Cenipalma

CALPA ÁNGELA
Estudiante Universidad de Nariño

ROMERO HERNÁN M.
Director de Investigación de Cenipalma.
Departamento de Biología,
Universidad Nacional de Colombia.
hromero@cenipalma.org

Resumen

La polinización asistida es una práctica agronómica que debe hacerse en los cultivares híbridos interespecíficos OxG para lograr la formación de los racimos con eficiencias de polinización cercanas al 65 % y tasas de extracción de aceite entre 18 y 21 %. El requerimiento de la polinización asistida se debe principalmente a la baja viabilidad y potencial de germinación del polen de los híbridos. Investigaciones recientes desarrolladas por Cenipalma, usando el regulador de crecimiento ácido 1-naftalenacético (ANA) en líquido, concluyeron que es posible inducir la formación de frutos partenocárpicos (sin semilla) sin la utilización de polen, lo que conlleva a una mejor conformación del racimo y mayores rendimientos de aceite en comparación con los obtenidos en la polinización asistida. A nivel industrial se hicieron variaciones en la metodología, lo que condujo a aplicar el ANA espolvoreado sumado a la adición de polen en la mezcla, como una manera de mejorar no solo la cantidad de frutos normales sino también el prensado

del fruto en la planta de beneficio. A la fecha, no se tienen investigaciones que muestren la efectividad de esta práctica, a pesar de que se viene llevando a cabo hace más de dos años en algunas plantaciones. Es así como, el objetivo de la investigación fue evaluar el impacto de ANA sobre la viabilidad y germinabilidad del polen, siendo el primer paso para determinar los beneficios de usar la mezcla polen + ANA como una práctica comercial en los híbridos interespecíficos OxG. Los resultados mostraron que el ANA afectó negativamente la germinabilidad del polen, causando una reducción del 90 % de la tasa de germinación en menos de 30 minutos de contacto físico entre estos dos. También, la viabilidad del polen fue afectada por ANA, aunque no en la misma proporción que la germinabilidad, pues causó una reducción de 22 puntos porcentuales en la viabilidad, 20 minutos después del contacto físico entre el regulador de crecimiento y el polen. Respecto al número de frutos normales que se forman por la aplicación de la mezcla polen + ANA fue de casi un tercio de lo que se presenta cuando se usa solo polen, corroborando los resultados observados en el laboratorio. En conclusión, no se recomienda la mezcla física de polen con ANA en los híbridos interespecíficos OxG, considerando la reducción de la germinabilidad del polen y, por consiguiente, la producción de frutos normales (con almendra).

Abstract

Assisted pollination is an agronomic practice that must be done in OxG hybrid cultivars to achieve adequate bunch formation close to 65% with high oil extraction rates between 18-21%. The requirement of assisted pollination is caused mainly by the low viability and germination potential of the hybrid's pollen. Recent research developed by Cenipalma, using the plant growth regulator 1-Naphthaleneacetic acid (NAA), showed that it is possible to induce parthenocarpic (seedless) fruits without using pollen. NAA applications to female inflorescences lead to better physical composition of the bunches and higher oil yields. One of the forms to apply the growth regulator is as a powder basis in a mixture with pollen, to produce some normal fruits to improve the pressing process in the mill and oil palm kernel recovery. However, there is not enough research about the benefits of this practice (mixture pollen + NAA), taking into account that NAA could impact pollen behavior. The objective of this research was to evaluate the impact of NAA on pollen viability and germinability. This evaluation is the first step to determine the benefits of using pollen + NAA as a commercial practice in the OxG interspecific hybrids. The results showed that NAA negatively affected pollen germinability, causing a 90% reduction in the germination rate in less than 30 minutes of physical NAA and pollen contact. Pollen viability was also influenced by NAA, although not in the same magnitude as germinability. Thus, NAA caused a reduction of 22 percentage points in pollen viability at 20 minutes of physical contact between the plant growth regulator and the pollen. Regarding the number of normal fruits that are formed by the application of the mixture pollen + ANA, it was almost a third of what occurs when only pollen is used, corroborating the results observed in the laboratory. In conclusion, the physical mixture of pollen with ANA is not recommended in OxG interspecific hybrids, considering the reduction of pollen germination and therefore the production of normal fruits (with kernel).

Introducción

La siembra de cultivares híbridos OxG (*Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis*) en Colombia se ha presentado como una solución a la problemática sanitaria causada por la Pudrición del cogollo (PC) (Rincón *et al.*, 2013; Navia *et al.*, 2014; Torres *et al.*, 2016). Hasta el momento han sido devastadas en el país más de

75.000 ha de *E. guineensis* por la enfermedad (Cooman, 2019), de las cuales se han resembrado cerca de 68.000 ha con híbridos interespecíficos OxG (Ayala y Romero, 2019).

Los híbridos OxG en condiciones de polinización natural presentan una baja eficiencia de polinización (*fruit set*) que no supera el 45 % (Zambrano, 2004), lo que trae como consecuencia la mala conformación

del racimo, expresada en el reducido número de frutos normales y partenocárpicos que terminan afectando la tasa de extracción de aceite (TEA), con valores que pueden llegar a ser 12 % inferiores a los que se presentan en *E. guineensis* (Rosero y Santacruz, 2014; Sánchez *et al.*, 2011).

Como respuesta a la baja polinización natural de los híbridos se estableció como práctica la polinización asistida, que consiste en aplicar de forma manual polen de *E. guineensis* a las inflorescencias femeninas en antesis, generando una mejora en las tasas de extracción entre 18 y 21 %. Sin embargo, esta no ha sido suficiente para alcanzar tasas comparables a las de *E. guineensis* (Fedepalma, 2018). Trabajos recientes desarrollados por Cenipalma (Romero *et al.*, 2019), en los que se involucra la aplicación líquida de ácido 1-naftalenacético (ANA) en vez de polen a inflorescencias femeninas, mostraron un mayor rendimiento de aceite a racimo, debido a un incremento en la eficiencia de polinización cercana a 100 % (Romero, 2019), representada por la inducción de frutos partenocárpicos, los cuales a su vez mostraron una mayor relación de mesocarpio a fruto, variables que terminaron redundando en tasas de extracción de aceite cercanas a 25 % (Romero *et al.*, 2019).

A nivel comercial, las plantaciones en las diferentes zonas palmeras han preferido aplicar ANA en polvo sobre las inflorescencias femeninas, y además incluir polen en la mezcla, que tendría como finalidad la formación de frutos normales y facilitar el procesamiento de los racimos en planta de beneficio. Sin embargo, no hay evidencias de que esta mezcla tenga un efecto positivo en la producción de frutos normales. Siendo así, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de ANA sobre la viabilidad y germinabilidad del polen y corroborar en campo los resultados de laboratorio a partir de aplicaciones de la mezcla de polen + ANA sobre inflorescencias, y su posterior respuesta en la composición física del racimo.

Materiales y métodos

Localización

Este trabajo se desarrolló en dos fases: Fase 1 de laboratorio, en la que se determinó el efecto del ANA sobre la germinabilidad y viabilidad de polen, y

fase 2 de campo, en la que se determinó la composición física del racimo por efecto de la aplicación en polvo de la mezcla polen + ANA durante la antesis de las inflorescencias femeninas. La fase de laboratorio se realizó en el Campo Experimental Palmar de la Sierra, ubicado en el municipio de Zona Bananera (Magdalena). Entre tanto, la fase de campo se realizó en el Campo Experimental Palmar de las Corocoras, ubicado en la vereda Naguaya, municipio de Paratebueno, Cundinamarca, Zona Oriental.

Fase 1

Pruebas sobre polen

Para las pruebas de germinación y viabilidad se utilizó polen colectado en tres fechas diferentes de los meses de abril, septiembre y octubre de 2019, constituyéndose cada polen en una repetición para un total de tres repeticiones. El diseño del experimento en laboratorio fue de bloques completamente aleatorizados y una unidad experimental de 400 granos de polen, los cuales se visualizaron en diferentes campos del microscopio, a partir de lecturas que se realizaron en cajas de Petri.

Prueba de germinabilidad

Germinación del polen en medio de agar con y sin ANA. Para las pruebas de germinación se preparó un medio de cultivo con 7,2 g de agar y 66 g de azúcar disueltos en 600 ml de agua destilada, siendo el pH del medio de 7,3. De la solución que se preparó, se separaron 200 ml para la prueba de germinación según la metodología establecida por Guataquira *et al.* (2019). A los 400 ml restantes, se le adicionó 0,48 g de ANA disuelto en 10,68 ml de etanol al 96 % para una concentración final de 1.200 ppm y un pH final de 3,9. De esta solución, se tomaron 200 ml y se corrigió el pH con hidróxido de potasio 1 M hasta alcanzar un pH cercano a 7,3. Las 3 soluciones se hirvieron hasta el punto de ebullición para posteriormente verter en alícuotas de 5 ml en cajas de Petri. Se hicieron 3 tratamientos: (1) agar a pH 7,3; (2) en agar + ANA a pH de 3,9 y (3) en agar + ANA a pH de 7,3 ajustado con KOH.

La siembra de polen se realizó poniéndolo en contacto con un trozo de algodón y haciendo barridos

ligeros sobre un tamiz de 150 mesh, con el fin de permitir que el polen cayera de manera homogénea en el sustrato. Las cajas de Petri fueron incubadas en la oscuridad y a una temperatura de 38 °C durante 2 horas para su germinación. Posteriormente fueron llevadas al microscopio (Optika Microscopes Italy, modelo B-383PL), donde se tomaron fotografías en el campo de 10X con una cámara digital (Industrial Digital Camera, modelo UCMOS1400KPA). Para la facilidad de su lectura, se hizo uso del *software* ImageJ. El porcentaje de germinación se definió de la siguiente manera, considerando como germinados aquellos granos que presentaron un tubo polínico de longitud mayor o igual al diámetro del polen (Sánchez *et al.*, 2011).

Germinación del polen a diferentes tiempos de exposición con ANA. En un experimento por separado se hizo la mezcla del polen con el ANA en polvo (polen + ANA) en la relación que se utiliza para la aplicación de una inflorescencia. Luego se hicieron siembras de esta mezcla cada 10, 20 y 30 minutos en el medio agar-azúcar. Adicionalmente, se tuvo un control absoluto, que se trató de la siembra del polen sin que fuera mezclado con ANA. Durante el tiempo de evaluación se hizo la agitación de la mezcla para mantener en constante contacto el polen con el ANA. El tiempo máximo que se utilizó para el ensayo (30 minutos) se basó en el tiempo que puede requerir una persona en campo para descargar totalmente su contenedor con polen. El porcentaje de germinación se calculó como se explica en la Ecuación 1.

Prueba de viabilidad

Viabilidad de los granos de polen a diferentes tiempos de exposición con ANA. De las mismas muestras

que se prepararon para las pruebas de germinación del polen en diferentes tiempos de exposición con ANA, se tomaron otras muestras y se colocaron en el portaobjetos, se les añadió dos gotas de acetocarmin y posteriormente se cubrieron con el cubreobjeto. Estas fueron llevadas a la oscuridad por 5 minutos y luego leídas en el microscopio como se explicó anteriormente. El porcentaje de viabilidad se definió de la manera como se muestra en la Ecuación 2.

Análisis estadístico

El diseño experimental para esta fase fue de bloques completos al azar con tres repeticiones. El factor de bloqueo correspondió a los diferentes momentos de colecta del polen que fue usado. Por tratamiento y repetición se contaron aproximadamente 400 granos de polen en cada una de las variables evaluadas.

Fase 2

Se seleccionaron palmas del híbrido interespecífico OxG Brasil x Djongo, siembra 2012, y se realizaron aplicaciones de los tratamientos en las inflorescencias femeninas de cada palma en estadio fenológico 607 (antes de la anthesis), durante un periodo de 6 meses. Se aplicó un tratamiento polen + ANA que consistió en 3 g de mezcla compuesta de 8 % de ANA (240 mg), 3,3 % de polen (100 mg) y 88,7 % de talco (2.660 mg), y un tratamiento control que consistió en la polinización asistida tradicional, donde se aplicaron 3 g de mezcla polen:talco en una relación 1:9. Después del tiempo de maduración, los racimos fueron cosechados en estadio fenológico 807 para su posterior análisis.

Ecuación 1.

$$\% \text{ germinación} = \frac{\text{Número de granos germinados}}{\text{Número de granos germinados} + \text{número de granos no germinados}} \times 100$$

Ecuación 2.

$$\% \text{ viabilidad} = \frac{\text{Número de granos de polen coloreados}}{\text{Total de granos de polen}} \times 100$$

Análisis de los componentes del racimo

Los componentes del racimo y el porcentaje de formación de frutos normales y partenocárpicos se cuantificaron entre los meses de mayo a septiembre de 2019, según la metodología de Prada y Romero (2012). A partir de los datos se determinó la eficiencia de la polinización (*fruit set*), para lo cual se determinó el número de frutos normales (FFN), el número de frutos partenocárpicos (FFP) y el número de frutos abortados (FFAB); adicionalmente, se calculó la proporción en peso de frutos a racimo para frutos normales (FNR) y partenocárpicos (FPR); almendra a racimo (AlmR) y cuesco a racimo (CR).

Análisis estadístico

El diseño del experimento en campo fue de bloques completamente aleatorizados (BCA), bloqueo que se realizó para controlar la variabilidad asociada a las condiciones edáficas. Los tratamientos se evaluaron en 4 repeticiones y 80 palmas por unidad experimental. De cada unidad experimental se seleccionaron 15 racimos para el registro de las variables de respuesta.

Resultados y discusión

Influencia del ácido 1-naftalenacético (ANA) en la germinación del polen

El ANA redujo el pH del medio de germinación de polen agar-azúcar llevándolo desde pH 7,3 a pH 3,9. Bajo esas condiciones el porcentaje de germinación de los granos de polen fue cercano a cero por ciento (Figura 1). Caser (2017) considera que variaciones en el pH en el estigma influyen fuertemente la germinación del polen y consecuentemente el *fruit set*. Sin embargo, en el tratamiento 2 en el cual se agregó ANA y el pH fue ajustado a 7,3, la germinación del polen también fue baja, de tal manera que la disminución de la germinación del polen no estaría dada por la disminución del pH, sino por el efecto directo del ANA sobre el polen (Figura 1).

Comportamiento de la germinación del polen a diferentes tiempos de exposición del ácido 1-naftalenacético (ANA)

Cuando el ANA se puso en contacto físico con el polen se presentó una fuerte inhibición de la germinación desde los primeros diez minutos de contacto del regulador de crecimiento con el polen (Figura 2), con porcentaje de germinación cercanos al 10 %, mientras que en el tratamiento control sin ANA, la germinación estuvo por encima del 50 %.

En los granos de polen germinados con ANA (Figura 3) se encontraron casos en donde el tubo polínico logró germinar, sin que esto signifique una capacidad para llegar a fecundar el óvulo. Edlund *et al.* (2004) indican que granos de polen muertos tienen la capacidad de hidratarse igual que polen vivo, hincharse e incluso germinar, sin embargo, estos finalmente se rompen. Aunque en el presente estudio no se observó el rompimiento de granos de polen, si se apreció un acortamiento del tubo polínico en los tratamientos con ANA.

Comportamiento de la viabilidad del polen a diferentes tiempos de exposición del ácido 1-naftalenacético (ANA)

Para determinar si la baja germinación del polen en diferentes tiempos era causada por la muerte de los granos, se estudió la viabilidad de estos. Según Ordoñez (2014), granos de polen viables se colorean de rojo con acetocarmín, indicando una integridad de la membrana citoplasmática. Los resultados mostraron que la mezcla de polen + ANA a diferentes tiempos reduce significativamente ($p < 0,05$) el número de granos vivos respecto al tratamiento control, con una reducción de 22 puntos porcentuales cuando se hizo la mezcla y se dejó incubar por 20 minutos (Figura 4). Sin embargo, esta reducción en la viabilidad fue leve con respecto a la observada en las pruebas de germinación, lo que indica que el uso de ANA, aunque no provoca la muerte de los granos de polen, sí inhibe la germinación del tubo polínico y, por lo tanto, el proceso de fecundación, que termina redundando en la baja formación de frutos normales.

Figura 1. Respuesta de la germinación del polen al efecto de la aplicación de ANA en un medio agar-azúcar

Para el tratamiento donde se ajustó el pH a 7,3 se utilizó KOH. Las barras indican el error estándar. Medias con la misma letra no difieren estadísticamente ($p < 0,05$) bajo prueba de Tukey

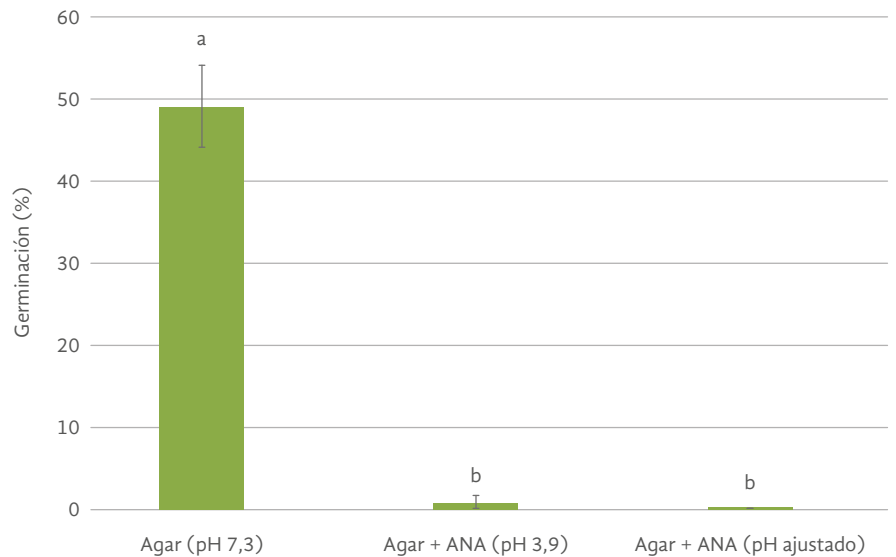


Figura 2. Respuesta de la germinación del polen al efecto de la aplicación de ANA a diferentes tiempos de exposición

t hace referencia al tiempo de contacto del polen con ANA, que para el ensayo fue de 10, 20 o 30 minutos.

Las barras indican el error estándar. Medias con la misma letra no difieren estadísticamente ($p < 0,05$) bajo prueba de Tukey

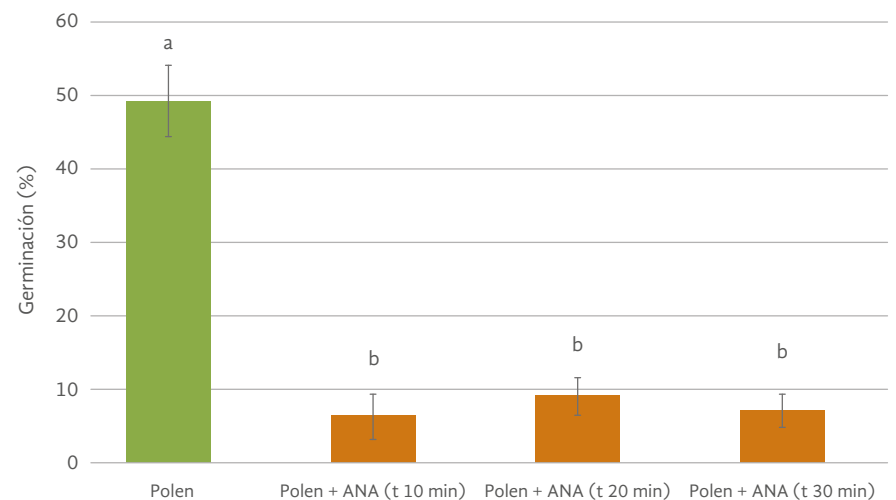
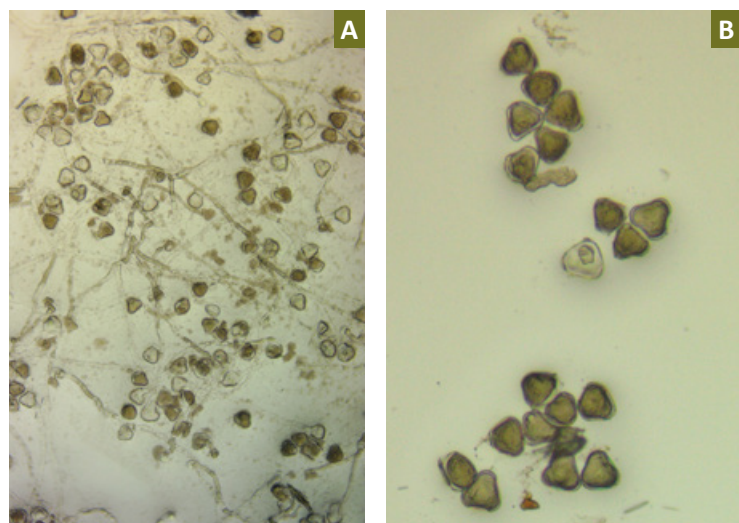


Figura 3. A: apariencia de los granos de polen en un medio sin ANA; B: detalle de la apariencia anormal del tubo polínico de un grano de polen en mezcla con ANA



Caracterización física de la composición de racimos formados a partir de la aplicación de ácido 1-naftalenacético (ANA) en mezcla con polen en condiciones de campo

Con la adición de polen en la mezcla de ANA y talco no se produjo la formación de frutos normales esperada, obteniendo casi la tercera parte de los frutos normales que se generaron mediante la aplicación

de polen. Sin embargo, se observó una mejor conformación en los racimos (*Fruit set*) tratados con la mezcla de polen + ANA con 74,7 % respecto a 65,6 % de los racimos formados a partir de la aplicación de polen. Estos resultados están asociados a una mayor formación de frutos partenocárpicos y a una reducción en el número de abortos en el racimo (Figura 5), lo que significa que este incremento puede deberse más al efecto de la aplicación de ANA que del polen, teniendo en cuenta la baja proporción de frutos normales observada.

Figura 4. Viabilidad del polen en mezcla con el ANA (polen + ANA).

Esta fue medida después de diferentes tiempos de contacto del polen con el ANA; t hace referencia al tiempo de contacto del polen en ANA, que corresponde a 10, 20 o 30 minutos.

Las barras indican el error estándar. Medias con la misma letra no difieren estadísticamente ($p < 0,05$) bajo prueba de Tukey.

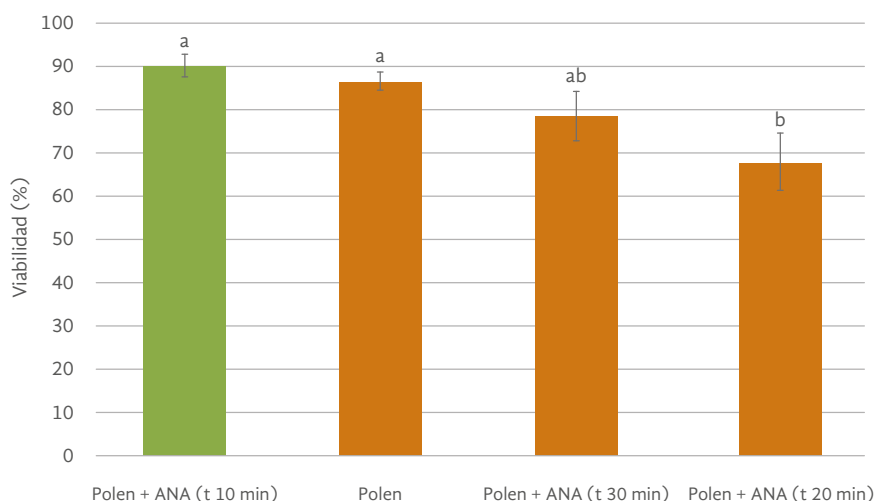
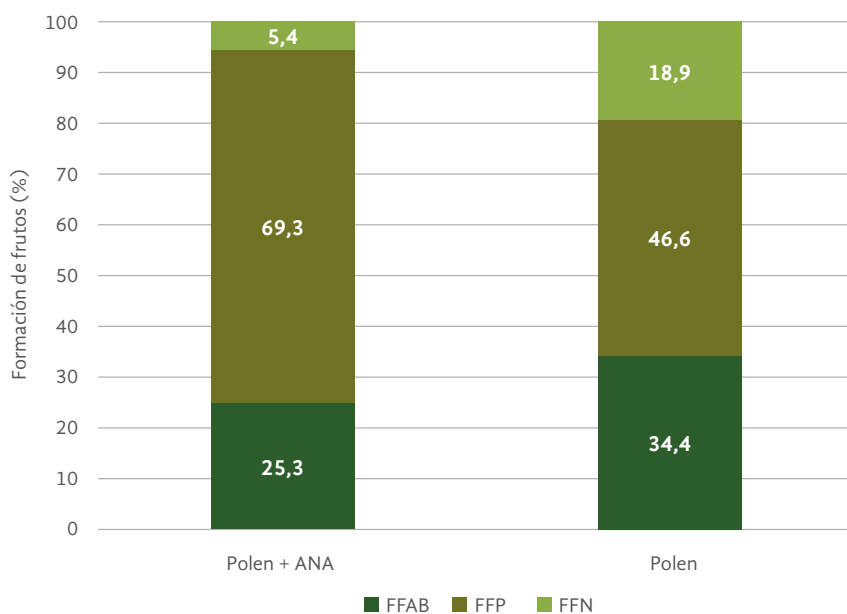


Figura 5. Relación de la formación de frutos normales (FFN), partenocárpicos (FFP) y abortados (FFAB) en el racimo para inflorescencias en antesis donde se aplicó solo polen y para inflorescencias tratadas con una mezcla de polen + ANA



En los racimos tratados con la mezcla de polen + ANA predominaron los frutos partenocárpicos con el 50,9 % del aporte en peso del racimo, mientras que los frutos normales aportaron solamente 8,2 % del peso del racimo. En el caso de los racimos tratados con polen, el aporte de los dos tipos de frutos en el peso del racimo fue más equilibrado con un 31,3 % para los frutos normales y un 29,3 % para los partenocárpicos (Figura 6). Con estos resultados se observa la reducida eficiencia del uso del polen en la mezcla, ya que el aporte en peso a racimo de los frutos normales representa una cuarta parte de lo que se obtiene cuando solo se aplica polen.

Debido a la baja formación de frutos normales en los racimos que se producen de la mezcla de

polen + ANA se presentó una menor proporción de nuez con valor de 2,2 % (almendra 0,5 % y cuesco 1,7 %), que representa aproximadamente la tercera parte de lo que se produce con el método de polinización asistida tradicional (Figura 7). Con estos resultados, la cantidad de cuesco que se produce de los racimos tratados con la mezcla de polen + ANA no es suficiente para superar las dificultades que se tienen en el prensado por el procesamiento de la fruta producida con el regulador de crecimiento (Comité de Plantas de Beneficio Zona Suroccidental, 2019). En *E. guineensis* se tiene estimado que 10 % de nuez a racimo es requerido para el adecuado prensado en condiciones de planta de beneficio (Prada y Romero, 2012).

Figura 6. Relación de la formación de frutos normales (FNR) y partenocárpicos (FPR) con respecto al peso del racimo para inflorescencias en antesis donde se aplicó solo polen y para inflorescencias tratadas con una mezcla de polen + ANA

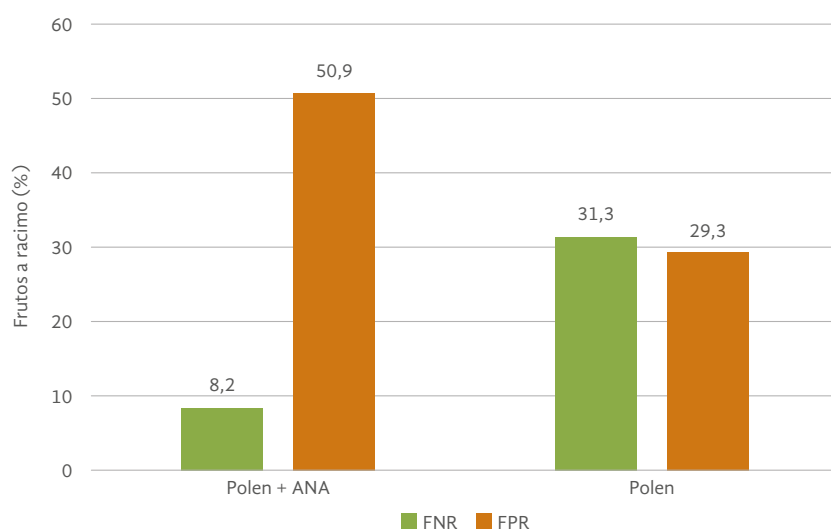


Figura 7. Composición de racimos con relación a la formación de almendra a racimo (AlmR) y cuesco a racimo (CR) para inflorescencias en antesis donde se aplicó solo polen y para inflorescencias tratadas con una mezcla de polen + ANA



Conclusiones

El regulador de crecimiento ANA disminuye la viabilidad y la germinación del polen, lo cual termina afectando negativamente la formación de los frutos normales y por lo tanto, de la cantidad de almendra. De esta manera no se recomienda la mezcla polen + ANA para la polinización de los híbridos interespecíficos OxG, en donde se termina incurriendo en un costo adicional de la labor por la compra del polen, que no cumple una función dentro de la polinización.

Los cambios observados en los racimos formados a partir de la aplicación de la mezcla polen + ANA

corroboran los resultados de las pruebas de viabilidad y germinación en laboratorio, evidenciando que el ANA genera una alteración o inhibición de las condiciones en las que el polen realiza el proceso de fecundación, lo que se traduce en la baja formación de frutos normales respecto a lo obtenido mediante la polinización tradicional. Sin embargo, si se desea aplicar polen y ANA, se recomienda usar por separado el polen únicamente en la primera aplicación para aquellas inflorescencias que se encuentren en el estadio fenológico 607 (antes), complementando posteriormente con ANA a los 7 y 14 días después de la primera aplicación.

Bibliografía

- Ayala, I. & Romero, H. M. (2019). Cultivares híbridos OxG y la reactivación productiva de zonas problema con PC. En *XV Reunión Técnica Nacional de Palma de Aceite*. Bucaramanga, Colombia.
- Caser, M. (2017). Pollen Grains and Tubes. Reference Module in Life Science, *Elsevier*. doi:org/10.1016/B978-0-12-809633-8.05077-9
- Comité de Plantas de Beneficio Zona Suroccidental. (2019). Experiencias del procesamiento de cultivares híbridos con polinización artificial. En *XV Reunión Técnica Nacional de Palma de Aceite*. Bucaramanga, Colombia.
- Cooman, A. (2019). De la investigación al cambio productivo. En *XV Reunión Técnica Nacional de Palma de Aceite*. Bucaramanga, Colombia.
- Edlun, A., Swanson, R. & Preuss, D. (2004). Pollen and Stigma Structure and Function: The Role of Diversity in Pollination. *Plant Cell*, 16, S84-S97.
- Fedepalma. (2018). *Anuario estadístico. La agroindustria de la palma de aceite en Colombia y en el mundo 2013-2017*. Bogotá (Colombia), 192p.
- Guataquira, S., Mesa, E., Ruiz-Romero, R. & Romero, H. M. (2019). Evaluación de la viabilidad y germinabilidad del polen durante la labor de polinización asistida en campo. *Revista Palmas*, 40(1), 13-20.
- Navia, E. A., Ávila, R. A., Daza, E. E., Restrepo, E. F. & Romero, H. M. (2014). Assessment of Tolerance to Bud Rot in Oil Palm Under Field Conditions. *Eur. J. Plant Pathol.* doi:10.1007/s10658-014-0491-9.

- Ordoñez, B. (2014). *Determinación de la viabilidad y fertilidad del polen*. Lima, Perú: Centro Internacional de la Papa (CIP) 8p. Recuperado de <http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/05/006140-2.pdf>
- Prada, F. & Romero, H. M. (2012). *Muestreo y análisis de racimos en el cultivo de la palma de aceite. Tecnologías para la agroindustria de la palma de aceite: guía para facilitadores*. Bogotá, Colombia: Cenipalma-Fedepalma, SENA-SAC. pp. 158.
- Rincón, S. M., Hormaza, P. A., Moreno, L. P., Prada, F., Portillo, D. J., García, J. A. & Romero, H. M. (2013). Use of Phenological Stages of the Fruits and Physicochemical Characteristics of the Oil to Determine the Optimal Harvest Time of Oil Palm Interspecific OxG Hybrid Fruits. *Industrial Crops and Products*, 49, 204-210.
- Romero, H. M., Daza, E., Urrego, N., Ayala, I., Rivera-Mendez, Y. & Ruiz-Romero, R. (2019). How to reach 10 tons of oil per hectare per year: induction of high oleic oil production from parthenocarpic fruits in oil palm OxG interspecific hybrids (*Elaeis oleifera* Cortes x *Elaeis guineensis* Jacq.). *Memories International Oil Palm Conference, PIPOC 2019*. Kuala Lumpur, Malasia.
- Romero, H. M. (2019). La polinización artificial con reguladores de crecimiento incrementa la producción de aceite en híbridos interespecíficos OxG. *Revista Palmas*, 40(Especial Tomo I), 140-141.
- Rosero, G. & Santacruz, L. (2014). Efecto de la polinización asistida en la conformación del racimo en material híbrido OxG en la plantación Guaicaramo S. A. S. *Revista Palmas*, 35(4), 11-19.
- Sánchez, A., Daza, E., Ruiz-Romero, R. & Romero, H. M. (2011). *Polinización asistida en palma de aceite. Tecnologías para la agroindustria de la palma de aceite: guía para facilitadores*. Bogotá, Colombia: Cenipalma-Fedepalma, SENA-SAC. 168 p.
- Torres, G. A., Sarria, G. A., Martínez, G., Varón, F., Drenth, A. & Guest, D. I. (2016). Bud Rot Caused by *Phytophthora palmivora*: A Destructive Emerging Disease of Oil Palm. *Phytopathology* 106, 320-329. doi:10.1094/PHYTO-09-15-0243-RVW
- Zambrano, J. (2004). Los híbridos interespecíficos *Elaeis oleifera* H. B. K. x *Elaeis guineensis* Jacq. Una alternativa de renovación para la Zona Oriental de Colombia. *Revista Palmas*, 25 (Especial Tomo II), 339-349.