

**INIAP**

**INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS**

**ESTACIÓN EXPERIMENTAL PORTOVIEJO**

**PROGRAMA DE CACO Y CAFÉ**

**INFORME ANUAL DE GESTIÓN 2021**

**ENERO 2022**

## INFORME ANUAL 2021

- 1. Programa:**  
Cacao y Café
- 2. Director de la Estación Experimental:**  
Ing. Luis Duicela Guambi PhD.
- 3. Responsable Programa:**  
Ing. Geover Peña Monserrate Mgs.
- 4. Equipo técnico multidisciplinario I+D+i:**
  - a. Programa Nacional de Cacao y Café**  
Ing. Gastón Loor PhD. (EETP)  
Ing. Ignacio Sotomayor Cantos MSc. (EETP)  
Ing. Luis Plaza Mgs. (EETP)  
Ing. James Quiroz MSc. (EELS)  
Ing. Cristian Subía MSc. (ECA)  
Ing. Darío Calderón (ECA)
  - b. Sección DNPV-EEP**  
Ing. Ernesto Cañarte PhD. (EEP)  
Ing. Bernardo Navarrete MSc. (EEP)  
Ing. Alma Mendoza (EEP)
  - c. Sección Agroforestería**  
Ing. Ricardo Limongi MSc. (EEP)
  - d. Sección Transferencia de Tecnología-Planificación**  
Ing. Benny Avellán Mgs. (EEP)  
Ing. Andrea Álava (EEP) Hasta octubre de 2021
  - e. Equipo científico de soporte**  
**Blgo. Ramón Jaimez A. Ph. D. (UTM-FIAG).**  
Equipo de Investigación en manejo, nutrición y ecofisiología de cultivos. Facultad de Ingeniería Agronómica.  
**Ing. José Pico M. Ph. D. (UTM-FIAG)**  
Programa de Conservación de Especies Endémicas en Peligro de Extinción en la Provincia de Manabí.  
**Ing. Jorge Intriago. Mgs. (Maquita)**  
Técnico de campo Proyecto Emprendimiento femenino en la multiplicación de plántulas de combinaciones de patrón y clones de cacao
- 5. Financiamiento:** Gasto Corriente Estación Experimental Portoviejo
- 6. Proyectos:** Emprendimiento femenino en la multiplicación de plántulas de combinaciones de patrón y clones de cacao con características de tolerancia al déficit de agua. CONVENIO: "PRODUCCIÓN ECOLÓGICA, COMERCIO JUSTO Y CONSUMO RESPONSABLE, ECUADOR", CÓDIGO 18-CO1-0928.

## 7. Socios estratégicos para investigación:

Ministerio de Agricultura y Ganadería  
Universidad Técnica de Manabí – Facultad de Ingeniería Agronómica  
Corporación Fortaleza del Valle  
Fundación Maquita  
GIZ

## 8. Publicaciones:

### a. Artículos científicos.

Ramón E. Jaimez.; **Geover Peña.**, Luigy Barragan.; Eduardo Chica.; Francisco Arteaga.; George Cedeño. (2021) Effects of water deficit on water relations and chlorophyll a fluorescence of rootstock-scion combinations in cacao seedling. Journal: Scientia Horticulturae Q1, Editorial Elsevier. Submission sep 2021.

### b. Tesis de Posgrado

**Peña G.** (2021) Repuesta morfológica y fisiológica en diferentes combinaciones de patrón-injerto de cacao (*Theobroma cacao* L.), sometidas a déficit hídrico en etapa de vivero (Tesis de Maestría, Universidad Técnica de Manabí)

### c. Misceláneos

Jaimez, R., **Peña, G.**, Arteaga, F. & Cedeño, G. (2021). Guía 8: Evaluación de genotipos de cacao como portainjertos para reducir la absorción de cadmio del suelo. Caja de herramientas para la prevención y mitigación de la contaminación de cadmio en la cadena de cacao-Ecuador (1.ª ed., pp. 1-14). Quito, Ecuador. [https://balcon.mag.gob.ec/mag01/magapaldia/Caja%20de%20Herramientas\\_Cadmio\\_Cacao/ISBN:978-9942-22-521-4](https://balcon.mag.gob.ec/mag01/magapaldia/Caja%20de%20Herramientas_Cadmio_Cacao/ISBN:978-9942-22-521-4)

**Geover Peña.**, Rey Loor S., Ignacio Sotomayor C., Juan Jiménez B., Gladys Rodríguez Z. (2021). Clones de cacao fino y de aroma de alto rendimiento para la zona de influencia del Río Portoviejo. Plegable N°463. Estación Experimental Portoviejo. INIAP. 2021.

## 9. Participación en evento de difusión científica, técnica o de difusión:

### a. Eventos científicos

**Peña, G.**, Conferecista X Evento Internacional La Universidad en el Siglo XXI, realizado los días 18 y 19 de noviembre de 2021, con el tema: “RESPUESTA MORFOLÓGICA Y FISIOLÓGICA EN NUEVE COMBINACIONES PATRÓN-INJENTO DE CACAO SOMETIDAS A DÉFICIT HÍDRICO EN ETAPA DE VIVERO”

### b. Eventos técnicos (expositor)

**Peña, G.**, Avellan B. Taller práctico de capacitación “Diseños de siembra agroforestal para el establecimiento de parcelas de cacao” 12/02/2021. Canuto-Chone (28 participantes).

**Peña, G.**, Avellan B. Taller práctico sobre “Socialización de la Escuela de campo de cacao Fortaleza del Valle”. 27/04/2021. Calceta-Bolívar (12 técnicos participantes MAG-Fortaleza del Valle).

**Peña G.,** Barrera, V. Taller sobre “Factores que influyen en la cadena de valor de la pitahaya (*Hylocereus undatus* L.), en la provincia de Manabí”. 12/05/2021 (15 participantes AsopitahaManabí).

**Peña, G.** Taller práctico sobre “Emprendimiento femenino en la multiplicación de plántulas de combinaciones de patrón y clones de cacao con características de tolerancia al déficit de agua”. 15-16-17/06/2021. Portoviejo (45 productoras).

**Peña, G.,** Avellan. B., Escuela de campo de cacao Fortaleza del Valle Módulo Caracterización morfológica de grupos genéticos de cacao. 15/07/2021. Portoviejo (22 participantes).

**Peña, G.,** Avellan. B., Escuela de campo de cacao Fortaleza del Valle Módulo Taller polinización asistida en cacao para la producción comercial y mejoramiento genético. 17/11/2021 (13 participantes).

#### c. Día de campo

**Peña, G.,** Jiménez, J., Cañarte, E., Mendoza, A., Avellán, B. Día de campo Ampliación de la recomendación para el uso de clones de cacao EET 800 y EET 801 en el valle del río Portoviejo. 29/10/2021. Santa Ana (56 participantes).

#### d. Revisor de Proyectos

**Peña, G.,** Revisor de Proyectos para la XI CONVOCATORIA DE PROYECTOS I+D+i. Tema: SERVICIO ECOSISTÉMICO Y POLINIZADORES EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE CACAO, CON VARIOS SUSTRATOS ALIMENTICIOS EN MANABÍ. Directora de Proyecto: Silvia Lorena Montero Cedeño. Calceta, 18 de junio 2021.

#### e. Designaciones

**Peña, G.** Designado como cotutor en el trabajo de tesis de pregrado “Diferencias en la producción de combinaciones patrones-injertos de cacao (*Theobroma cacao* L) en un sistema agroforestal”, mediante oficio Of. N°0768-FIAG-D-UTM con fecha 29 de septiembre de 2021

### 10. Propuestas presentadas:

#### Propuesta 1.

**Título:** Emprendimiento femenino en la multiplicación de plántulas de combinaciones de patrón y clones de cacao con características de tolerancia al déficit de agua. **CONVENIO:** “PRODUCCIÓN ECOLÓGICA, COMERCIO JUSTO Y CONSUMO RESPONSABLE, ECUADOR”, CÓDIGO 18-CO1-0928

**Tipo propuesta:** Proyecto

**Fondos o Convocatoria:** UTM

**Fecha de presentación:** noviembre 2020

**Responsables:** Dr. Ramón Jaimez e Ing. Geover Peña

**Equipo multidisciplinario:** Ramón Jaimez, Geover Peña, Francisco Arteaga, George Cedeño,

**Presupuesto:** USD 31600

**Duración proyecto:** 240 días

**Estado:** Aprobado

**Fecha probable inicio ejecución:** enero 2021

**11. Hitos/Actividades por proyecto ejecutadas por el programa o departamento:** (Describir los hitos o actividades que se han ejecutado en el año por el programa o departamento independientemente de la fuente de financiamiento)

**Actividad 1:** Emprendimiento femenino en la multiplicación de plántulas de combinaciones de patrón y clones de cacao con características de tolerancia al déficit de agua.

**Responsable:** Ing. Geover Peña

**Colaboradores:** Dr. Ramón Jaimez, Ing. George Cedeño, Ing. Francisco Arteaga (UTM); Ing. Jorge Intriago (Maquita).

### Antecedentes

El uso de la técnica de injertación en la propagación de cacao se está usando ampliamente en Ecuador, donde la selección de los patrones (portainjerto) ha sido basada en su tolerancia a enfermedades. Sin embargo, en muchas localidades se están aún usando cualquier genotipo como patrón y los pequeños productores no tienen poca accesibilidad a patrones de alta calidad. En el caso de cacao no se conoce las respuestas fisiológicas y morfológicas de la interacción patrón - injerto en diferentes condiciones de disponibilidad de agua.

En el contexto del cambio climático es necesario tener combinaciones patrón-injerto con mayor tolerancia al déficit de agua y conocer sus efectos sobre la producción. Por otra parte, es posible lograr la participación de las productoras en una actividad como la injertación y que puede contribuir a mejorar la oferta de plántulas de cacao para los sectores de pequeños productores. Este proyecto tiene como objetivo general: Consolidar un sistema de propagación de plántulas de cacao certificados, con la participación de las productoras con material conocido en la provincia de Manabí.

El patrón EET 400 se ha usado con una amplia cantidad de injertos debido a sus características de buen crecimiento y que ha demostrado tener una mejor tolerancia al déficit de agua sustentado en respuestas fisiológicas. Los injertos que se usarían son materiales de tipo Nacional de alto rendimiento. Estos resultados han sido ya publicados (Jaimez et al., 2021).

### Objetivos

#### General

Consolidar un sistema de propagación de plántulas de cacao certificados con material conocido en la provincia de Manabí.

#### Específicos

1. Contribuir en la consolidación de viveros de patrones de cacao tolerantes al déficit hídrico.
2. Capacitar a grupos de viveristas del género femenino en los sectores de Picoaza-Portoviejo, Honorato Vázquez- Santa Ana y Bajo Grande-Quiroga.
3. Asistir en el emprendimiento de viveristas del género femenino para obtener propagadores de patrones y plantas injertadas de cacao tolerantes al déficit hídrico en cada sector.

## Metodología

La propuesta es tener una red de viveros de propagación de plantas de cacao y se realizó a través de huertos caseros organizados por señoras a la cuales se le suministraría semillas inicialmente de patrones y varetas de clones.

Se tuvo la capacidad de sembrar 1 500 plantas del patrón EET-400 para tener disponibles durante todo el año. Las señoras recibieron un curso de injertación para su formación inicial. Este curso se dio en el vivero de la Estación Experimental Portoviejo del INIAP y en los sectores de Higuerón de la parroquia Picoaza; Bajo Grande de la parroquia Quiroga y La Laguna de la parroquia Honorato Vásquez

Para dar cumplimiento a los objetivos se plantearon las siguientes actividades:

**Objetivo 1.** Contribuir en la consolidación de viveros de patrones de cacao tolerantes al déficit hídrico.

Este objetivo tuvo como finalidad tener plántulas del patrón EET 400 disponibles para que las productoras puedan practicar la técnica de injertación.

**Actividad Nº 1.** Compra de suministro para la siembra de semillas: Una vez recibido el pago del 40 % por parte de Maquita con fecha 22 de diciembre de 2020 se procedió a la compra de suministros: bolsas, tierra negra, fertilizantes y el llenado 1000 bolsas para la siembra de las semillas del clon EET 400. Este clon fue seleccionado porque en un proyecto anterior se determinó que tiene una mayor tolerancia al déficit de agua. Las semillas fueron obtenidas de la Estación Experimental Portoviejo del INIAP. Se decidió usar como sustrato suelo volcánico del orden Andisoles, tipo franco con 32, 54 y 14 % de arena, limo y arcilla proveniente de la Estación Experimental Tropical Pichilingue del INIAP, ubicada en Mocache-Los Ríos.

**Actividad Nº 2:** Siembra de semillas, el 25 de enero del año 2021, se sembraron las semillas del patrón EET 400 en las instalaciones de la Estación Experimental Portoviejo, previamente las bolsas plásticas fueron regadas. Las semillas fueron obtenidas de frutos provenientes de polinización abierta que fueron colectados en la granja la Teodomira, Lodana, propiedad del INIAP.

**Actividad Nº 3:** Cuidado de las plántulas: durante los siguientes cuatro meses después de la siembra, las plántulas se regaron dos veces por semana y se realizó control de insectos y enfermedades. También se fertilizaron con 10 g por plántula de un fertilizante comercial 10-10-10.

**Actividad Nº 4:** Solicitud de implementos: Se solicitó mediante formato de Maquita en el mes de marzo del año 2021 la compra de 10 navajas y tres tijeras de podar

**Objetivo 2.** Capacitar a grupos de viveristas del género femenino en los sectores de Picoaza-Portoviejo, Honorato Vásquez- Santa Ana y Bajo Grande-Quiroga

**Actividad No 5.** Reuniones de coordinación para días de entrenamiento: Se tuvieron tres reuniones a fin de organizar y planificar la capacitación de las productoras. Las participantes fueron seleccionadas de acuerdo al siguiente orden: 10 productoras del sector Higuerón (Picoazá), 10 La Laguna (Honorato Vásquez) y 10 de Bajo Grande (Quiroga). Estos sectores fueron seleccionados debido a que Maquita tiene programas de trabajo en estas comunidades. En vista de restricciones de movilidad y mayor seguridad por la pandemia, se decidió que la capacitación se realizaría en las instalaciones de la estación de Portoviejo del INIAP.

**Actividad Nº 6:** Capacitación de las productoras. Durante los días 15, 16 y 17 del mes de junio se realizaron la capacitación de las productoras en la estación experimental de Portoviejo del INIAP. El día 15 de junio recibieron la capacitación ocho productoras de la zona de Honorato Vásquez, el día 16 diez productoras de Picoazá y el día 17 diez productoras de Bajo Grande. El promedio de edad de las productoras estuvo entre 30, 40 y 27 para las zonas de Honorato Vásquez, Bajo Grande y Picoazá, respectivamente. Las productoras tenían entre 62 y 16 años. En cada capacitación también recibió el entrenamiento un monitor o capacitador de la zona que tiene Maquita. El traslado de los tres días lo organizó el personal de Maquita y se usaron los fondos disponibles para el proyecto.

La capacitación fue estructurada en función de los pasos o fases que deben seguirse en la técnica de injertación, donde el personal del INIAP en cada una de ellas dio las explicaciones. Las fases se dividieron en:

Llenado de bolsas  
Siembra de semillas  
Preparación de materiales para la injertación  
Preparación de varetas  
Técnica de injertación

Posteriormente cada productora tuvo la oportunidad de injertar 5 plantas. Estas plantas quedaron en el INIAP para ser evaluadas y entregadas posteriormente a las productoras. En una segunda fase, cada productora recibió otras 25 plántulas y la injertación la realizaron en sus respectivos sectores.

### **Objetivo 3. Emprendimientos de pequeños propagadores en cada sector:**

**Actividad No 7:** En cada localidad, las productoras con apoyo del técnico de Maquita, se construyó un propagador de 40 m<sup>2</sup> aproximadamente. Estos propagadores tienen una capacidad mínima para tener 1 000 plántulas y se construyeron con material de caña. Se les proporcionó la malla de 65 % para usar como techo. Cada localidad recibió tres tijeras y tres navajas.

### **Actividad No 8:** Construcción de propagadores

En cada localidad, las productoras con apoyo del técnico de Maquita, se construyó un propagador de 40 m<sup>2</sup> aproximadamente. Estos propagadores tienen una capacidad mínima para tener 1 000 plántulas y se construyeron con material de caña. Las productoras de Picoaza y Bajo Grande construyeron el propagador aledaño a la casa de una productora, mientras que las productoras de Honorato Vásquez decidieron construirla en un lugar separado dentro de una finca de una productora. Los tres propagadores están cercanos a la carretera y de fácil acceso.

Se les proporcionó a cada localidad, malla de 65 % de sombra para usar como techo. También recibieron cuatro tijeras y tres navajas. Se le suministró un tanque de agua cónico de 500 litros, 1 rollo de manguera de 100 m y una bomba de espalda para fumigación. Solo la comunidad de Picoaza recibió adicionalmente una bomba periférica autocebante de 0,5 caballos.

### **Actividad No 9** Preparación de video de apoyo

En función de la experiencia obtenida en la capacitación y al observar que hay varios aspectos en la técnica que ameritan ser repasados, se decidió hacer un video que mostrara todas las etapas del proceso de injertación a fin que las productoras tuvieran la posibilidad de verlo en múltiples ocasiones y observar con más detalle los diferentes pasos. Este video fue colocado en la página de Facebook de la Universidad Técnica de Manabí y enviado a las productoras. Igualmente el link fue compartido a los

técnicos de Maquita y a otras instituciones Un original del video fue enviado también a Manos Unidas (Sra, Beatriz Pertuz). Hasta el día 24 de septiembre el video había recibido 5076 visitas en un período de dos meses. Un 57 % habían sido hombre y 43 % mujeres

En conversaciones con las productoras manifestaron que les resultaba de utilidad el video y que consideraban que se lo enviarían a otras productoras de las diferentes localidades. Este video servirá de apoyo para otras comunidades y resulta ser una herramienta adicional en la enseñanza de la técnica de injertación.

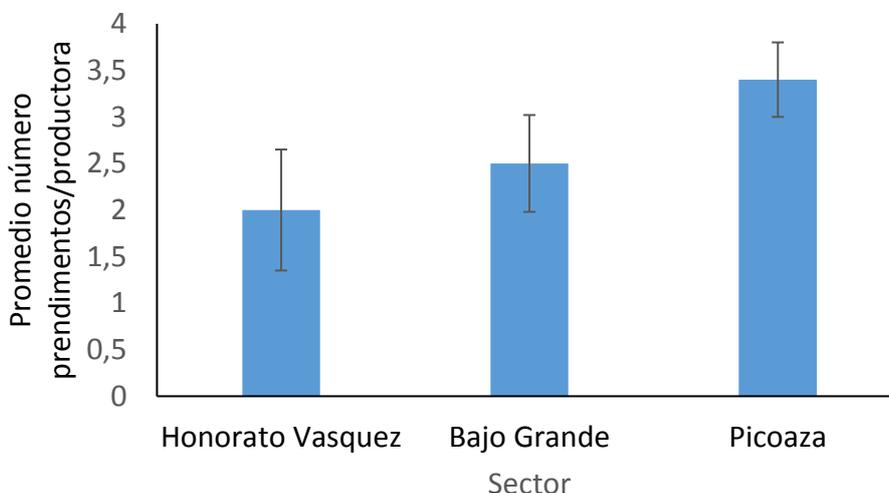
#### Actividad Nº 10: Segundo entrenamiento de injertación

Se entregó a cada comunidad 250 plántulas del patrón EET 400. Igualmente se le entregaron las varetas el día 13 de julio. En cada localidad cada productora realizó la injertación de 25 plántulas entre el 14 y 16 de julio. El día 4 de agosto se chequearon en todas las localidades el porcentaje de plantas prendidas. Debido a que los porcentajes de prendimiento fueron muy bajos, se decidió entregar nuevamente varetas a cada localidad. El día 6 de agosto se entregaron a la localidad de Honorato Vásquez y el 19 de agosto a las otras dos comunidades.

### Resultados

#### Promedio de plantas con prendimiento

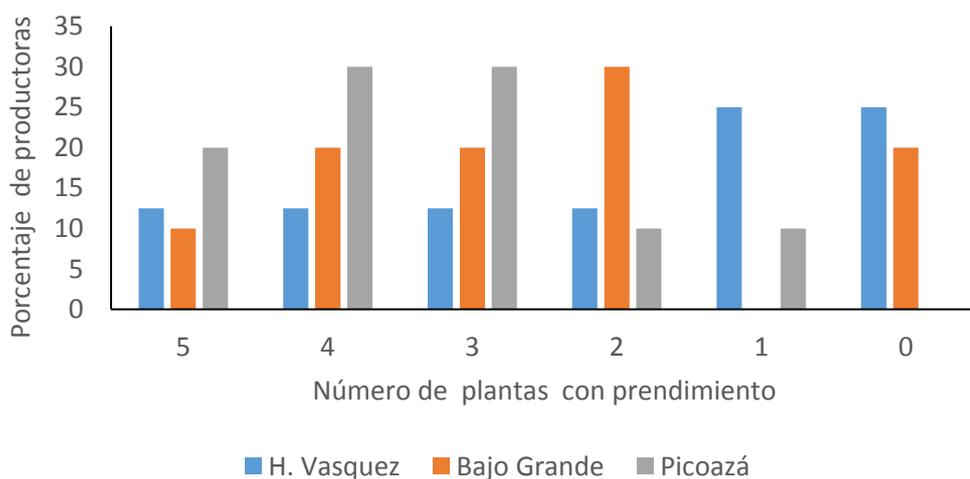
En la figura 1 se detalla el sector sobre el número de plantas exitosamente injertadas. De esta figura se obtiene que las productoras del sector de Picoazá tuvieron el promedio mayor (3,5 prendimientos por productora, mientras que las productoras de Bajo Grande tuvieron 2,5 y las de Honorato Vásquez 2 prendimientos por productora, respectivamente.



**Figura 1.** Promedio de prendimientos de injertos por productora de tres sectores de la provincia de Manabí. Las líneas en las barras representan el error estándar de la media.

En la figura 2, se muestra el porcentaje de número de productoras para cada número de injertos obtenidos. Por ejemplo, en el sector Picoazá un 30 % de productoras tuvieron prendimientos de 3 y 4 plantas exitosamente prendidas. Es decir, el 60 % está entre estos valores. Solo un 20 % tiene una prendimiento del 100 % (5 plantas). En este sector todas productoras lograron prendimientos. En cambio, el 25 y 20 % de las productoras de Honorato Vásquez y Bajo Grande, respectivamente no

tuvieron prendimiento en ninguna planta. En bajo Grande el 30 % de las productoras tuvieron 2 plántulas de prendimiento y un 10 % el 100 % prendida. En Honorato Vásquez se mantuvo constante el porcentaje de productoras entre 2 a 5 planta con prendimiento (12,5 %). Podemos definir los sectores de la siguiente manera en esta primera fase: El 80 % de las productoras están por arriba de 3 plantas de prendimiento para Picoazá, y un 50 % en Bajo Grande, mientras un 50% de las productoras obtuvo solo 2 plántulas de prendimiento en Honorato Vásquez. Esto nos indica que es necesario dar seguimiento a las productoras de este último lugar con respecto a la técnica que están realizando a fin de mejorarla



**Figura 2.** Porcentajes de productoras de acuerdo al número de plantas con prendimiento en los tres sectores de la provincia de Manabí.

### Identificación de productoras con mayor habilidad en la técnica de injertación

Los resultados de los prendimientos (plantas exitosamente injertadas) en los dos periodos para las tres localidades se muestran en la tabla 1. Como se aprecia en las tres localidades el porcentaje de prendimiento general disminuyó en la segunda ocasión con respecto al primer entrenamiento. Tenemos que en Honorato Vásquez la disminución fue de 58 %, en Bajo Grande 20 % y en Picoaza el 65 %. Honorato Vásquez en las dos ocasiones presentó los menores porcentajes de prendimientos de las tres localidades. Esto implica evaluar con las productoras de ese lugar la técnica que están realizando. Por ello, se sugiere realizar nuevamente un taller de injertación en este sector.

En la tabla se resalta en color verde las productoras que mantuvieron los mayores porcentajes de prendimientos en el segundo entrenamiento. No obstante es de resaltar que mediante la práctica constante se logra perfeccionar la técnica. Es importante precisar que este proyecto parte de la idea de incorporar a las mujeres al proceso productivo en la cadena del cacao. Es una actividad que se debe seguir para lograr incorporar un mayor número de productoras.

**Tabla 1.** Número de prendimiento (injertos exitosos) y porcentajes en dos periodos de práctica: entrenamiento. 1= Nº de plantas totales (5). Entrenamiento 2= no de planta totales (25)\*

	Nº prendimientos	% Injertos prendidos	Nº prendimientos	% Injertos prendidos
	Entrenamiento 1	Entrenamiento 1	Entrenamiento 2	Entrenamiento 2
<b>HONORATO VASQUEZ</b>				
Cecilia Suarez Rezabala	2	40	8	32
Anny Mero Loor	3	60	14	56
Mirka Garcia Mero	1	20	0	0
Angélica Cedeño	0	0	5	20
Mercedes Cedeño				
Intriago	4	80	2	8
Ximena Morillo			0	0
Guadalupe Intriago	5	100	4	16
Adela Cedeño Loor	1	20	6	24
<b>Promedio</b>	2	45,7	4.9	19,5
<b>(BAJO GRANDE)</b>				
Mirelle Saltos	5	100	15	60
Dallana Bravo	2	40	17	68
Araseli Vera	3	60	8	32
Carmen Baren	3	60	13	52
Yane Mure	2	40	6	24
Alida Mora	0		7	28
Amarilis Moreira	4	80	16	64
Trinidad Macay			19	76
Lays Requena	4	80		
janet intrriago	2	40		
<b>Promedio</b>		62,5	12,6	50,5
<b>(PICOAZA)</b>				
Karla Torres	1	20	2	8
Estefany Vélez	5	100	3	12
Cirtal Velez	3	60	3	12
Consuelo Guerra	4	80		
Marianella Castro	2	40	1	4
María Palma	3	60	9	36
Rosa Velez	4	80	3	12
Marisol Bravo	5	100	8	32
Liliana Laz Rivas	3	60	4	16
Leyda Proaño Rivas	4	80	19	76
jeanela ponce			9	36
<b>Promedio</b>	3,4	68,0	6,1	24,4

\*El porcentaje de plantas injertadas se calcula en base al número de plantas usadas para cada periodo.

En relación a la causa de la disminución en el porcentaje de prendimiento en los tres lugares, no está muy claro y son varias las explicaciones que se pueden dar. Una de ellas es relacionada al plástico usado que no permite un buen amarre y ajuste de la vareta al tallo. Esto impide el estrecho contacto

que debe existir entre las dos partes y conlleva a un bajo número de prendimiento. La segunda razón la cantidad de riego dado a las plantas. Tanto un exceso como un déficit en el riego contribuyen a una disminución en el porcentaje de prendimiento. En las visitas realizadas notamos en una de las localidades falta de riego. Se asume también que bajas temperaturas y alta humedad del lugar pudieran influir en el porcentaje de prendimiento. Estas 2 últimas variables no fueron medidas y sería aconsejable conocer la dinámica de temperatura y humedad en cada localidad.

### Productos obtenidos

En función de los objetivos del proyecto se presentan los siguientes productos

**Consolidación de huerto semillero de patrones:** Las etapas previas para realizar el entrenamiento en la injertación se cumplieron y se disponen para cada localidad 300 patrones del cultivar EET 400. Este material ha mostrado tolerancia al déficit de agua. A través de la entrega de estos patrones se está introduciendo un material certificado con tolerancia a *Ceratocystes cacaofunesta* y además su capacidad de comportarse mejor en condiciones de déficit de agua. Como se conoce en la región de Manabí cerca de 80 % de los productores no poseen sistemas de riego (Barrera et al., 2019). Por otra parte se comienza con la introducción paulatina de nuevos cultivares en las plantaciones de los productores. Como trabajo futuro es importante realizar un seguimiento de estas nuevas plantas.

**Capacitación de Productoras:** En total 30 productoras de las localidades de Bajo Grande y Picoazá y de Honorato Vásquez recibieron el entrenamiento. En la propuesta se había programado 20 productoras. En conversaciones con ellas apreciamos su interés en continuar con esta actividad. Por otra parte la técnica de injertación es una actividad que puede ser también usada en otras especies que se utiliza y forman partes de los sistemas productivos de cacao.

**Huerto semillero en cada sector:** En cada localidad cada grupo de productoras se construyó un propagador de 40 m<sup>2</sup> aproximadamente. Con esto se beneficia a comunidades que están alejadas de centros urbanos, donde la oferta de plántulas es escasa. Es un lugar que hay que seguir dándole apoyo para que en poco tiempo sean las mismas productoras la que dirijan esta actividad.

### Conclusiones

1. En las preliminares conclusiones de este segundo producto en el cual se evalúa con 5 plantas la viabilidad de que las productoras realicen injertaciones en sus fincas podemos ver que hay en cada lugar productoras con un potencial de injertación del 100%. En un segundo ejercicio que se está realizando con 25 plantas que fueron injertadas por cada una de las productoras nuevamente, se verificó si las mismas productoras mantienen estos valores
2. La habilidad de un mayor número de prendimientos es dependiente de la productora al parecer no tiene relación con la edad y habría que verificar si la experiencia previa pudo tener influencia en el porcentaje de prendimientos. Un segundo día de injertación que ya se realizó con 25 plantas para cada productora en cada localidad nos dio una mayor información.
3. Esta actividad ha servido para capacitar a 28 productoras en la técnica de injertación e incluso en función de los porcentajes de injertación identificar productoras que tienen un mayor porcentaje de prendimiento. La habilidad de un mayor número de prendimientos es una característica dependiente de la productora

4. Las tres comunidades ya tienen sus propios propagadores y es el lugar de reunión de las productoras.
5. A través del proyecto se comienza con la entrada progresiva de nuevos materiales de cacao identificados y garantizados, con los cuales hay que empezar un programa de seguimiento.
6. Probablemente en un futuro será interesante organizar una actividad donde las productoras de estas tres localidades se conozcan. Esto conllevaría a estrechar esfuerzos y a establecer otros programas en el que las productoras puedan seguir generando recursos financieros para sus hogares. Una posible acción sería la elaboración de chocolate.

#### Recomendaciones:

1. En base a los resultados de los dos procesos de injertación las productoras de Honorato Vásquez deben recibir más atención chequeando nuevamente la técnica de injertación realizada por las productoras con la finalidad de mejorar el prendimiento de cada una de ellas.
2. El sector de Honorato Vásquez debe recibir más atención chequeando nuevamente la técnica de injertación realizada por las productoras con la finalidad de mejorar el prendimiento de cada una de ellas.
3. En un futuro, dependiendo de la organización de cada comunidad, puede convertirse estos lugares en oferta de plántulas de cacao para las comunidades aledañas. Esto implica, por supuesto, dar un apoyo continuo en las actividades que se planifiquen.

#### Referencias

Barrera, Víctor Hugo, Luis Escudero, Marcelo Rafael Racines Jaramillo, César García, Juan Arévalo, Teresa Casanova, Gastón Loor, Omar Tarqui, Luis Plaza, Ignacio Sotomayor, Fanny Zambrano, Gladys Rodríguez, Geover Peña, Johan Párraga, Jeffrey Alwang, y Juan Domínguez. (2019). *La cadena de valor del cacao y el bienestar de los productores en la provincia de Manabí-Ecuador*. INIAP libro técnico No 171 Arco Iris Producciones Quito Ecuador 204 p.

Jaimez R. E., G. Vásquez, I. Sotomayor, G. Quijano, J. Morante, F. Arteaga G. Cedeño (2021) Physiological and morphological responses of cacao rootstock-scion combination to water deficit. Revista de la Facultad de Agronomía LUZ. 38 (3):630-650. DOI: [https://doi.org/10.47280/RevFacAgron\(LUZ\).v38.n3.09](https://doi.org/10.47280/RevFacAgron(LUZ).v38.n3.09)

**Actividad 2:** Rescate y selección de accesiones de cacao tipo Nacional con fines de conservación y mejoramiento genético.

**Responsable:** Geover Peña Monserrate (EEP).

**Colaboradores:** Dr. Gastón Loor; Ing. Ignacio Sotomayor Cantos (EETP); James Quiroz Vera (EELS).

### Antecedentes

El Cacao (*Theobroma cacao* L.) es un árbol nativo de los bosques húmedos de América del Sur. Se estima que el centro de origen del cacao se encuentra localizado en los bosques tropicales de la Región Amazónica de Perú, Colombia y Ecuador, debido a la alta diversidad genética que ha sido reportada en estos sitios (Chesman, 1944 y Cuatrecasas, 1964). Esta diversidad comprende un gran conjunto de poblaciones con un origen genético y grado evolutivo, que ocupan un nicho ecológico específico con aparente centro de origen en la cuenca alta del Amazonas (Quiroz, 2002).

Esta diversidad juega un rol importante en los procesos de conservación de los recursos genéticos vegetales tanto nativos como mejorados, ya que estos representan la materia viviente que puede propagarse sexual o asexualmente, que tiene un valor actual y potencial para la alimentación y la agricultura. Así mismo en su utilización como fuente de genes para programas de mejora genética y en la compresión de estudios taxonómicos, elaboración de mapas genéticos y la secuencias de genes (Motamayor, 2002).

El estado ecuatoriano a través de Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) sintiendo la preocupación del sector cacaotero del país ha emprendido un importante proyecto para el rescate de zonas productoras de cacao fino de aroma, por consiguiente pone en marcha el Proyecto Reactivación de Café y Cacao como estrategia para mejorar la productividad y competitividad en ambos sectores, identificando una gran diversidad de árboles con características deseable para la utilización en programas de conservación y mejora genética. En este sentido el INIAP considera de alta importancia el rescate de materiales de cacao nacional puro, para la conformación de colecciones que permitan garantizar su conservación, investigación y posterior desarrollo en las condiciones de Manabí.

Con estos antecedentes se propuso con este trabajo, realizar la conservación y estudio de materiales de 50 accesiones de cacao de Tipo Nacional, estableciendo una colección que sirve de base para procesos de conservación y mejora genética en la Estación Experimental Portoviejo.

### Objetivos

#### General.

Conservar y caracterizar genotipos de cacao nacional adaptados a la provincia de Manabí y su utilización en programas de mejoramiento genético para la obtención de nuevos materiales con características de interés comercial.

#### Específicos.

1. Conservar y mantener en campo genotipos de cacao tipo Nacional colectados en diversas zonas cacaoteras de Manabí.
2. Caracterizar morfológicamente, genéticamente y evaluar el comportamiento agronómico, fitosanitario, productivo y organoléptico de los materiales recolectados y establecidos en campo a modo de colección *ex situ*.
3. Establecer una base genética para realizar trabajos de mejoramiento genético en cacao para la selección de materiales superiores y adaptados a las zonas cacaoteras de Manabí.

## Metodología

### Ubicación

El presente trabajo de investigación se realizó en la granja experimental la Teodomira de la Estación Experimental Portoviejo del INIAP, ubicado en el Km 18 vía Portoviejo – Santa Ana, parroquia Lodana del cantón Santa Ana, provincia de Manabí. Ubicada geográficamente a: 01°09'54,57" de latitud sur y 80°23'06,40" de longitud oeste, a 53 msnm.

### Factores climáticos de la zona de estudio

**Tabla 2.** Factores edafo-climáticos<sup>1</sup> de la zona de estudio para la conservación de la colección de cacao tipo Nacional. EE-Portoviejo, 2021.

Factores climáticos	Descripción
Zona climática <sup>2</sup>	Bosque muy seco Tropical 14819 HA-14,23%
Temperatura promedio	26,4°C
Precipitación media anual	851,57 mm
Humedad relativa promedio	81 %
Topografía	Plana
Tipo de suelo	Franco arcilloso

Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI). Anuarios meteorológicos promedio de 2011 – 2019. Estación Lodana

<sup>2</sup> Zona de vida según Holdridge.

### Factores en estudio

En campo se conservan y estudian 50 accesiones de cacao Tipo Nacional, esta colección es denominada como Centenario.

### Unidad experimental

Cada accesión es considerada como unidad experimental y consta de cinco plantas a un distanciamiento de 3 m entre hileras y 3 m entre plantas, con un área de 45 m<sup>2</sup> por accesión, con un número de 50 unidades experimentales, teniendo un total de área útil de 4 050 m<sup>2</sup> para la colección.

### Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), cada planta se consideró como repetición, teniendo entonces cinco repeticiones.

### Manejo Agronómico del Experimento

- a. **Control de malezas:** El control de malezas se realizó de forma mecánica con usos de motoguadaña (en época lluviosa y en época seca). Para las guardarraya y partes aledañas a la

colección se realizaron controles químicos aplicando glifosato en dosis de 150 cc en 20 litros de agua (dos veces en época seca y cuatro veces en época lluviosa).

- b. Riego:** El riego se lo realizó por inundación, cabe indicar que, se dieron riegos uniformes de tal manera que el cultivo reciba la misma lámina de agua. Se aplicaron láminas de agua en relación al déficit como recomendación se tiene 100 mm de agua mensual (Motato et al., 2008).
- c. Manejo de plagas y enfermedades:** En el manejo enfermedades se realizó la remoción de las escobas en estado vegetativo verde, y con la remoción de mazorcas enfermas. Para el caso de plagas se evaluaron los diferentes artrópodos presentes a partir de la instalación del experimento.
- d. Podas de cacao:** La poda de mantenimiento se realizó en los meses más secos, tratando de realizar las podas dos o tres meses antes de la época lluviosa, con el objetivo de disminuir la incidencia de enfermedades y favorecer el desarrollo de las mazorcas. (Carvajal, y Solórzano, 2010).
- e. Fertilización:** La fertilización se realizó al inicio y final de la época lluviosa. La aplicación fue en forma de corona con relación al diámetro de la copa, utilizando una mezcla de 100 g de fertilizante completo (10-30-10) más 50 g de urea y 50 g de sulfato de amonio.

## Resultados

En el presente informe se presentan los resultados de las actividades de conservación, para el próximo año se prevé realizar la caracterización y evaluación agromorfológica con caracteres cuantitativos.

### Conservación y manejo de la colección denominada Centenario

Como resultado de las misiones de colectas e introducciones, en los predios de la EE-Portoviejo se conservan en campo la Colección Cacao Nacional Centenario (CCNC) con un total de 50 accesiones de, provenientes de los cantones de Bolívar con 21 accesiones que representa el 42% y Flavio Alfaro con 29 accesiones representando el 58% restante. En la figura 3 se observa la distribución en campo de estas accesiones conservadas.

**CROQUIS COLECCIÓN DE CACAO NACIONAL CENTENARIO**

MFAFACACA-259	MFAFACACA-258	MFAFACACA-257	MFAFACACA-256	MFAFACACA-255	MFAFACACA-254	MFAFACACA-253	MFAFACACA-252	MFAFALCACDRM-232	MFAFALCACDRM-232	MFAFALCACDRM-232	MFAFALCACDRM-232	RVNVARFAM-220	RVNVARFAM-219	RVNVARFAM-218	RVNVARFAM-217	RVNVARFAM-216	MFAFALCACDRM-212	RVEDRFAM-209	RVEDRFAM-208	RVEDRFAM-207	RVEDRFAM-206	RVEDRFAM-205				
MFAFADRBCC-260	MFAFADRBCC-261	MFAFADRRVO-263	MFAFADRRVO-264	MFAFADRRVO-266	MFAFADRRVO-267	EMIMBQ-007	EMIMBQ-008	EMIMBQ-009	EMIMBQ-010	EMIMBQ-011	EMIMBQ-012	EMIMBQ-013	EMIMBQ-014	EMIMBQ-016	EMIMBQ-017	EMIMBQ-018	EMIMBQ-019	EMIMBQ-020	EMIMBQ-022	EMIMBQ-023	EMIMBQ-024	EMIMBQ-025	EMIMBQ-026	EMIMBQ-027	EMIMBQ-029	EMIMBQ-030

**Figura 3.** Croquis de campo de la colección de cacao Nacional Centenario. Portoviejo 2019.

Se realizaron poda de formación de manera oportuna, es decir dos a tres meses antes de la época lluviosa, con el objetivo de disminuir la incidencia de enfermedades y favorecer el desarrollo de las mazorcas, finalmente se realizó la eliminación de chupones ortotrópicos mensualmente.

### Conclusiones

La caracterización morfológica *in situ*, permitió conocer la variabilidad genética de las accesiones en estudio, facilitando así la identificación de materiales con grados de similitud y disimilitud para futuros trabajos de mejoramiento genéticos.

### Recomendaciones

1. Realizar caracterizaciones con descriptores cuantitativos, y evaluación agronómica principalmente caracteres de interés comercial.
2. Continuar con las exploraciones y colectas en provincias, con el objetivo de ampliar esta colección, esto contribuyo en cierta medida a evitar la pérdida de la variabilidad y utilizarlos como fuente de caracteres de importancia.
3. Registrar en forma completa la información de Datos Pasaportes utilizando formatos estandarizados en futuras colectas.

### Referencias

Cheesman, E. E. (1944). Notes on the nomenclature, classification and possible relationships of cacao populations. *Tropical Agriculture*, 21(8).

Cuatrecasas, J. (1964). *Cacao y sus aliados: una revisión taxonómica del género Theobroma* (Vol. 35, No. 6). Institución Smithsonian.

Quiroz, J. (2002). Caracterización molecular y morfológica de genotipos superiores de cacao (*Theobroma cacao* L.) nacional de Ecuador.- Turrialba, Costa Rica, Centro Agronómico Tropical de Investigaciones y Enseñanzas. Tesis (Mg. Sc). CATIE.

Motamayor, JC, Risterucci, AM, López, PA, Ortiz, CF, Moreno, A., & Lanaud, C. (2002). Domesticación del cacao I: el origen del cacao cultivado por los mayas. *Herencia*, 89 (5), 380-386.

**Actividad 3:** Comportamiento de clones de cacao (*Theobroma cacao* L) bajo tres frecuencias de riego en sistema agroforestal en el valle del río Portoviejo.

**Responsable:** Geover Monserrate Peña (EEP).

**Colaboradores:** Ricardo Limongi Andrade (Programa de Agroforestería), Ramón Jaimez (Universidad Técnica de Manabí), Ignacio Sotomayor Cantos (Programa de cacao-EETP), Juan Carlos Jiménez (Laboratorio de calidad Cacao-EETP).

### Antecedentes

El cacao (*Theobroma cacao* L), es un producto de gran importancia desde el punto de vista económico, social y ecológico para el Ecuador, como rubro importante de exportación, generador de divisas y empleo rural; estimándose que para el año 2013 Manabí aportaba con el 23,2% de la producción nacional de cacao fino de aroma (Melo, 2013). Sin embargo, la productividad alcanza apenas los 5 qq/ha/año, debido a factores limitantes como alta variabilidad del germoplasma en uso, establecimiento en sitios y condiciones climáticas y de suelos inadecuados, deficiente manejo del cultivo en cuanto a enfermedades, fertilización, podas, riegos suplementarios y sombra.

Tanto la luminosidad como el agua son factores de riesgos para la actividad cacaotera, por lo que sus variaciones podrían constituirse en limitantes; por estos motivos cobra importancia el régimen de lluvia y su distribución. Este cultivo para satisfacer sus necesidades hídricas requiere anualmente entre 1200 a 1500 mm de agua bien distribuidos en el año con volúmenes mensuales de alrededor de 100 mm (Motato y Cedeño, 2010). El valle del río Portoviejo no presenta estas disponibilidades, con una precipitación media anual de 851,57 mm, concentrados en cuatro meses del año, con lo cual existe un déficit considerable que debe ser compensado por riegos suplementarios durante la época seca, sin embargo en Manabí, es una tecnología que no se ha llegado a consolidar, ya que solo 1,2% de la superficie cacaotera recibe riego en época seca (Motato, et al., 2009), siendo este método el más empleado debido a su bajo costo y facilidad. Las condiciones vulnerables de la planta de cacao a fenómenos extremos de sequía se presentan en las etapas iniciales de establecimiento y afectan negativamente el crecimiento.

En zonas tropicales de Ecuador, se han adelantado trabajos a nivel experimental y comercial con cacao bajo riego. Los resultados en el incremento de producción han sido variables entre 40 y 100% (Freire, 1993; Siqueira, Sena, Dias y Souza, 1996). Por otra parte Días, 2001; evaluó el comportamiento del cultivo de cacao a la aplicación de riego por goteo en la época seca y encontraron que cuando se restituyó entre 75 y 100% del agua perdida en los primeros 30 cm del suelo, el rendimiento fue 28% más alto que cuando se restituyó 0 y 50% de agua perdida por evapotranspiración.

Por otro lado el cacao es una especie sensible a la intensidad lumínica, situación que puede provocar defoliación de las puntas de las ramas, y aumentar la acción de insectos chupadores que intensifican su actividad debido a un inadecuado sombramiento (Quiroz, 2010). Así mismo por sus características genéticas requiere de ciertos niveles de sombra para su normal desarrollo (Enríquez, 2010), está asociado a un proceso de producción agroforestal en forma secuencial, donde los productores usan diferentes estrategias para reducir los riesgos y aportar a la economía de las familias. Además, incorporan más de un producto en los segmentos del mercado y privilegian la conservación de la biodiversidad, favoreciendo el incremento de poblaciones de flora y fauna (Quiroz, 2010; Limongi y Solórzano, 2010).

Los sistemas agroforestales, representan una forma de uso de la tierra donde en una misma unidad de producción se asocian árboles (frutales, leguminosas, productores de resinas, palmas, maderables), con cultivos anuales y permanentes que han demostrado su capacidad de compatibilizar producción agrícola, rentabilidad y servicios ambientales (Agudelo y Grisales, 2000; Limongi y Solórzano, 2010). Además, han sido señalados por su potencial de reducir las consecuencias negativas del efecto invernadero a través de la fijación y almacenamiento del carbono (Ortiz, et al., 2008).

Una de las especies más utilizadas por los productores es el laurel (*Cordia alliodora*), se halla mezclado con otros árboles frutales o maderables en los cacaotales del país, debido a su estructura foliar mediana y copa angosta que no se vuelca, además de su valor comercial como madera, presenta numerosas ventajas que lo hacen muy prometedor como árbol de sombra: crecimiento rápido, tronco recto, sistema radicular profundo, la copa ocupa poco espacio y con una alta producción de hojas se auto poda, eliminando ramas viejas (Quiroz, 2010). El mismo autor señala que se han encontrado especies frutales como la naranja (*Citrus sinensis*), proporcionando una asociación aceptable durante los primeros años del cacao y una fuente de ingreso económico adicional.

El INIAP, por medio del Programa Nacional de Cacao y Café, presenta un grupo de clones mejorados desarrollados bajo condiciones del trópico húmedo (Amores, et al., 2009); sin embargo, su uso se ha extendido a otras áreas, como el trópico seco de Manabí, principalmente las cuencas bajas del Carrizal-Chone y Portoviejo. Bajo estas consideraciones, su evaluación siempre ha sido enfocada hacia el rubro (INIAP 2004), conociéndose muy poco de sus interacciones y su productividad bajo riegos y en sistemas agroforestales y la determinación de costos de producción.

## Objetivos

### General.

Desarrollar tecnologías de producción en cacao bajo riego, en sistema agroforestal para las condiciones del valle del río Portoviejo.

### Específicos.

1. Evaluar el comportamiento de ocho clones de cacao bajo el efecto de tres frecuencias de riego.
2. Evaluar el comportamiento agronómico de árboles de laurel como sombra permanente del sistema.

## Metodología

El presente trabajo de investigación se está realizando en la Estación Experimental Portoviejo (EEP) del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), lote La Teodomira, localizado en la parroquia Lodana del cantón Santa Ana, provincia de Manabí, se ubica en un bosque seco tropical de topografía plana, suelo franco arcilloso, con temperaturas promedios de 26,4°C, precipitaciones medias de 851,57mm y una humedad relativa de 81%, ubicada geográficamente a: 01°10'24" de latitud sur y 80°23'24" de longitud oeste, a 47 msnm.

## Tratamientos en estudios

Los tratamientos en estudios comprende la combinación entre el Factor A y el Factor B, en la tabla 3 se detallan los tratamientos en estudios.

### Diseño experimental

El ensayo se estableció en julio de 2017, mediante un diseño en parcelas divididas bifactorial, donde el factor A o las parcelas grandes corresponden a las frecuencias de riego, siendo estas riego a los 15 días, 30 días y 45 días y el factor B o las sub parcelas que comprenden ocho clones de cacao, con tres réplicas, y 72 unidades experimentales tabla 4, en caso de significación estadística, se usó la prueba de Tukey al 5% para la separación de medias por tratamiento.

**Tabla 3.** Tratamientos en estudio para determinar el comportamiento de clones de cacao (*Theobroma cacao* L) bajo tres frecuencias de riego en sistema agroforestal en el valle del río Portoviejo (EEP).

Tratamientos	Factor A	Factor B	Código	Descripción
1	FR1: Riego cada 15 días	C1: EETP-800	FR1 C1	EETP-800 con riego cada 15 días
2	FR1: Riego cada 15 días	C2: EETP-801	FR1 C2	EETP-801 con riego cada 15 días
3	FR1: Riego cada 15 días	C3: EET-450	FR1 C3	EET-450 con riego cada 15 días
4	FR1: Riego cada 15 días	C4: EET-454	FR1 C4	EET-454 con riego cada 15 días
5	FR1: Riego cada 15 días	C5: EET-575	FR1 C5	EET-575 con riego cada 15 días
6	FR1: Riego cada 15 días	C6: EET-576	FR1 C6	EET-576 con riego cada 15 días
7	FR1: Riego cada 15 días	C7: EET-103	FR1 C7	EET-103 con riego cada 15 días
8	FR1: Riego cada 15 días	C8: CCN-51	FR1 C8	CCN-51 con riego cada 15 días
9	FR2: Riego cada 30 días	C1: EETP-800	FR2 C1	EETP-800 con riego cada 30 días
10	FR2: Riego cada 30 días	C2: EETP-801	FR2 C2	EETP-801 con riego cada 30 días
11	FR2: Riego cada 30 días	C3: EET-450	FR2 C3	EET-450 con riego cada 30 días
12	FR2: Riego cada 30 días	C4: EET-454	FR2 C4	EET-454 con riego cada 30 días
13	FR2: Riego cada 30 días	C5: EET-575	FR2 C5	EET-575 con riego cada 30 días
14	FR2: Riego cada 30 días	C6: EET-576	FR2 C6	EET-576 con riego cada 30 días
15	FR2: Riego cada 30 días	C7: EET-103	FR2 C7	EET-103 con riego cada 30 días
16	FR2: Riego cada 30 días	C8: CCN-51	FR2 C8	CCN-51 con riego cada 30 días
17	FR3: Riego cada 45 días	C1: EETP-800	FR3 C1	EETP-800 con riego cada 45 días
18	FR3: Riego cada 45 días	C2: EETP-801	FR3 C2	EETP-801 con riego cada 45 días
19	FR3: Riego cada 45 días	C3: EET-450	FR3 C3	EET-450 con riego cada 45 días
20	FR3: Riego cada 45 días	C4: EET-454	FR3 C4	EET-454 con riego cada 45 días
21	FR3: Riego cada 45 días	C5: EET-575	FR3 C5	EET-575 con riego cada 45 días
22	FR3: Riego cada 45 días	C6: EET-576	FR3 C6	EET-576 con riego cada 45 días
23	FR3: Riego cada 45 días	C7: EET-103	FR3 C7	EET-103 con riego cada 45 días
24	FR3: Riego cada 45 días	C8: CCN-51	FR3 C8	CCN-51 con riego cada 45 días

**Tabla 4.** Esquema de ADEVA BCA en arreglo de parcela dividida bifactorial

Fuente de variación	Grados de libertad
Repeticiones	2
Frecuencia de riego (FR)	2
Error (a)	4
Clones (C)	7
FR x C	14
Error (b)	42
Total	71

El distanciamiento de siembra para cacao es de 4 x 3 (densidad 833 plantas ha<sup>-1</sup>). Se realizaron aplicaciones de fertilización base NPK más urea al 46% en dosis de 400 gramos planta en dos fracciones, a la entrada y salida de la época de lluvias. El control de malezas se lo realizó mediante la combinación de métodos mecánicos (motoguadaña) y químicos. Las evaluaciones agronómicas se realizaron anualmente, utilizando la metodología descrita en el protocolo de evaluación y registro de

datos agronómicos y productivos, desarrollado por el personal Técnico del Programa Nacional de Cacao y Café (Loor et al., 2016). En la tabla 5 se presentan algunas de las características de los clones de cacao en estudio.

**Tabla 5.** Características agronómicas, productivas y sanitarias de los clones en estudio.

N°	Clon	Año de liberación	Tipo	Tolerancia	Compatibilidad	Inicio fase productiva	Rendimiento
1	EET-800 <sup>1</sup>	2016	Fino y de aroma	Escoba de bruja Moniliasis Mal de machete	Auto compatible	14 meses	44qq/ha/año
2	EET-801 <sup>1</sup>	2016	Fino y de aroma	Escoba de bruja Moniliasis Mal de machete	Auto compatible	14 meses	40qq/ha/año
3	EET-575 <sup>2</sup>	2008	Fino y de aroma	-----	Auto compatible	-----	33qq/ha/año
4	EET-576 <sup>2</sup>	2008	Fino y de aroma	-----	Auto compatible	-----	26,7qq/ha/año
5	EET-450 <sup>3</sup>	Validación	Fino y de aroma	En estudio	Auto compatible	-----	36qq/ha/año
6	EET-454 <sup>3</sup>	Validación	Fino y de aroma	En estudio	Auto compatible	-----	38qq/ha/año
7	EET-103 <sup>4</sup>	1970	Fino y de aroma	Escoba de bruja Mal de machete	Auto compatible	-----	30qq/ha/año
8	CCN-51 <sup>4</sup>	1965	Trinitario	Escoba de bruja Moniliasis Mal de machete	Auto compatible	24 meses	50qq/ha/año

<sup>1</sup> (Loor et al., 2016); <sup>2</sup> (Amores, et al., 2009); <sup>3</sup> (Solórzano y Mendoza 2010); <sup>4</sup> (Quiroz et al., 1992)

#### ***Características de la parcela principal (FR)***

- Numero de parcelas principales 9
- Superficie de parcela principal 660 m<sup>2</sup>.
- Distancia entre parcelas principales y repeticiones 8m.
- Total del experimento 6000 m<sup>2</sup>

#### ***Característica de las sub parcelas (C)***

- Número de sub parcelas 72
- Superficie de sub parcelas 48 m<sup>2</sup>
- Número de plantas por unidad experimental 9
- Plantas útiles por unidad experimental 9
- Distanciamiento entre clones 4x3
- Total de plantas 833 plantas/ha.

#### ***Característica de la sombra***

##### **a. Plátano (sombra temporal)**

Se estableció plátano, tipo dominico y barraganete a una distancia de 6x6 m, obteniendo 277 plantas/ha, ubicándose entre las hileras de cacao, se mantuvo la sombra temporal durante los dos primeros años del cultivo.

b. Laurel (sombra permanente).

Se estableció el laurel (*Cordia alliodora*), a un distanciamiento de 12x9 m, obteniendo 92 árboles/ha, ubicando un árbol (tratamiento) en cada unidad experimental.

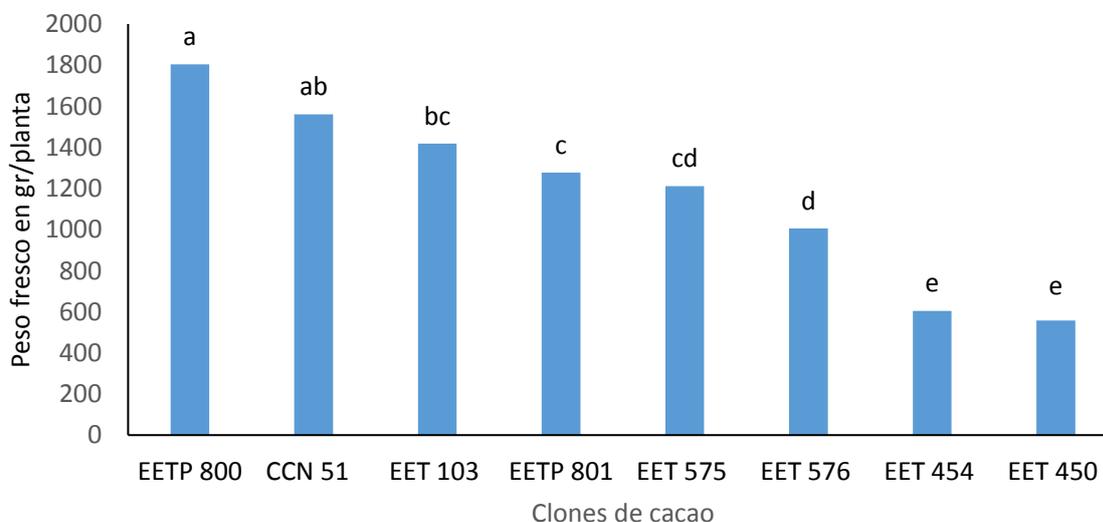
c. Naranja (otro componente).

Se estableció naranja (*Citrus sinensis*) como otra especie del sistema, a un distanciamiento de 12x9 m, con un total de 92 plantas/ha, ubicando un árbol (tratamiento) dentro de cada unidad experimental de tal manera que no interfiera en el desarrollo de las plantas de cacao.

### Resultados

Para determinar el resultado del efecto de la frecuencias de riegos en ocho clones de cacao se consideró la producción en fresco dentro del periodo seco, esto entre los meses de julio a noviembre de 2021; los resultados del análisis de varianza para el efecto frecuencia de riego no hubo diferencias estadísticas para el peso fresco por planta (*p* valor 0,6368).

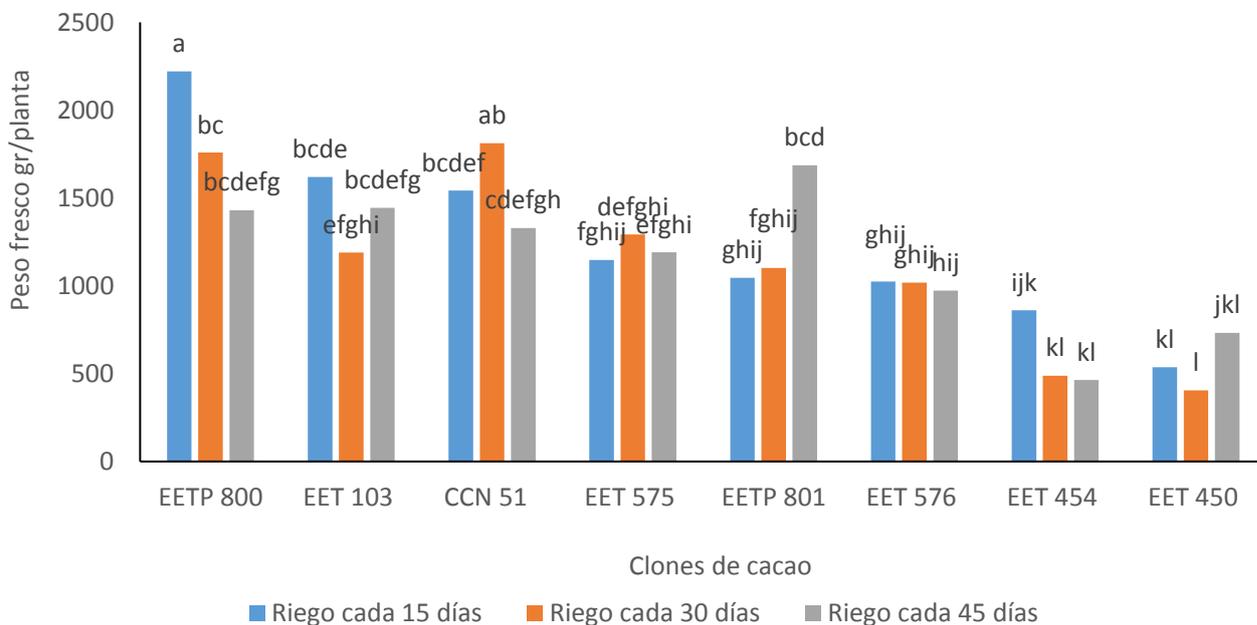
La producción de peso fresco en gramos por planta para los clones durante este periodo de aplicación de las frecuencias de riego (Julio-Noviembre) la producción de los ochos clones se observa en la figura 4, donde el clon EETP-800 se mantiene en primer lugar con una producción promedio por planta de 1803 g., seguido del CCN-51 con 1560 g.; el análisis de varianza determinó que existen diferencias estadísticas altamente significativa (*p* valor <0,0001) entre clones.



**Figura 4.** Peso fresco (g) de almendras producidas por planta de ocho clones de cacao fresco (gr) bajo tres frecuencias de riego.

En la figura 5 se puede observar el efecto de las tres frecuencia de riego por cada clon, el análisis de varianza determinó que existen diferencias altamente significativas con un *p* valor de 0,0037, esto entre la interacción clon-frecuencia de riego. En la figura se observa como la producción del clon EETP-800 disminuye a medida que la frecuencia de riego se alargan en días, teniendo así que la mayor producción la obtiene cuando se riega cada 15 días con 2221 g de cacao en baba por planta, siendo esta producción estadísticamente distinta a la producción alcanzada en el periodo de frecuencia a los 30 días con 1758 g y a los 45 días con 1429 g Existen otros clones como el CCN-51 que su mayor

producción la obtuvo en una frecuencia de riego cada 30 días, el clon EETP-801 de comportamiento distinto al resto demostró que la mejor producción la obtiene cuando se suministra riego cada 45 días, lo que significa que la planta tiende a producir más en largos periodos de riego, esto se convierte en alternativa para reducir costos de producción en el componente riego, considerando que existen otros clones donde la mejor producción la obtienen con frecuencia de riegos a los 15 días.



**Figura 5.** Peso fresco (g) de almendras de la interacción clon-frecuencias de riego en ocho clones de cacao.

### Conclusiones

1. La evaluación de los diferentes componentes del sistema agroforestal, permitió conocer una amplia adaptabilidad entre los clones de cacao y los arboles utilizados como sombra, lo que puede favorecer en la identificación y selección de individuos por reunir buenas características agronómicas bajo este sistema.
2. Existen clones de cacao que responden mejor a frecuencias de riego cada 15 días, ya que a medidas que pasa más días consecutivos sin riego la producción tiende a descender.

### Recomendaciones

1. Continuar con el proceso de investigación del presente estudio, complementando de esta manera con las diferentes variables a estudiar entre ellas las frecuencias de riego y la interacción con los clones bajo estudio.

### Referencias

Agudelo, L. A. & Grisales, A. (2000). Sistema agroforestal de producción de Plátano - cacao - nogal para la zona cafetera marginal baja. En: Memorias. Taller Internacional: Métodos y Procedimientos para Investigación en Sistemas Agroforestales. (Tibaitatá. Julio 31, agosto 1 y 2). CORPOICA. Bogotá, Colombia.

Amores, F. Agama, J. Suarez, C. Quiroz, J. & Motato, N. (2009). EET-575 y EET-576 Nuevos clones de cacao Nacional para la zona central de Manabí. Boletín Divulgativo N° 346. INIAP. Quevedo. EC. 28p.

Freire, M. (1993). Efeitos da irrigação complementar no rendimento do cacauero *Theobroma cacao*, USP Tese de mestrado. ESALQ, Piracicaba, São Paulo – Brasil.

INIAP (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuaria). (2004). Informe Técnico Anual. Programa de Cacao y Café. Estación Experimental Portoviejo. Manabí. EC. 20p.

Limongi, R. & Solórzano, G. (2010). Alternativas agroforestales sustentables para la producción de cacao fino de aroma. IN Manejo Técnico del cultivo de cacao en Manabí. Manual N° 75. INIAP. Portoviejo, EC. 141p.

Loor, R. Casanova, T. & Plaza, L. (2016). Mejoramiento y homologación de los procesos de investigación, validación y producción de servicios en cacao y café. Eds. Publicación Miscelánea No. 433, 1ª ed. INIAP (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias), EET-Pichilingue, Mocache, Ecuador. 103 p. ISBN: 978-9942-22-103-2

Loor Solórzano, R. G., Sotomayor Cantos, I. A., Jiménez Barragán, J. C., Tarqui Freire, O. M., Rodríguez Zamora, G. A., Casanova Mendoza, T. D. J., & Quijano Rivadeneira, G. C. (2018). INIAP-EETP-800 e INIAP-EETP-801 nuevos clones de cacao fino y de aroma con alto rendimiento.

Melo, C. & Hollander, G. (2013). Unsustainable development: Alternative food networks and the Ecuadorian Federation of Cacao Producers, 1995-2010. *J Rural Stud.* No. 32: p. 63.

Motato, N & Cedeño, J. (2010). Caracterización agronómica de las zonas cacaoteras en Manabí. IN Manejo Técnico del cultivo de cacao en Manabí. Manual N° 75. INIAP. Portoviejo, EC. 141p.

Motato, N. Solórzano, G. Cedeño, J. (2009). Riego suplementario para el cultivo de cacao en Manabí. Boletín divulgativo No. 345. INIAP. Portoviejo. 28 p.

Quiroz, J., Vera, J. & Enriquez, G. (1992). Determinación de genotipos de compatibilidad de algunos clones de cacao (*Theobroma cacao* L). Estación Experimental Tropical Pichilingue. Boletín técnico N° 71.

Ortiz, A. Riasco, L. & Somarriba, E. (2008). Almacenamiento y tasa de fijación de carbono en sistemas agroforestales de cacao (*Theobroma cacao*) y laurel (*Cordia alliodora*). *Agroforestería en las Américas.* 46: 26-29

Quiroz, J. (2010). Sistemas de sombra de cacao con maderables. Estación Experimental Litoral Sur. Programa de Cacao y Café. Boletín divulgativo N°151.

Siqueira, P. Sena, G. Dias, L y Souza, C. (1996). Efeito da irrigação na produtividade do cacauero *Theobroma cacao* L. em Linhares Brasil. En: *Proceedings 12th International Coca Research Conference.* Salvador, Bahía, Brasil. p. 867 – 877.

Solórzano, G. & Mendoza, A. (2010). Clasificación botánica y cultivares recomendados para Manabí. IN Manejo Técnico del cultivo de cacao en Manabí. Manual N° 75. INIAP. Portoviejo, EC. 141p.

**Actividad 4:** Respuestas fisiológicas, morfológica y productiva al déficit de agua en combinaciones de patrones e injertos de clones de cacao.

**Responsable:** Geover Peña Monserrate (EEP)

**Colaboradores externos:** Dr. Ramón Jaimez, Dr. Francisco Arteaga, Dr. George Cedeño (UTM)

### Antecedentes

El crecimiento de la población mundial demanda cada día más bienes y servicios, entre ellos la producción de alimentos (FAO, 2017), para esto se deforestan significativas cantidades de bosques ampliando la frontera agrícola, incrementándose mayor cantidad de CO<sub>2</sub>, provocando progresivamente el calentamiento del planeta por efecto invernadero desencadenando cambios en el clima y la consecuente degradación de los suelos, disminución de fuentes hídricas y pérdida de la biodiversidad tanto de fauna como flora (Escalante, 2017). Por consiguiente, de todas las actividades relacionadas con la seguridad alimentaria la agricultura es, quizás, la que más influenciada está por las fluctuaciones de las condiciones del cambio climático (Hidalgo, 2013).

América Latina, región reconocida por sus recursos hídricos, está siendo afectada en cuanto a disponibilidad y calidad de este recurso en varias de sus subregiones. La ausencia de precipitaciones y temperaturas elevadas conducen a deficiencias hídricas, originando sequías, provocando estrés hídrico en las plantas, siendo las regiones más afectadas aquellas en donde la agricultura se desarrolla en condiciones extremas por falta de agua (Hidalgo, 2013; Magrin y Canziani, 2007; Wilhite, 2006). Donat et al., (2013) al realizar un análisis de índice de precipitación, determinaron en unos casos aumento de frecuencia de lluvias extremas en algunas regiones de América del Sur, pero por otro lado evidenciaron que en la costa ecuatoriana un permanente aumento de días consecutivos sin precipitación, y el probable aumento de períodos de sequía.

El Ministerio del Ambiente, en el 2009 al realizar un estudio de vulnerabilidad de riesgos climáticos en seis cuencas hidrográficas del Ecuador, entre las que estaba la del río Portoviejo, determinó que está se encontraba entre las de mayor probabilidad de ocurrencia de sequías más extensas y con menor disponibilidad de agua siendo este un factor limitante de la producción agrícola, afectando la actividad económica más importante como la agricultura, que ocupa a más del 50% de la población económicamente activa (PEA), reduciendo significativamente la producción de cultivos importantes entre ellos el maíz, arroz, yuca, café y cacao (Falconi, 2009).

Dentro de estos, la producción del cultivo cacao es una de las actividades más importantes de la economía mundial, ocupando el cuarto lugar en la lista de cultivos tropicales, detrás de la palma aceitera, el caucho y las musáceas (Phillips-Mora, 2015; ICCO, 2015); mientras que en Ecuador ocupa el tercer rubro de mayor importancia de las exportaciones no petroleras del país (BCE, 2018). Es el cuarto país con mayor producción mundial de cacao con el 5% y el primer lugar como proveedor de cacao nacional fino de aroma con el 63% de la producción mundial (Leon et al., 2018), con una superficie cultivada de 573 516 mil ha., que producen alrededor de 206 mil Tm. (Salazar et al., 2017).

Sin embargo, esta producción enfrenta continuamente dos amenazas, siendo los problemas fitosanitarios y el cambio climático que causa ambientes de mayor temperatura y déficit hídrico. La primera es la afectación causada por enfermedades fungosas principales que son la Moniliasis y la Escoba de Bruja causadas por *Moniliophthora roreri* y *Moniliophthora perniciosa*, respectivamente (Ploetz 2016; Phillips-Mora 2015). En el caso del déficit hídrico, el cacao es sensible a los cambios del clima, específicamente la falta del recurso hídrico, siendo esta una limitante ambiental, que produce

efectos negativos en el crecimiento y productividad del cultivo (Anim-Kwapong y Frimpong, 2004; Pautasso, Döring, Garbelotto, Pellis, y Jeger, 2012); por consiguiente la poca disponibilidad en el suelo puede ocasionar que la transpiración exceda el agua absorbida por las raíces, este fenómeno se conoce como déficit hídrico provocando un estrés hídrico (Munns y Tester, 2008).

## OBJETIVOS

### General.

Generar una tecnología de manejo del estrés hídrico en cacao mediante la respuesta morfofisiológicas en diferentes combinaciones patrón e injerto en condiciones de déficit hídrico en vivero y evaluar en campo el potencial productivo y fitosanitario de estas combinaciones bajo un sistema agroforestal.

### Específicos.

1. Determinar el efecto del déficit hídrico sobre el crecimiento y la respuesta hídrica de las combinaciones patrón-injerto de cacao en etapa de vivero.
2. Determinar las diferencias en la respuesta fotoquímica de las combinaciones patrón-injerto de cacao en etapa de vivero.
3. Establecer en campo estas combinaciones y determinar el potencial productivo y fitosanitario bajo un sistema agroforestal (SAF).
4. Evaluar la eficiencia de un sistema agroforestal de cacao que permita una mayor rentabilidad que da un sistema en monocultivo.

### Metodología

La presente investigación se encuentra desarrollando en dos fases, en la primera fase se está determinando el efecto del déficit hídrico sobre el crecimiento, la respuesta hídrica y fotoquímica de 28 combinaciones patrón-injerto de cacao en vivero, mientras que la segunda fase es evaluar el potencial productivo, fitosanitario y calidad organoléptica bajo condiciones de un sistema agroforestal, así como evaluar una alternativa de sistema agroforestal de cacao que permita una mayor rentabilidad que la de un sistema monocultivo.

### Fase 1 (nivel vivero)

#### Ubicación

El presente trabajo de investigación se encuentra realizando en el vivero de cacao de la Estación Experimental Portoviejo del INIAP, ubicado en el Km 12 vía Portoviejo – Santa Ana, parroquia Colón del cantón Portoviejo, provincia de Manabí (Figura 1). Ubicada geográficamente a: 01°07'26,62" de latitud sur y 80°24'50,97" de longitud oeste, a 54 msnm. (Figura 6).



**Figura 6.** Ubicación del trabajo experimental en el vivero de cacao de la EE-Portoviejo (Captura de Google Maps, Enero 2021).

### Factores climáticos de la zona de estudio

En la tabla 6, se detalla los factores climáticos de la EE-Portoviejo donde se evaluó la respuesta morfofisiológicas entre diferentes combinaciones patrón–injerto de cacao, en condiciones de déficit hídrico.

**Tabla 6.** Datos climáticos de la EE-Portoviejo.

Zona climática	Bosque seco tropical
Temperatura promedio	26,4°C
Precipitación media anual	851,57 mm
Humedad relativa promedio	81 %
Topografía	Plana

Instituto Nacional de meteorología e Hidrología (INAMHI). Anuarios meteorológicos promedio de 10 años. 2009 – 2019. Estación Lodana-Santa Ana.

### Características y manejo del experimento

Los patrones de cacao se sembraron en bolsas de plástico negro calibre tres, de 40,64 cm de altura y 30,48 cm de ancho, con cuatro perforaciones de 0,5 cm de diámetro en los costados, las bolsas se llenaron con suelo hasta 2 cm del borde para una altura final de 38,64 cm. Durante el tiempo de germinación y crecimiento de los patrones (105 días), se efectuaron 13 riegos, manteniendo el suelo a capacidad de campo ( $\theta_{cc}$ , %). Luego se realizaron los injertos para obtener las combinaciones patrón–injerto posible y, al cabo de dos meses y medio se comenzó aplicar los tratamientos hídricos (parcela principal), que fueron déficit hídrico y sin déficit hídrico por el periodo de 20 días.

### Factores en estudio

**Factor A:** Tratamientos hídricos

Sin déficit hídrico (riego normal 20 días)

Con déficit hídrico (Sin riego 20 días)

**Factor B:** Tratamiento genético

Para la presente investigación se evaluaron cuatro patrones comerciales y recomendados por el INIAP, por su resistencia a las principales enfermedades del suelo en especial a *Ceratocystis cacaofunesta* Engelbr. y TCHarr. (2005). Por otro lado se utilizaron dos clones comerciales y recomendados por el INIAP por ser altamente productivos para las zonas agroclimáticas de la provincia de Manabí, más tres clones comerciales y un clon experimental que por sus características altamente productivas se los ha considerado para el presente estudio como testigos. Los clones no disponibles en la EE-Portoviejo, se trasladaron desde la EET-Pichilingue. En la tabla 7 se detallan estos patrones (del 1 al 4) y clones (del 5 al 10). Obteniendo 24 combinación patrón-injerto más cuatro patrones (libre polinización) de cacao como referencias.

**Tabla 7.** Patrones y clones de cacao en estudio y su grupo genéticos para conocer la respuesta morfológica y fisiológica al déficit hídrico en fase de vivero.

Nº	Patrón/Clon	Material Genético	Grupos genéticos
1	Patrón	EET – 399	FA x VA
2		EET – 400	VA x F
3		POUND – 12	F
4		IMC-67	F
5	Clon	EET – 575	Nacional
6		EET – 576	Nacional
7		EETP – 800	Tri x Nac
8		EETP – 801	Tri x Nac
9		CCN – 51	Tri.
10		Clon 484	Amaz

FA = Forastero Amarillo

F = Forastero

VA = Venezolano Amarillo

Tri. = Trinitario

Nac = Nacional

Amaz = Amazónico

**Tratamientos en estudio**

Los tratamientos en estudios están constituidos por 24 combinaciones patrón-injertos más los cuatros patrones sin injertar y los dos tratamientos hídricos, teniendo un total de 56 tratamientos en estudio. En la tabla 8, se presentan los tratamientos en estudio.

**Tabla 8.** Tratamientos en estudio para conocer la respuesta morfológica y fisiológica al déficit hídrico en fase de vivero.

Nº de tratamiento	Sin déficit hídrico			Nº de tratamiento	Con déficit hídrico		
	Patrón	X	Injerto		Patrón	X	Injerto
1	EET-399	×	EETP - 800	1	EET-399	×	EETP - 800
2	EET-399	×	EETP - 801	2	EET-399	×	EETP - 801
3	EET-399	×	INIAP - 484	3	EET-399	×	INIAP - 484
4	EET-399	×	EET - 575	4	EET-399	×	EET - 575
5	EET-399	×	EET - 576	5	EET-399	×	EET - 576
6	EET-399	×	CCN - 51	6	EET-399	×	CCN - 51
7	EET-399			7	EET-399		
8	IMC-67	×	EETP - 800	8	IMC-67	×	EETP - 800
9	IMC-67	×	EETP - 801	9	IMC-67	×	EETP - 801
10	IMC-67	×	INIAP - 484	10	IMC-67	×	INIAP - 484
11	IMC-67	×	EET - 575	11	IMC-67	×	EET - 575
12	IMC-67	×	EET - 576	12	IMC-67	×	EET - 576
13	IMC-67	×	CCN - 51	13	IMC-67	×	CCN - 51
14	IMC-67			14	IMC-67		
15	EET-400	×	EETP - 800	15	EET-400	×	EETP - 800
16	EET-400	×	EETP - 801	16	EET-400	×	EETP - 801
17	EET-400	×	INIAP - 484	17	EET-400	×	INIAP - 484
18	EET-400	×	EET - 575	18	EET-400	×	EET - 575
19	EET-400	×	EET - 576	19	EET-400	×	EET - 576
20	EET-400	×	CCN - 51	20	EET-400	×	CCN - 51
21	EET-400	×		21	EET-400	×	
22	POUND-12	×	EETP - 800	22	POUND-12	×	EETP - 800
23	POUND-12	×	EETP - 801	23	POUND-12	×	EETP - 801
24	POUND-12	×	INIAP - 484	24	POUND-12	×	INIAP - 484
25	POUND-12	×	EET - 575	25	POUND-12	×	EET - 575
26	POUND-12	×	EET - 576	26	POUND-12	×	EET - 576
27	POUND-12	×	CCN-51	27	POUND-12	×	CCN-51
28	POUND-12			28	POUND-12		

## Diseño experimental y análisis estadísticos

### Diseño experimental

Para el presente trabajo de investigación y con el fin de reducir el error experimental, se estableció en el área de estudio un diseño experimental de bloques completos al azar (DBCA), en parcelas divididas con arreglo bifactorial, con dos tratamientos hídricos (déficit hídrico y riego normal) y 28 tratamientos, tres repeticiones, obteniendo un total de 168 unidades experimentales, cada unidad experimental está conformada por cuatro plantas por tratamiento. Ver Tabla 9.

**Tabla 9.** Esquema del Análisis de Varianza para el esquema de parcela dividida con arreglo bifactorial en un diseño experimental de bloques completo al azar (DBCA) para conocer la respuesta morfológica y fisiológica al déficit hídrico en fase de vivero.

Fuente de Variación	Grados de libertad	
Parcela principal	$A*r-1$	5
Repeticiones	$r-1$	2
Factor A	$a-1$	1
Error experimental A	$(a-1)(r-1)$	2
Subparcelas	$(a*r)(b-1)$	162
Factor B	$b-1$	27
A x B	$(a-1)(b-1)$	27
Error experimental B	$(a)(r-1)(b-1)$	108
Total	$a*b*r-1$	167

La distribución de los tratamientos se observan en la tabla 10, factor A (con déficit hídrico y sin déficit) aleatorizado. Factor B (patrones-injerto) aleatorizados.

**Tabla 10.** Distribución de los 56 tratamientos con tres repeticiones para conocer la respuesta morfológica y fisiológica al déficit hídrico en fase de vivero.

Repetición I		Repetición II		Repetición III	
12	13	21	1	9	6
28	18	26	24	11	8
5	26	2	14	19	2
2	19	13	2	28	15
22	9	4	19	7	23
24	12	9	17	12	25
26	8	10	20	13	9
3	14	14	13	1	7
25	15	6	12	5	4
6	11	18	18	25	20
16	6	17	25	6	27
9	2	25	27	15	13
21	25	7	6	10	21
11	22	11	16	18	10
20	4	20	26	16	24
1	10	8	8	17	18
4	21	28	4	14	14
10	20	12	21	27	17
8	24	27	9	23	19
14	27	5	11	22	5
17	1	1	28	26	1
7	28	19	7	3	3
27	5	23	22	4	22
18	17	3	10	24	26
23	23	15	3	21	16
19	7	16	15	8	28
15	3	24	5	2	12
13	16	22	23	20	11
Sin déficit hídrico	Con déficit hídrico	Sin déficit hídrico	Con déficit hídrico	Con déficit hídrico	Sin déficit hídrico

### Análisis estadístico

Cuando se cuente con los datos registrados, se creara una matriz en *excell*, se realizó la prueba de Normalidad de Shapiro Wilk modificado utilizando el programa estadístico *Infostat V. 2018*. Además se realizó estadística descriptiva, mediante los estadígrafos: mínimo, máximo, media, desviación típica y varianza y mediana.

Luego se ejecutaron análisis de varianza simple para cada patrón y sus combinaciones con las variables respuestas; para establecer las diferencias estadísticas de medias por combinaciones patrón-injerto se utilizó la prueba de *Tukey* al 0,05% de probabilidad.

### VARIABLES FISIOLÓGICAS

Este grupo de variables fueron registradas al momento de la aplicación de los tratamientos hídricos (75 días después de injertar) sin déficit hídrico (con riego) y con déficit hídrico (sin riego), se consideró como cero días o datos iniciales a la primera evaluación, la segunda evaluación se realizó a los 14 días, finalmente la tercera evaluación se realizó a los 20 días; estas evaluaciones se realizaron tanto en las primeras horas de la mañana (06h30-07h30) como en horas de la tarde (13h30-14h30).

**Potencial hídrico foliar ( $\Psi_{foliar}$ ):** Se midió en las hojas maduras de las plántulas de cacao con una bomba de presión Modelo SKYE, Powys, R.U., que consiste en una cámara hermética en la cual se coloca una hoja con el pecíolo hacia fuera a las cuales se aplica una presión positiva (gas nitrógeno) de manera tal de vencer la presión negativa (tensión) de la columna de agua que se encuentra en el xilema, el registro se lo realizó con intervalos de evaluación de 8 días, en las primeras horas de la mañana (07h30-08h00) y en las primera hora de la tarde (13h00-14h30). Esta variable se expresó en Mpa. Para medir el  $\Psi_{foliar}$ , se tomó una hoja de la parte media de la planta de cada combinación patrón-injerto en cada tratamiento, las cuales, fueron cubiertas con una bolsa de material de aluminio para reflejar la luz del sol, evitar que se calienten, y conseguir el equilibrio entre el potencial hídrico de la hoja y el potencial hídrico del xilema (Romero et al., 2014).

**Conductancia estomática en  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (gs):** Simultáneamente a las mediciones de potencial hídrico se midió el valor de apertura de los estomas con un porómetro modelo SC-1. El principio de este instrumento es medir la presión de vapor y el flujo de vapor sobre la superficie de la hoja, que deben estar limpias, secas, intactas, verdes, sin signos de daños o enfermedades. La pinza del Porómetro, que incorpora una cámara con un recorrido de difusión conocido, se fija a la superficie de las hojas, y a continuación se comenzó a medir la presión de vapor entre dos puntos de esta trayectoria, para calcular el flujo y el gradiente con las medidas de presión de vapor y conductancia de difusión conocida.

**Eficiencia cuántica del Fotosistema II ( $\Phi_{PSII}$ ) (Kromkamp y Forster, 2003):** Se midieron dos variables que miden el funcionamiento de fotoquímica de luz en utilizar la energía solar en la fotosíntesis. Estas mediciones se realizaron paralelamente a las mediciones de conductancia y potenciales hídricos con un fluorómetro modelo OSP+5, la eficiencia cuántica del PSII ( $\Phi_{PSII}$ ): mide la proporción de energía absorbida que está siendo usada para impulsar el proceso fotoquímico, indica

la proporción de luz absorbida por la clorofila asociada al fotosistema II y que es usada en los procesos fotoquímicos. Esta variable se determinó a través de la siguiente fórmula:

$$\Phi_{PSII} = \frac{(Fm' - Fs) / Fm' \text{ Rendimiento de producto fotoquímico (luz utilizada)}}{(Fm') \text{ Total de producto fotoquímico absorbido (captación de luz)}}$$

**Tasa de transporte de electrones (ETR) ( $\mu\text{mol e m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ):** Es la tasa de transporte de electrones de la cadena fotosintética en la membrana de los tilacoides. La tasa de transporte electrónico (ETR) se calcula en base a la siguiente fórmula:

$$ETR = ((Fm' - Fs) / Fm') \times 0,84 \times 0,5 \times PAR \text{ (m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{)}$$

Donde el valor de 0,84 en la fórmula, equivale a la proporción de luz que es absorbida y el de 0.5 a la proporción de luz que es transferida al sistema a cada uno de los fotosistemas (*PSII* y *PSI*) y la radiación fotosintéticamente activa (PAR) usado en  $\mu\text{moles.m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

Las variables  $\Phi$  "PSII" y ETR no se registraron a los 20 días de déficit hídrico, debido a que fluorómetro presentó desperfecto en el sistema de lectura de los datos.

### Variables morfológicas

**Diámetro del tallo del patrón en mm:** Esta variable se midió en 4 plantas por unidad experimental, a 1 cm por debajo del nudo de los cotiledones, al inicio (0 días) y al final (20 días) de los tratamientos hídricos, empleando un calibrador digital tipo "Vernier" graduado en milímetros.

**Volumen de raíces laterales en  $\text{cm}^3$ :** Esta variable se obtuvo del muestreo destructivo de una planta en cada tratamiento, las raíces se separaron del follaje, extraídas y lavadas, para eliminar los residuos de sustrato y se midió el volumen de raíces con una probeta de vidrio de  $1000 \text{ cm}^3$ , a la que se colocó agua hasta alcanzar un volumen de  $500 \text{ cm}^3$ ; en dicho volumen se sumergió el sistema radical, para registrar el volumen desplazado, el registro de estas variables se realizó a los 20 días después de aplicar los tratamientos hídricos.

**Biomasa en g:** Esta variable se determinó con el peso seco de las hojas de las plántulas de cacao sometidas a  $70^\circ\text{C}$  por 48 h en una estufa, una vez secado se procedió a pesar en una balanza digital (Jaimez, 2000). El registro de estas variables se realizó con las muestras tomadas a los 20 días después de aplicar los tratamientos hídricos.

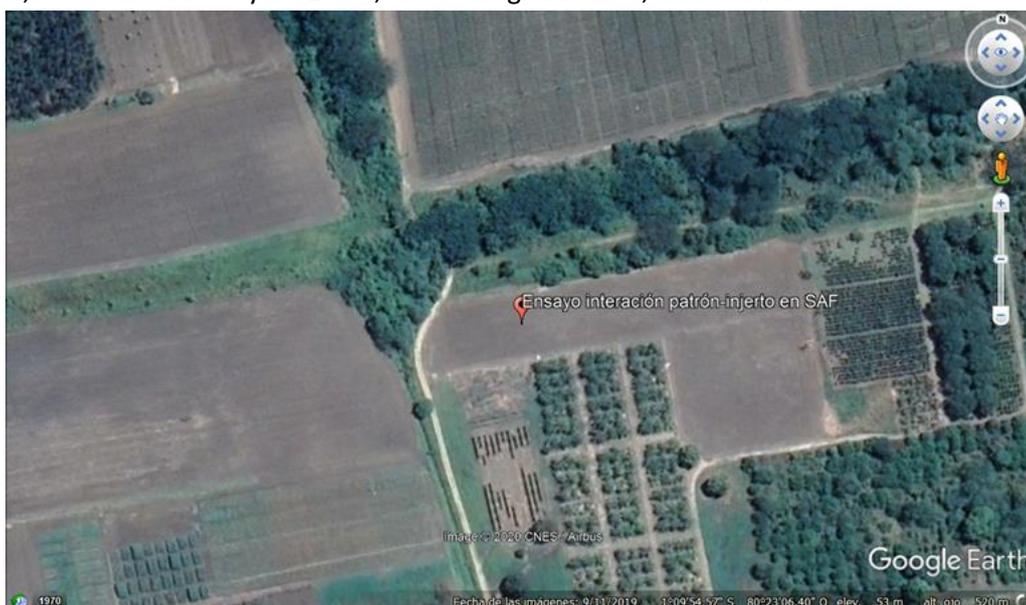
Para cada variable morfológica se determinó el porcentaje de disminución (% D) entre los tratamientos hídricos para cada patrón y sus combinaciones de injerto de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% D = \frac{\text{Valor con déficit hídrico} - \text{Valor sin déficit hídrico}}{\text{Valor sin déficit hídrico}} \times 100$$

## Fase 2 (Nivel campo)

### Ubicación

El presente trabajo de investigación se encuentra ubicado en la granja experimental la Teodomira de la Estación Experimental Portoviejo del INIAP, ubicado en el Km 18 vía Portoviejo – Santa Ana, parroquia Lodana del cantón Santa Ana, provincia de Manabí (figura 7). Ubicada geográficamente a: 01°09'54,57" de latitud sur y 80°23'06,40" de longitud oeste, a 53 msnm.



**Figura 7.** Ubicación del trabajo experimental en campo dentro de la granja La Teodomira EE-Portoviejo (Captura de Google Maps, julio 2020).

### Factores climáticos de la zona de estudio

En la tabla 11 se detalla los factores climáticos de la zona en estudio.

**Tabla 11.** Factores edafo-climáticos<sup>1</sup> de la zona de estudio para evaluar la respuesta del potencial productivo de 24 combinaciones patrón-injerto y cuatro patrones.

Factores climáticos	Descripción
Zona climática <sup>2</sup>	Bosque muy seco Tropical 14819 HA-14,23%
Temperatura promedio	26,4°C
Precipitación media anual	851,57 mm
Humedad relativa promedio	81 %
Topografía	Plana
Tipo de suelo	Franco arcilloso

Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI). Anuarios meteorológicos promedio 2011 – 2019. Estación Lodana-Santa Ana.

<sup>2</sup> Zona de vida según Holdridge,

### Factores en estudio

Los factores en estudios comprenden las 24 combinaciones patrón-injerto más cuatro patrones de cacao

### Delineamiento y unidad experimental

Cada unidad experimental consta de 3 plantas

Distanciamiento de 4 m entre hileras y 3 m entre plantas,

Área de 36 m<sup>2</sup> por tratamiento, con un

Total 84 unidades experimentales,

Total de 3024 m<sup>2</sup> para todo el ensayo.

### Diseño experimental

En el presente trabajo de investigación se realizó un diseño experimental de bloques completos al azar (DBCA) con 28 tratamiento genético, tres repeticiones.

### Establecimiento y diseño del sistema agroforestal.

Para garantizar el éxito de un sistema agroforestal con cacao se deben tomar en cuenta aspectos como la identificación de los objetivos del cultivo, la selección de especies a plantar, el material genético a emplear, la distribución espacial, las distancias de siembra, las condiciones agroecológicas de la zona, el mercado, entre otros (Rojas y Sacristán, 2013).

Por consiguiente, para el presente estudio se diseñó un sistema que permitió definir como están ubicadas en la parcela las plantas de cacao y los componentes del sistema, y cómo éstos van a ir disminuyendo con el tiempo (% de sombra). Este diseño garantiza que haya un mejor uso del espacio, agua y nutrientes disponibles. Con este sistema se controla la regulación de temperatura en el ensayo, se modera la entrada de luz o brillo solar, disminuye el efecto del viento, protege y mejorar el suelo. Todo esto está ayudando a generar una alta productividad y fomentar la biodiversidad en las parcelas del cacao.

Primero se sembraron las plantas de sombra permanentes como las maderables (*Gmelina arborea* Roxb. 1814). Después la sombra temporales como plátano (*Musa* sp), y especies frutícolas como papaya (*Carica papaya* L.) y de último las especies de sombra intermedia como el frejol de palo (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.), yuca (*Manihot esculenta* Crantz) y finalmente el cacao.

A continuación el detalle de las actividades del presente estudio:

**Preparación del sitio definitivo.** Inicialmente se acondicionó el terreno con un pase de arado y dos pases de rastra, posteriormente se procedió a establecer los surcos cada cuatro metros para dotar de irrigación en época seca.

**Balizado.** Se realizó el balizado en marco real de acuerdo a los distanciamientos establecidos (4 x 3 m) en orientación Este–Oeste, alineada mediante la formación de un rectángulo y se colocaron las estaquillas de caña en cada sitio de siembra.

**Ahoyado.** Se realizaron hoyos de 50 x 50 x 50 cm de ancho, largo y profundidad con el objeto de eliminar capas de suelo compactadas y prestar facilidades para el desarrollo de las raíces.

**Manejo de malezas.** El control de malezas se inició con aplicaciones químicas, utilizando un herbicida post-emergente selectivo para gramíneas como Cletodim 120 g/l, aplicando 100 ml/bomba + 100 ml/bomba de amina. Luego se realizaron controles mecánicos (motoguadaña) de acuerdo a los requerimientos del experimento.

### **Manejo de los cultivos de los componentes del sistema.**

#### **Componente 1: Manejo de la sombra permanente de melina**

**Obtención.** La sombra permanente proporcionada por los árboles de melina fue proporcionada por el programa de Forestaría de la EEP, se obtuvieron 30 árboles para ser sembrados dentro del ensayo (12 x 12 m). Su establecimiento se dio entre las hileras de cacao.

**Aclimatación de los árboles.** Antes de la siembra, los árboles fueron ubicados en un invernadero acondicionado para la aclimatación de la especie a su nuevo ambiente, en donde se le proveyó de labores culturales básicas como riegos periódicos y una fertilización de mantenimiento.

**Trasplante.** El trasplante de melina se lo realizó tres meses antes del establecimiento del cultivo de cacao. Esta labor se ejecutó mezclando con el suelo 100 gramos/planta de abono completo 10-30-10, de manera que no quede en contacto directo con las raíces de las plantas para evitar toxicidad y quemazón en las plantas.

**Podas de formación y fitosanitarias.** Se realizaron en aquellos árboles que presentaron ramas bajas o con problemas fitosanitarios, labor que se realizó con tijeras de podar, con el objeto de mantener un buen equilibrio fuste – copa, se procuró mantener libres de ramas en el primer tercio inferior del árbol, con un solo eje para obtener individuos sobresalientes y producir madera de pallets.

#### **Componente 2: Manejo de la sombra temporal de plátano**

**Obtención.** Como sombra temporal se estableció plátano, el material de siembra se obtuvo de los lotes de investigación de cacao y café de la EEP, donde se seleccionaron hijos de espada que presentaron buen estado, se estableció en una densidad de 100 plantas dentro del ensayo (8 x 6 m).

**Siembra.** La siembra se realizó tres meses aproximadamente antes del establecimiento del cultivo de cacao. La siembra se realizó mezclando con el suelo 100 gramos/planta de abono completo 10-30-10, de manera que no quedaron en contacto directo con las raíces de las plantas para evitar toxicidad y quemazón en las plantas.

**Deshije.** El deshije consistió en eliminar los conocidos hijos de agua y de espada que se encontraron en la misma inclinación de la madre o que se encontraron alrededor del pseudo tallo, al tener una altura de 0.80-1.00 m. la siguiente generación (nieta) se seleccionaron de los primeros brotes de los hijos seleccionados hacia los lugares más claros, y lo opuesto al hijo de las vecinas, a la vez también opuesto de la inclinación de la madre.

**Deshoje.** Esta práctica consistió en la eliminación de las hojas dobladas, favoreciendo de esta manera la circulación del viento, la penetración de los rayos solares, se realizó de acuerdo a los requerimientos del cultivo.

**Deschante.** El deschante consistió en eliminar todo el tejido viejo (chante) que se acumula en el pseudotallo. Se realizó de abajo hacia arriba, para no dañar el tejido vivo de la base, se la realizo con la misma frecuencia que el deshoje y deshije.

### Componente 3: Manejo de la sombra temporal de papaya

**Obtención.** El material de siembra se obtuvo de los lotes de productores de este cultivo, seleccionando semillas libre de plagas y enfermedades, con madurez fisiológica apropiada para la siembra; estas además presentaron buen estado, es decir sin daños físicos; se establecieron en una densidad de 100 plantas dentro del ensayo (8 x 6 m).

**Trasplante.** El trasplante se lo realizo tres meses antes del establecimiento del cultivo de cacao, de manera manual se realizó esta actividad, depositando tres plántulas por sitio, luego se realizó el sexado correspondiente, eliminando plantas denominadas macho, dejando a plantas hermafroditas, se realizaron resiembras a los 15 días después de sembrado.

### Componente 4: Manejo de la sombra intermedia de frejol de palo

**Obtención y manejo.** El material de siembra se obtuvo de los lotes de productores de este cultivo, seleccionando semillas libre de plagas y enfermedades, con madurez fisiológica apropiada para la siembra; se estableció una densidad de 304 plantas dentro del ensayo (4 x 3 m).

**Siembra.** La siembra se realizó dos meses antes del establecimiento del cultivo de cacao, se lo hizo manualmente con la ayuda de un espeque, depositando dos semillas por sitio, para luego realizar el raleo correspondiente, intercalado con las plantas de cacao, se realizaron resiembra a más a los 20 días después de sembrado.

**Poda.** A los tres meses de sembrado se realizó una poda de hojas bajas y de ramas secundarias e inferiores emitidas en las ramas principales, esto con el objetivo de dar aireación al sistema. El cultivo de frejol de palo se mantuvo por 12 meses (ciclo del cultivo), asociado al cacao.

### Componente 5: Manejo de la sombra intermedia de yuca

**Obtención.** El material de siembra se obtuvo de los lotes de investigación del programa de yuca y camote de la EEP, seleccionando varas libre de plagas y enfermedades, con madurez fisiológica

apropiada, es decir de 8-12 meses; estas además presentaron buen estado sin daños físicos; se estableció en una densidad de 100 plantas dentro del ensayo (8 x 6 m).

El corte de la vara se realizó en el aire con un machete bien afilado, tratando que sea lo más uniforme posible y evitar producir daños; para esto se realizó dos cortes, primero un corte suave o pequeño y luego se giró la vara y en la parte opuesta realizar un corte definitivo.

**Siembra.** La siembra se realizó con dos meses ante de la siembra del cultivo de cacao y se lo hizo manualmente clavando la vara en la posición inclinada en el suelo, se enterraron dos o tres yemas a una profundidad de cinco a siete cm, la resiembra se realizó los 20 días después de sembrado.

### Componente 6: Manejo del cultivo de cacao

**Obtención de plantas de cacao.** Las plantas se multiplicaron en los viveros de la Estación Experimental Portoviejo, mediante la clonación vía injerto de púa lateral, de acuerdo al protocolo de multiplicación establecido (Loor, et al., 2016). Los clones no disponibles en la EE-Portoviejo, se trasladaron desde la EET-Pichilingue.

**Trasplante.** Esta labor se realizó mezclando con el suelo 100 gramos/planta de abono completo 10-30-10, de manera que no quede en contacto directo con las raíces de las plantas para evitar toxicidad y quemazón en las plantas.

**Riego.** El riego se lo ha realizado por surcos, de acuerdo a las frecuencias establecidas en los tratamientos llenando cada surco en su totalidad. Cabe indicar que, se dieron riegos uniformes de tal manera que el cultivo se establezca.

### Resultados Fase 1 (Vivero)

#### Potencial hídrico foliar $\Psi_{foliar}$ (MPa)

El uso del potencial hídrico de la hoja ha sido extensamente utilizado en muchos estudios para monitorear la condición hídrica en la planta, y además ha permitido reconocer para los cultivos valores críticos de contenidos agua y así poder categorizar cada situación hídrica, con determinados niveles de estrés hídrico (Acevedo-Opazo et al., 2010; Van Leeuwen et al., 2009).

En la figura 8 A se observa que en las primeras horas de la mañana, las combinaciones con el patrón EET-399 que no fueron sometidas a déficit hídrico tanto a los 14 días como a los 20 días, mantienen un  $\Psi_{foliar}$  de -1,0 MPa, mientras que aquellas plantas que se encuentran en estrés por déficit hídrico superan este valor, encontrando valores de  $\Psi_{foliar}$  hasta de -3,15 MPa para el caso de las plantas del patrón EET-399, estas sometidas a los 20 días de déficit hídrico; también se puede observar que dentro de las plantas de las combinaciones patrón-injerto, que a pesar de estar sometidas a déficit hídrico presentaron valores de  $\Psi_{foliar}$  -0,7 MPa para la combinación EET-576; mientras que para los 20 días de déficit hídricos todas las combinaciones presentaron mayor pérdida de agua en forma de vapor, encontrando  $\Psi_{foliar}$  mayores de -1,28 MPa.

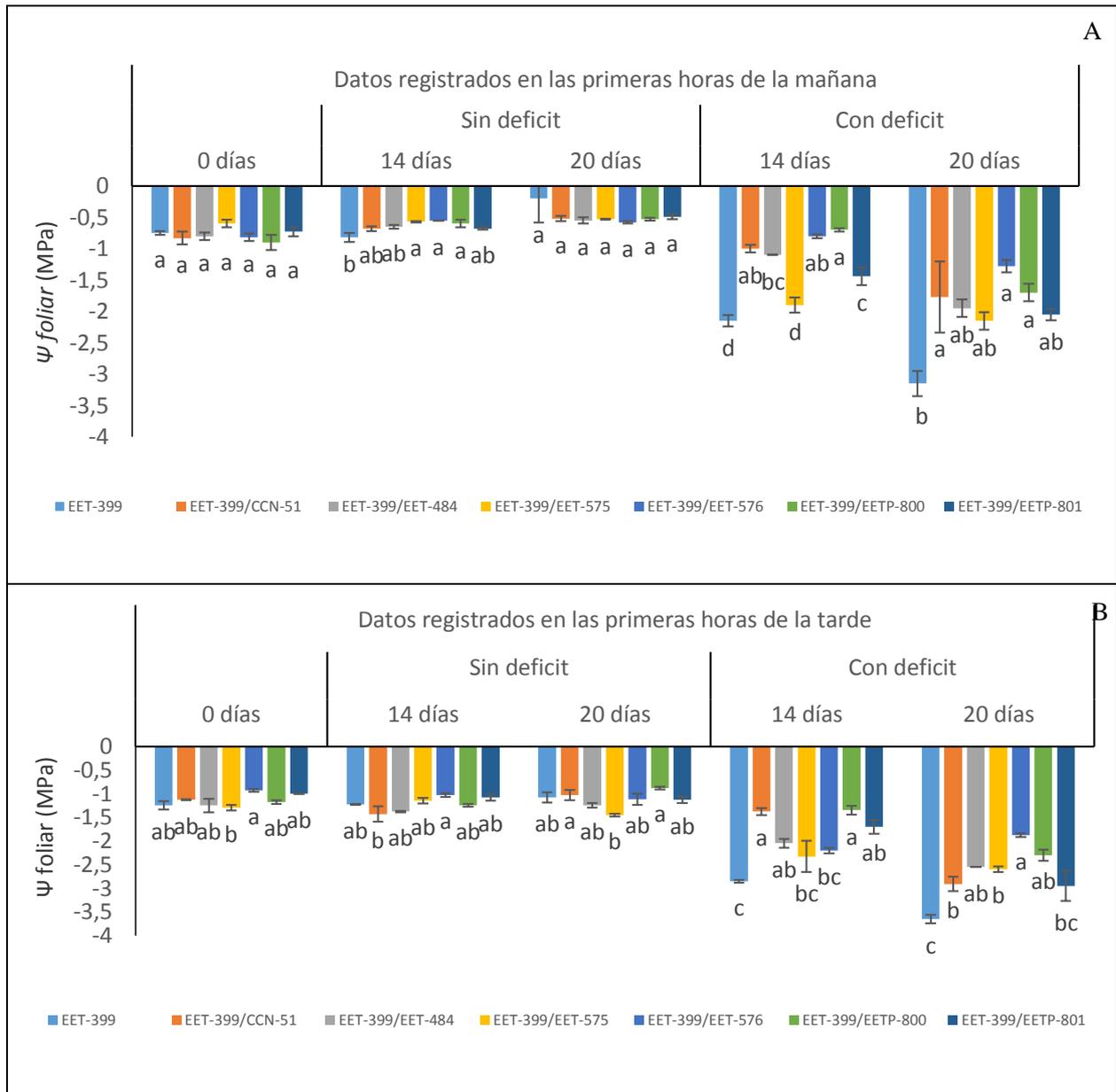
Las diferencias de  $\Psi_{foliar}$  entre el patrón y sus combinaciones a los 14 días y a los 20 días de déficit hídrico en las primera horas de la mañana presentaron diferencias estadísticas altamente significativas con *p valor* de  $<0,0001$  y  $0,0050$  respectivamente.

En la figura 8 B se observa que en horas de la tarde el  $\Psi_{foliar}$  las plantas sin déficit hídrico presentaron valores  $\Psi_{foliar} -1,43$  MPa a los 14 días para la combinación EET-399 con CCN-51 y de  $\Psi_{foliar} 1,45$  MPa a los 20 días de evaluación para la combinación EET-399 con EET-575. La pérdida de agua en forma de vapor por efecto del déficit hídrico a los 14 días se vio acentuado en horas de la tarde, presentando valores más negativos en plantas evaluadas bajo estas condiciones, teniendo así que el patrón tuvo un  $\Psi_{foliar} -3,65$  MPa, y entre las combinaciones con mayor pérdida fue EET-399 con EETP-801 con  $\Psi_{foliar} -2,95$  MPa, por otro lado es importante reconocer que existieron combinaciones que a pesar de estar bajo estrés por déficit hídrico presentaron valores de  $\Psi_{foliar}$  más positivos como la combinación EET-399 con EETP\_800 con  $\Psi_{foliar} -1,35$  MPa a los 14 días de déficit hídrico.

Todas las plantas bajo estrés hídricos a los 20 días superaron estos valores encontrándose con  $\Psi_{foliar}$  de  $-1,88$  MPa. Es importante mencionar que estos valores inciden en el cierre normal de los estomas, ya que las plantas de cacao se saturan con muy baja radiación solar y a DPV entre el aire y la hoja cercanos a  $1.8$  MPa (De Almeida y Valle, 2007; Lozano y Fonseca, 2016).

Las diferencias de  $\Psi_{foliar}$  entre el patrón y sus combinaciones a los 14 días y a los 20 días de déficit hídrico en las primera horas de la mañana presentaron diferencias estadísticas altamente significativas con *p valor* de  $<0,0001$  en ambos días de evaluación.

Joly et al., (1989), al estudiar el efecto del potencial hídrico foliar sobre la tasa neta de asimilación de  $CO_2$  en plántulas de tres cultivares de cacao, entre ellos el EET-399 determinaron una rápida disminución del potencial hídrico, después de 10 días de iniciado el déficit hídrico en relación a plántulas sujeta a irrigación.



**Figura 8.** Promedio de Potenciales hídricos foliares ( $\Psi_{foliar}$ ) en plántulas del patrón EET-399-injertos de cacao a los 0; 14 y 20 días a primeras horas de la mañana (A) y de la tarde (B) en tratamiento sin déficit hídrico y con déficit hídrico. Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada periodo de hora (06h30-07h00 y 13h30-14h30) significan diferencia significativas según test de Tukey ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).

En la figura 9 A se observa que en las primeras horas de la mañana, las combinaciones con el patrón EET-400 sin déficit hídrico tanto a los 14 días como a los 20 días, mantienen con  $\Psi_{foliar}$  -0,87 MPa indicando que las plantas no se encuentran estresadas, mientras que las plantas que se encuentran en déficit hídrico 14 días presentaron valores de  $\Psi_{foliar}$  que oscilan entre -0,78 (EET-400) y -1,55 MPa (EET-400 con INIAP-484), indicando que estas plantas a pesar de que se encuentran sometidas a déficit hídrico por 14 días, mantienen niveles de agua en sus tejidos, por consiguiente, presentan un estrés hídrico moderado, ya que muestran estar relativamente menos afectados y expresan la mejor

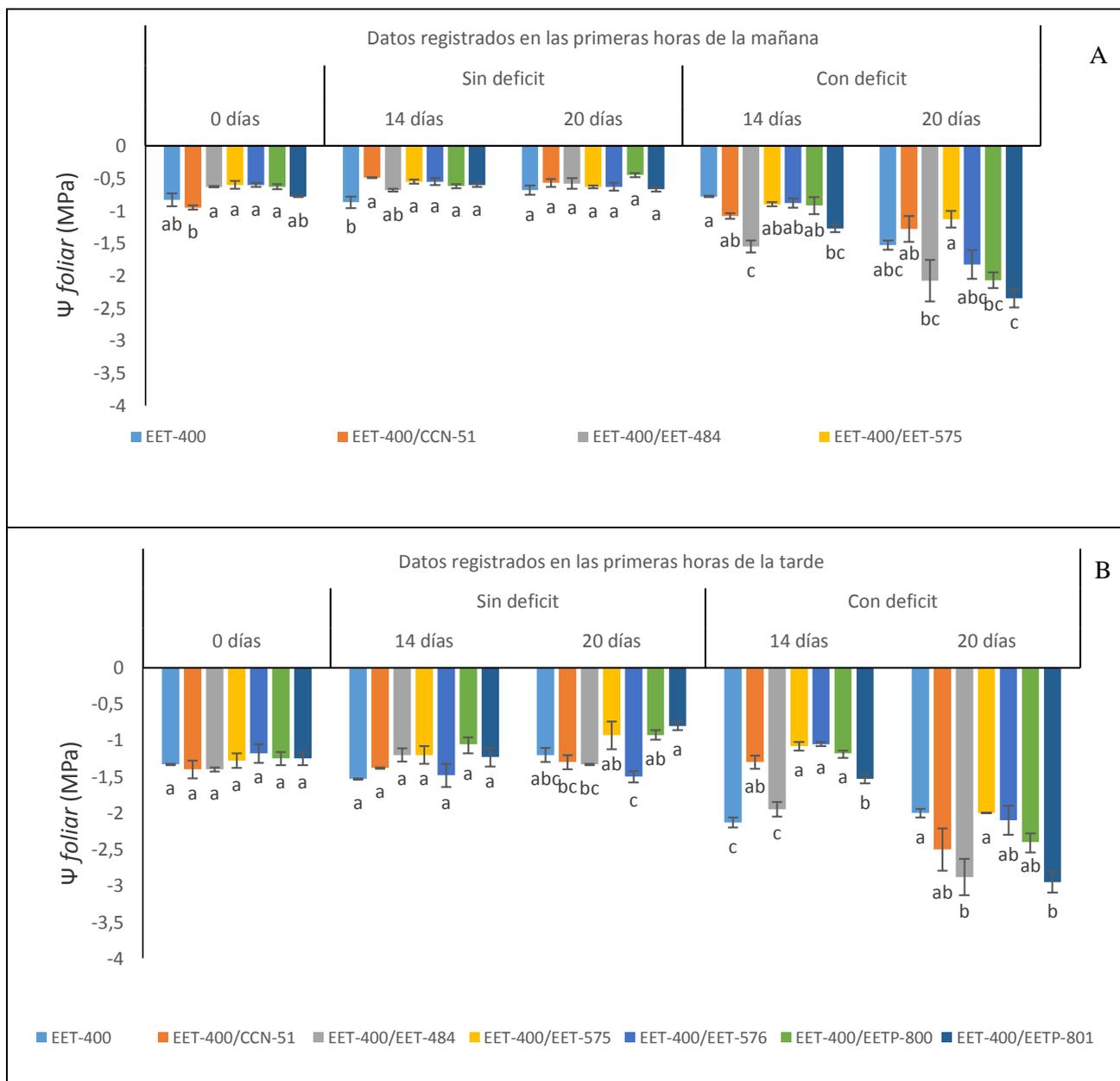
condición hídrica bajo condiciones de déficit hídrico y a su vez controlan el flujo hídrico en el continuo suelo-planta-atmósfera.

Deng et al., (1990) al estudiar sobre la influencia del déficit de agua de las plantas en la distribución de asimilados marcados con C-14 en plántulas de cacao, determinaron niveles de estrés por déficit hídrico, plántulas con  $\Psi_{\text{foliar}}$  -0,6 MPa sin estrés por déficit hídrico; plántulas moderadamente estresadas presentan  $\Psi_{\text{foliar}}$  entre -0,8 a -1,2 MPa; finalmente plántulas con estrés severo por déficit hídrico presentaron  $\Psi_{\text{foliar}}$  valores por debajo de -1,76 MPa. Mientras que Van Leeuwen et al., (2009), en plantaciones de variedades comerciales de uva para vino, clasificaron distintos nivel del estrés hídrico según el potencial hídrico xilemático del mediodía: leve, entre -0,9 MPa y -1,1 MPa; moderado, entre -1,1 y -1,3 MPa y severo, mayor a -1,4 MPa

Las diferencias de  $\Psi_{\text{foliar}}$  entre el patrón y sus combinaciones a los 14 días y a los 20 días de déficit hídrico en las primera horas de la mañana presentaron diferencias estadísticas altamente significativas con *p* valor de <0,0001 y 0,0031 respectivamente.

En la figura 9 B se observa el comportamiento de estas combinaciones sometidas a déficit hídrico en horas de la tardea, donde a los 14 días mantienen valores de  $\Psi_{\text{foliar}}$  similares a las plantas sin déficit hídrico, estos valores fluctúan entre -1,05 MPa para la combinación EET-400 con EET-575 y -1,30 para la combinación EET-400 y CCN-51, contrario a esto el patrón EET-400 y la combinación EET-400 con INIAP-484 mostraron valores más negativos de  $\Psi_{\text{foliar}}$  con -2,13 y -1,95 MPa. Finalmente, en horas de la tarde el estrés por déficit hídrico se enfatiza más en plantas sometidas a los 20 días, teniendo valores de  $\Psi_{\text{foliar}}$  entre -2,0 y 2,9 MPa

Debido a mayores potenciales hídricos hasta los 14 días, el uso del patrón EET400 puede sugerirse para la región de Manabí ya que garantiza un mejor estado hídrico. Joly et al. (1989), al estudiar el efecto del potencial hídrico foliar sobre sobre la tasa neta de asimilación de CO<sub>2</sub> en plántulas de tres cultivares de cacao, entre ellos el EET-400 determinó una rápida disminución del potencial hídrico foliar de plantas estresadas por sequía en relación con los controles y ocurrieron después de 10 días de iniciado el tratamiento hídrico, el presente estudio demostró que con este patrón los mayores niveles de estrés se presentaron a los 20 días, lo que se sugiere es establecer riegos en la etapa de plántulas al menos cada 15 días.



**Figura 9.** Promedio de Potenciales hídricos foliares ( $\Psi_{foliar}$ ) en plántulas del patrón EET-400-injertos de cacao a los 0; 14 y 20 días a primeras horas de la mañana (A) y de la tarde (B) en tratamiento sin déficit hídrico y con déficit hídrico. Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada periodo de hora (06h30-07h00 y 13h30-14h30) significan diferencia significativas según test de Tukey ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).

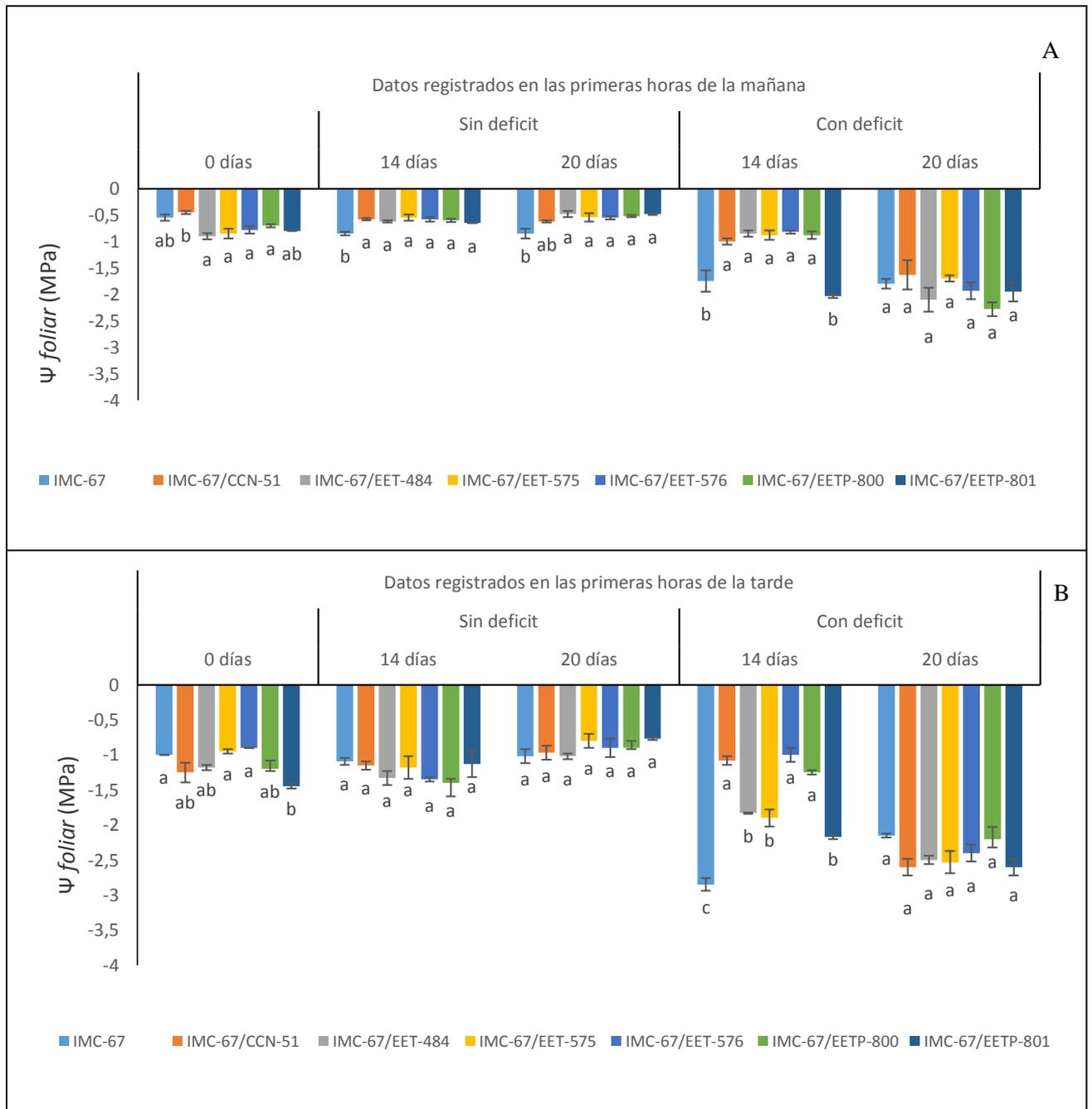
En la figura 10 A se observa que en las primeras horas de la mañana, las combinaciones con el patrón IMC-67 sin déficit hídrico tanto a los 14 días como a los 20 días, mantienen con  $\Psi_{foliar}$  -0,85 MPa indicando que las plantas no se encuentran estresadas, mientras que las plantas que se encuentran en déficit hídrico 14 días presentaron valores de  $\Psi_{foliar}$  que oscilan entre -1,75 (IMC-67) y -2,03 MPa (IMC-67 con EETP-801), indicando que estas plantas se encuentran estresadas por déficit hídrico. Las diferencias de  $\Psi_{foliar}$  entre el patrón y sus combinaciones a los 14 días de déficit hídrico en las primera horas de la mañana presentaron diferencias estadísticas altamente significativas con  $p$  valor de  $< 0,0001$ .

Estas mismas plantas sometidas a los 20 días a déficit hídrico presentaron valores más negativos valores de  $\Psi_{foliar}$  que fluctuaron entre -1,63 MPa (IMC-67 con CCN-51) y -2,38 MPa (IMC-67 con EETP-800), presentando pérdida de agua en sus tejidos, por consiguiente, muestran estar relativamente más afectados expresando una mala condición hídrica bajo condiciones de déficit hídrico y a su vez no logran controlar el flujo hídrico en el continuo suelo-planta-atmósfera.

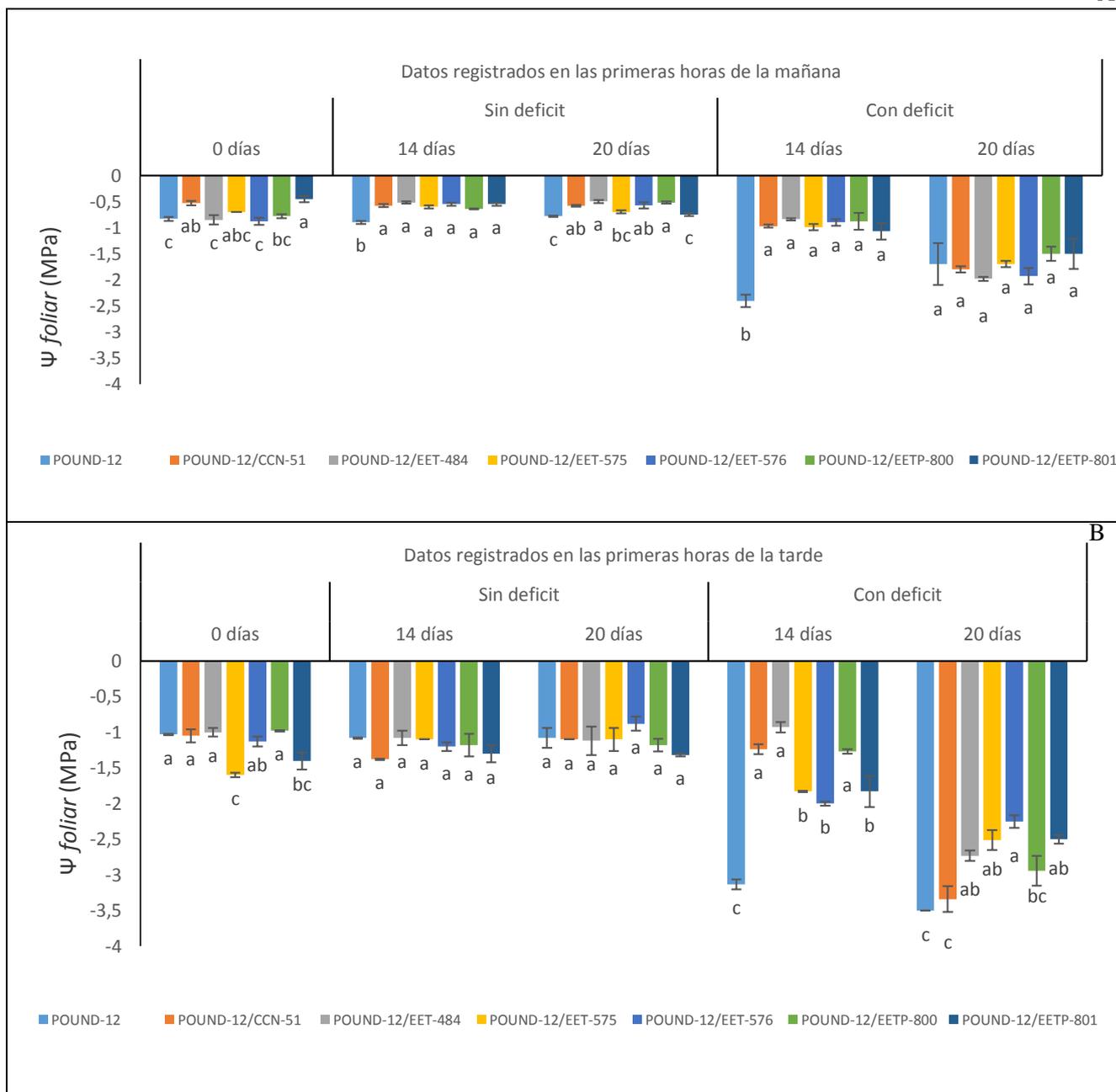
En horas de la tarde la pérdida de agua fue más evidente en el patrón y sus combinaciones, presentando valores más negativos a los 14 de déficit, exceptuando las combinaciones IMC-67 con CCN-51 que presentó valores  $\Psi_{foliar}$  de -1,08 MPa y la combinación IMC-67 con EET-575 con  $\Psi_{foliar}$  -1,0 MPa, lo que significa que estas combinaciones que a pesar de que se encuentran bajo condiciones de déficit mantienen niveles de agua en sus tejidos, presentando un estrés hídrico moderado, ya que muestran estar relativamente menos afectados y expresan la mejor condición hídrica bajo condiciones de estrés y a su vez controlan el flujo hídrico en el continuo suelo-planta-atmósfera, pero estas mismas combinaciones para los 20 días obtuvieron valores de  $\Psi_{foliar}$  más negativos, presentando potenciales entre -2,1 y 2,6 tal cual se muestra en la figura 10 B.

En la figura 11 A se observa que en las primeras horas de la mañana, las combinaciones con el patrón POUND-12 estando bajo déficit hídrico por 14 días se mantienen por debajo de  $\Psi_{foliar}$  -1,07 MPa (POUND-12 con EETP-801) pero en cambio el patrón sin combinación presentó potenciales más negativos  $\Psi_{foliar}$  de 2,4 MPa, indicando que los injertos presentan estar relativamente menos afectados expresando una buena condición hídrica bajo condiciones de déficit hídrico. Mientras que en horas de la tarde, la combinación POUND-12 con INIAP-484 fue la única que se mantuvo con  $\Psi_{foliar}$  bajo con 0,93 MPa, mientras que el resto de las plantas tanto del patrón como de las otras combinaciones, sobrepasaron los  $\Psi_{foliar}$  1,24 MPa hasta los 3,13 MPa. Las diferencias de  $\Psi_{foliar}$  entre el patrón POUND-12 y sus combinaciones a los 14 días de déficit hídrico tanto en las primeras horas de la mañana y en la tarde, presentaron diferencias estadísticas altamente significativas con *p* valor de <0,0001.

Estas mismas plantas sometidas a los 20 días a déficit hídrico presentaron valores más negativos valores de  $\Psi_{foliar}$  que fluctuaron entre -1,5 MPa (IMC-67 con CCN-51) y -1,98 MPa (IMC-67 con EETP-800), presentando pérdida de agua en sus tejidos, por consiguiente, muestran estar relativamente más afectados expresando una mala condición hídrica bajo condiciones de déficit hídrico y a su vez no logran controlar el flujo hídrico en el continuo suelo-planta-atmósfera. En horas de la tarde durante este periodo de días de déficit todas las combinaciones incluido el patrón presentaron valores más negativos, desde -2,25 MPa hasta -3,50 MPa. (Figura 11 B). Es importante mencionar que estos valores inciden en el cierre normal de los estomas, ya que las plantas de cacao se saturan con muy baja radiación solar y a DPV entre el aire y la hoja cercanos a -1,8 MPa (De Almeida y Valle, 2007; Lozano y Fonseca, 2016).



**Figura 10.** Promedio de Potenciales hídricos foliares ( $\Psi_{foliar}$ ) en plántulas del patrón IMC-67-injertos de cacao a los 0; 14 y 20 días a primeras horas de la mañana (A) y de la tarde (B) en tratamiento sin déficit hídrico y con déficit hídrico. Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada periodo de hora (06h30-07h00 y 13h30-14h30) significan diferencia significativas según test de Tukey ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).



**Figura 11.** Promedio de Potenciales hídricos foliares ( $\Psi_{foliar}$ ) en plántulas del patrón POUND-12-injertos de cacao a los 0; 14 y 20 días a primeras horas de la mañana (A) y de la tarde (B) en tratamiento sin déficit hídrico y con déficit hídrico. Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada periodo de hora (06h30-07h00 y 13h30-14h30) significan diferencia significativas según test de Tukey ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).

Estos resultados de potenciales hídricos en hojas en que las condiciones de disponibilidad hídrica impuesta en las combinaciones de injertos entre los patrones EET-399; EET-400; IMC-67 y POUND-12 tanto a los 14 y 20 días con déficit hídrico coinciden con los trabajos realizados por Deng (1989), que al estudiar el efecto del déficit hídrico sobre el balance de carbono en hojas de cacao provenientes de semillas de libre polinización determinó que existe una afectación significativa en plántulas con déficit hídrico a los 14 días después del inicio de tratamientos hídrico, donde el  $\Psi_{foliar}$  en estas plántulas descendió hasta -0,8 MPa y a los 21 días descendió rápidamente a -2,2 MPa.

Por otro lado Muñoz (2016), describe en forma general los valores de potenciales hídricos en plantas mesófitas, cuando estas se encuentran en estrés por déficit hídrico, señalando que este potencial en plantas no estresadas presentan valores entre  $-0,2$  a  $-0,80$  MPa, mientras que aquellas que se encuentran estresadas tienen valores de  $-0,8$  a  $-1,5$  MPa en déficit hídrico, a este punto se da el punto de marchitez permanente, el cual la planta no se recupera.

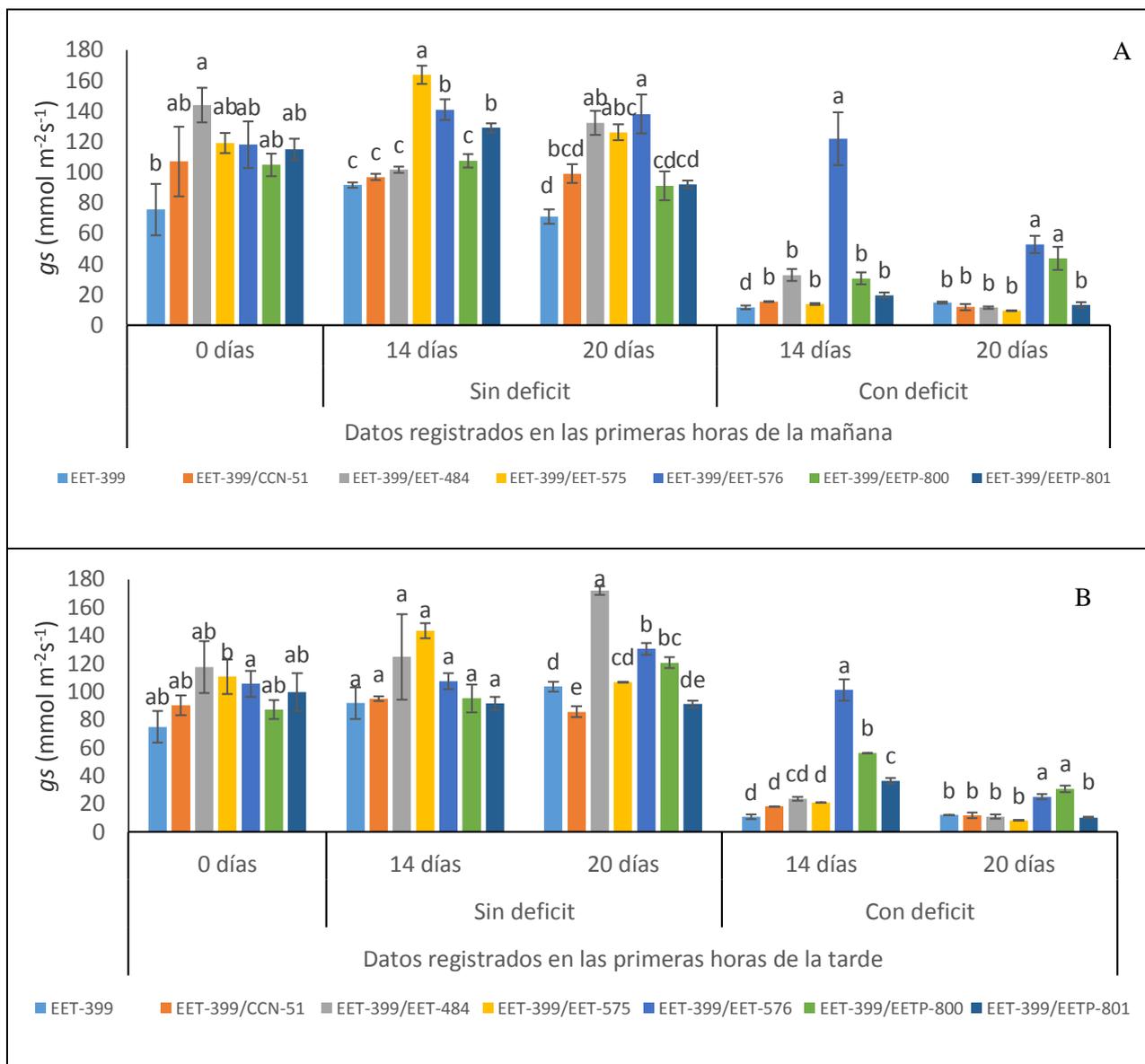
Los resultados de esta variable permiten evidenciar las diferencias que pueden encontrarse entre las diferentes combinaciones para un mismo patrón. A 14 días sin riego para cualquiera de los tres patrones, los mayores potenciales hídricos significativos fueron encontrados en las combinaciones INIAP-484, EET-800. Esto nos lleva a plantear que este clon tiene una mayor capacidad de mantener agua en 14 días sin riego; por consiguiente, sería un clon que se seleccionaría y que, incluso favorece que es un clon de mayor producción en comparación a los clones EET 575 y EET 576 (Loor-Solórzano et al., 2019). El uso del potencial hídrico de la hoja ha sido extensamente utilizado en muchos estudios para monitorear la condición hídrica en la planta, y además ha permitido reconocer para los cultivos valores críticos de contenidos agua y así poder categorizar cada situación hídrica, con determinado niveles de estrés hídrico (Acevedo-Opazo et al., 2010; Van Leeuwen et al., 2009).

### **Conductancia estomática $gs$ ( $\text{mmol. m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )**

En la figura 12 A y B, se observa el comportamiento de conductancia estomática para el patrón EET-399 y sus combinaciones de injertos. En la figura 13 A se observa que la conductancia estomática en las primeras horas de la mañana a los 14 días de evaluación con déficit hídrico, las combinaciones presentaron bajos valores de  $gs$ , con excepción de la combinación EET-399 con EET-576 que mostró mayor  $gs$   $122 \pm 29,9$   $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , así mismo a los 20 días con déficit hídrico esta combinación en comparación a las otras combinaciones incluido el patrón EET-399, mantuvo  $gs$  más altos con  $52,8$   $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Mientras que la combinación EET-399 con EET-575 a los 20 días de déficit hídrico presentó el valor más bajo de  $gs$  con  $9,47 \pm 0,06$   $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Estas diferencias de conductancia estomática entre el patrón y sus combinaciones de injertos tanto a los 14 como a los 20 días de déficit hídrico en primera horas de la mañana presentaron diferencias estadísticas significativas con  $p$  valor  $0,0001$ .

En la figura 12 B se observa en horas de la tarde un eminente cierre de estomas del patrón y sus combinaciones de injertos que van desde  $30,6 \pm 4,0$   $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  valor alcanzado por la combinación EET-399 con EET-800 y  $8,2 \pm 0,5$   $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  con el injerto EET-575, Estas diferencias de  $gs$  entre el patrón y sus combinaciones de injertos a los 20 días de déficit en horas de la tarde presentaron diferencias estadísticas altamente significativas ( $p$  valor  $<0,0001$ ).

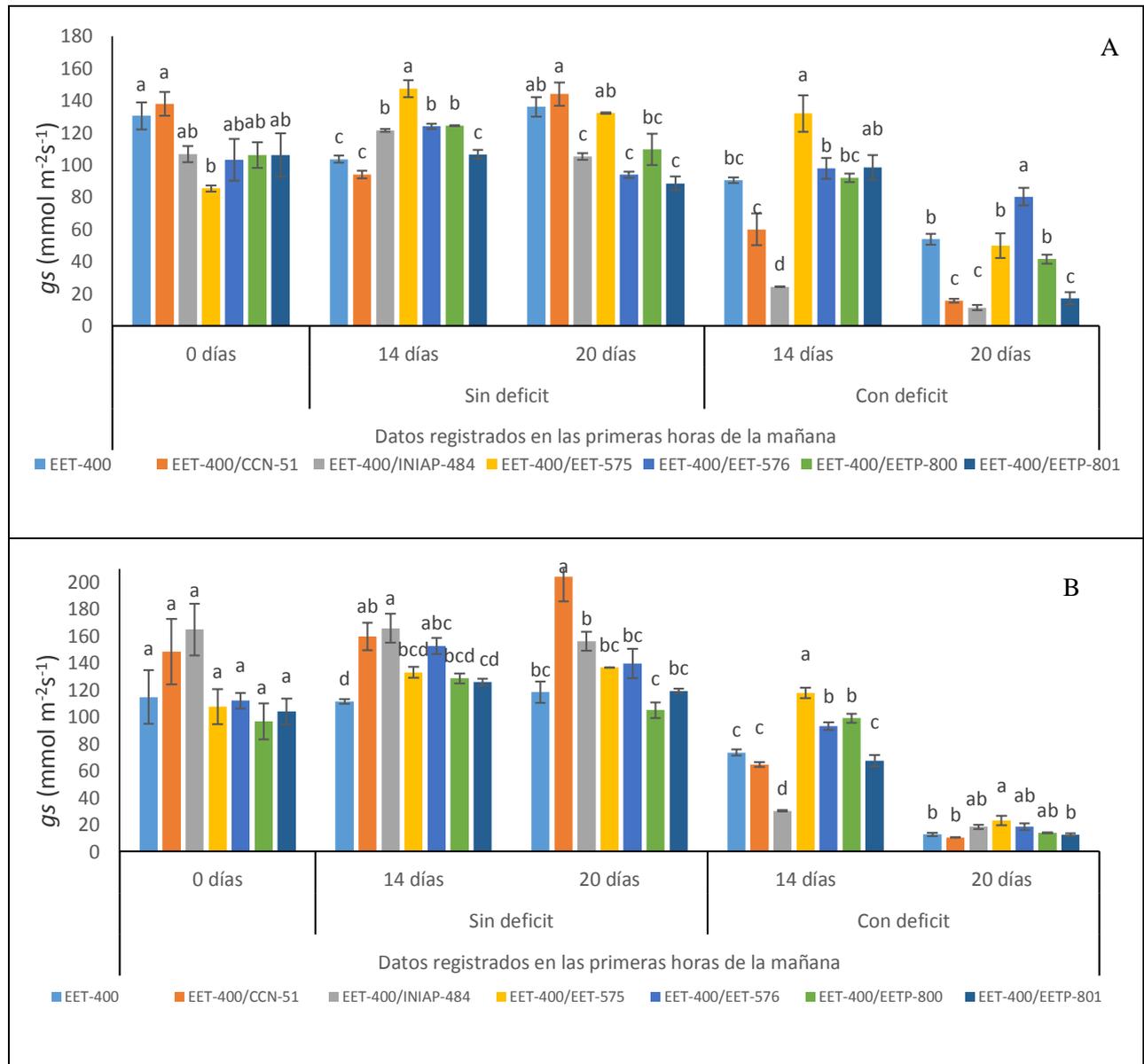
Es necesario puntualizar que uno de los primeros procesos que se ve afectado por el déficit hídrico en la planta es el cierre estomático, lo cual limita el agua transpirada (E), y una reducción en la asimilación neta de  $\text{CO}_2$  (AN), causando una menor disponibilidad de carbono interno en las cavidades subestomáticas (Ci) (Chaves et al., 2010; Flexas et al., 2009). Los valores de  $gs$  en cada uno de las combinaciones de injertos con el EET-399 fueron bajos a los 20 días de evaluación con déficit en horas de la tarde que en relación en las primeras horas de la mañana, varios autores coinciden que la disminución de la  $gs$  por efecto del déficit hídrico, es observada especialmente en las horas de mayor exposición solar (Chaves et al., 2016; Tomás et al., 2014).



**Figura 12.** Promedio de conductancia estomática  $g_s$  (mmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>) en plántulas de combinaciones EET-399-injertos de cacao a los 0; 14 y 20 días a primeras horas de la mañana 06h30-07h30 (A) y del mediodía 13h30-14h30 (B) en tratamiento sin déficit hídrico y con déficit hídrico). Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada periodo de hora significan diferencias significativas según test de Tukey ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).

Para el patrón EET-400 y sus combinaciones, los valores de  $g_s$  en horas de la mañana a los 14 días de déficit hídrico se observan en la figura 13 A, donde la combinación entre este patrón y INIAP-484 presentó valores de conductancia estomática bajos de  $24,4 \pm 0,4$  mmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, seguido de la combinación EET-400 con CCN-51  $59,93 \pm 17,1$  mmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>; mientras que el resto de las combinaciones sobrepasan valores de  $g_s$  de  $90,5$  mmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>. Para los 20 días con déficit hídrico, las combinaciones en forma general descendieron los valores de  $g_s$  indicando que tuvieron que cerrar sus estomas para seguir evitando la pérdida de agua en forma de vapor, es importante señalar que la combinación EET-400 con  $80,25 \pm 9,45$  Estas diferencias de conductancia estomática entre el patrón y sus combinaciones de injertos tanto a los 14 como a los 20 días de déficit hídrico en primera horas de la mañana presentaron diferencias estadísticas significativas con  $p$  valor  $< 0,0001$ .

Por otro lado, en la figura 13 B se observa en horas de la tarde un eminente cierre de estomas del patrón y sus combinaciones de injertos que van desde  $22,87 \pm 6,1 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  valor alcanzado por la combinación EET-400 con EET-575 y  $10,4 \pm 0,2 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  con el injerto CCN-51, Estas diferencias de  $g_s$  entre el patrón y sus combinaciones de injertos a los 20 días de déficit en horas de la tarde presentaron diferencias estadísticas altamente significativas ( $p$  valor 0,0039).



**Figura 13.** Promedio de conductancia estomática  $g_s$  ( $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) en plántulas de combinaciones EET-400-injertos de cacao a los 0; 14 y 20 días a primeras horas de la mañana 06h30-07h30 (A) y del mediodía 13h30-14h30 (B) en tratamiento sin déficit hídrico y con déficit hídrico). Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada periodo de hora significan diferencias significativas según test de *Tukey* ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).

Para el patrón IMC-67 y sus combinaciones, los valores de  $g_s$  en horas de la mañana a los 14 días de déficit hídrico se observan en la figura 14 A, donde la combinación entre este patrón y EETP-801

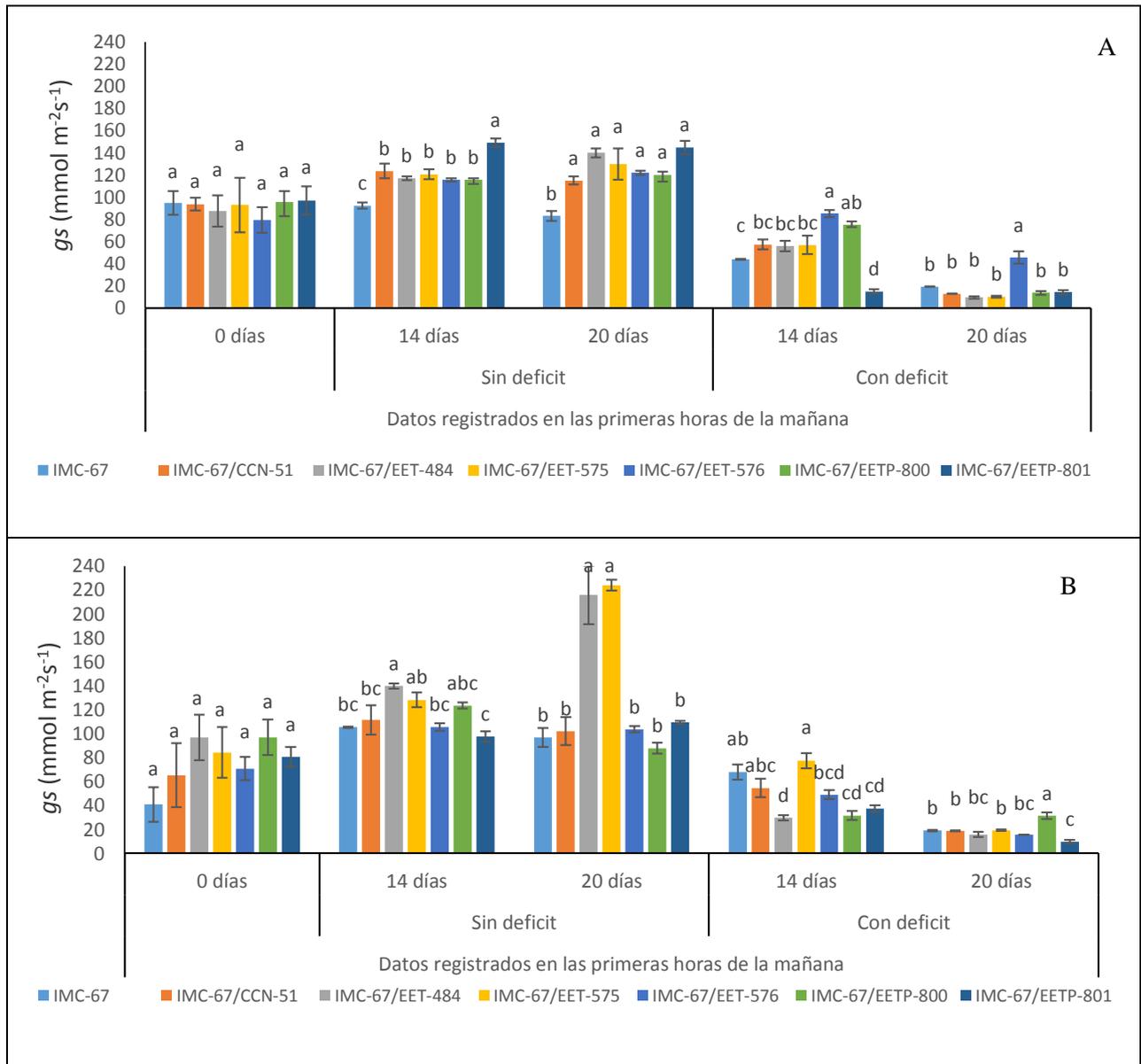
presentó valores de conductancia estomática bajos de  $15,0 \pm 3,4 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , mientras que, las combinaciones IMC-67 con EET-576 y con EETP-800 obtuvieron valores altos de  $gs$  con  $85,2 \pm 5,5 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  y  $74,95 \pm 5,45 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Para los 20 días con déficit hídrico, las combinaciones en forma general descendieron con valores de  $gs$   $19,25 \pm 0,35$  indicando que tuvieron que cerrar sus estomas para seguir evitando la pérdida de agua en forma de vapor, es importante señalar que la combinación EET-400 con EET-576 fue la que mantuvo valores más altos de  $gs$  con  $45,55 \pm 5,5 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Estas diferencias de conductancia estomática entre el patrón y sus combinaciones de injertos tanto a los 14 como a los 20 días de déficit hídrico en primera horas de la mañana presentaron diferencias estadísticas significativas con  $p \text{ valor} < 0,0001$ .

Por otro lado, en la figura 14 B se observa en horas de la tarde a los 14 días que la  $gs$  desciende hasta  $29,79 \pm 3,74 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (IMC-97 con INIAP-484); contrario a esto la combinación IMC-67 con EET-575 obtuvo la mayor  $gs$  con  $77,45 \pm 11,05$ , estos valores a los 20 días caen por debajo de  $31,35 \pm 4,85$  presentando eminentes cierre de estomas del patrón y sus combinaciones de injertos. Estas diferencias de  $gs$  entre el patrón y sus combinaciones de injertos a los 14 y 20 días de déficit en horas de la tarde presentaron diferencias estadísticas altamente significativas con  $p \text{ valor}$  de  $0,0001$  y  $< 0,0001$  respectivamente.

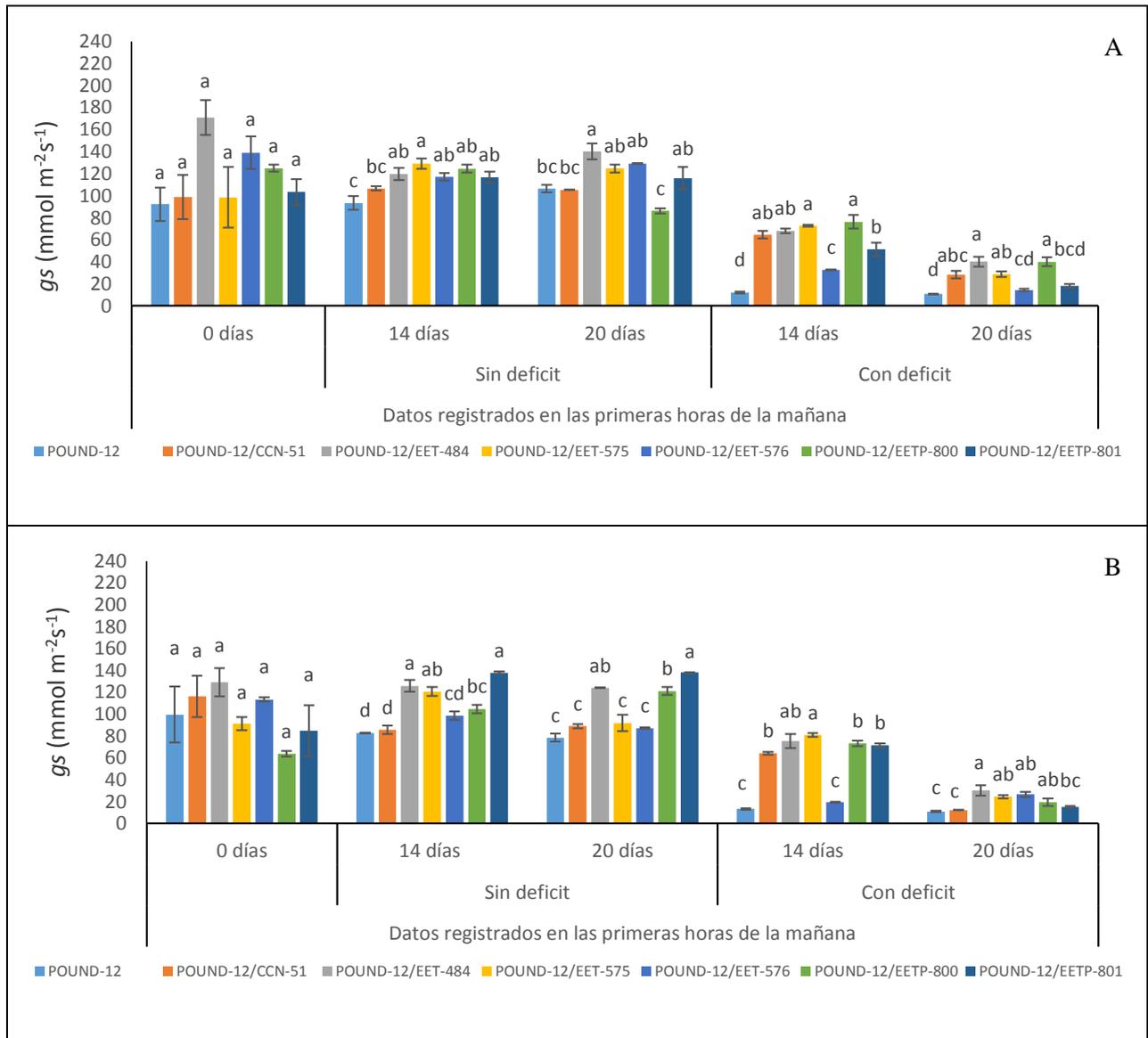
Los valores de  $gs$  de las combinaciones entre el patrón POUND-12 y sus combinaciones en horas de la mañana a los 14 días de déficit hídrico se observan en la figura 15 A, donde el patrón descendió a  $gs$   $12,05 \pm 1,55 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , por otro lado la combinación entre POUND-12 con EETP-800 obtuvo el valor de  $gs$  más alto con  $76,2 \pm 10,5 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Para los 20 días con déficit hídrico, las combinaciones descendieron los valores de  $gs$  desde  $40,05 \pm 7,75$  (POUND-12 con INIAP-484) hasta  $10,65 \pm 0,45 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (POUND-12). Estas diferencias de conductancia estomática entre el patrón y sus combinaciones de injertos tanto a los 14 como a los 20 días de déficit hídrico en primera horas de la mañana presentaron diferencias estadísticas significativas con similar  $p \text{ valor} < 0,0001$ .

Por otro lado, en la figura 15 B se observa en horas de la tarde a los 14 días que la  $gs$  desciende hasta  $13,1 \pm 1,4 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (POUND-12); mientras que la combinación POUND-12 con EET-575 obtuvo la mayor  $gs$  con  $80,7 \pm 3,0 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , la  $gs$  del patrón con sus combinaciones a los 20 días caen por debajo de  $29,93 \pm 8,16$  (POUND-12 con INIAP-484). Estas diferencias de  $gs$  entre el patrón y sus combinaciones de injertos a los 14 y 20 días de déficit en horas de la tarde presentaron diferencias estadísticas altamente significativas con  $p \text{ valor}$  de  $< 0,0001$  y  $0,0004$  respectivamente.

La regulación de la apertura estomática tiene un papel fundamental en el control de la pérdida de agua y en el intercambio gaseoso en las hojas. Un aumento en la apertura estomática da lugar a un incremento de la transpiración de la planta entera y de la tasa fotosintética neta (Sade et al., 2010), existiendo, por tanto, una estrecha conexión entre  $gs$  y tasa fotosintética (Galmés et al., 2011).



**Figura 14.** Promedio de conductancia estomática  $g_s$  ( $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) en plántulas de combinaciones IMC-67-injertos de cacao a los 0; 14 y 20 días a primeras horas de la mañana 06h30-07h30 (A) y del mediodía 13h30-14h30 (B) en tratamiento sin déficit hídrico y con déficit hídrico). Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada periodo de hora significan diferencias significativas según test de *Tukey* ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).



**Figura 15.** Promedio de conductancia estomática  $g_s$  (mmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>) en plántulas de POUND-12-injertos de cacao a los 0; 14 y 20 días a primeras horas de la mañana 06h30-07h30 (A) y del mediodía 13h30-14h30 (B) en tratamiento sin déficit hídrico y con déficit hídrico). Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada periodo de hora significan diferencias significativas según test de Tukey ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).

Los estomas juegan un papel primordial en el control de la pérdida de agua y en el intercambio gaseoso en las hojas, siendo cruciales para la adaptación de las plantas a las variaciones en las condiciones medioambientales (Li et al., 2013). Por consiguiente un adecuado control estomático podría incrementar el uso eficiente del agua, manteniendo el crecimiento y la productividad en condiciones de estrés hídrico (Osakabe et al., 2014). En este sentido, la combinación EET-400 con EET-575 fue más eficiente en el control y mantenimiento de la conductancia estomática durante el periodo de déficit hídrico a los 14 días, esto en las primeras horas de la mañana como en la tarde, ya que presentaron mayor apertura de estomas en comparación a las otras combinaciones. Balasimha et al., (1991) al realizar un estudio sobre la influencia de factores ambientales en la fotosíntesis en árboles de cacao observaron una mayor tasa fotosintética existiendo una estrecha conexión con la  $g_s$  para clones tolerantes que para clones susceptibles al déficit hídrico.

Con respecto a valor de más alto encontrado en este estudio que fue de  $132 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  para la combinación EET-400 con ET-575, En Ecuador,  $g_s$  similares han sido reportados durante la estación seca, probablemente debido a un bajo déficit de presión de vapor (menor de  $-1,4 \text{ MPa}$ ) y alta HR. Orchard, (1985) sugirió que la regulación estomática depende de la respuesta de cada clon o híbrido a las condiciones ambientales donde ellos se encuentran desarrollando. Otros estudios realizados en otras variedades de cacao y especies de *Theobroma*, la  $g_s$  encontrados fueron inferiores a  $150 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , (Almeida et al., 2014; Ávila-Lovera et al., 2016; Baligar et al., 2008), por consiguiente, valores altos de  $g_s$  en condiciones de déficit hídrico resulta una mayor disponibilidad de  $\text{CO}_2$  para la carboxilación por RUBISCO durante el ciclo de Calvin, y por lo tanto, mayor producción de carbohidratos.

Medrano et al., (2002), determinaron en su estudio una referencia en plantas C3 en respuesta a la sequía progresiva utilizando la  $g_s$  como parámetro para categorizar niveles del estrés hídrico y su impacto en los distintos procesos fisiológicos, y enmarcar las limitaciones estomáticas y no estomáticas que puedan estar ocurriendo. Estos autores definieron tres estados: primero entre  $400$  a  $150 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  corresponde a un estrés hídrico leve, lo que causa una disminución leve de la AN y la concentración subestomática de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ), se incrementa la AN/ $g_s$  y hay un aumento de la fotorespiración, todo aquello sugiere una dominante limitación estomática de la capacidad fotosintética; segundo entre  $150$  a  $50 \text{ mmol mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  representa un estrés hídrico moderado, la AN decae y la AN/ $g_s$  usualmente aumenta, pero disminuye en algunos casos,  $C_i$  disminuye, pero la tasa de transporte de electrones (ETR) y la eficiencia de carboxilación también lo hacen, y NPQ incrementa, por lo tanto las limitaciones estomáticas y no estomáticas son importantes; finalmente un  $g_s < 50 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  considerado como estrés hídrico severo, conduce a un fuerte descenso de la AN, de la AN/ $g_s$ , de la ETR, de la eficiencia de carboxilación, de la fotorespiración y un descenso ocasional en Fv/Fm, un incremento marcado de quenching de fluorescencia no fotoquímico (NPQ) y muy importante de Ci.

En los resultados de este estudio a los 20 días todas las combinaciones presentaron  $g_s$  por debajo de  $24 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , lo cual indica cierres estomáticos severos que implican disminución de la tasas de asimilación de  $\text{CO}_2$ ; por tanto en plántulas no es conveniente llegar hasta 20 días sin riego. A 14 días sin riego, los  $g_s$  están cercanos a los  $92 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  que ya indican cierres estomáticos como medida de conservación de agua. En el caso del patrón EET-400 con los clones EETP-800 y EET-575 fueron las que mantuvieron las  $g_s$  más altos.

Estudios realizados por Rada et al., en el 2005 evaluaron relaciones hídricas e intercambio de gases en plantas de cacao variedad Guasare de cuatro años de edad bajo periodo de déficit hídrico, y encontraron que a los 25 días de déficit hídrico hay una reducción marcada en  $g_s$ , donde la máxima de  $g_s$  se observó a las 09h00 ( $35 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), mientras que esta  $g_s$  varió durante todo el día entre  $15 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  y  $30 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Las plantas con menos estrés presentaron un mayor grado de  $g_s$ , el cual estaba entre  $50$  y  $60 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  hasta las 14h30. La reducción en la apertura de estomas de los tratamientos en hora de la tarde condujo a una menor tasa de asimilación y transpiración en las plantas estresadas por déficit hídrico.

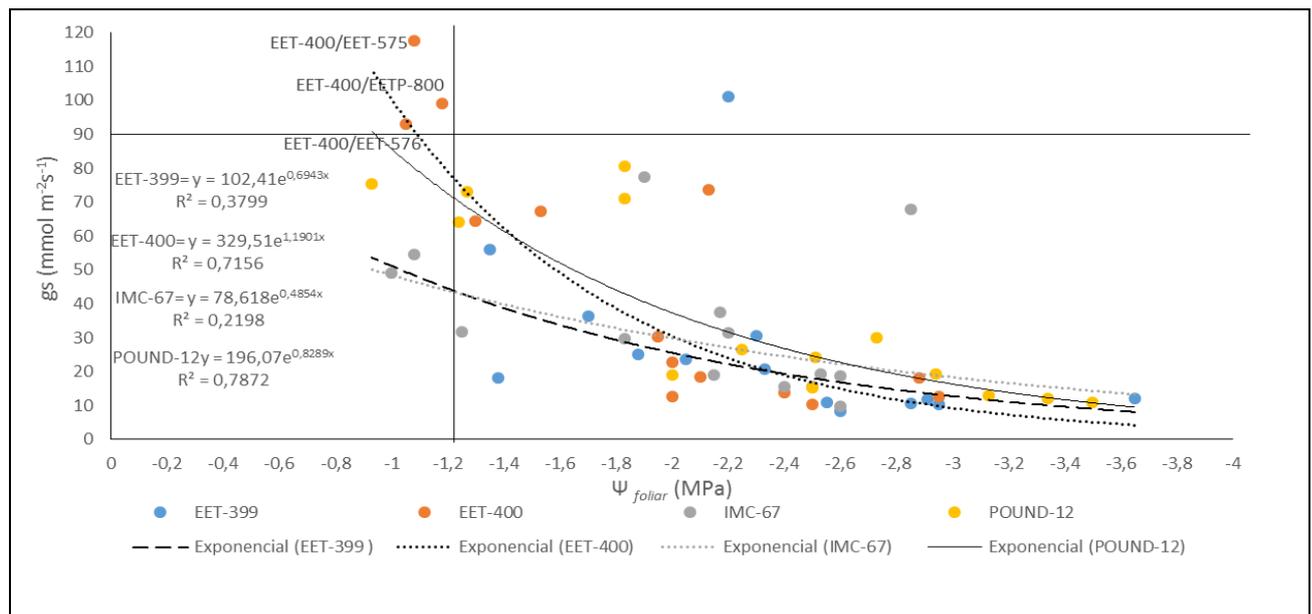
### Relación entre potenciales hídricos y conductancia estomática

Uno de los primeros procesos que es afectado por el déficit hídrico en la planta es el cierre estomático), por consiguiente este ajuste evita una disminución drástica del potencial hídrico en los tejidos vegetales, siendo un mecanismo que permite mantener el potencial de turgencia, (Jdey et al., 2014).

Las diferentes condiciones de disponibilidad hídrica aplicada en este estudio tuvo un efecto directo en la disminución del potencial hídrico de las hojas y del ajuste estomático bajo condiciones de déficit hídrico; en la figura 16 se observa la relación entre estas dos variables fisiológicas, la figura muestra

que las plantas en condiciones de déficit hídrico provoca la disminución del potencial hídrico y por lo consiguiente el cierre estomático de las mismas, por consiguiente, la disminución de la  $g_s$  estuvo correlacionada con la disminución del  $\Psi_{\text{foliar}}$ .

Se observa que el patrón EET-400 con sus combinaciones EET-575, EET-576 y EETP-800, en condiciones de déficit hídrico mantuvieron apertura de estomas que les permitían realizar el intercambio de gases y  $\Psi_{\text{foliar}}$  más altos, por consiguiente, muestran estar relativamente menos afectados y expresan el estado energético del agua que almacenan en las células y los tejidos vegetales de estas combinaciones bajo condiciones de déficit hídrico y a su vez controlan el flujo hídrico en el continuo suelo-planta-atmósfera. Es probable que el patrón EET-400 tenga una mejor capacidad de toma de agua en relación a los otros patrones.



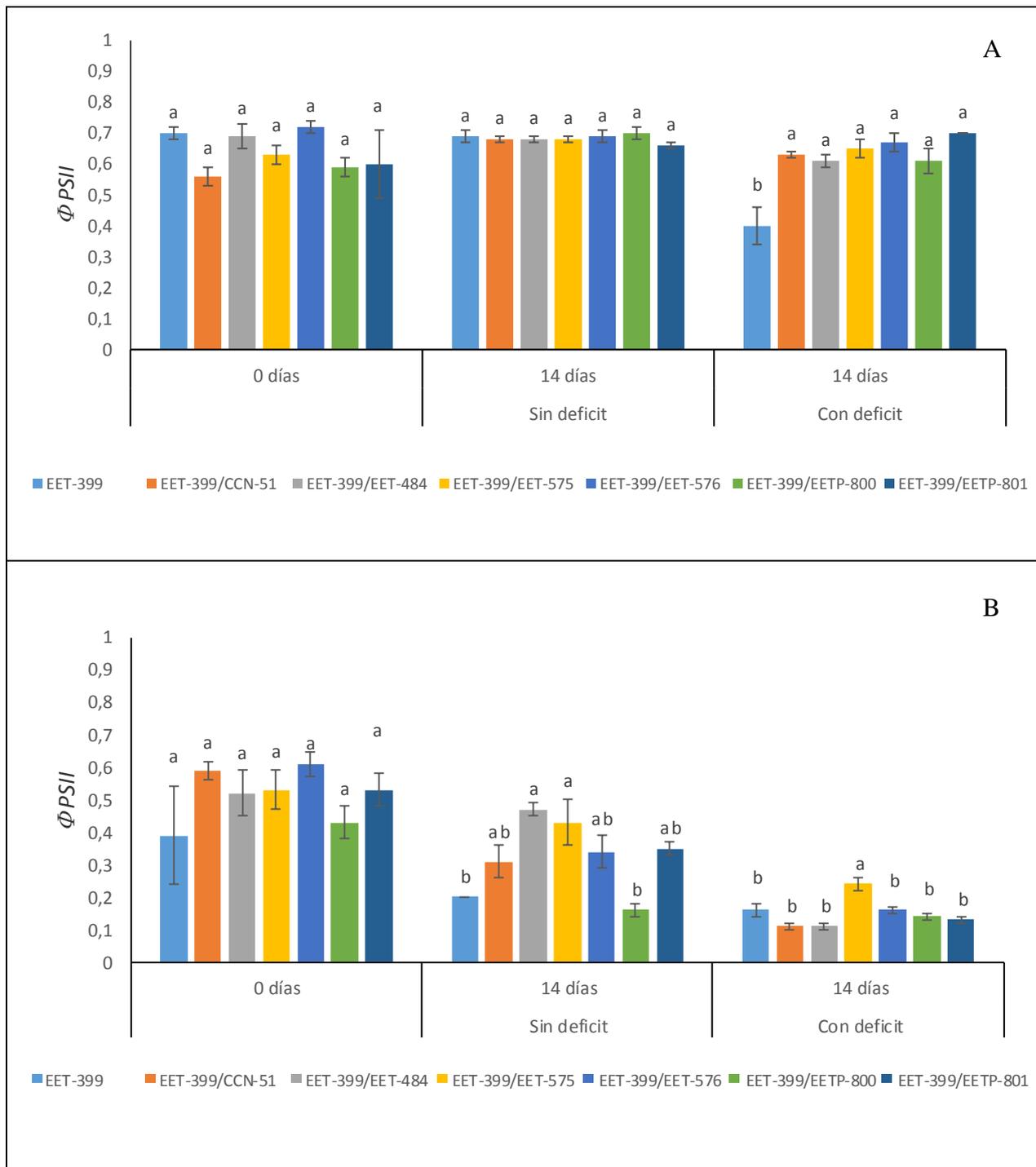
**Figura 16.** Relación entre la conductancia estomática y el potencial hídrico, en plántulas de combinaciones patrón-injertos de cacao a los 14 y 20 días sometidos a déficit hídrico.

### Eficiencia cuántica del Fotosistema II ( $\Phi_{PSII}$ )

En la figura 17 A y B, se observa el comportamiento de eficiencia cuántica en el fotosistema II para el patrón EET-399 y sus combinaciones de injertos. En la figura 17 A se observa que en horas de la mañana para el patrón EET-399 se ve afectada a los 14 días con déficit hídrico, mostrando poca eficiencia en captación de la energía lumínica ( $\Phi_{PSII}$  0,40).

En la figura 17 B se observa que en horas de la tarde las diferentes combinaciones de injertos son afectadas por el déficit hídrico, teniendo así que con déficit hídrico a los 14 que el patrón y las combinaciones de injertos mostraron baja eficiencia cuántica como la combinación EET-399 con CCN-51 y con INIAP-484 con  $\Phi_{PSII}$  de 0,11y 0,11 respectivamente, mientras que la combinación EET-399 con EET-575 presentó un  $\Phi_{PSII}$  0,24, siendo la eficiencia más alta en condiciones de déficit hídrico. Estas diferencias de eficiencia cuántica del patrón y sus combinaciones de injertos a los 14 días en horas de la tarde, presentaron diferencias estadísticas altamente significativas ( $p$  valor  $< 0,0001$ ).

Es importante señalar que una alta intensidad luminosa por radiación solar puede producir daño en el aparato fotosintético (fotoinhibición), el cual puede aumentar bajo condiciones de sequía y temperaturas extremas (Powles, 1984); mientras que un buen funcionamiento del aparato fotoquímico corresponde a plantas no sometidas a estrés por déficit hídrico (Maxwell y Johnson, 2000).



**Figura 17.** Promedio de eficiencia cuántica del fotosistema II, en plántulas de combinaciones del EET-399-injertos de cacao a los 0; 14 días a primeras horas de la mañana 06h30-07h30 (A) y del mediodía 13h30-14h30 (B) en tratamiento sin déficit hídrico y con déficit hídrico. Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada periodo de hora significan diferencias significativas según test de LSD Fisher ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).

En la figura 18 A y B, se observa el comportamiento de eficiencia cuántica de  $\Phi_{PSII}$  para el patrón EET-400 y sus combinaciones de injertos. En la figura 18 A se observa que la  $\Phi_{PSII}$  en horas de la mañana no es afectado, esto es dado por la poca radiación lumínica en horas de la mañana, por consiguiente cuando las plántulas se encuentran en menor disposición de radiación lumínica en la mañana, mayor

será el  $\Phi_{PSII}$  debido aún mayor número de centros oxidados en la cadena de electrones en la membrana de los tilacoides. Por tanto, es importante considerar que existen otros factores ambientales como luminosidad por radiación solar, que a pesar de que las plántulas se encuentren en periodos de déficit hídrico pueden recuperarse de las disminuciones que pueden ocurrir debido también a altas radiaciones en el transcurso del día (Powles, 1984).

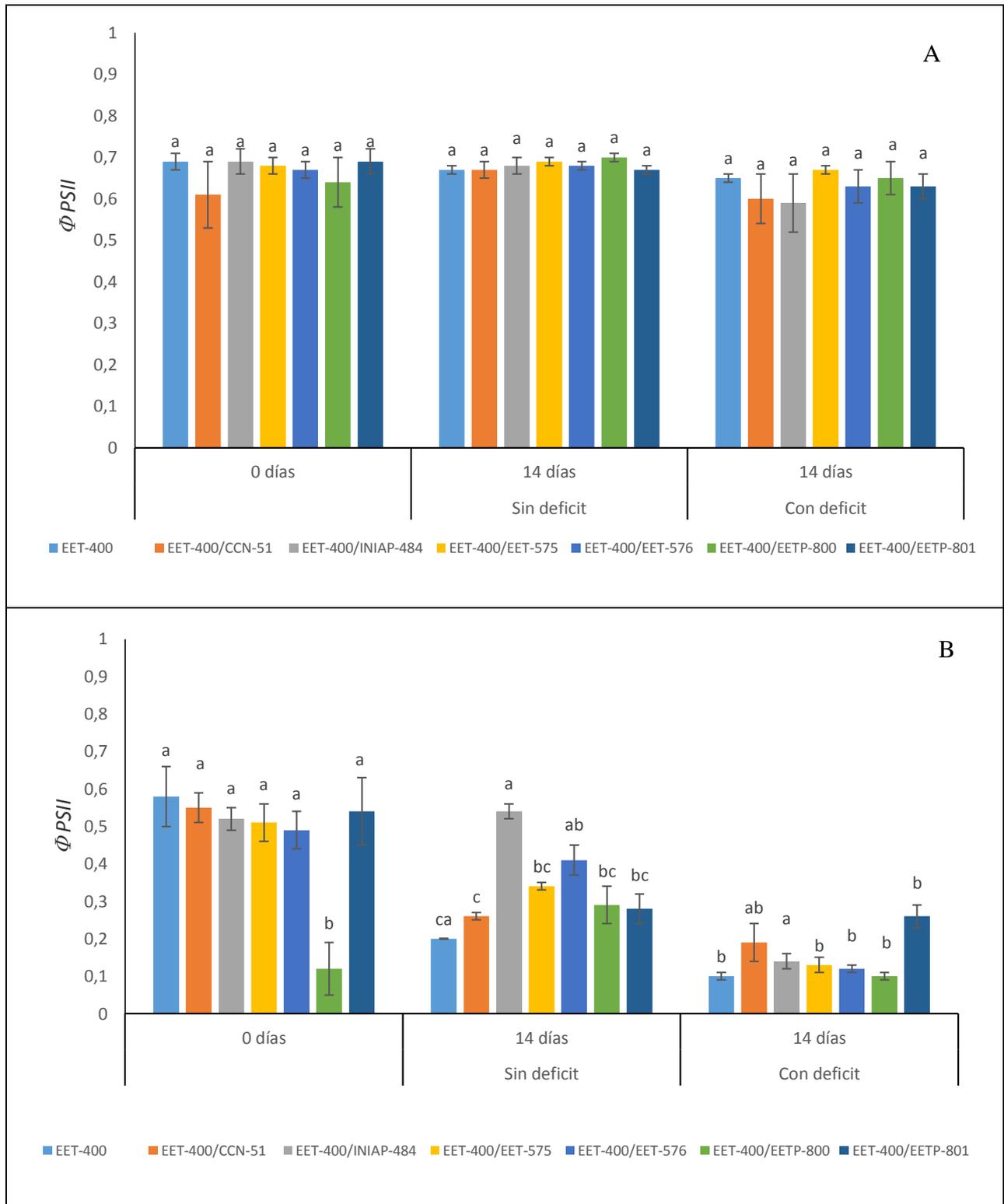
Contrario a esto, en horas de la tarde y con mayor luminosidad, se ve un efecto de ambos (radiación y déficit hídrico) factores, ya que se observa un estrés por déficit hídrico en las plántulas evaluadas a los 14 días con déficit hídrico (Figura 18 B), observando que el patrón y sus combinaciones de injertos bajaron su  $\Phi_{PSII}$  a valores de 0,11 ambos valores para el patrón EET-400 y la combinación EET-400 con EETP-800.

Estas diferencias de eficiencia cuántica entre el patrón y sus combinaciones de injertos no presentaron diferencias estadísticas altamente significativas (*p* valor 0,0065). El  $\Phi_{PSII}$ , indica la eficiencia con la que se transfiere la energía que es absorbida y canalizada a procesos fotoquímicos a través del  $\Phi_{PSII}$ , pero este se ve disminuido en aquellas plantas que se encuentra bajo un mayor estrés hídrico, en horas de mayor exposición lumínica (Reyes, 2016).

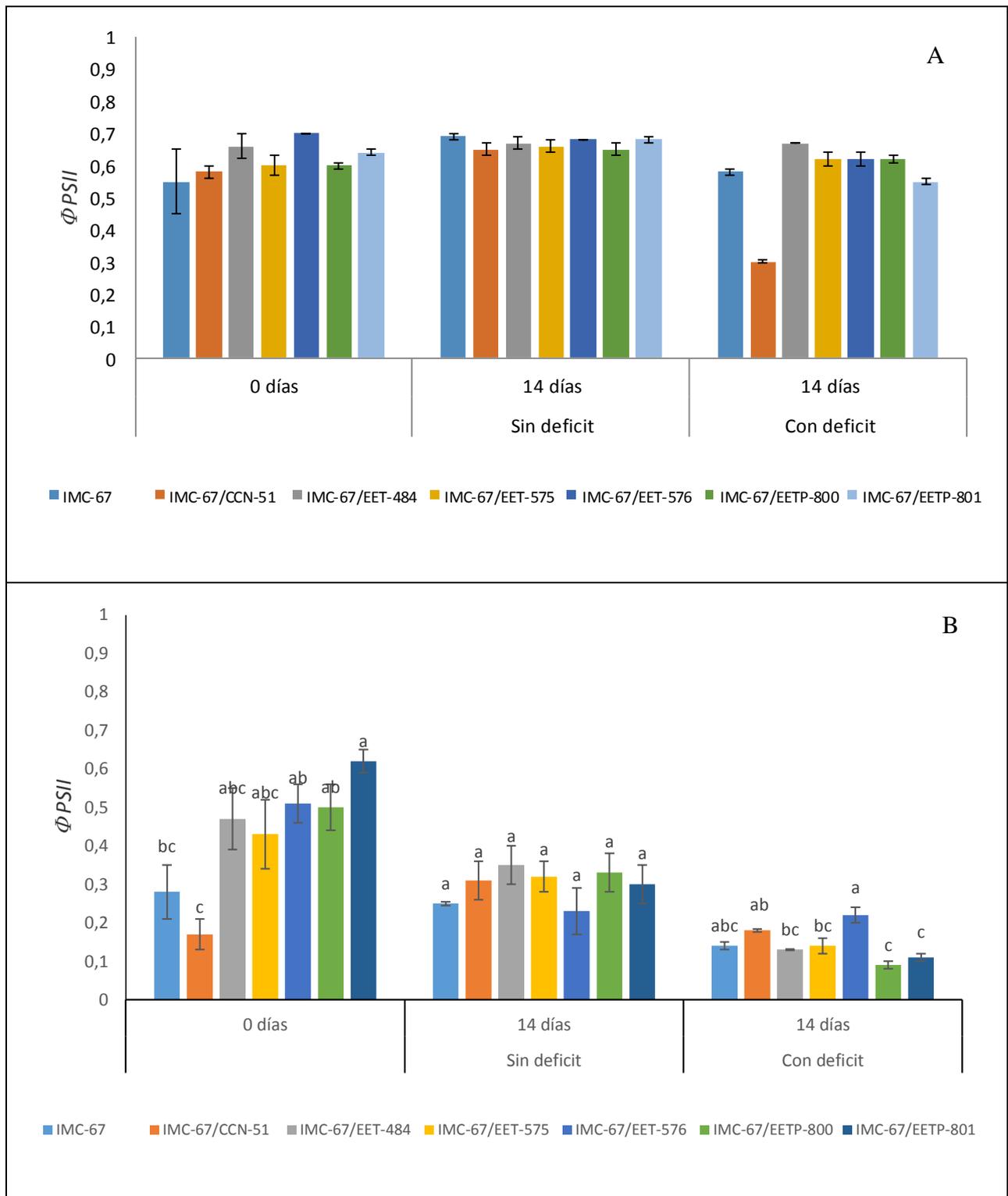
La fase de recuperación ha recibido muy poca atención y parece digno de estudio, ya que el mecanismo y la velocidad de recuperación suelen ser importante para el balance de carbono a largo plazo en condiciones de fotoinhibición frecuente. Es posible que algunas especies tengan la capacidad de recuperarse rápidamente de la fotoinhibición tanto durante como después del período de estrés (Powles, 1984).

En la figura 19 A se observa el comportamiento de  $\Phi_{PSII}$  para el patrón IMC-67 y en la mayoría de sus combinaciones de injertos en horas de la mañana no es afectado, lo cual indica que las plántulas de estas combinaciones no atraviesan periodos de estrés hídrico por falta de agua; pero esto se ve contrariamente en la combinación CCN-51 que si mostró un valor bajo de  $\Phi_{PSII}$   $0,30 \pm 0,03$ . Estas diferencias de eficiencia cuántica del patrón y sus combinaciones de injertos a los 14 días en horas de la tarde, presentaron diferencias estadísticas altamente significativas (*p* valor 0,0013).

No obstante en horas de la tarde si se ve un efecto de estrés por déficit hídrico en las plántulas a los 14 días con déficit hídrico. En la figura 19 B se puede observar a los 14 días con déficit hídrico que la combinaciones patrón-injertos mostraron  $\Phi_{PSII}$  por debajo de 0,22.



**Figura 18.** Promedio de eficiencia cuántica del fotosistema II, en plántulas de combinaciones del patrón EET-400-injertos de cacao a los 0; 14 días a primeras horas de la mañana 06h30-07h30 (A) y del mediodía 13h30-14h30 (B) en tratamiento sin déficit hídrico y con déficit hídrico. Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada periodo de hora significan diferencias significativas según test de Tukey ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).



**Figura 19.** Promedio de eficiencia cuántica del fotosistema II, en plántulas de combinaciones del patrón IMC-67-injertos de cacao a los 0; 14 días a primeras horas de la mañana 06h30-07h30 (A) y del mediodía 13h30-14h30 (B) en tratamiento sin déficit hídrico y con déficit hídrico. Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada periodo de hora significan diferencias significativas según test de Tukey ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).

Jiménez et al., (2005) al estudiar la variación en la actividad del fotosistema II de plantas de alcornoque sometidas a estrés por déficit hídrico moderado y bajo distintos niveles de radiación concluyó que la eficiencia del PSII exhibió dos respuestas a las altas radiaciones y al estrés hídrico diferentes con el tiempo: una diaria, con valores máximos de  $F_v/F_m$  al amanecer y disminuciones de esta eficiencia al mediodía y primeras horas de la tarde.

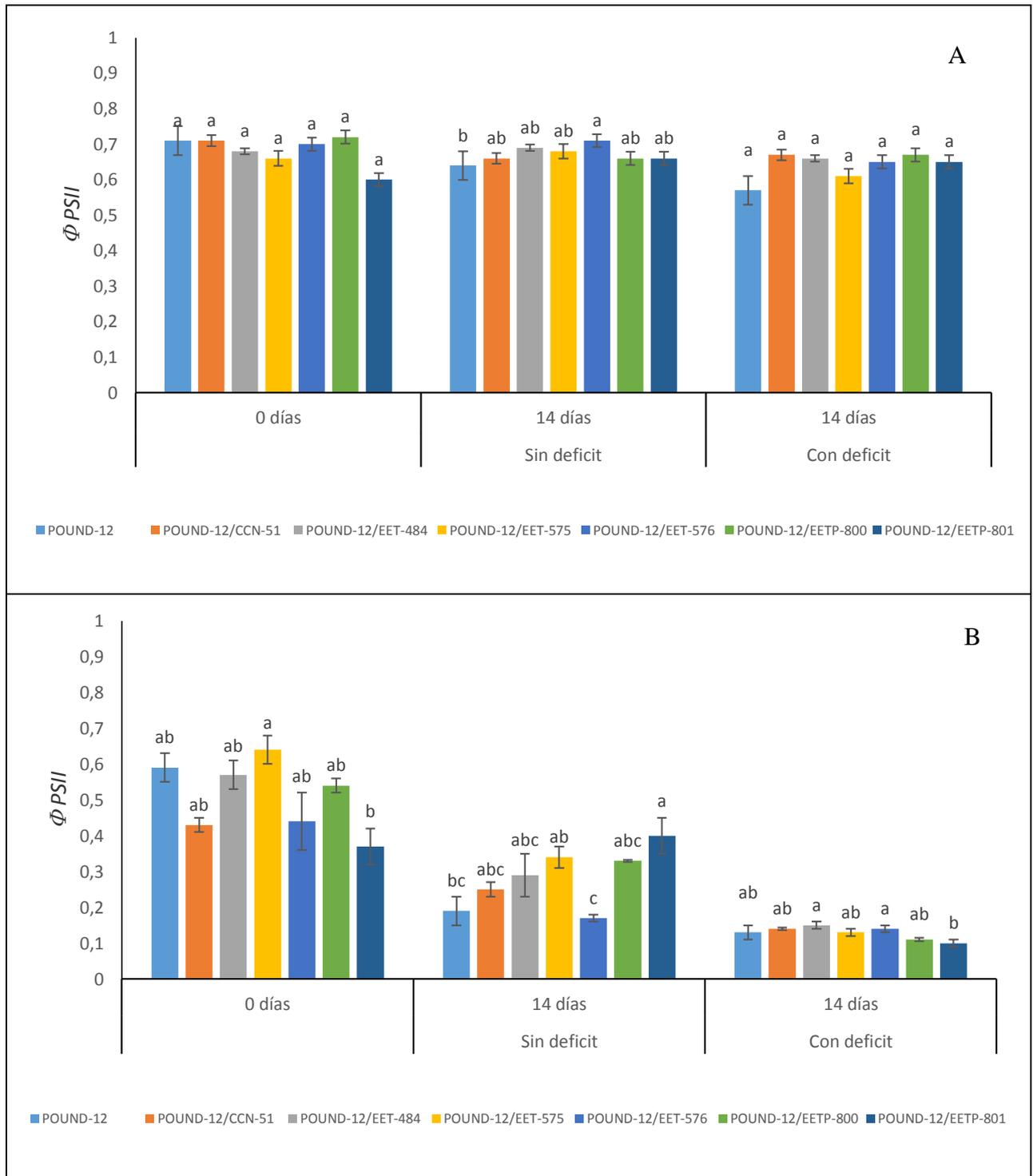
En la figura 20 A y B, se observa el comportamiento de  $\Phi_{PSII}$  para el patrón POUND-12 y sus combinaciones de injertos. En la figura 20 A se observa que la  $\Phi_{PSII}$  del fotosistema II en horas de la mañana no es afectado, lo cual indica que las plántulas de estas combinaciones no atraviesan periodos de estrés hídrico por falta de agua, no obstante en horas de la tarde se ve un efecto de estrés por déficit hídrico en las plántulas a los 14 días con déficit hídrico.

En la figura 20 B se puede observar a los 14 días con déficit hídrico que la combinaciones patrón-injertos mostraron  $\Phi_{PSII}$  por debajo de 0,15. Jiménez et al., (2005) al estudiar la variación en la actividad del fotosistema II de plantas de alcornoque sometidas a estrés por déficit hídrico moderado y bajo distintos niveles de radiación concluyó que la eficiencia del PSII exhibió dos respuestas a las altas radiaciones y al estrés hídrico diferentes con el tiempo: una diaria, con valores máximos de  $F_v/F_m$  al amanecer y disminuciones de esta eficiencia al mediodía y primeras horas de la tarde.

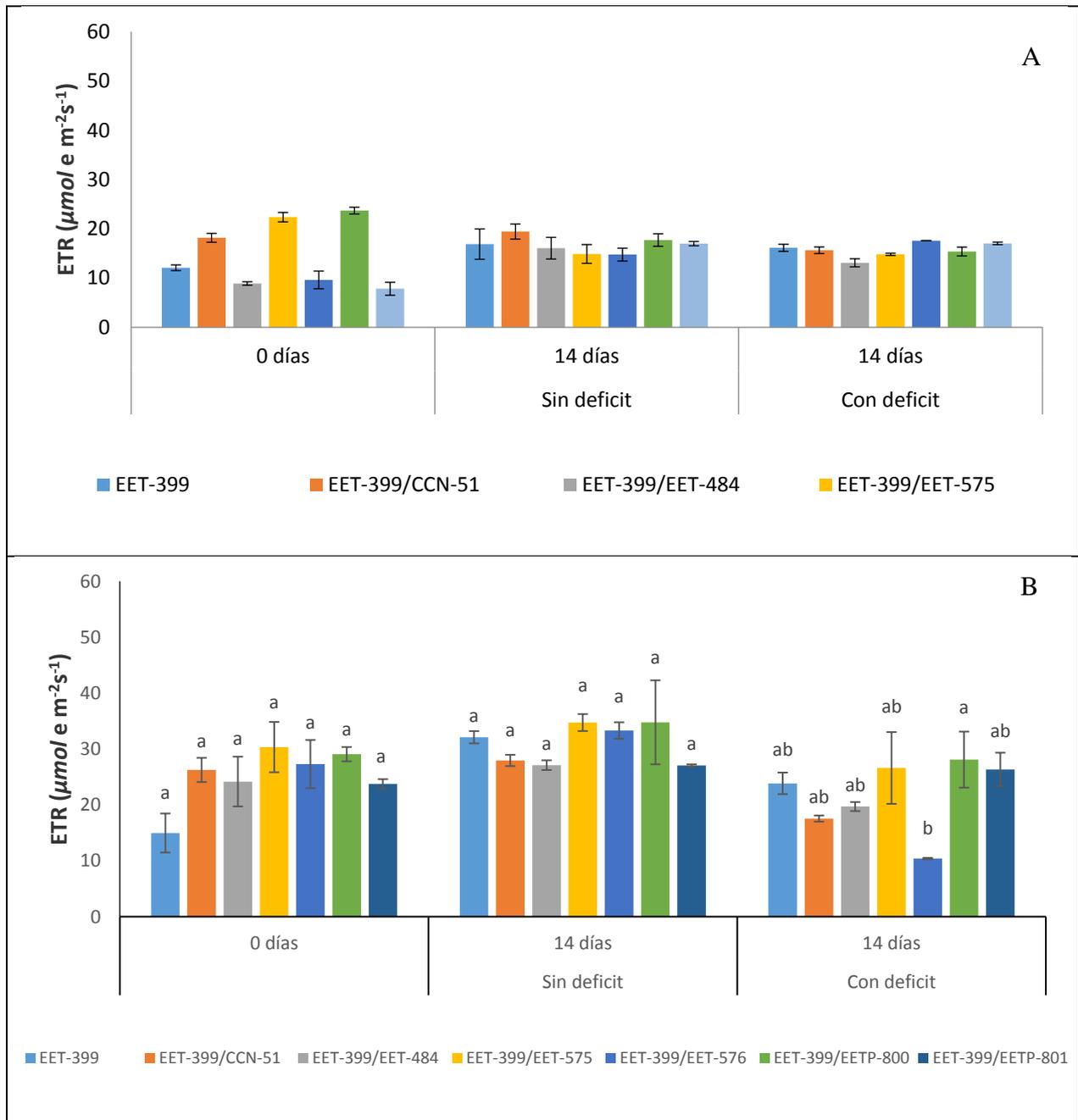
#### Tasa de transporte de electrones-*ETR* ( $\mu\text{mol e m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )

En la figura 21 A y B, se observa la *ETR* para el patrón EET-399 y sus combinaciones de injertos. En la figura 21 A se observa un leve estrés hídrico en este patrón y una combinación en las primeras horas de la mañana durante los días 14 con déficit hídrico; lo que indica que mientras más bajos estén los niveles de *ETR* indican que la planta está bajo condiciones de estrés que limita la tasa de fotosíntesis, esta combinación es EET-399 con INIAP-484 que presentó la menor tasa de transporte de electrones con  $13,1 \pm 1,42 \text{ } \mu\text{mol e m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , la combinación EET-399 con EET-576 fue la de mayor nivel con  $17,60 \pm 0,00 \text{ } \mu\text{mol e m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Estas diferencias de tasa de *ETR* entre combinaciones de injertos y patrón a los 14 días de evaluación en las primeras horas de la mañana, presentaron diferencias estadísticas altamente significativas (*p* valor 0,0027).

En horas de la tarde estas tasas cambiaron, en la figura 21 B se observa que la *ETR* en las combinaciones con déficit hídrico, teniendo así que la combinación EET-399 con EETP-800 obtuvo la mayor *ETR* con  $28,10 \pm 8,67 \text{ } \mu\text{mol e m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , seguido de la combinación EET-399 y EET-575 a los 14 días de evaluación presentó un *ETR* de  $26,60 \pm 11,12 \text{ } \mu\text{mol e m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , por otro lado el patrón EET-399 tuvo una tasa de  $23,85 \pm 3,35 \text{ } \mu\text{mol e m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , finalmente la combinación con menor *ETR* fue EET-399 con EET-576 con  $10,40 \pm 0,20 \text{ } \mu\text{mol e m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , manteniéndose las plantas de esta combinación en estado de mayor estrés por falta de agua y por consiguiente, la tasa fotosintética de esta combinación es baja, Estas diferencias de tasa de transporte de electrones entre combinaciones de injertos y patrón a los 14 días en hora de la tarde, presentaron diferencias estadísticas significativas al 5% de probabilidad (*p* valor 0,0252).



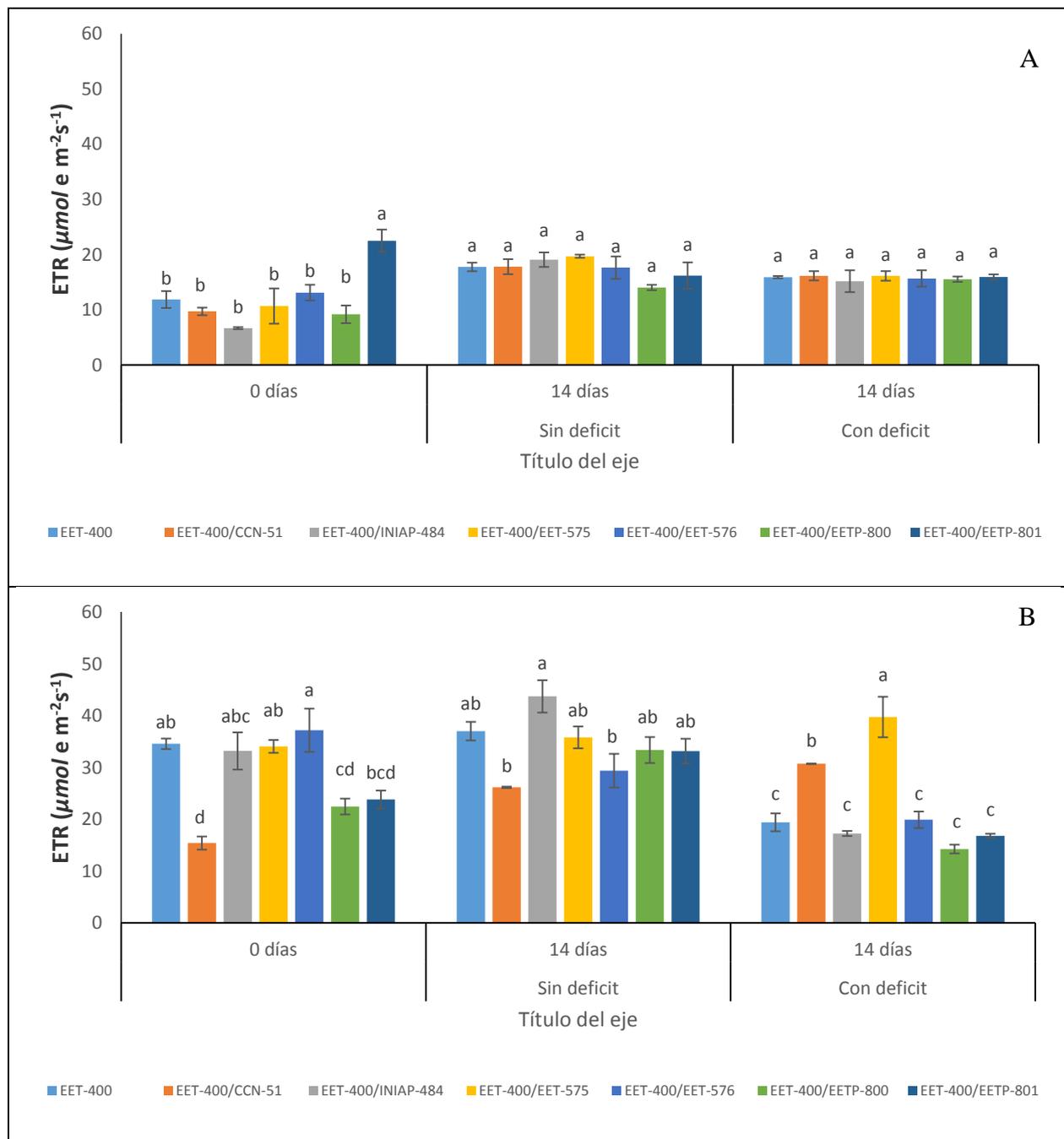
**Figura 20.** Promedio de eficiencia cuántica del fotosistema II, en plántulas de combinaciones del patrón POUND-12-injertos de cacao a los 0; 14 días a primeras horas de la mañana 06h30-07h30 (A) y del mediodía 13h30-14h30 (B) en tratamiento sin déficit hídrico y con déficit hídrico. Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada periodo de hora significan diferencias significativas según test de Tukey ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).



**Figura 21.** Promedio de tasa de transferencia de electrones ( $\mu\text{mol e m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) en plántulas de combinaciones del patrón EET-399-injertos de cacao a los 0; 14 días a primeras horas de la mañana 06h30-07h30 (A) y del mediodía 13h30-14h30 (B) en tratamiento sin déficit hídrico y con déficit hídrico). Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada periodo de hora significan diferencias significativas según test de Tukey ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).

En la figura 22 A y B, se observa la  $ETR$  para el patrón EET-400 y sus combinaciones de injertos. En la figura 22 A se observa un ligero estrés hídrico que este patrón y sus combinaciones presentan en las primeras horas de la mañana durante los días 14 con déficit hídrico; mientras más bajos estén los niveles de  $ETR$  indican que la planta está bajo condiciones de estrés que limita la tasa de fotosíntesis, siendo la combinación EET-400 con INIAP-484 el de menor eficiencia con  $15,170 \pm 3,44 \mu\text{mol e m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , estas diferencia resultaron ser estadísticamente iguales ( $p$  valor 0,9940).

En horas de la tarde estas tasas cambiaron, en la figura 22 B se observa una evidente disminución por menor transporte que genera una menor cantidad de electrones que se transporta en la membrana de los tilacoides entre el fotosistema II, exceptuando la combinación EET-400 con EET-575 que presentó tener mayor eficiencia a pesar de estar bajo condiciones de estrés hídrico con valor de  $ETR$  de  $39,73 \pm 6,78 \mu\text{mol e m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Estas diferencias de  $ETR$  entre combinaciones de injertos y patrón a los 14 días en horas de la tarde, presentaron diferencias estadísticas altamente significativas ( $p$  valor  $<0,0001$ ).



**Figura 22.** Promedio de tasa de transferencia de electrones ( $\mu\text{mol e m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) en plántulas de combinaciones del patrón EET-400-injertos de cacao a los 0; 14 días a primeras horas de la mañana 06h30-07h30 (A) y del mediodía 13h30-14h30 (B) en tratamiento sin déficit hídrico y con déficit hídrico). Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada periodo de hora significan diferencias significativas según test de *Tukey* ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).

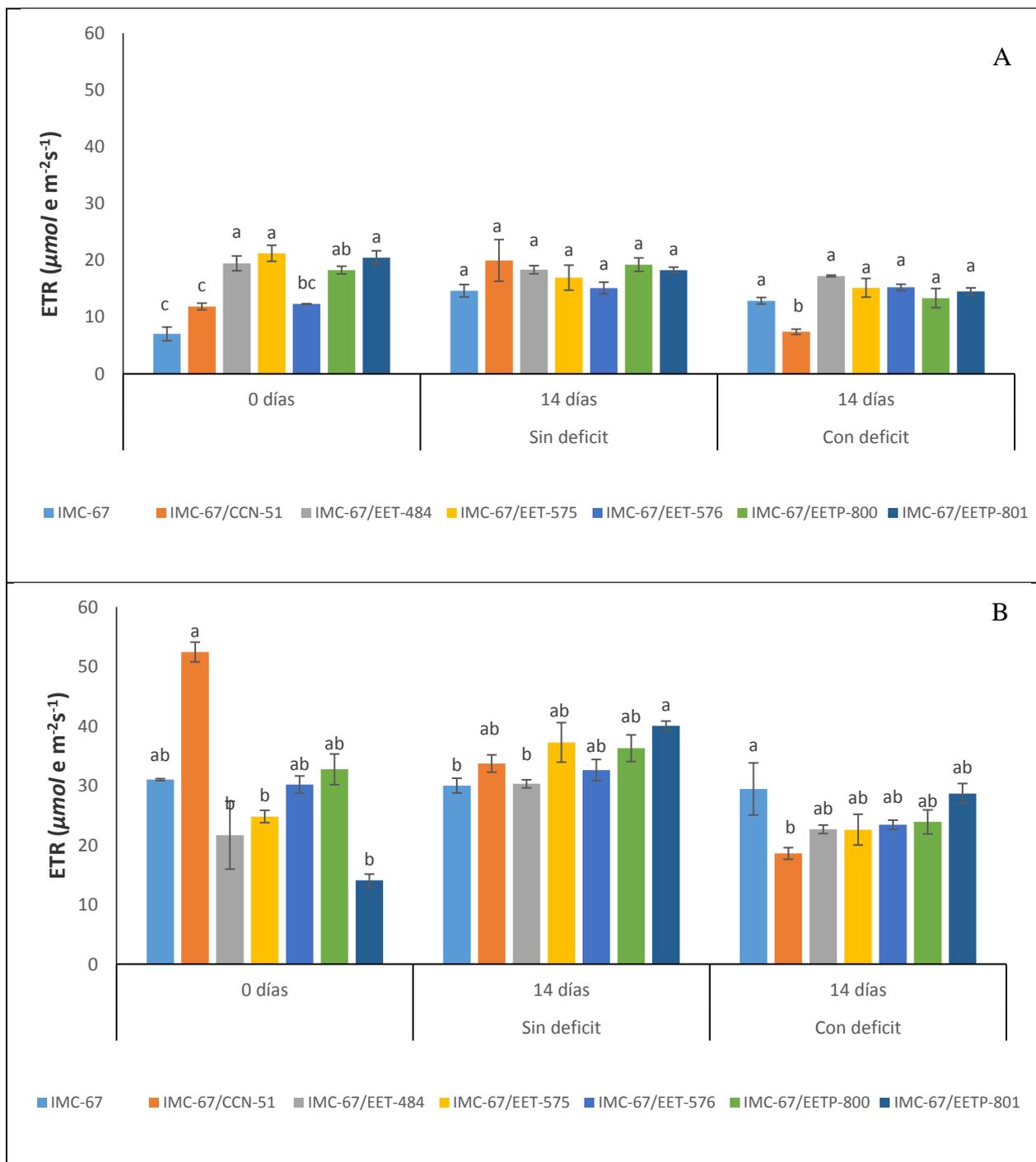
Eichelmann et al., (2004), mencionan que las características de absorción de la luz por la hoja pueden variar según la especie y el grado de estrés hídrico, por lo que niveles bajos de eficiencia de tasa de electrones pueden indicar que la planta está bajo condiciones de estrés que limita la tasa de fotosíntesis. Por consiguiente, las comparaciones de los valores relativos de *ETR* entre plantas, deben efectuarse bajo las mismas condiciones de luz.

En la figura 23 A y B, se observa la *ETR* para el patrón IMC-67 y sus combinaciones de injertos. En la figura 23 A se observa un ligero estrés hídrico que este patrón con la combinación CCN-51 mostró el menor *ETR*  $7,4 \pm 0,79 \mu\text{mol e m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , el resto de las combinaciones mantuvieron valores similares a las no sometidas a déficit hídrico. Las diferencias estadísticas resultaron ser altamente significativa (*p* valor 0,0002).

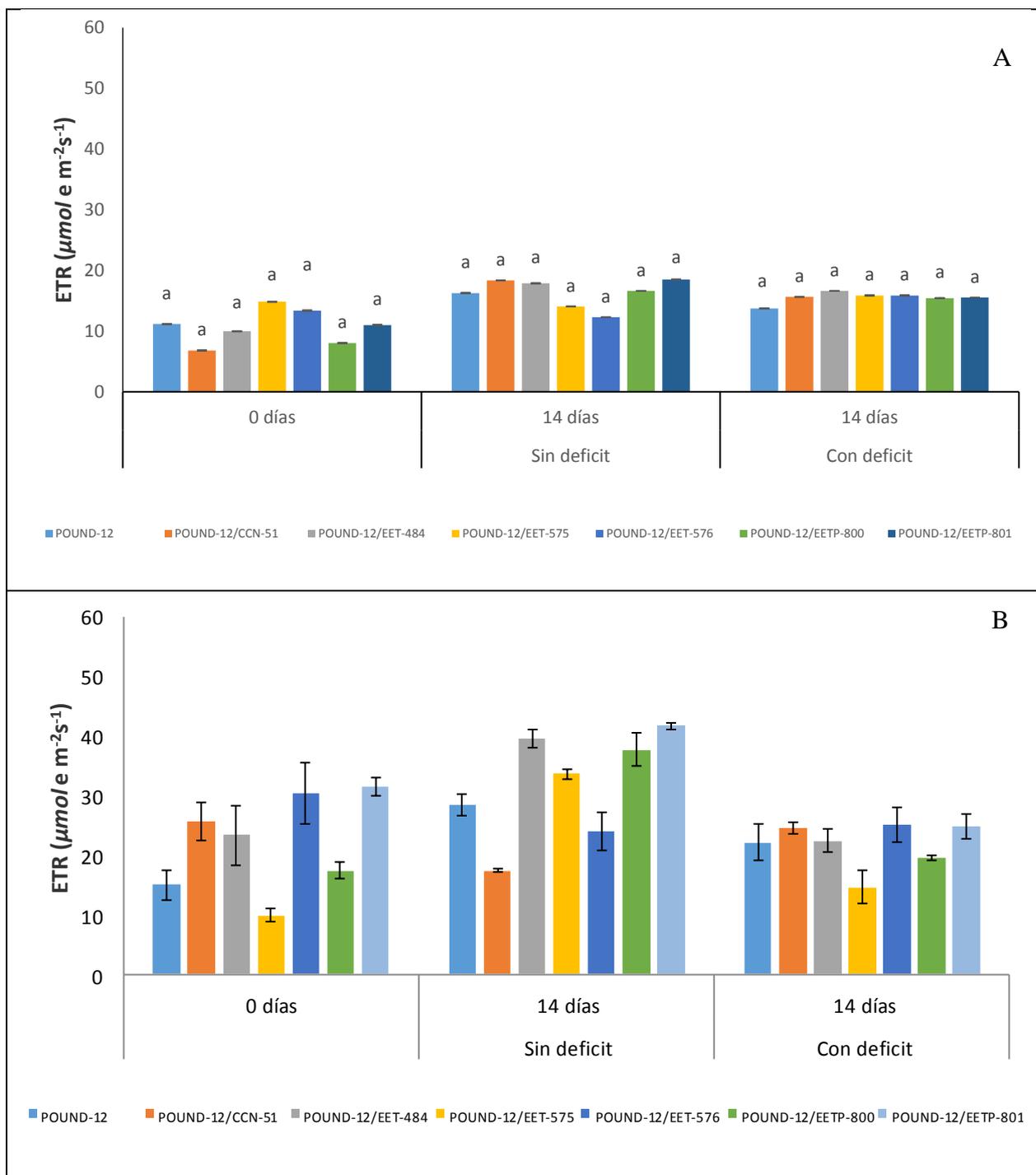
En horas de la tarde estas tasas cambiaron, en la figura 23 B se observa una evidente disminución, lo que genera una menor cantidad de transporte de electrones por la membrana de los tilacoides entre el fotosistema II, exceptuando el patrón con valor de *ETR* de  $29,43 \pm 7,59 \mu\text{mol e m}^{-2}\text{s}^{-1}$  que presentó tener mayor eficiencia a pesar de estar bajo condiciones de estrés hídrico, seguido de la combinación IMC-67 con EETP-801 con *ETR*  $28,65 \pm 2,95 \mu\text{mol e m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Estas diferencias de *ETR* entre combinaciones de injertos y patrón a los 14 días en horas de la tarde, presentaron diferencias estadísticas no significativa (*p* valor  $< 0,0520$ ).

En la figura 24 A y B, se observa la *ETR* para el patrón POUND-12 y sus combinaciones de injertos, en la figura 24 A se observa que en hora de las mañana las evaluaciones a los 14 con déficit hídrico la *ETR* mantiene valores similares a las combinaciones no sometidas a déficit hídrico. Mientras que en horas de la tarde estos valores cambiaron, en la figura 24 B se observa que hubo una disminución de *ETR* en la combinación POUND-12 con EET-575 con  $14,73 \pm 4,68 \mu\text{mol e m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , por otro lado la combinación POUND-12 con EET-576 mostró una mejor *ETR* alcanzando  $25,13 \pm 5,05 \mu\text{mol e m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , seguido del patrón con  $22,16 \pm 5,34 \mu\text{mol e m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Estas diferencias de *ETR* entre combinaciones de injertos y patrón a los 14 días de evaluación en horas de la tarde, no presentaron diferencias estadísticas al 5% de probabilidad (*p* valor 0,0524).

El uso de la fluorescencia de la clorofila para la evaluación temprana en cacao es utilizado como herramienta para la selección precoz de genotipos con niveles de resistencia y/o tolerancia a la sequía. (Daymond y Hadley, 2004). Esta versión es corroborado por estudios realizados por Balasimha et al., (2013), donde determinaron que genotipos de cacao presentaron una disminución en este parámetro fisiológico bajo estrés hídrico y que a inicio de sus primeros años de producción no alcanzaban ni 15 mazorcas /árbol/año.



**Figura 23.** Promedio de tasa de transferencia de electrones ( $\mu\text{mol e m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) en plántulas de combinaciones del patrón IMC-67-injertos de cacao a los 0; 14 días a primeras horas de la mañana 06h30-07h30 (A) y del mediodía 13h30-14h30 (B) en tratamiento sin déficit hídrico y con déficit hídrico). Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada periodo de hora significan diferencias significativas según test de *Tukey* ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).



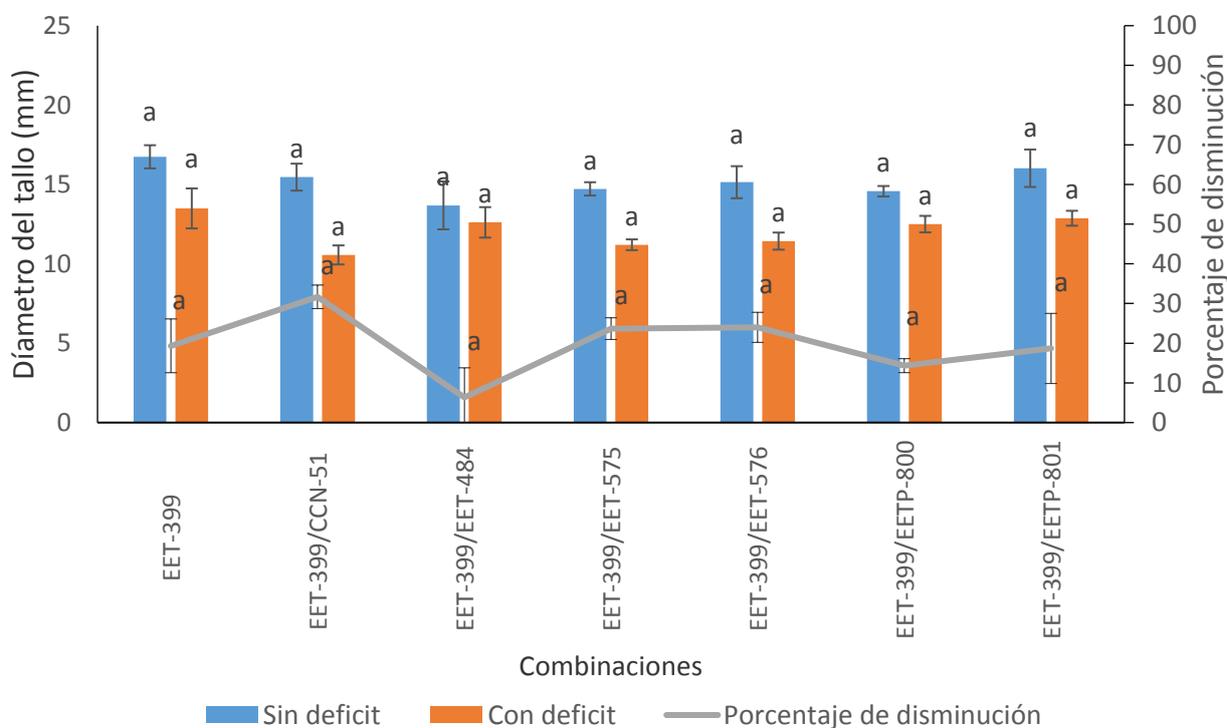
**Figura 24.** Promedio de tasa de transferencia de electrones ( $\mu\text{mol e m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) en plántulas de combinaciones del patrón POUND-12-injertos de cacao a los 0; 14 días a primeras horas de la mañana 06h30-07h30 (A) y del mediodía 13h30-14h30 (B) en tratamiento sin déficit hídrico y con déficit hídrico). Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada periodo de hora significan diferencias significativas según test de Tukey ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).

### Variables morfológicas

Pocos estudios se han realizado para identificar estrategias de selección temprana en genotipos de cacao al déficit hídrico, se ha reconocido que los cambios morfológicos son buenos indicadores para la selección temprana a la tolerancia al estrés por déficit hídrico, esto debido al impacto directo de la sequía en patrones y desarrollo de las plantas por injertos (Gao et al., 2009).

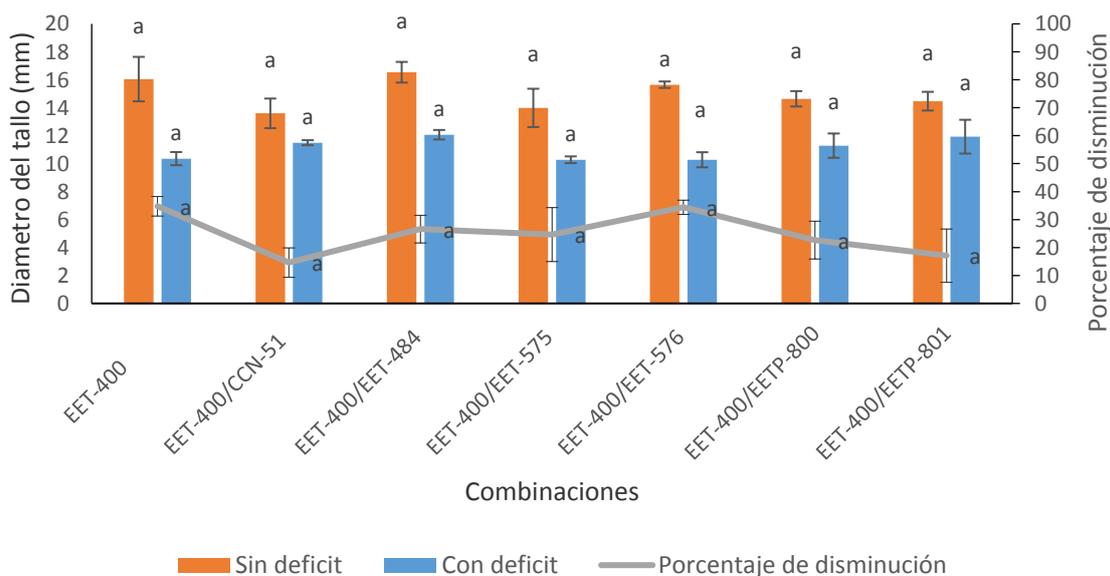
### Diámetro del tallo (mm)

En la figura 25 se puede apreciar que no existen diferencias estadísticas significativas ( $p$  valor 0,1288) entre el patrón EET-399 y sus combinaciones de injertos en condiciones de déficit hídrico; mientras que en comparación del porcentaje de disminución del diámetro, se puede observar que la combinación EET-399 con INIAP-484 obtuvo el menor porcentaje de disminución con 6 %, mientras que la combinación con CCN-51 presentó el mayor porcentaje de disminución con el 32%, estas combinaciones no presentaron diferencias estadísticas significativas ( $p$  valor 0,1165).



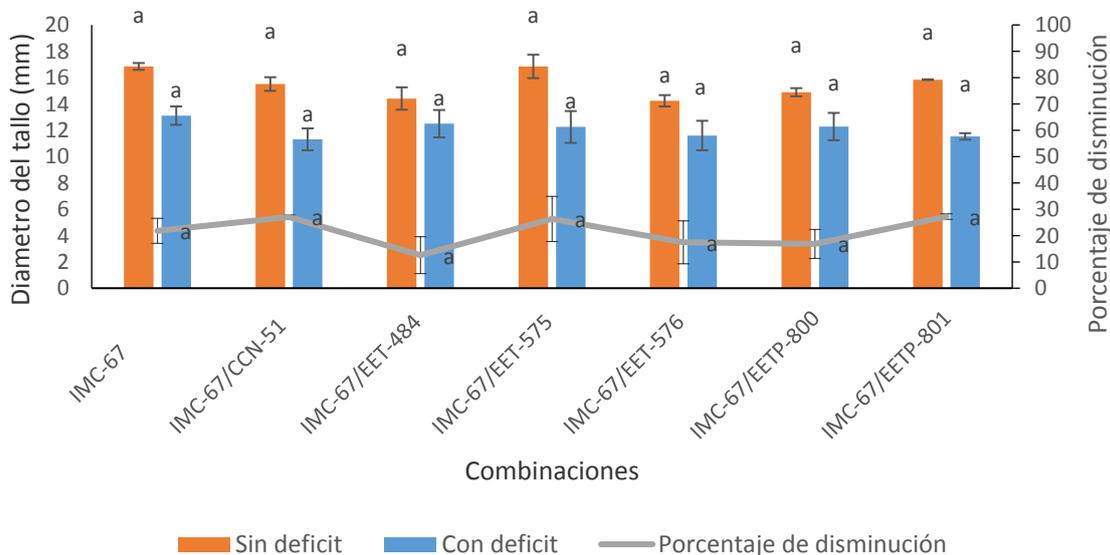
**Figura 25.** Promedio de diámetro del tallo (mm) y disminución porcentual en la condición de plántulas con déficit hídrico con respecto a plántulas sin déficit hídrico del patrón EET-399 en combinación con seis injertos de cacao. Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada tratamiento hídrico significan diferencias significativas según test de Tukey ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).

En la figura 26 se observa que no existen diferencias estadísticas significativas ( $p$  valor 0,2579) entre el patrón EET-400 y sus combinaciones de injertos en condiciones de déficit hídrico, y para porcentaje de disminución del diámetro del tallo entre plántulas sin déficit hídrico y con déficit hídrico, ( $p$  valor 0,2807).



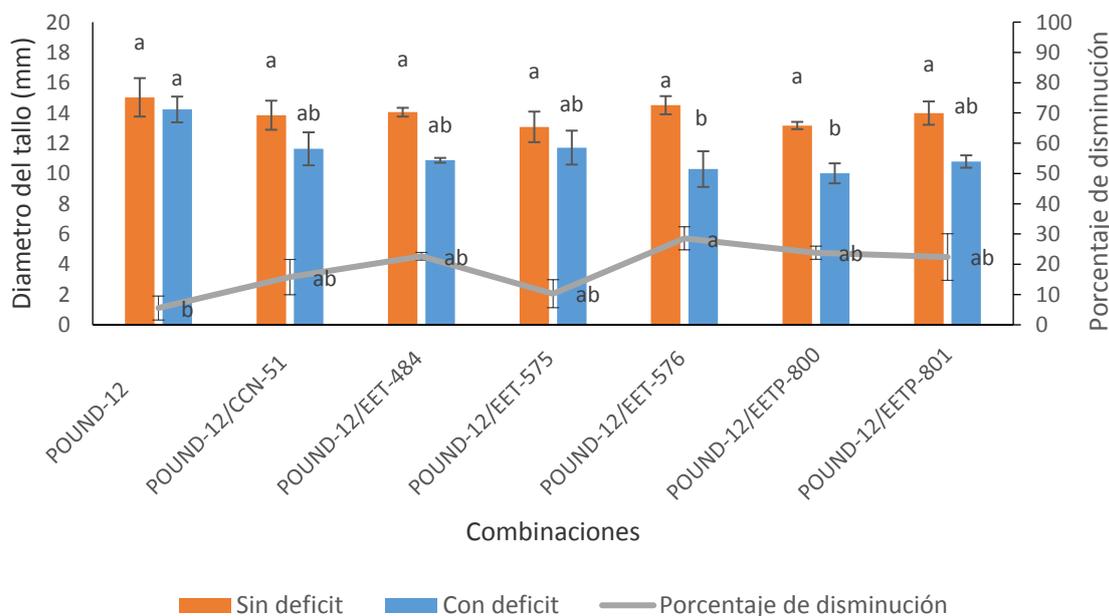
**Figura 26.** Promedio de diámetro del tallo (mm) y disminución porcentual en la condición de plántulas con déficit hídrico con respecto a plántulas sin déficit hídrico del patrón EET-400 en combinación con seis injertos de cacao. Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada tratamiento hídrico significan diferencias significativas según test de Tukey ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).

En la figura 27 se observa que no existen diferencias estadísticas significativas ( $p$  valor 0,3116) entre el patrón IMC-67 y sus combinaciones de injertos en condiciones de déficit hídrico, así mismo para el porcentaje de disminución del diámetro del tallo entre plántulas sin déficit hídrico y con déficit hídrico, ( $p$  valor 0,4762).



**Figura 27.** Promedio de diámetro del tallo (mm) y disminución porcentual en la condición de plántulas con déficit hídrico con respecto a plántulas sin déficit hídrico del patrón IMC-67 en combinación con seis injertos de cacao. Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada tratamiento hídrico significan diferencias significativas según test de Tukey ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).

Finalmente en la figura 28 se puede observar que entre el patrón POUND-12 y sus combinaciones de injertos presentaron diferencias estadísticas significativas ( $p$  valor 0,0417) en condiciones de déficit hídrico; además se observa que el menor porcentaje de pérdida de diámetro de tallo lo obtuvo el patrón con el 6%, seguido con la combinación EET-575 con el 10%, este patrón y las combinaciones de injertos en porcentaje de disminución del diámetro del tallo presentaron diferencias estadísticas significativas con  $p$  valor de 0,0371.

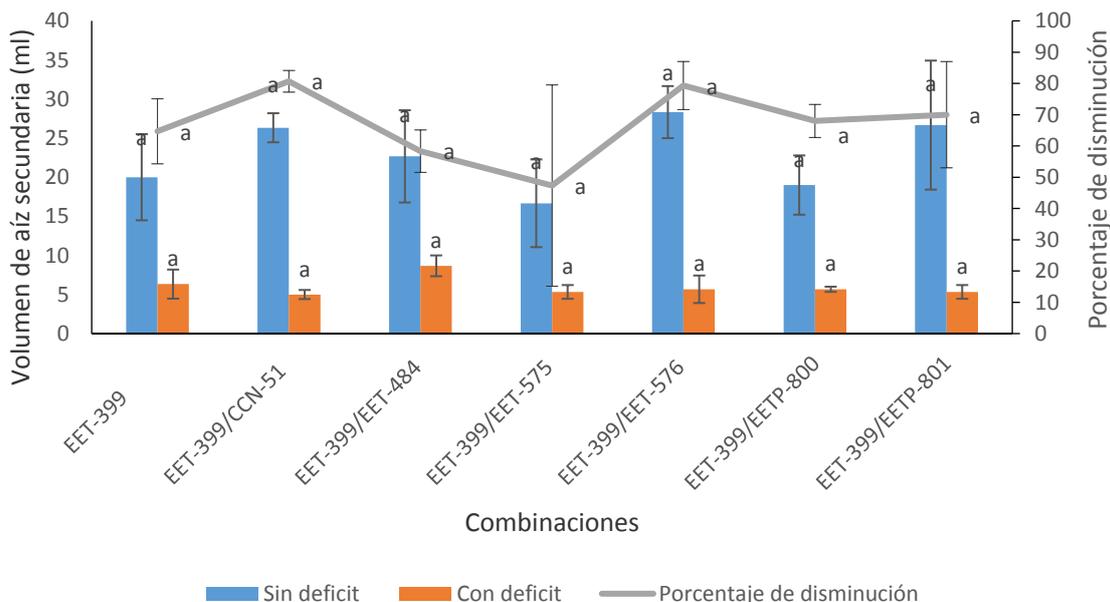


**Figura 28.** Promedio de diámetro del tallo (mm) y disminución porcentual en la condición de plántulas con déficit hídrico con respecto a plántulas sin déficit hídrico del patrón POUND-12 en combinación con seis injertos de cacao. Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada tratamiento hídrico significan diferencias significativas según test de Tukey ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).

El poco desarrollo del diámetro tallo en plantas de cacao, bajo condiciones de déficit hídrico, es el resultado de una disminución de la asimilación neta de  $CO_2$  (AN) afectada por una menor entrada de  $CO_2$  a la cavidad sub-estomática debido a una disminución de la conductancia estomática, mermando el contenido de carbono interno (Ci) y además disminuyendo la transpiración y la fotosíntesis (Chaves et al., 2010; Flexas et al., 2009).

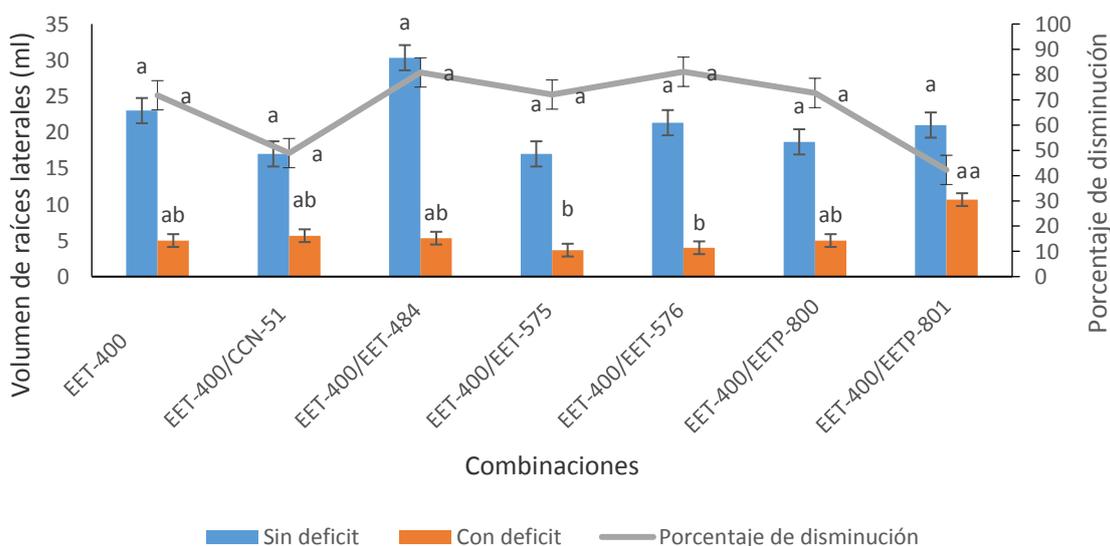
### Volumen de raíz (cm<sup>3</sup>)

En la figura 29, se observa que para el patrón EET-399 y sus combinaciones de injertos para volumen de raíces laterales no existen diferencias estadísticas ( $p$  valor 0,4335) en condiciones de déficit hídrico, el porcentaje de pérdida de volumen de raíces laterales entre plántulas sin déficit hídrico y con déficit hídrico, muestra que entre el patrón EET-399 y sus combinaciones de injertos no presentaron diferencias estadísticas ( $p$  valor 0,7233), pero en la figura se observa que el mayor porcentaje de disminución de raíces laterales en condiciones de déficit hídrico lo obtuvo la combinación EET-399 con CCN-51 con el 80% .



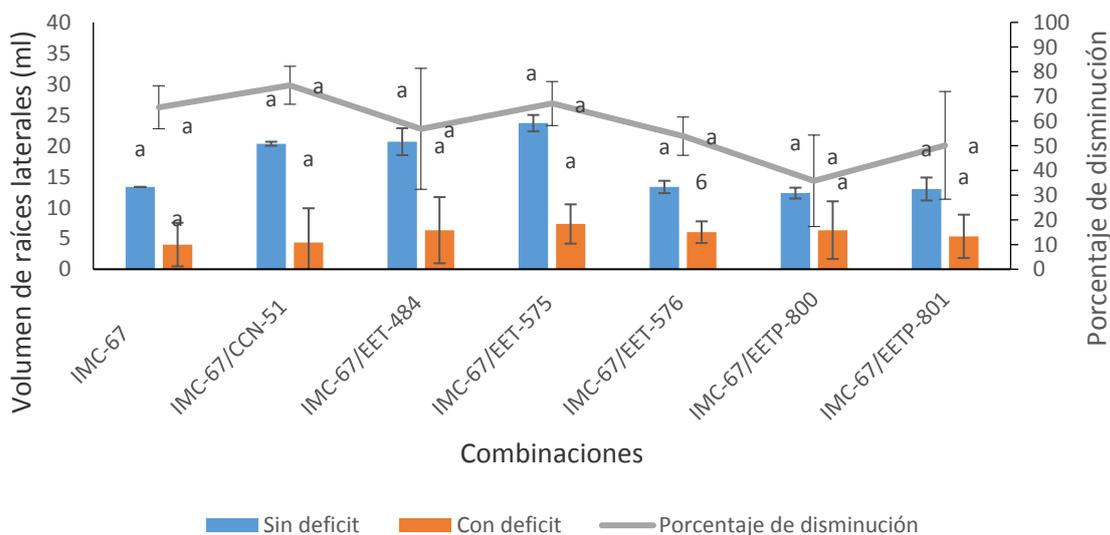
**Figura 29.** Promedio de volumen de raíces laterales (ml) y disminución porcentual en la condición de plántulas con déficit hídrico con respecto a plántulas sin déficit hídrico del patrón EET-399 en combinación con seis injertos de cacao. Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada tratamiento hídrico significan diferencias significativas según test de Tukey ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).

En la figura 30, se observa que para volumen de raíces laterales existen diferencias estadísticas significativas ( $p$  valor 0,0326) entre el patrón EET-400 y sus combinaciones de injertos en condiciones de déficit hídrico, el porcentaje de pérdida entre plántulas sin déficit hídrico y con déficit hídrico, muestra que el patrón EET-400 y sus combinaciones de injertos no presentaron diferencias estadísticas ( $p$  valor 0,3574).



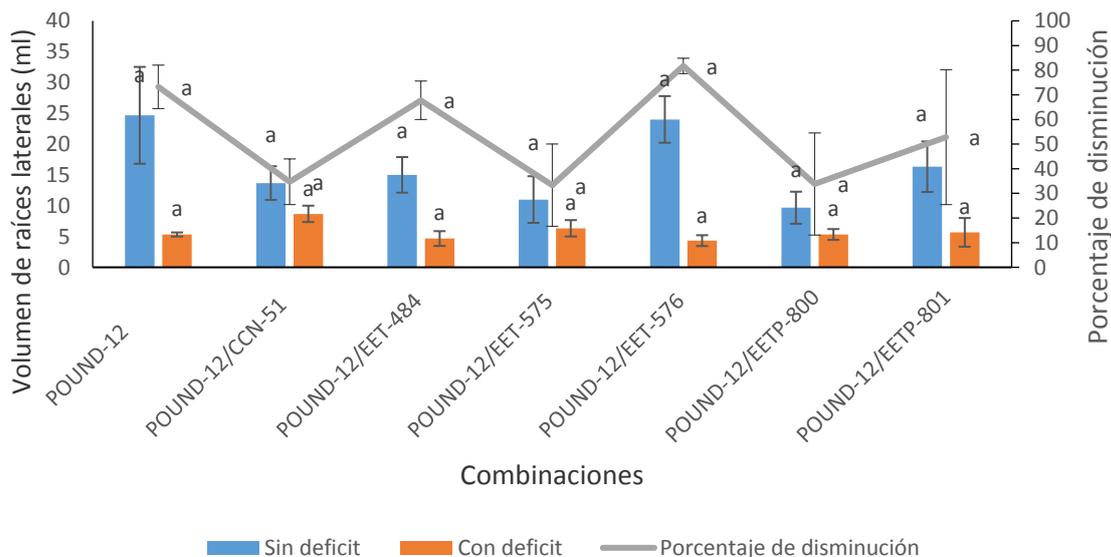
**Figura 30.** Promedio de volumen de raíces laterales (ml) y disminución porcentual en la condición de plántulas con déficit hídrico con respecto a plántulas sin déficit hídrico del patrón EET-400 en combinación con seis injertos de cacao. Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada tratamiento hídrico significan diferencias significativas según test de Tukey ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).

En la figura 31, se observa que para volumen de raíces laterales no existen diferencias estadísticas significativas ( $p$  valor 0,5669) entre el patrón IMC-67 y sus combinaciones de injertos en condiciones de déficit hídrico, el porcentaje de pérdida entre plántulas sin déficit hídrico y con déficit hídrico, muestra que el patrón IMC-67 y sus combinaciones de injertos no presentaron diferencias estadísticas ( $p$  valor 0,6697), pero en la figura se observa que la combinación entre el patrón y EETP-800 obtuvo el menor porcentaje de disminución de volumen de raíces secundas.



**Figura 31.** Promedio de volumen de raíces laterales (ml) y disminución porcentual en la condición de plántulas con déficit hídrico con respecto a plántulas sin déficit hídrico del patrón IMC-67 en combinación con seis injertos de cacao. Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada tratamiento hídrico significan diferencias significativas según test de Tukey ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).

En la figura 32, se observa que para el patrón POUND-12 y sus combinaciones de injertos para volumen de raíces laterales no existen diferencias estadísticas ( $p$  valor 0,3652) en condiciones de déficit hídrico, para el porcentaje de pérdida de volumen de raíces laterales entre plántulas sin déficit hídrico y con déficit hídrico entre el patrón y sus combinaciones de injertos, no presentaron diferencias estadísticas ( $p$  valor 0,1817), pero se observa que la combinación entre POUND-12 y el injerto EET-575 presentaron el menor porcentaje de pérdida de volumen de raíces laterales con el 33%, mientras que con el injerto EET-576 presentó el mayor porcentaje con el 82% de disminución de raíces laterales en condiciones de déficit hídrico.

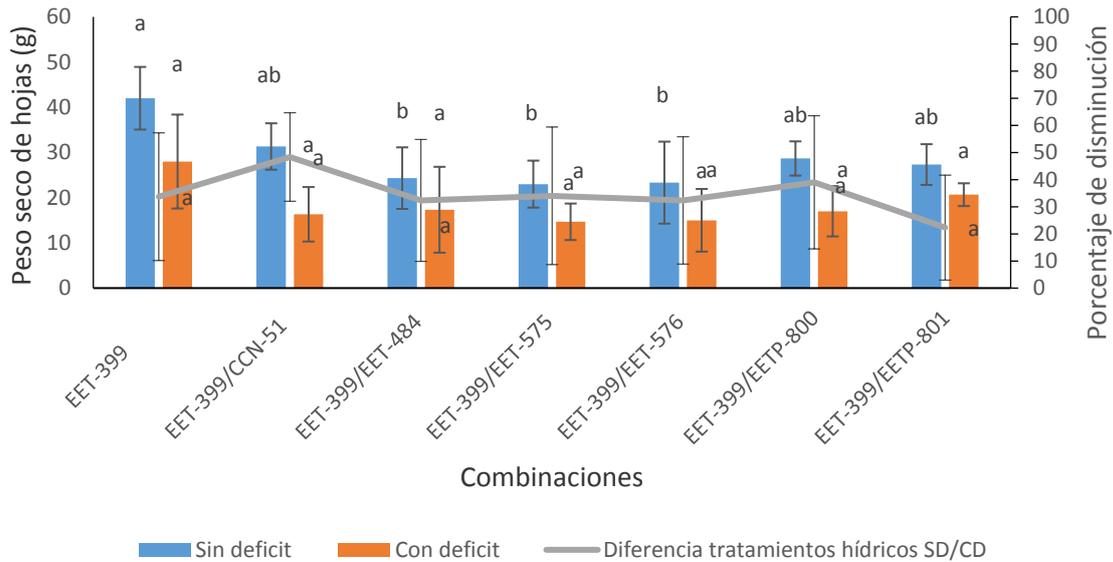


**Figura 32.** Promedio de volumen de raíces laterales (ml) y disminución porcentual en la condición de plántulas con déficit hídrico con respecto a plántulas sin déficit hídrico del patrón POUND-12 en combinación con seis injertos de cacao. Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada tratamiento hídrico significan diferencias significativas según test de Tukey ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).

Estos resultados determinaron que entre los tratamientos hídricos, las raíces laterales y raíz pivotante se desarrollan muy poco en condiciones de estrés por déficit hídrico, mientras que bajo condiciones normales de riego se desarrollan o se profundizan más. Resultados similares fueron encontrados por Setyawan et al., (2018) al estudiar las características de un esquema de cruzamiento en cacao en diferentes disponibilidades de agua, donde determinaron que las raíces profundas y abundantes caracterizan a las plantas bajo condiciones de riego que las que se encuentran bajo condiciones secas con raíces poco profundas.

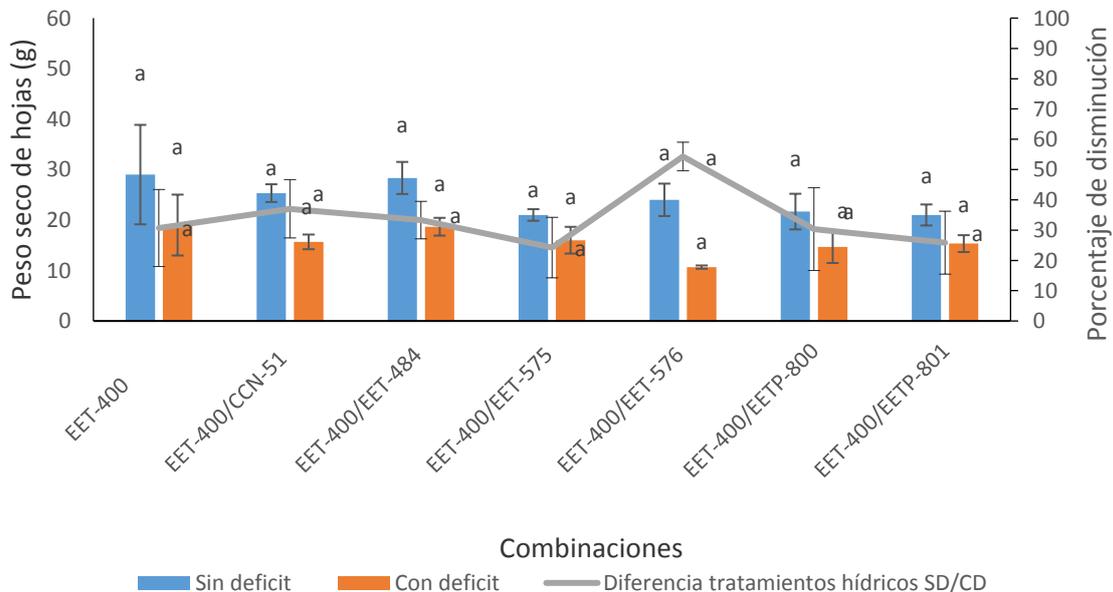
### Biomasa (g)

En la figura 33, se observa que para el peso seco de hoja (g) no existen diferencias estadísticas significativas ( $p$  valor 0,2983) entre el patrón EET-399 y sus combinaciones de injertos en condiciones de déficit hídrico, pero se puede observar que entre el patrón con el injerto EETP-801 presentó mayor peso seco de hojas, indicando que fue la combinación con mayor producción de biomasa (20,67 g) a pesar de estar bajo condiciones de estrés por déficit hídrico. El porcentaje de disminución de peso seco de hoja entre plántulas sin déficit hídrico y con déficit hídrico, muestra que el patrón EET-399 y sus combinaciones de injertos no presentaron diferencias estadísticas ( $p$  valor 0,8856).



**Figura 33.** Promedio de peso seco de hojas (g) y disminución porcentual en la condición de plántulas con déficit hídrico con respecto a plántulas sin déficit hídrico del patrón EET-399 en combinación con seis injertos de cacao. Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada tratamiento hídrico significan diferencias significativas según test de Tukey ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).

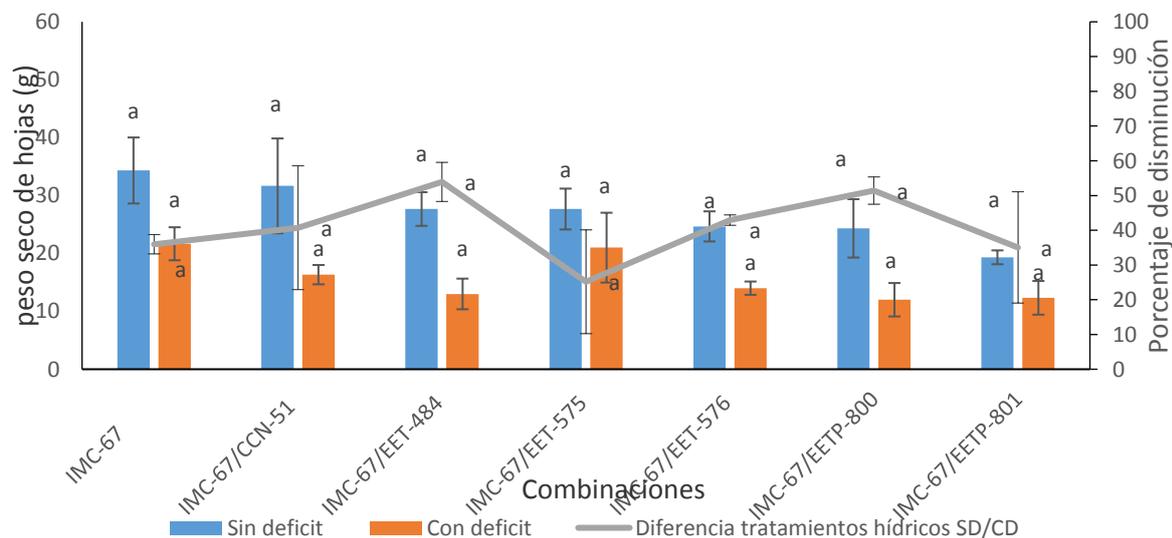
En la figura 34, se observa que para peso seco de hojas no existen diferencias estadísticas significativas ( $p$  valor 0,5354) entre el patrón EET-400 y sus combinaciones de injertos en condiciones de déficit hídrico, el porcentaje de pérdida entre plántulas sin déficit hídrico y con déficit hídrico, muestra que el patrón EET-400 y sus combinaciones de injertos no presentaron diferencias estadísticas ( $p$  valor 0,4642).



**Figura 34.** Promedio de peso seco de hojas (g) y disminución porcentual en la condición de plántulas con déficit hídrico con respecto a plántulas sin déficit hídrico del patrón EET-400 en combinación con seis injertos de cacao. Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras

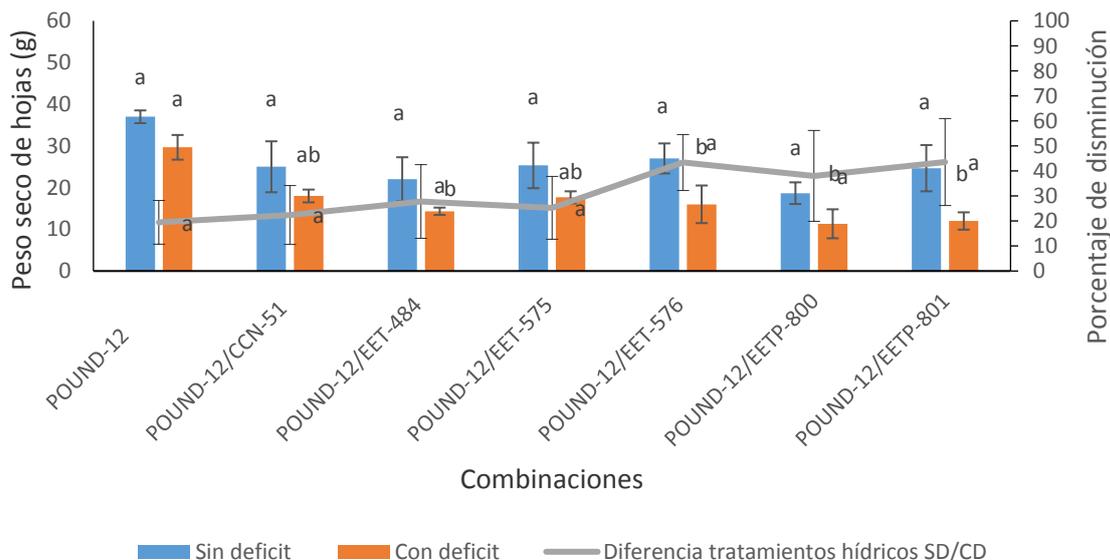
diferentes para cada tratamiento hídrico significan diferencias significativas según test de *Tukey* ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).

En la figura 35 se observa que para peso seco de hojas no existen diferencias estadísticas significativas ( $p$  valor 0,2189) entre el patrón IMC-67 y sus combinaciones de injertos en condiciones de déficit hídrico, el porcentaje de pérdida entre plántulas sin déficit hídrico y con déficit hídrico, muestra que el patrón y sus combinaciones de injertos no presentaron diferencias estadísticas ( $p$  valor 0,5810).



**Figura 35.** Promedio de peso seco de hojas (g) y disminución porcentual en la condición de plántulas con déficit hídrico con respecto a plántulas sin déficit hídrico del patrón IMC-67 en combinación con seis injertos de cacao. Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada tratamiento hídrico significan diferencias significativas según test de *Tukey* ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).

El patrón POUND-12 y sus combinaciones de injertos para el peso seco de hojas bajo condiciones de déficit hídrico presentaron diferencias estadísticas altamente significativas ( $p$  valor 0,0052), siendo el patrón con mayor producción de peso seco de hoja con 29 g. El porcentaje de pérdida de peso de hoja entre los tratamientos se observó entre el patrón POUND-12 con el injerto EET-576 presentaron el mayor porcentaje de pérdida con el 43%, mientras que el POUND-12 con el injerto CCN-51 presentó menor porcentaje de pérdida con el 22% (Figura 36).



**Figura 36.** Promedio de peso seco de hojas (g) y disminución porcentual en la condición de plántulas con déficit hídrico con respecto a plántulas sin déficit hídrico del patrón POUND-12 en combinación con seis injertos de cacao. Líneas en las barras corresponden al error estándar de la media. Letras diferentes para cada tratamiento hídrico significan diferencias significativas según test de *Tukey* ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ).

Dentro de este estudio se determinó que el déficit hídrico influyó significativamente en la producción de la biomasa, reduciendo el peso seco en hojas, tallo y raíces en las planta de las combinaciones patrón injerto. En el cacao joven, se han informado reducciones en el área foliar, peso seco de hojas, raíces y circunferencia del tallo en respuesta al déficit de agua (Lahive et al., 2018; Alban et al., 2015).

Dentro de este estudio se determinó que el déficit hídrico influyó significativamente en la producción de la biomasa, reduciendo el peso seco en hojas, tallo y raíces en las planta de las combinaciones patrón injerto. Según (Lahive et al., 2018; Alban et al., 2015). En el cacao joven, se ha informado reducciones en el área foliar, peso seco de hojas, raíces y circunferencia del tallo en respuesta al déficit de agua.

Los resultados de la fase 2 (Campo) se presentarán en el informe técnico del año 2022.

## Conclusiones

1. Las plántulas de las combinaciones EET-575, 576 y EETP-800 con los patrones evaluados que fueron sometidas a déficit hídrico durante 14 días presentaron un efecto directo de la disminución del potencial hídrico, presentando valores más negativos en horas de la mañana y en horas del mediodía en relación a las plántulas no sometidas a déficit hídrico. Este efecto se acentuó a los 20 días presentando potenciales hídricos más negativos en comparación con las plántulas en condiciones de riego normal.
2. La disminución del potencial hídrico conllevó a cierres estomáticos en todas las combinaciones presentándose diferencias entre ellas. En general las combinaciones con el patrón EET-400 mostraron los *gs* más altos y potenciales hídricos más positivos a los 14 días sin riego. Mantener plántulas a 20 días sin riego conllevó a potenciales hídricos más negativos y a *gs* muy bajos lo que llevó a reducciones en las tasas de asimilación de CO<sub>2</sub>

3. La eficiencia cuántica del fotosistema II y la tasa de transporte de electrones también disminuyeron en condiciones de déficit hídrico lo que implica una disminución de la eficiencia fotoquímica de las combinaciones.
4. La reducción del crecimiento del diámetro tallo en plantas de cacao, bajo condiciones de déficit hídrico, es el resultado de una disminución de la asimilación neta de CO<sub>2</sub> (AN) afectada por una menor entrada de CO<sub>2</sub> a la cavidad sub-estomática debido a una disminución de la conductancia estomática
5. Dentro de este estudio se determinó que el déficit hídrico influyó significativamente en la producción de la biomasa, reduciendo el peso seco en hojas, tallo y raíces en las planta de las combinaciones patrón injerto.

### Recomendaciones

1. Continuar con el proceso de investigación del presente estudio, complementando de esta manera con las diferentes variables a estudiar, evaluar el efecto patrón injerto en el potencial productivo y fitosanitario.
2. Sugerir la utilización de las combinaciones patrón ET-400 en combinación con los injertos EET-575, EET-576 y EETP-800 ya que muestran estar relativamente menos afectados y expresan la mejor condición hídrica bajo condiciones de déficit hídrico y a su vez controlan el flujo hídrico en el continuo suelo-planta-atmósfera.
3. Recomendar las combinaciones de injertos los clones EET-575 y EETP-800 ya que mostraron menor porcentaje de disminución en diámetro del tallo, menor tasa de pérdida de biomasa y menor porcentaje de disminución de volumen de raíces presentando tolerancia al déficit hídrico.
4. Evaluar en campo donde las combinaciones patrón injerto de cacao se enfrenten a los cambios que se ven afectadas las plantaciones y se pueda apreciar todos los cambios que puede presentar al ser sometida a climas adversos.
5. Ampliar las combinaciones de patrón-injerto de cacao para evaluar el efecto fisiológico y morfológico al déficit de hídrico en etapa de vivero, utilizando esta línea de investigación para identificar más combinaciones patrón-injerto de cacao tolerante la sequía que pueden usarse como material de siembra en los sistemas de producción agrícola con déficit hídrico.

### Referencias

Acevedo-Opazo, C., Ortega-Farias, S., & Fuentes, S. (2010). Effects of grapevine (*Vitis vinifera* L.) water status on water consumption, vegetative growth and grape quality: An irrigation scheduling application to achieve regulated deficit irrigation. *Agricultural Water Management*, 97(7), 956–964. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2010.01.025>

Alban M'bo Kacou Antoine, E., Apshara, S., Hebbar, K. B., & Tahi, G. M. (2015). *Morpho-physiological criteria for assessment of two month old cocoa genotypes for drought tolerance*.

Anim-Kwapong, G. J., y Frimpong, E. B. (2004). vulnerability and adaptation assessment under the

Netherlands climate change studies assistance programme phase 2 (NCCSAP 2). *Cocoa Research Institute of Ghana*, 2, 1–30.

Ávila-Lovera, E., Coronel, I., Jaimez, R., Urich, R., Pereyra, G., Araque, O., Chacón, I., & Tezara, W. (2016). Ecophysiological traits of adult trees of criollo cocoa cultivars (*Theobroma cacao* L.) From a germplasm bank in Venezuela. *Experimental Agriculture*, 52(1), 137–153. <https://doi.org/10.1017/S0014479714000593>

Balasimha, D., Daniel, E. V., & Bhat, P. G. (1991). Influence of environmental factors on photosynthesis in cocoa trees. *Agricultural and Forest Meteorology*, 55(1–2), 15–21.

Baligar, V. C., Bunce, J. A., Machado, R. C. R., & Elson, M. K. (2008). Photosynthetic photon flux density, carbon dioxide concentration, and vapor pressure deficit effects on photosynthesis in cacao seedlings. *Photosynthetica*, 46(2), 216–221. <https://doi.org/10.1007/s11099-008-0035-7>

Chaves, M. M., Costa, J. M., Zarrouk, O., Pinheiro, C., Lopes, C. M., & Pereira, J. S. (2016). Controlling stomatal aperture in semi-arid regions—The dilemma of saving water or being cool? *Plant Science*, 251, 54–64. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.06.015>

De Almeida, A. A. F., Gomes, F. P., Araujo, R. P., Santos, R. C., & Valle, R. R. (2014). Leaf gas exchange in species of the *Theobroma* genus. *Photosynthetica*, 52(1), 16–21. <https://doi.org/10.1007/s11099-013-0048-8>

Chaves, M. M., Zarrouk, O., Francisco, R., Costa, J. M., Santos, T., Regalado, A. P., Rodrigues, M. L., & Lopes, C. M. (2010). Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data. *Annals of Botany*, 105(5), 661–676.

Daymond, A. J., & Hadley, P. (2004). The effects of temperature and light integral on early vegetative growth and chlorophyll fluorescence of four contrasting genotypes of cacao (*Theobroma cacao* L.). *Annals of Applied Biology*, 145(3), 257–262.

De Almeida, Jenny, Tezara, W., & Herrera, A. (2016). Physiological responses to drought and experimental water deficit and waterlogging of four clones of cacao (*Theobroma cacao* L.) selected for cultivation in Venezuela. *Agricultural Water Management*, 171, 80–88.

Deng, X., Joly, R. J., & Hahn, D. T. (1990). The influence of plant water deficit on distribution of 14C-labelled assimilates in cacao seedlings. *Annals of Botany*, 66(2), 211–217.

Donat, M. G., Durre, I., Peterson, T. C., Caesar, J., Aguilar, E., Zhang, X., ... Hewitson, B. (2013). Updated analyses of temperature and precipitation extreme indices since the beginning of the twentieth century: The HadEX2 dataset. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 118(5), 2098–2118. <https://doi.org/10.1002/jgrd.50150>

Eichelmann, H., Oja, V., Rasulov, B., Padu, E., Bichele, I., Pettai, H., Niinemets, Ü., & Laisk, A. (2004). Development of leaf photosynthetic parameters in *Betula pendula* Roth leaves: correlations with photosystem I density. *Plant Biology*, 6(3), 307–318.

Escalante, E. E. (2017). El rol de la biodiversidad vegetal como elemento de resiliencia, mitigación y

adaptación al cambio climático en sistemas agroforestales con predominio del componente leñoso nativo. Taller Teórico Práctico: Bases Agronómicas, Fisiológicas y Tecnológicas Del Café y Cacao.

Falconi, C. (2009). Estudio de vulnerabilidad actual a los riesgos climáticos en el sector de los recursos hídricos en las cuencas de los ríos, Paute, Jubones, Catamayo, Chone, Portoviejo y Babahoyo. *Quito: Ministerio Del Ambiente*.

FAO. (2017). Seminario internacional sobre pronosticar, planificar, preparar: cómo evitar que la sequía se convierta en hambruna.

Flexas, J. (2014). Variability of water use efficiency in grapevines. *Environmental and Experimental Botany*, 103, 148–157. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.09.003>

Flexas, J., Barón, M., Bota, J., Ducruet, J.-M., Gallé, A., Galmés, J., Jiménez, M., Pou, A., Ribas-Carbó, M., & Sajnani, C. (2009). Photosynthesis limitations during water stress acclimation and recovery in the drought-adapted *Vitis* hybrid Richter-110 (*V. berlandieri* × *V. rupestris*). *Journal of Experimental Botany*, 60(8), 2361–2377.

Galmés, J., Conesa, M. À., Ochogavía, J. M., Perdomo, J. A., Francis, D. M., Ribas-carbó, M., Savé, R., Flexas, J., Medrano, H., & Cifre, J. (2011). *Physiological and morphological adaptations in relation to water use efficiency in Mediterranean accessions of Solanum lycopersicum*. 245–260. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02239.x>

Gao, H.-J., Yang, H.-Q., & Wang, J.-X. (2009). Arginine metabolism in roots and leaves of apple (*Malus domestica* Borkh.): the tissue-specific formation of both nitric oxide and polyamines. *Scientia Horticulturae*, 119(2), 147–152.

Jiménez, M. D., Pardos, M., Aranda, I., Puértolas, J., & Pardos, J. A. (2005). Variación en la actividad del fotosistema ii de plantas de alcornoque (*Quercus suber* L.) sometidas a estrés hídrico moderado y bajo distintos niveles de radiación. *IV Congreso Forestal Español*, 3–8.

Hidalgo, M. del M. (2013). La influencia de cambio climático en la seguridad alimentaria. *Cuadernos de Estrategia*, ISSN 1697-6924, N°. 161, 2013 (Ejemplar Dedicado a: Seguridad Alimentaria y Seguridad Global), Págs. 67-89, (161), 67–89. Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4184082>

ICCO. 2015. Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics, Vol. XXXIX, No. 2, Cocoa year 2014/15. <http://www.icco.org>

Jdey, A., Slama, I., Rouached, A., & Abdelly, C. (2014). Growth, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, osmolyte accumulation and lipid membrane peroxidation of two provenances of *Cakile maritima* during water deficit stress and subsequent recovery. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 209(1), 54–62.

Lahive, F., Hadley, P., & Daymond, A. J. (2018). The impact of elevated CO<sub>2</sub> and water deficit stress on growth and photosynthesis of juvenile cacao (*Theobroma cacao* L.). *Photosynthetica*, 56(3), 911–920.

Leon Villamar, F., Calderon Salazar, J., & Mayorga Quinteros, E. (2018). Estrategias para el cultivo, comercialización y exportación del cacao fino de aroma en Ecuador / Strategies for cultivation,

marketing and export of aroma fine cocoa in Ecuador. *Ciencia Unemi*, 9(18), 45.  
<https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol9iss18.2016pp45-55p>

Li, C., Yan, J. M., Li, Y. Z., Zhang, Z. C., Wang, Q. L., & Liang, Y. (2013). Silencing the SpMPK1, SpMPK2, and SpMPK3 genes in tomato reduces abscisic acid-mediated drought tolerance. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(11), 21983–21996. <https://doi.org/10.3390/ijms141121983>

Loor, R., Casanova, T. & Plaza, L. (2016). Mejoramiento y homologación de los procesos de investigación, validación y producción de servicios en cacao y café. Eds. Publicación Miscelánea No. 433, 1ª ed. INIAP (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias), EET-Pichilingue, Mocache, Ecuador. 103 p. ISBN: 978-9942-22-103-2

Loor-Solórzano, R. G., Amores-Puyutaxi, F. M., Vasco-Medina, S. A., Quiroz-Vera, J. G., Casanova-Mendoza, T. de J., Garzón-Catota, A. I., Sotomayor-Cantos, I. A., Jiménez-Barragán, J. C., Tarqui-Freire, O. M., & Rodríguez-Zamora, G. A. (2019). INIAP-EETP-800 'Aroma Pichilingue', nueva variedad ecuatoriana de cacao fino de alto rendimiento. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 42(2), 187–189.

Lozano, J. G., & Fonseca, L. P. M. (2016). Respuestas fisiológicas de *Theobroma cacao* L. En etapa de vivero a la disponibilidad de agua en el suelo. *Acta Agronomica*, 65(1), 44–50.  
<https://doi.org/10.15446/acag.v65n1.48161>

Joly, R. J., Hahn, D. T., & Lafayette, W. (1989). Net CO<sub>2</sub> assimilation of cacao seedlings during periods of plant water deficit.

Magrin, G., & Canziani, C. O. (2007). Evaluación de la vulnerabilidad e impactos del cambio climático y potencial de la vulnerabilidad en América Latina y el Caribe. *Scientia Horticulturae*.  
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.08.002>.

Maxwell, K., & Johnson, G. N. (2000). Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51(345), 659–668.

Medrano, Hipólito, Bota, J., Cifre, J., Flexas, J., Ribas-Carbó, M., & Gulías, J. (2007). Eficiencia en el uso del agua por las plantas. *Investigaciones Geográficas (Esp)*, 43, 63–84.  
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=17604304>

Munns, R., y Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 651–681.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>

Muñoz, W. A. (2016). Texto básico para profesional en ingeniería forestal. En el área de fisiología vegetal.

Orchard, J. E. (1985). Effect of the dry season on the water status of *Theobroma cacao* in Ecuador. *Proceedings, Lome, Togo, 12-18 Feb/Fev 1984/9 International Cocoa Research Conference= Actes, Lome, Togo, 12-18 Feb/Fev 1984/9 Conference Internationale Sur La Recherche Cocaoyere*.

Pautasso, M., Döring, T. F., Garbelotto, M., Pellis, L., & Jeger, M. J. (2012). Impacts of climate change on plant diseases—opinions and trends. *European Journal of Plant Pathology*, 133(1), 295–313.  
<https://doi.org/DOI 10.1007/s10658-012-9936-1>

Ploetz, R. (2016). The impact of diseases on cacao production: a global overview. *Cacao Diseases*, 33–59.

Powles, S. B. (1984). Photoinhibition of Photosynthesis Induced by Visible Light. *Annual Review of Plant Physiology*, 35(1), 15–44. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.35.060184.000311>

Reyes, F. (2016). *Efecto de distintos niveles de déficit hídrico sobre la fotoinhibición y fotosíntesis en Vitis vinifera L. CV. Carménere*. 372941.

Rojas, F., y Sacristán, E. (2013). Guía ambiental para el cultivo del cacao. (2a ed.). Federación Nacional de Cacaoteros (Fedecacao). Bucaramanga, Colombia.

Sade, N., Gebretsadik, M., Seligmann, R., & Schwartz, A. (2010). *The Role of Tobacco Aquaporin1 in Improving Water Use Efficiency, Hydraulic Conductivity, and Yield Production*. 152(January), 245–254. <https://doi.org/10.1104/pp.109.145854>

Setyawan, B., Puspitasari, N., Susilo, A. W., & Sari, I. A. (2019). Rootstock Characteristics of Three Combinations of Theobroma cacao L. Crosses on Different Water Availability. *Pelita Perkebunan (a Coffee and Cocoa Research Journal)*, 34(3), 137–145.

Tomás, M., Medrano, H., Escalona, J. M., Martorell, S., Pou, A., Ribas-Carbó, M., & Unaicho Ninasunta, M. (2014). Evaluación de prendimiento de injerto del cacao trinitario (*Theobroma cacao* L.) utilizando la influencia lunar en el cantón Pujili año 2012-2013. LA MANÁ/UTC/2014.

Van Leeuwen, C., Tregoat, O., Choné, X., Bois, B., Pernet, D., & Gaudillère, J. P. (2009). Vine water status is a key factor in grape ripening and vintage quality for red bordeaux wine. How can it be assessed for vineyard management purposes? *Journal International Des Sciences de La Vigne et Du Vin*, 43(3), 121–134. <https://doi.org/10.20870/oenone.2009.43.3.798>

Wilhite, D. A. (2006). Drought monitoring and early warning: Concepts, progress and future challenges. *World Meteorological Organization, Geneva, Switzerland*. WMO, (1006).

**Actividad 4:** Comportamiento agronómico y productivo de selecciones avanzadas de café robustas (*Coffea canephora* P.) en la EEP.

**Caracterización agro-morfológica y organoléptica de 20 accesiones de café (*Coffea canephora* P.) bajo las condiciones del valle del río Portoviejo en la Estación Experimental Portoviejo.**

**Responsable:** Ing. Geover Peña

**Colaboradores:** Dr. Gastón Loor, Ing. Luis Plaza

#### Antecedentes

El árbol de cafeto (*Coffea* sp) tiene su origen en Etiopía en el nor-oeste de África. Por su importancia comercial en el mundo sobresalen dos grandes especies como: arábigos y robustas, Ha sido desde siempre una de las bebidas más placenteras y apreciadas en el mundo, se ha convertido en un estilo de vida, se estima que cerca de 2 500 millones de tazas de café son consumidas al día y otorga empleo

a más de 25 millones de personas en el mundo. (David y Nini, 2014) pero existe una tendencia de aumento al consumo de café finos de alta calidad (Bertrand et al., 1999), que depende mucho del genotipo.

A nivel mundial los cafetos son afectados por factores bióticos como estrés a sequía y salinidad de suelos que afectan el desarrollo de las plantas y abióticos que reducen la producción del café como las plagas *Hypothenemus hampei*, *Xylosandrus morigerus*, *Leucoptera coffella*, *Coccus viridis* y enfermedades como *Hemileia vastatrix*, *Mycena citricolor*, *Cercospora coffeicola*, *Pellicularia koleroga* y *Colletotrichum coffeanum*.

Como resultado de investigaciones iniciadas en años anteriores tanto en la Estación Experimental Tropical Pichilingue (EETP) como en la Estación Central Amazónica (ECA), ambas enfocadas en desarrollar nuevas opciones comerciales que ayuden a mejorar los bajos niveles de productividad de la mayoría de cafetales ecuatorianos (5-6 qq/ha), se ha logrado identificar y seleccionar nuevos genotipos de *C. canephora* (robusta) que reúnen buenas características productivas a nivel de campo, los cuales son validados en diferentes localidades del país entre ellas: Portoviejo, Amazonía y Santo Domingo. En esta línea, el INIAP ha desarrollado un plan estratégico de mejoramiento genético y validación que está orientado a la adaptabilidad a los diversos ecosistemas del Ecuador.

Para aprovechar esta variabilidad fenotípica, que es la expresión de la variación genotípica, el INIAP identificó y colectó, en el norte de la Amazonía ecuatoriana, individuos con atributos de interés con los cuales se ha enriquecido, durante la última década, el banco de germoplasma. (Plaza et al., 2015).

En dicha variabilidad se requiere identificar materiales élites con características deseables que son utilizados para el fitomejoramiento o para la producción agrícola, por consiguiente, la caracterización agro-morfológica, y la evaluación organoléptica es un procedimiento que nos permite medir y conocer esta variabilidad, diferenciar taxonómicamente a las plantas, y seleccionar los descriptores morfológicos, organolépticos y agronómicos más adecuados, confiables y discriminantes para evaluar las plantas (Hernández, 2013).

Rodd-Portillo (2019, citado en Peña 2003) indica que el estudio de las colecciones de germoplasma a través de la caracterización es un proceso fundamental dentro del manejo de las colecciones ya que permite conocer, depurar u organizar los materiales, e identificar genotipos valiosos para ser usados directamente en los programas de mejoramiento genético. Por consiguiente, un buen sistema de conservación y de caracterización en los programas de recursos fitogenéticos es vital para generar información de cada entrada en relación a caracteres cualitativos y cuantitativos de importancia económica actual o futura.

## Objetivos

### General.

Caracterizar evaluar morfoagronómicamente 20 variedades de café robusta (*Coffea canephora* P.), bajo las condiciones del valle del río Portoviejo en la Estación Experimental Portoviejo.

### Específicos.

1. Determinar caracteres cuantitativos que permitan establecer la diversidad de 20 variedades de café robusta caracterizadas y evaluadas morfoagronómicamente.

2. Determinar los caracteres cualitativos y cuantitativos morfoagronómicos más discriminantes en 20 accesiones en estudio.
3. Seleccionar variedades promisorias con interés comercial y/o para mejoramiento genético en café Robusta.

## Metodología

### Ubicación

El presente trabajo se realizó en el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias INIAP, Estación Experimental Portoviejo, lote Teodomira, localizado en la parroquia Lodana del cantón Santa Ana, provincia de Manabí, presenta un bosque seco tropical de topografía plana, suelo franco arcilloso, con temperaturas promedios de 26,4°C, precipitaciones medias de 851,57mm y una humedad relativa de 81%, ubicada geográficamente a: 01°10'24" de latitud sur y 80°23'24" de longitud oeste, a 47 msnm<sup>1</sup>.

### Características del sitio experimental

#### Características edafo-climáticas

Las características edafo-climáticas donde se desarrolló la investigación se detallan en la tabla 12.

**Tabla 12.** Características Climáticas y Edafológicas del sitio donde se realizó el Experimento.

Zona climática	Seco-cálido
Temperatura promedio	26.5
Precipitación media anual	700mm
Humedad relativa promedio	78
Topografía	Plana
Tipo de suelo	Franco arcilloso

### Material genético

El material genético en estudio son las 20 accesiones de café Robusta, mismas que se conservan en los predios de la Teodomira, tabla 13.

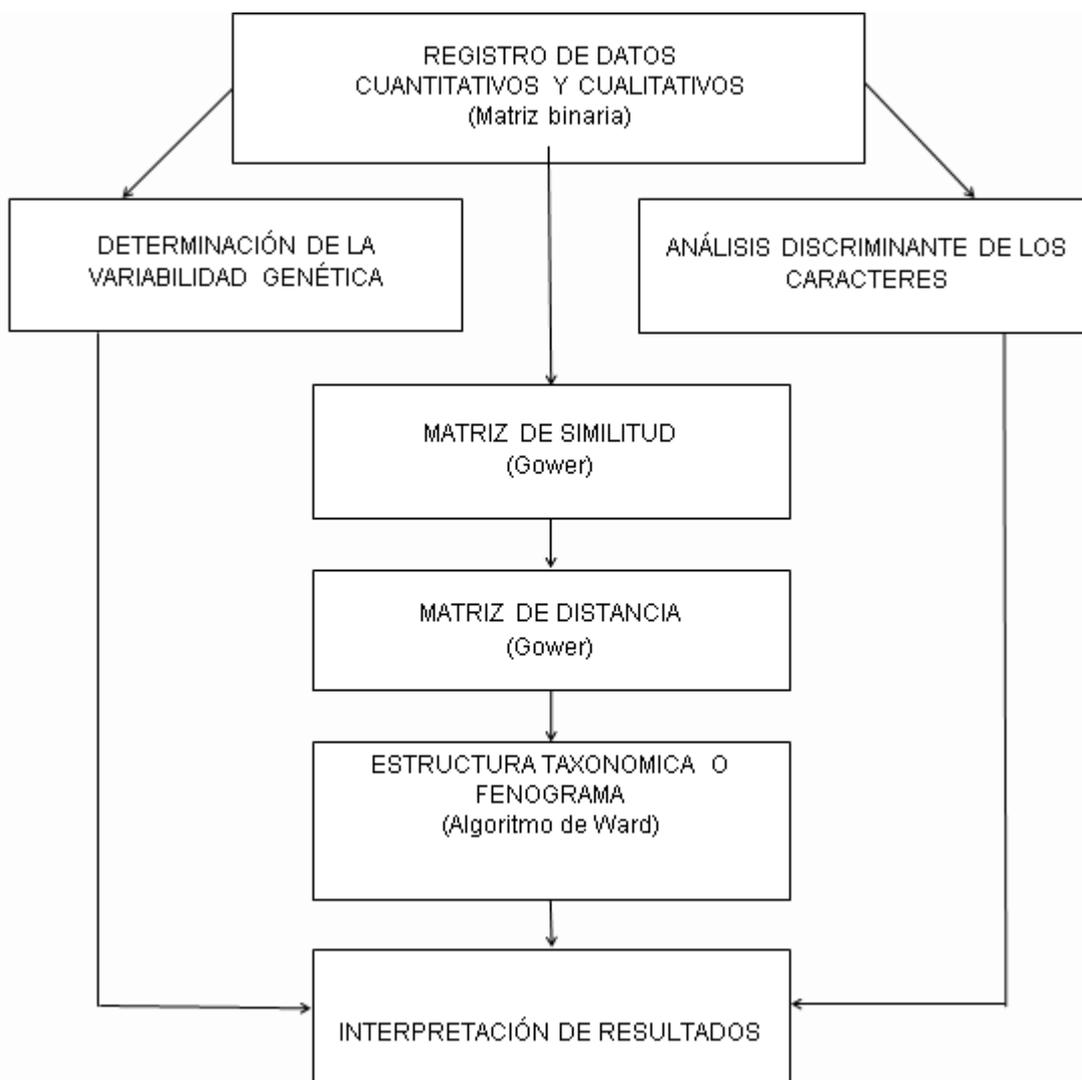
<sup>1</sup> Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI). Anuarios meteorológicos, promedio 2011-2020. Estación Lodana-Santa Ana

**Tabla 13.** Accesiones que forman parte de la colección de clones de café robusta del INIAP-EEP, 2021.

Tratamientos	Genotipo	Nº de plantas
T-1	COF-001 Árbol 2	10
T-2	COF-003 Árbol 2	10
T-3	COF-003 Árbol 7	10
T-4	COF-003 Árbol 15	10
T-5	COF-004 Árbol 7	10
T-6	COF-005 Árbol 16	10
T-7	NP-3018 Árbol 19	10
T-8	NP-2024 Árbol 10	10
T-9	NP-4024 Árbol 4	10
10	LB-A10	10
T-11	LI-A13	10
T-12	LB-A11	10
T-13	LE-A1	10
T-14	LB-A10	10
T-15	LT-A2	10
T-16	LF-A7	10
T-17	LE-A7	10
T-18	LQ-A3	10
T-19	-----	10
T-20	-----	10

### Análisis estadístico

En el flujograma de la figura 37, se observa el esquema de los análisis estadísticos que se están realizando en la caracterización morfo agronómica y organoléptica de 20 accesiones de café robusta.



**Figura 37.** Flujograma de los análisis estadísticos de los datos morfo agronómicos y organolépticos de las 20 variedades de la colección de café robusta.

### Variabilidad genética de 20 accesiones de café robusta

Con el objetivo de obtener estimaciones de variabilidad genética entre las 20 variedades de café Robusta se utilizaron 26 descriptores cuantitativos y se determinó en base a los valores de porcentaje de coeficiente de variación (CV%); Media; Valor mínimo y máximo y Rango.

### Matriz de similitud, distancia y estructura taxonómica

La similitud entre dos entidades es su función de sus similitudes individuales en cada uno de los caracteres para los cuales se compararon. Utilizando el paquete software estadístico *Infostat V. 2019* y la distancia Gower (1967) se estimó la similitud taxonómica entre cada par de accesiones para caracteres cuantitativos, mientras que para los caracteres cualitativos se utilizó el siguiente coeficiente de asociación:

$$ij = \sum s_{ij} / n$$

**Donde:**

Sij= coeficiente de asociación entre las entradas i y j

N= número de caracteres cualitativos

Luego se transformó en una matriz de distancia (D1), mediante el complejo Sij:

$$D1(i,j) = (1-Sij)$$

Además se calculó una matriz de distancia Euclidiana al cuadrado:

$$D2(i,j) = \sum (X_{ki}-X_{kj})^2/n$$

**Donde:**

Xki = registro estandarizando del carácter k en la entrada i

Xkj = registro estandarizando del carácter k en la entrada j

Dando la matriz final:

$$D = (n1D1 + n2D2) / (n1+n2)$$

La estructura taxonómica de las entradas representadas por un fenograma, fue analizada por medio del agrupamiento jerárquico de (Ward, 1963) que hace posible encontrar en cada estado aquellos grupos cuya unión produzca el mínimo incremento en la suma total de cuadros del error, dentro de grupos.

La elección del número de grupos de entradas se hizo con el criterio frecuentemente utilizado trazando la línea de referencia a una distancia igual al 50% de la distancia máxima (Balzarini, 2018), utilizando el procedimiento CLUSTER del software estadístico *Infostat*.

### **Determinación del valor discriminante de los caracteres entre grupos**

Mediante este análisis se reconoció dentro del grupo de los caracteres utilizados, aquellos que tuvieron el mayor valor discriminante y que por lo tanto permitieron una eficiente identificación de la relación entre las accesiones o clones de café robusta en estudio para un determinado carácter y para un grupo de caracteres.

### **Caracteres cuantitativos**

El valor discriminante de un descriptor cuantitativo consistió en el número de diferencias significativas detectadas por la prueba de Duncan, expresadas como una fracción de números total de posibles comparaciones dentro de las 20 variedades de café robusta. Este valor discriminante se determinó a través del índice "D" de Engels (1983) utilizando las medidas de los grupos en las comparaciones múltiples de Duncan.

### **Caracteres cualitativos**

El valor discriminante para estos caracteres se basa en el número de partes de taxa que un cierto descriptor puede separar y en la cantidad de información que este descriptor comparte con otros del mismo estudio (Engels 1983).

El valor discriminante para separar grupos se estimó a bases del análisis de frecuencia y las estadísticas de Cramer (Kendall y Stuart, 1979), coeficiente de contingencia (P) (Fienberg, 1977) y Chi cuadrado ( $\chi^2$ ) (Cochran 1954).

#### **Variables a evaluar: Descriptores en estudio y métodos de evaluación**

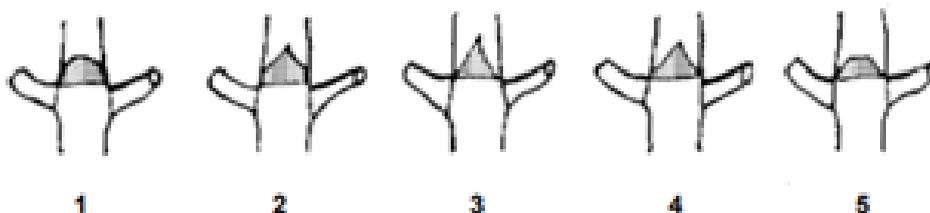
##### **Caracterización morfológica.**

**Altura de planta en cm (AP cm).**

**Forma de la estípula (FE).**

Variable a registrarse en el tallo principal (figura 38) de acuerdo a la siguiente escala:

- 1 = Redonda;
- 2 = Oval;
- 3 = Triangular;
- 4 = Deltoide (equilátero triangular);
- 5 = Trapeciforme;
- 6 Otra (especificar en descriptor).



**Figura 38.** Forma de la estípula

**Longitud de la arista de la estípula en mm (LAE mm).**

Promedio de 10 aristas de la estípula bien desarrolladas

**Longitud de la estípula en mm**

Promedio de 10 estípula bien desarrolladas

**Color de la hoja joven (CHJ).**

- 1 = Verdusca;
- 2 = Verde;
- 3 = Amarronada;
- 4 = Marrón rojiza;
- 5 = Bronce;
- 6 = Otro (especificar en descriptor).

### Forma de la hoja (FH).

Se realizó según metodología del IPGRI 1996 (figura 39), donde:

- 1 = abovada,
- 2 = ovada,
- 3 = elíptica y
- 4 = lanceolada

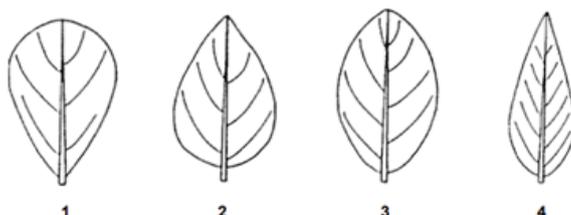


Figura 39. Forma de la hoja.

### Forma del ápice de la hoja (FAH).

Según metodología IPGRI 1996 (figura 40), donde:

- 1 = redonda,
- 2 = obtusa,
- 3 = aguda,
- 4 = puntiaguda,
- 5 = apiculada y
- 6 = espatulada

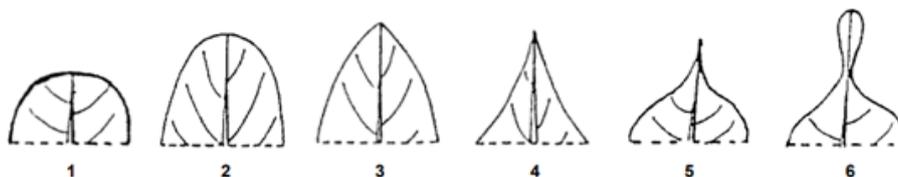


Figura 40. Forma del ápice de la hoja.

### Longitud de la hoja en cm. (LH cm).

Promedio de 10 hojas maduras (> al 3 nudo de la yema terminal), este descriptor se registró con el uso de un calibrador Vernier y se midió desde el peciolo hasta el ápice de la hoja.

### Ancho de la hoja en cm (AH cm).

Promedio de 10 hojas maduras (> al 3 nudo de la yema terminal), este descriptor se registró con el uso de un calibrador Vernier y se midió en la parte más ancha de la hoja.

### Longitud del peciolo foliar en cm (LPF cm).

Promedio de 10 hojas maduras (> al 3 nudo de la yema terminal), este descriptor se registró con el uso de un calibrador Vernier y se midió desde la base del peciolo hasta la inserción con la lámina foliar.

**Número de flores por axila (NFA).**

Esta variable se tomó al azar diez nudos en diferentes ramas, en los cuales se contó el número de flores por fascículo en ambas axilas del nudo, luego se promedió.

**Número de flores por fascículo (NFF).**

En los mismos nudos se contabilizó el número de flores por fascículo, luego se estimó el promedio de flores por fascículo para cada nudo.

**Número de fascículo por nudo (NFN).**

Para esta variable se contabilizó el número de fascículos para ambos lados de los 10 nudos seleccionadas para los dos descriptores anteriores, luego se estimó el promedio

**Longitud del tallo de la inflorescencia en mm (LTI mm).**

Se tomaron cinco inflorescencias en cinco diferentes nudos que presenten la mayoría de flores abiertas. Se midió la longitud del tallo de la inflorescencia en milímetros desde la base hasta la inserción de la primera flor. Se registró el promedio.

**Longitud del tubo de la corola en mm (LTC mm).**

Promedio de 10 flores, seleccionadas al azar de diferentes nudos

**Número de pétalos por flor (NPF).**

Promedio de 10 flores, seleccionadas al azar de diferentes nudos

**Número de estambres por flor (NEF).**

Promedio de 10 flores, seleccionadas al azar de diferentes nudos

**Color del fruto (CF).**

Se registró de forma visual según escala:

- 1 = amarillo;
- 2 = amarillo naranja;
- 3 = naranja;
- 4 = naranja rojizo;
- 5 = rojo;
- 6 = rojo púrpura

**Forma del fruto (FF).**

La variable se registró de forma visual (figura 41):

- 1 = redondeada;
- 2 = obovada;
- 3 = oval;

- 4 = elíptica;
- 5 = oblonga;
- 6 = otra (especificar en descriptor)



**Figura 41.** Forma del fruto.

**Longitud del fruto en mm (LF mm).**

Promedio de 10 frutos maduros normales, medido en la parte más larga del fruto con la ayuda del calibrador Vernier.

**Ancho del fruto en mm (AF mm).**

Promedio de 10 frutos maduros normales, medido en la parte más ancha del fruto con la ayuda del calibrador Vernier.

**Grosor del fruto en mm (GF mm).**

Promedio de 10 frutos maduros normales, medido en la parte más a lo largo del tabique que separa los dos cotiledones del fruto y se registró con la ayuda del calibrador Vernier.

**Desprendimiento del fruto al momento de la cosecha (DFMC).**

Se registró en base a la siguiente escala:

- 1 = Fácil;
- 2 = Medio y
- 3 = Difícil

**Espesor de la pulpa (EP).**

Según escala:

- 1 = Fina;
- 2 = Intermedia y
- 3 = Gruesa

**Longitud de la semilla en mm (LS mm).**

Promedio de 10 semillas normales, medido en la parte más larga de la semilla con la ayuda del calibrador Vernier.

**Ancho de la semilla en mm (AS mm).**

Promedio de 10 semillas normales, medido en la parte más ancha de la semilla con la ayuda del calibrador Vernier.

**Grosor de la semilla (mm).**

Promedio de 10 semillas normales, medido en la parte más gruesa de la semilla con la ayuda del calibrador Vernier.

**Evaluación agronómica.**

**Altura de planta en cm (AP en cm).**

Esta variable se mide desde el nivel del suelo hasta el ápice de la planta, empleando una regleta graduada en centímetros.

**Diámetro del tallo en cm (DT cm).**

Esta variable se tomó en el tallo de los cafetos, a 5 cm sobre del nivel del suelo, empleando un calibrador tipo "Vernier" graduado en milímetros, la metodología a emplear es descrita por Berlinger et al., (2007).

**Total de ramas por árbol (TRA).**

Se contabilizó el número total de ramas presentes por planta de café robusta.

**Total de ramas productivas (TRP).**

Se registró solo las ramas que contengan granos de cada planta.

**Longitud de rama productiva en cm (LRP cm).**

Se tomó al azar dos ramas productivas del tercio medio, desde la inserción de la rama hasta el ápice, se promedió ambos datos. La evaluación se realizó con una regla graduada en centímetros.

**Número de nudos por ramas (NNR).**

La evaluación fue en las mismas ramas de la variable anterior, se contabilizó el número de nudos presentes.

**Distancia entre nudos en cm (DEN cm).**

Esta variable se la obtuvo mediante la relación entre la longitud de la rama productiva por el número de nudos de la misma rama.

**Grado de compactación (GC).**

Esta variable es la relación existente entre altura de planta y número de ramas, la cual se obtiene mediante la división de la altura de planta por el número total de ramas de cada árbol.

### Evaluación productiva.

#### Rendimiento de café cereza (RCC).

Se registró el peso de la cosecha en cada una de las plantas de cada progenie de la parcela útil. La producción se determinó en kg de cereza/planta/año, y luego se estimó el rendimiento en kilogramos por hectárea, en base a la siguiente fórmula:

$$\text{Kilogramos café cereza/h}^{-1} = \text{Kilogramos/café cereza/planta} \times 1333 \text{ plantas/ha}$$

#### Porcentaje de granos vanos (PGV).

De cada planta se tomó al azar 100 cerezas maduras, sanas y que estén bien formadas al momento de la cosecha. Luego se colocaron en un recipiente con agua, para luego contar el número de cerezas que floten, tomando esa cifra como base para estimar el porcentaje de granos vanos.

### Evaluación fitosanitaria.

El registro de las variables sanitarias se realizó según metodología para la evaluación de principales plagas de café (Cañarte, et al., 2016).

#### Infestación por *Hypothenemus hampei* Wood & Bright, 1992, broca del café (IBC).

Esta información se registró durante el periodo de cosecha. Para el efecto, se siguió el siguiente procedimiento:

- a. El inicio de las evaluaciones dependió del estado de madurez del fruto de café, pudiéndose considerar oportuno a partir de la presencia de frutos verdes (exceptuando el estrado acuoso, semilechoso y lechoso), sazones (pastosos), maduros o secos.
- b. Se escogen al azar cinco plantas de la parcela útil y en cada una se evalúa, de manera alternada, una rama del tercio medio o superior, donde se cuenta el:
  - Número de frutos sanos (NTF)
  - Número de frutos brocados (NFB)
  - Número de frutos sanos (NFS)
- c. Por consiguiente el porcentaje de infestación de la broca del café (IBC), se obtuvo aplicando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ IBC} = \frac{\text{NFB}}{\text{NTFE}} \times 100$$

#### Donde:

IBC = Porcentaje de infestación de la broca del café.

NFB = Número de frutos brocados.

NTFE = Número total de frutos evaluados.

### Infestación por *Leucoptera coffella*, minador de la hoja del café (IMHC).

En las mismas cinco plantas al azar por tratamiento y se escogió una rama del tercio medio de cada planta, registrando la presencia de hojas con evidencia de minas activas evidenciándose larvas vivas. El porcentaje de infestación se establece con la siguiente fórmula:

$$\% IMHC = \frac{NRHM}{NTRE} \times 100$$

**Donde:**

% IMHC = Porcentaje de infestación del minador de la hoja del café.

NRHM = Número de ramas con hojas minadas.

NTRE = Número total de ramas evaluadas.

### Infestación por *Coccus viridis* (Green, 1889), escama verde del café (IEVC).

En las mismas cinco plantas se seleccionó cada brote terminal, donde se evaluó la presencia de escama verde en el brote, hojas o peciolo. La fórmula es la siguiente:

$$\% IEVC = \frac{NPEV}{NTPE} \times 100$$

**Donde:**

% IEVC = Porcentaje de infestación de la escama verde del café.

NPEV = Número de plantas con presencia de escama verde del café.

NTPE = Número total de plantas evaluadas

### Daño producido por *Xylosandrus morigerus*, taladrador de la rama del café (DTRC).

En las mismas cinco plantas evaluados, se seleccionó una rama del tercio superior y en ella se registró la presencia/ausencia del taladrador. El porcentaje de daño se determinó con la siguiente fórmula:

$$\% DTRC = \frac{NRDT}{NTRE} \times 100$$

**Donde:**

% DTRC = Porcentaje de daño del taladrador de la ramilla del café.

NRDT = Números de ramas con daño del taladrador.

NTRE = Número total de ramas evaluadas.

### Incidencia de enfermedades presentes en las hojas.

Se realizaron evaluaciones mensuales en cinco plantas de cada parcela útil durante cuatro meses en época lluviosa y cuatro meses en la época seca. Las enfermedades a evaluar son:

- Roya (*Hemileia vastatrix* Berk. & Broome, 1869)
- Mancha de hierro (*Mycosphaerella coffeicola* (Cooke) J. A. Stev. & Wellman, 1944)
- Ojo de gallo (*Mycena citricolor* Berk. & M. A. Curtis)

Para estas evaluaciones se tres ramas (parte baja, media y alta), las que se codificaron para un garantizar la evaluación, se ubicó el entrenudo corto de cada rama y se contabilizaron las hojas sanas

y hojas con presencia de roya (generalmente los primeros cuatro nudos de afuera hacia dentro de la rama).

El porcentaje de incidencia se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$IEPH (\%) = \frac{\text{Número de hojas enfermas}}{\text{Número total de hojas observadas}} \times 100$$

#### Incidencia de enfermedades presentes en frutos.

- Mancha de hierro ((*Mycosphaerella coffeicola* (Cooke)) J. A. Stev. & Wellman, 1944)

Por planta se seleccionaron tres ramas (parte baja, media y alta). Se puede considerar las mismas ramas de la evaluación anterior.

Se contabilizaron de todos los frutos sanos y frutos con presencia de la enfermedad. Para determinar el porcentaje de incidencia, se aplica la siguiente ecuación:

$$IEPF (\%) = \frac{\text{número de frutos enfermos}}{\text{número total de frutos observados}} \times 100$$

#### Manejo específico del experimento y métodos de evaluación

##### Manejo agronómico del experimento

**Control de malezas:** El control de malezas se realizó de forma manual con machete y mecánico con moto guadaña (en época lluviosa y en época seca). Luego se realizaron controles químicos aplicando glifosato en dosis de 150 cc en 20 litros de agua (dos veces en época seca y cuatro veces en época lluviosa).

**Fertilización:** La fertilización se realizó al inicio y final de la época lluviosa. La aplicación fue en forma de corona en la base de la planta aproximadamente de 1 m de radio, utilizando una mezcla de 100 g de fertilizante completo (10-30-10) más 50 g de úrea y 25 g de sulfato de amonio.

La poda consistió en la eliminación periódica de aquellas partes del cafeto como ramas o brotes improductivos o con ciertos problemas fitosanitarios (después de su evaluación).

**Cosecha:** La cosecha se realizó progresivamente en los meses de fructificación, recolectando solamente las cerezas o frutos que cumplan su madurez fisiológica.

#### Resultados

##### Caracterización morfológica

##### Variabilidad genética de las 32 accesiones de cacao

La caracterización morfológica de las 20 variedades de café robusta reveló que, dentro de los 27 caracteres cuantitativos aplicados, existen cuatro de estos que determinaron variabilidad genética entre estas accesiones caracterizadas, para ello se utilizaron parámetros estadísticos como la media aritmética, porcentaje de coeficiente de variación (% CV); valor mínimo y el valor máximo, rango, error estándar, varianza, porcentaje de variabilidad relativa (%VR). En la tabla 14, se puede observar que el

coeficiente de variación de los caracteres osciló entre el 70,50% (Longitud de la Arista de la Estípula en mm) y 6,48% (Número de Estambre por Flor), siendo estos rangos permitidos para investigaciones en campo, dada la influencia que el ambiente ejerce en los caracteres cuantitativos.

Los descriptores con mayor variación y que determinaron la variabilidad genética dentro de las 20 variedades de café Robusta fueron: Longitud de la Arista de la Estípula en mm con el 70,50% de CV, seguido Longitud de rama productivas con el 61,16% de CV; mientras que los descriptores con menor variación es decir los de menor diversidad genética fueron: Número de Estambre por Flor con el 6,48% y Número de Pétalos por Flor con el 6,60, estos bajos de coeficiente de variación en estos últimos dos descriptores que tienen relación con la flor, estarían permitidos para la presente investigaciones, por la poca influencia que el ambiente ejerce en los caracteres de la flor, por consiguiente demuestran que, estos descriptores de la flor tienen mayor influencia hereditaria.

Por otro lado es importante señalar que, cuanto más bajo sea el valor del coeficiente de variación más homogéneos son los datos y por lo tanto la diversidad genética será menor dentro de estas accesiones, mientras que más altos son los valores de coeficiente de variación, mayor será la variabilidad genética y, mientras mayores sean estos niveles existentes en la colección, mayor será el margen de acción reservada a la determinación de la diversidad genética.

Peña (2003), menciona que los valores de coeficiente de variación dan una estimación de la variabilidad genética dentro de un grupo de accesiones caracterizadas, ya que mientras más altos sean los valores de coeficiente de variación, mayor es la variación genética, y entre mayor sean estos niveles existentes en una población mayor será el margen de acción reservada a la selección natural o artificial.

Soria et al. (1961), citado por Enríquez (1963), indica que al conocer la herencia de los caracteres sería de gran ayuda para el mejorador, García (1952), citado por Peña (2003), deduce que donde existan poblaciones genéticamente variables, es necesario precisar previamente los niveles de variabilidad, para fijar estadísticamente los límites de selección, para cada uno de los factores que determinan esta variabilidad.

**Tabla 14.** Estadísticos descriptivos de los 30 descriptores cuantitativos utilizados en la caracterización y evaluación morfoagronómica que determinan la variabilidad genética dentro de las 20 variedades de café Robusta.

Descriptores	Media	D.E.	E.E.	%CV	Mín	Máx	Rango	%VR
Altura de Planta en cm	333,10	58,21	13,02	17,48	154,12	429,35	275,23	3,91
Diámetro de Tallo en cm	5,88	0,52	0,12	8,86	4,82	6,91	2,09	2,04
Total de Ramas por Árbol	47,53	11,80	2,64	24,82	30,48	70,39	39,91	5,55
Total de Ramas Productivas*	9,39	5,74	1,28	61,16	3,16	28,49	25,33	13,63
Longitud de rama productivas	101,46	8,14	1,82	8,02	83,95	116,94	32,99	1,79
Total de nudos por rama	16,36	2,14	0,48	13,07	12,13	19,83	7,70	2,93
Distancia de entrenudos	6,52	0,62	0,14	9,47	5,37	7,69	2,32	2,15
Grado de Compactación	8,55	2,83	0,63	33,10	2,55	14,68	12,13	7,37
Longitud de la Arista de la Estípula en mm*	1,49	1,05	0,23	70,50	0,60	4,60	4,00	15,44
Longitud de la Estípula en mm	6,58	0,91	0,20	13,82	5,40	8,40	3,00	3,04
Largo de la Hoja en cm	23,20	2,54	0,57	10,97	18,12	27,32	9,20	2,46
Ancho de la Hoja en cm	10,39	1,09	0,24	10,48	9,10	12,54	3,44	2,31
Longitud del Pecíolo Foliar en cm	1,37	0,22	0,05	16,41	0,98	1,78	0,80	3,65
Número de flores por Axilas	16,22	2,51	0,56	15,45	12,30	21,50	9,20	3,45
Número de Flores por Fascículo	5,62	0,77	0,17	13,75	4,80	7,40	2,60	3,02
Número de Fascículo por Nudos	5,67	0,89	0,20	15,76	4,20	7,40	3,20	3,53
Longitud del Tallo de la Inflorescencia en mm	5,49	0,91	0,20	16,54	4,00	7,40	3,40	3,64
Longitud del Tubo de la Corola en mm	9,76	2,04	0,46	20,90	6,10	14,40	8,30	4,71
Número de Pétalos por Flor**	5,20	0,34	0,08	6,60	4,60	6,00	1,40	1,54
Número de Estambre por Flor**	5,23	0,34	0,08	6,48	4,80	6,00	1,20	1,53
Longitud del Estilo en mm	22,20	5,31	1,19	23,94	2,34	27,60	25,26	5,36
Ancho del Ovario en mm	1,70	0,15	0,03	9,11	1,40	2,00	0,60	1,76
Longitud del Ovario en mm	2,45	0,24	0,05	9,69	2,00	2,80	0,80	2,04
Longitud fruto en mm	14,83	1,33	0,30	8,99	13,25	18,32	5,07	2,02
Ancho fruto en mm	13,28	1,18	0,26	8,88	11,30	15,36	4,06	1,96
Grosor del Fruto en mm	11,56	0,88	0,20	7,60	10,25	13,48	3,23	1,73
Largo de la Semilla en mm	8,87	0,81	0,18	9,16	7,42	10,52	3,10	2,03
Ancho de la Semilla en mm	6,97	0,62	0,14	8,86	5,99	7,93	1,94	2,01
Grosor de la Semilla en mm	4,44	0,53	0,12	12,05	3,56	5,33	1,77	2,70

\*Mayor variación genética; \*\*Menor variación genética, D.E.= Desviación Estándar; %CV= Porcentaje de Coeficiente de Variación; Mín= Valor mínimo, Máx= Valor máximo; %VR= Porcentaje de Variabilidad Relativa.

### Análisis de agrupamiento

Mediante el algoritmo multivariado del análisis de agrupamiento jerárquico de Ward (1963), actuando sobre la matriz de distancia obtenido con el método de Gower (1967), se produjo el agrupamiento de las accesiones caracterizadas en el presente estudio, definiendo siete grupos genéticos, cuya distribución se indica en la tabla 15.

**Tabla 15.** Distribución de las 32 accesiones de cacao tipo criollo por grupos, según el análisis jerárquico de Ward.

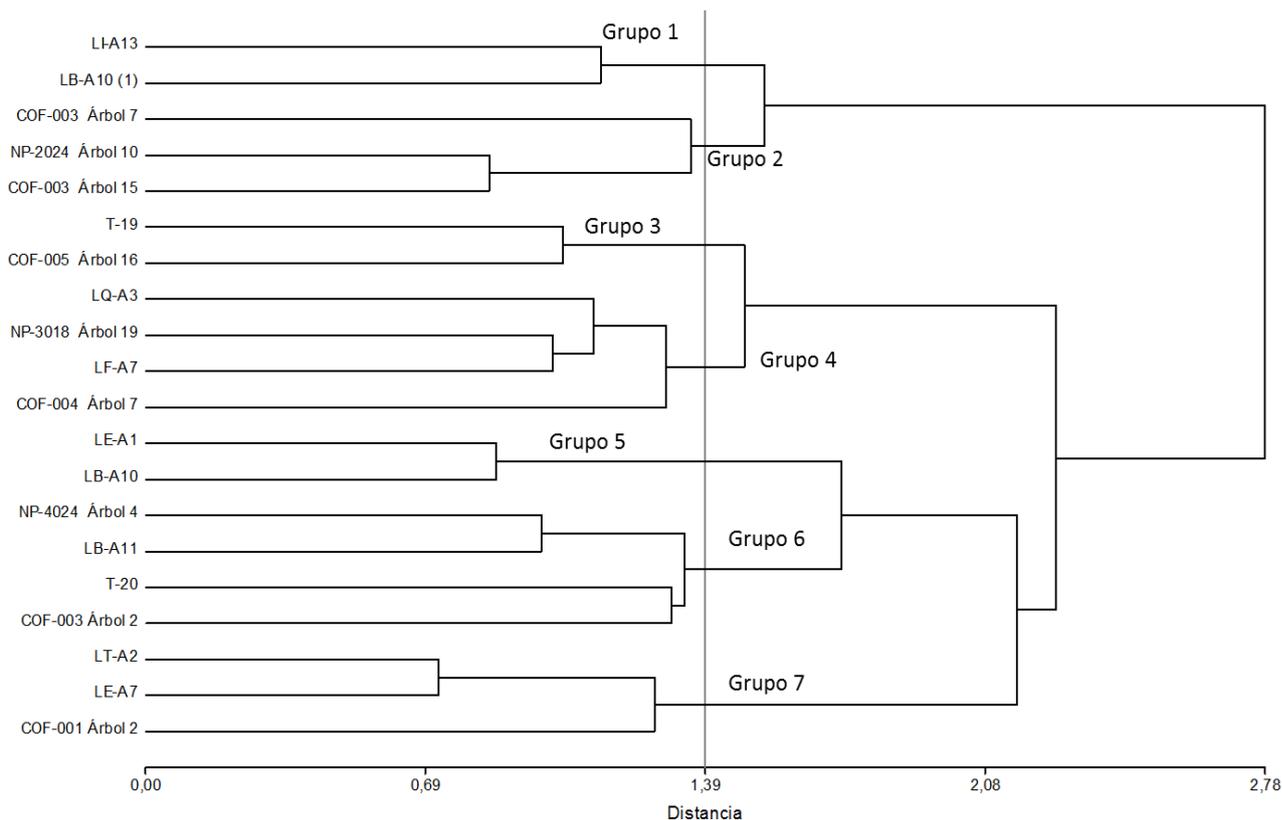
Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6	Grupo 7
LI-A13	COF-003 Árbol 7	COF-005 Árbol 16	COF-004 Árbol 7	LB-A10	COF-003 Árbol 2	COF-001 Árbol 2
LB-A10 (1)	COF-003 Árbol 15	T-19	NP-3018 Árbol 19	LE-A1	NP-4024 Árbol 4	LT-A2
	NP-2024 Árbol 10		LF-A7		LB-A11	LE-A7
			LQ-A3		T-20	

El Grupo uno está conformado por las accesiones LI-A13 y LB-A10 (1), el cual representan el 10 % de las accesiones caracterizadas y evaluadas; con el 15 % es representado el Grupo dos conformado por las accesiones COF-003 Árbol 7; COF-003 Árbol 15 y NP-2024 Árbol 10. Dentro del Grupo tres se encuentran las accesiones COF-005 Árbol 16 y T-19, el cual representa el 10%. El Grupo cuatro están conformados las variedades COF-004 Árbol 7, NP-3018 Árbol 19, LF-A7 y LQ-A3 y representan el 20%, de la variabilidad estudiada. Las accesiones LB-A10 y LE-A1 conforman el Grupo cinco y representan el 10%, el Grupo seis lo conforman las variedades COF-003 Árbol 2, NP-4024 Árbol 4, LB-A11 y T-20, este grupo representa el 20% del total de las variedades en estudio, finalmente el grupo siete conformado por tres variedades y estas son COF-001 Árbol 2, LT-A2 y LE-A7, representando 15%. En la tabla 16 se puede observar la frecuencia la frecuencia absoluta y relativa de los clones en cada grupo.

**Tabla 16.** Distribución por grupos, frecuencias y porcentajes de variabilidad de las 20 variedades de café Robusta en la EE-Portoviejo.

Grupos	Frecuencias	Porcentajes	Frecuencias acumuladas	Porcentajes acumulados
Grupo 1	2	10	2	10
Grupo 2	3	15	5	25
Grupo 3	2	10	7	35
Grupo 4	4	20	11	55
Grupo 5	2	10	13	65
Grupo 6	4	20	17	85
Grupo 7	3	15	20	100

En la Figura 42, se representa por medio de un fonograma la estructura taxonómica obtenida por la matriz de distancia con el agrupamiento jerárquico de Ward (1963), a partir de la matriz de distancia generada por el algoritmo de Gower, el mismo que muestra la relación en grado de disimilitud entre las variedades o grupo de las mismas. Esta relación determinó en cierta forma el parentesco genético entre variedades y la poca distancia genética observada entre grupos, por consiguiente la variabilidad mostrada se justifica por ser variedades.



**Figura 42.** Fenograma obtenido por el agrupamiento jerárquico de Ward de las 20 variedades de café Robusta, basado en la distancia de Gower.

### Determinación del valor discriminante de los caracteres para separar grupos

#### Caracteres cualitativos

De los seis caracteres analizados mediante la prueba de  $\chi^2$ , se detectó uno de ellos con. Estos resultados indican que este descriptor aporta mayor información para definir la diversidad y para separar grupos genéticos dentro de estas variedades. El color de la hoja joven fue el descriptor con mayor valor discriminante de  $\chi^2$  con 20,12 y con coeficientes de asociación más altos, siendo estos coeficientes de *Cramer* = 0,58 y coeficiente de contingencia = 0,71. Mayor detalle se observa en la tabla 17

**Tabla 17.** Descriptores cualitativos de mayor valor discriminante entre los siete grupos de variedades obtenidos en el agrupamiento jerárquico de Ward.

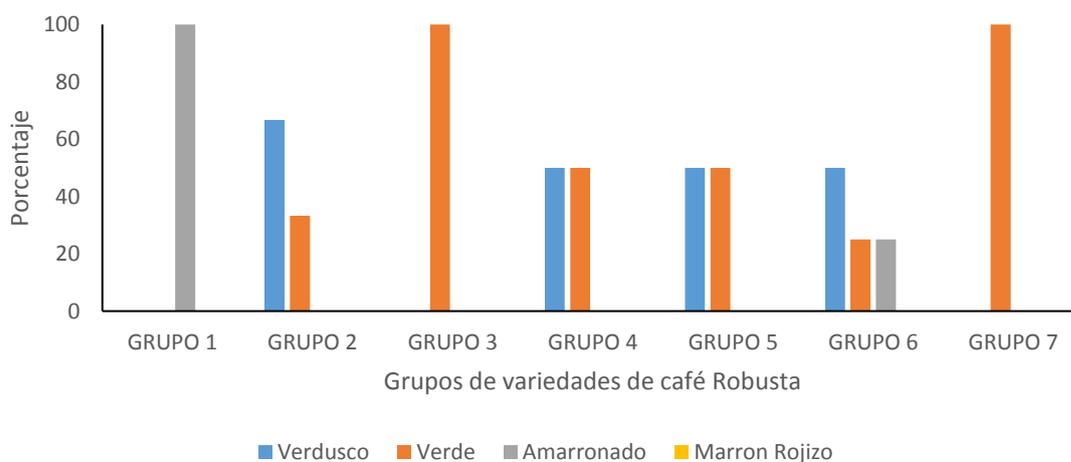
Descriptores cualitativos	$\chi^2$ de Pearson	Coficiente de Cramer	Coficiente de contingencia	valor P
Forma de la Estípula (FE)	1,70	0,29	0,28	0,9451 ns
Color de la Hoja Joven (CHJ) <sup>D</sup>	20,12	0,58	0,71	0,0649 ns
Forma de la Hoja (FH)	15,91	0,51	0,67	0,1954 ns
Forma del Ápice de la Hoja (FAH)	10,48	0,51	0,59	0,1060 ns
Color del Fruto (CF)	8,64	0,46	0,55	0,1946 ns
Forma del Fruto (FF)	15,44	0,51	0,66	0,2185 ns

<sup>D</sup> Variables determinadas como más discriminantes

ns = No significativo

### Clasificación de los grupos de acuerdo a los estados de los caracteres cualitativos

Para expresar la variabilidad genética de las accesiones caracterizadas, el descriptor color de la hoja joven, está constituido por varios estados y que permitieron con facilidad comprender la naturaleza de los agrupamientos. Por consiguiente, en la figura 43 se observa que el grupo uno presentó el 100% de sus variedades un color de hoja joven amarronado, por otro lado se observa que el grupo tres y Grupo siete presentaron el 100% de sus variedades el color de la hoja joven verde, el Grupo seis mostro tener tres colores de hoja joven distribuidos en 50% color verdusco, 25% para los colores verde y amarronado, finalmente los Grupos cuatro y cinco mostraron color de la hoja joven en un 50% verdusco y verde.



**Figura 43.** Color de la hoja joven de los siete grupos genéticos de café Robusta.

### Caracteres cuantitativos

En la Tabla 18, se observan dos descriptores cuantitativos con mayor *valor D* lo que significa que son los de mayor valor discriminante de los 29 registrados, mediante la prueba de significancia de *Duncan* (1975) y a través de los promedios obtenidos por grupos se detectaron estos dos descriptores que permitieron diferenciar los siete grupos genéticos. Los caracteres con mayor poder discriminantes fueron longitud de la estípula en mm y ancho del fruto registrado en mm.

En lo relacionado al carácter longitud de la estípula el Grupo uno mostró la mayor longitud con 7,35 mm, mientras que el grupo con el menor valor fue el Grupo tres con 5,75 mm. Para el carácter ancho del fruto, el mismo Grupo uno presentó el mayor ancho con 15,07 mm, mientras que el Grupo cinco mostró el menor ancho con 11,80 mm.

**Tabla 18.** Valores promedios para 29 caracteres distintivos en siete grupos de variedades de café Robusta.

Variable cuantitativa	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6	Grupo 7	valor p	Valor D
AP cm	271,98 a	331,64ab	353,29ab	387,19b	310,38ab	347,75ab	285,37ab	0,1880 ns	0,28
DT cm	5,53a	5,39a	6,50b	6,17ab	5,72ab	5,74ab	6,14ab	0,1567 ns	0,28
TRA cm	45,02a	34,40a	46,17a	49,12a	39,68a	47,29a	66,69b	0,0124*	0,28
TRP	9,96a	4,55a	22,23b	8,86a	5,68a	9,5a	8,35a	0,0085**	0,14
LRP cm	106,88bc	97,13ab	97,99ab	96,00ab	92,58a	105,72bc	112,04c	0,0154**	0,42
TNR	19,00b	16,84ab	14,45a	15,18ab	14,88a	16,78ab	17,43ab	0,2430 ns	0,28
DEN cm	5,80a	6,11a	7,03a	6,59a	6,68a	6,57a	6,78a	0,4479 ns	0,14
GC	6,75ab	12,20c	10,49bc	9,07bc	8,8abc	7,86ab	4,84a	0,0176 *	0,42
LAE mm	2,95B	0,87a	0,85a	1,03a	1,95ab	2,10ab	1,07a	0,1754 ns	0,28
LE mm <sup>D</sup>	7,35cd	5,90a	5,75a	6,05ab	8,00d	7,20bcd	6,20abc	0,0061 **	0,57
LH cm	24,27b	25,19b	26,19b	22,71ab	23,68b	19,73a	23,45b	0,0128 *	0,28
AH cm	11,41b	11,67b	11,94b	9,60a	9,38a	9,93a	9,78a	0,0004 **	0,28
LPF cm	1,39abc	1,46abc	1,67c	1,25ab	1,61bc	1,22a	1,25ab	0,0825 ns	0,42
NFA	14,30a	16,63a	14,95a	14,60a	17,00a	16,58a	19,10a	0,2626 ns	0,14
NFF	5,50ab	5,93ab	5,40ab	5,33ab	5,00a	5,43ab	6,60b	0,2659 ns	0,28
NFN	6,20ab	5,20a	5,10a	5,55ab	7,10b	5,50b	5,57ab	0,2567 ns	0,28
LTI mm	5,40ab	5,83ab	6,71b	5,23ab	5,05a	4,70a	6,07ab	0,1385 ns	0,28
LTC mm	10,95b	9,67b	10,55b	9,73b	10,10b	6,93a	12,13b	0,0110 *	0,28
NPF	5,10ab	5,13ab	5,40bc	5,70c	5,00ab	5,00ab	4,93a	0,0071 **	0,42
NEF	5,10ab	5,13ab	5,50bc	5,70c	5,00a	5,05ab	5,00a	0,0100 *	0,42
LEs mm	23,60a	18,58a	23,80a	24,80a	23,10a	19,95a	22,73a	0,8082 ns	0,14
AO mm	1,65ab	1,77ab	1,80ab	1,65ab	1,60a	1,58a	1,90b	0,0756 ns	0,28
LO mm	2,35ab	2,50ab	2,40ab	2,50ab	2,40ab	2,25a	2,73b	0,2346 ns	0,28
LF mm	17,87c	15,61b	14,09a	14,74ab	14,42ab	13,75a	14,40ab	0,0007 **	0,42
AF mm <sup>D</sup>	15,07d	14,34cd	13,82bcd	13,34abc	11,80a	12,70ab	12,36ab	0,0066 **	0,57
GF mm	12,63c	12,62c	11,83bc	11,36ab	10,46a	11,15ab	11,13ab	0,0151 *	0,42
LS mm	10,19 c	9,71bc	8,73ab	8,71ab	8,67ab	8,20 <sup>a</sup>	8,48a	0,0187 *	0,42
AS mm	7,89b	7,73b	6,97a	6,67a	6,42 <sup>a</sup>	6,44 <sup>a</sup>	7,06a	0,0016 **	0,28
GS mm	5,08b	5,09b	4,95b	4,41a	3,98a	3,95a	4,03a	0,0003 **	0,28

D Variables determinadas como más discriminantes \*\* = Significativo al 1% de probabilidad \* = Significativo al 5% de probabilidad ns = No significativo

### Análisis de Componentes Principales

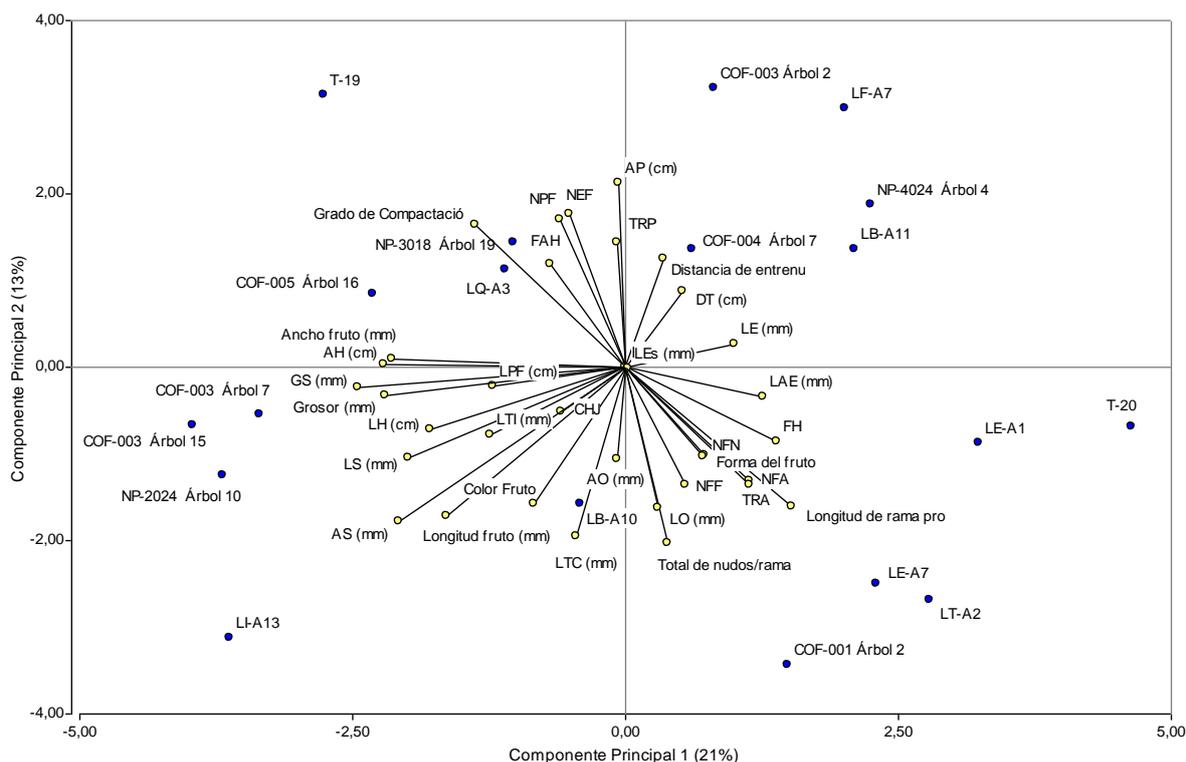
Según el análisis de componentes principales (Tabla 19) el primer componente explicó el 21 % de la variabilidad y el segundo el 13%, lo cual acumulado representó el 34% de la variabilidad total, lo cual significa que al ser variedades de café, en estos dos primeros componentes principales no se explica una amplia diversidad genética.

**Tabla 19.** Autovalores y variabilidad explicada por los Componentes Principales de 35 descriptores para la caracterización de las 20 variedades de café Robusta.

Lambda	Valor	Proporción	Prop. acum.
1	7,27	0,21	0,21
2	4,52	0,13	0,34
3	4,22	0,12	0,46
4	3,20	0,09	0,55
5	2,69	0,08	0,63
6	2,28	0,07	0,70
7	1,90	0,06	0,76
8	1,67	0,05	0,81
9	1,25	0,04	0,86
10	1,19	0,03	0,89
11	0,98	0,03	0,92
12	0,90	0,03	0,95
13	0,53	0,02	0,97
14	0,41	0,01	0,98
15	0,40	0,01	0,99
16	0,30	0,01	1,00

La representación gráfica espacial de los siete grupos genéticos se observa en la Figura 44, la figura muestra el 34% de la variabilidad total basado en la comparación de 20 variedades de café Robusta, teniendo así el primer componente principal explica el 21% de la variabilidad, mientras que el segundo componente principal explica el 13% de la variabilidad.

La medida de proximidad que se utiliza es la correlación cofenética, que es el coeficiente de correlación lineal de Pearson. Este coeficiente vale 1 cuando ambas matrices son proporcionales (iguales). Esto equivale a decir que la matriz cumple la propiedad ultramétrica y, por tanto, la clasificación es exacta. Por consiguiente la correlación cofenética presentó un valor de 0,84 indicando que la reducción de la dimensionalidad no produjo pérdida de información, siendo confiables los resultados obtenidos.



**Figura 44.** Distribución en plano definido por los dos primeros componentes basados en la comparación de 20 variedades de café Robusta.

### Evaluación fitosanitaria.

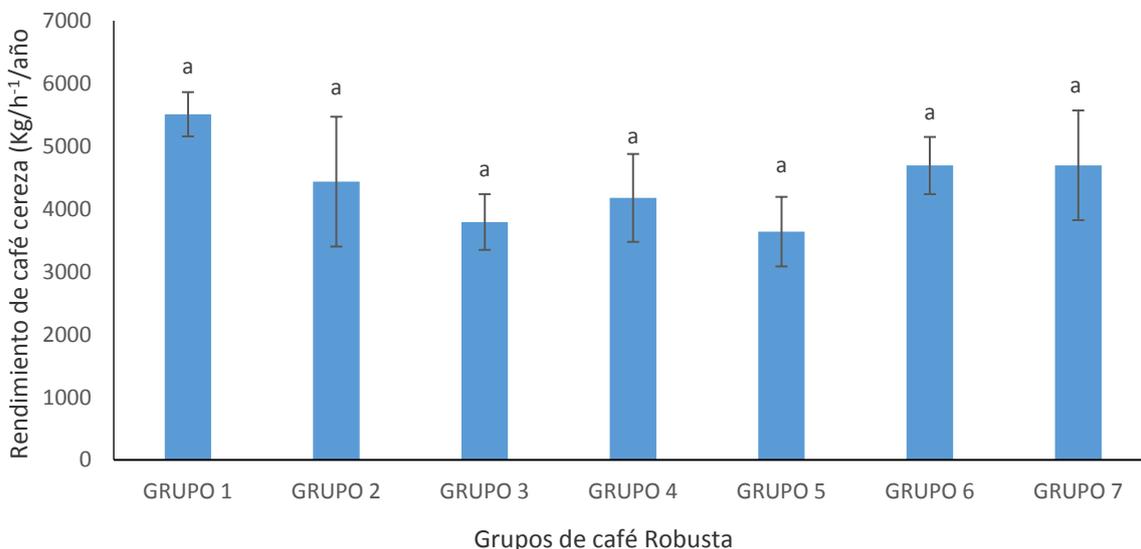
Una vez conformados los grupos a través de la caracterización y evaluación agromorfológica, se procedió a realizar el análisis de las variables fitosanitarias utilizando las medias por grupos, en la tabla 20, se observan estos análisis para las variables Índice de Roya (%), Índice mancha Hierro (%), Índice Ojo de Gallo (%), Incidencia Mancha hierro (%), Incidencia Broca del café (%), Incidencia Minador de hoja (%) e Incidencia de Escama Verde (%)

**Tabla 20.** Valores promedios para siete variables fitosanitarias en siete grupos de variedades de café Robusta.

Variable cuantitativa	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6	Grupo 7	valor p
<b>Enfermedades de la hoja</b>								
Índice de Roya (%)	0,0 a	0,0a	0,0a	0,0a	0,0a	1,65b	0,0a	0,0103*
Índice mancha Hierro (%)	0,82a	4,01ab	7,14b	2,2a	2,84ab	2,17a	0,32a	0,1251 ns
Índice Ojo de Gallo (%)	5,87bc	3,68ab	7,87c	3,38ab	1,73ab	3,14ab	1,39ab	0,0766 ns
<b>Enfermedad en fruto</b>								
Incidencia Mancha hierro (%)	41,32bc	35,08ab	24,37a	36,13ab	30,55ab	36,62ab	51,72c	0,0171*
<b>Incidencia de insectos</b>								
Broca del café (%)	7,97a	1,86a	0,27a	9,26a	7,21a	0,43a	10,83a	0,0171*
Minador de hoja (%)	41,32bc	35,08ab	24,37a	36,13ab	30,55ab	36,62ab	51,72c	0,2430 ns
Escama verde (%)	0,37ab	1,03b	0,91ab	0,28ab	0,0a	0,54ab	0,22ab	0,2353 ns

### Rendimiento de café cereza Kg/h<sup>-1</sup>

En la figura 46 se observa que el Grupo uno obtuvo el mayor rendimiento con un promedio de 5508,75 Kg/h<sup>-1</sup>/año, dentro de este grupo se encuentran las variedades LI-A13 con un rendimiento de 5861,25 Kg/h<sup>-1</sup>/año y LB-A10 (1) 5156,25 Kg/h<sup>-1</sup>/año. El Grupo siete y seis ocuparon el segundo y tercer puesto en producción con un rendimiento de 4695,42 Kg/h<sup>-1</sup>/año y 4691,56 Kg/h<sup>-1</sup>/año respectivamente. Según el análisis de varianza no existió diferencias estadísticas entre grupos (*p* valor 0,7696)



**Figura 46.** Rendimiento de café cereza en Kg/h<sup>-1</sup>/año en siete grupos genéticos de café Robusta.

### Conclusiones

1. La caracterización morfológica de 20 variedades de café Robusta conservada en predios de la Estación Experimental Portoviejo, permitió conocer la variabilidad genética existente.
2. Los caracteres con mayor variación y que determinaron la variabilidad genética fueron: Longitud de la Arista de la Estípula en mm y Longitud de rama productivas.
3. Las variables con menor variación de diversidad genética fueron: Número de Estambre por Flor y Número de Pétalos por Flor.
4. El algoritmo multivariado del análisis de agrupamiento jerárquico de Ward, actuando sobre la matriz de distancia obtenido con el método de Gower que definió siete grupos genéticos.
5. El carácter cualitativo más discriminantes fue: Color de la Hoja Joven (CHJ).
6. Los caracteres cuantitativos con mayor poder discriminatorios fueron: Largo de la estipula (mm), y Ancho del fruto (mm).
7. Los dos primeros componentes principales explicaron el 35% de la variabilidad total descomponiéndose en un primer componente principal en un 21% de la variabilidad y el segundo el 13%.
8. La correlación cofenética fue de 0,84, indicando que la reducción de la dimensionalidad no produjo pérdida de información.

9. La evaluación productiva de las 20 variedades de café Robusta, ha permitido conocer que existen variedades potencialmente productivas lo cual permite la identificación de individuos que destacan por reunir buenas características de selección bajo condiciones del valle del río Portoviejo.

### Referencias bibliográficas

Balzarini M.G., Gonzalez L., M., Casanoves F., Di Rienzo J.A., Robledo C.W. (2018). Manual del Usuario, Editorial Brujas, Córdoba, Argentina.

Bertrand, B., Aguilar, G., Santacreo, R. y Anzueto, F. (1999). El mejoramiento genético en América Central. In Bertrand, B; Rapidel, B. eds. Desafíos de la caficultura en Centroamérica. San José, CR, IICA. p. 407-456.

Cañarte, E., Navarrete, J., Mendoza, A., Pico, J., Fernández, F., Guerrero, H., Plaza, L., Quijano, G., Parraga, J., Subía, C., Calderón, D., loor, R. (2016). Evaluación de características sanitarias en café. In Mejoramiento y homologación de los procesos y protocolos de investigación, validación y producción de servicios en cacao y café.

Cochran, W. (1954). Some methods for strengthening the common  $\chi^2$  tests. *Biometrics* 10:417-451.

David, A. M., y Nini, M. N. (2014). El café y sus diversas aplicaciones en la pastelería. <http://186.33.221.210/handle/123456789/4015>

Engels, J. (1983). A systematic description of cacao clones. I. The discriminative value of quantitative characteristics. *Euphytica* 32(2):377-385.

Enríquez, G. (1963). Características y comportamiento de 25 cruces internacionales de cacao. Tesis Ingeniero Agrónomo. Quito, Ecuador. Universidad Central del Ecuador Facultad de Agronomía y Veterinaria. 138 p.

Fienberg, S. (1977). The analysis of cross-classified data. Cambridge. MA: MIT Press

Gower, J. (1967). A comparison of some methods of cluster analysis. *Biometrics* 23:623-637

Hernández Villarreal, A. E. (2013). Caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. CONACYT.

Kendall, M. and Stuar, A. (1995) The advanced theory of statistics. Volumen 2, New York, Macmillan Publishing Company, Inc. Vol 2.

Loor, R., Plaza, L., Guerrero, H. y Zambrano, F. (2015). Desarrollo de una variedad de café robusta (*Coffea canephora* P.) para Quevedo y otras zonas agroclimáticas similares de la costa ecuatoriana. INIAP-EETP. Boletín Divulgativo N° 167.

Peña, G. (2003). Caracterización morfológica de 57 accesiones de cacao (*Theobroma cacao* L.), tipo Nacional del Banco de Germoplasma de la Estación Experimental Tropical Pichilingue. Portoviejo, Ecuador :1-18.

Rodd-Portillo, A. F., & Romero Quintanilla, J. C. (2019). Formación de un banco de germoplasma de cacao (*Theobroma cacao* L.) con árboles criollos seleccionados en el municipio de San Pedro Nonualco, Departamento de La Paz, El Salvador (Doctoral dissertation, Universidad de El Salvador).

Ward (1963). s. f. ward 1963.pdf. s.l., s.e.