

QUITOSANO EN REGENERACIÓN DE PLANTAS DE CACAO OBTENIDAS POR PROPAGACIÓN VEGETATIVA




EDICIONES
GESICAP


UTEQ
UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE
QUEVEDO

VICTOR ALEXIS SOLÍS SANTISTEVAN
JUAN JOSÉ REYES PÉREZ

QUITOSANO EN REGENERACIÓN DE PLANTAS DE CACAO OBTENIDAS POR PROPAGACIÓN VEGETATIVA

VICTOR ALEXIS SOLÍS SANTISTEVAN
JUAN JOSÉ REYES PÉREZ



TODOS LOS DERECHOS RESERVADOS:

© Ediciones GESICAP y Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador; Dirección de Investigación Ciencia y Tecnología (DICYT) 2022. Se autoriza la reproducción de esta publicación con fines educativos y otros que no sean comerciales sin permiso escrito previo detentar el derecho de autor, mencionando la cita.

© Victor Alexis Solís Santistevan

© Juan José Reyes Pérez

© Editorial: Ediciones GESICAP

El Carmen, Manabí, Ecuador

www.gesicap.com

© Universidad Técnica Estatal de Quevedo UTEQ

Quevedo, Ecuador.

www.uteq.edu.ec.

ISBN: 978-9942-626-07-3

Depósito Legal:

1ra Edición: Ediciones Gesticap, Calle 24 de julio y Ave 3 de julio, El Carmen Manabí Ecuador.

Copyright © Diciembre 2022.

COMO CITAR ESTE LIBRO:

Solís-Santistevan, V.A y Reyes-Pérez, J.J. 2022. Quitosano en regeneración de plantas de cacao obtenidas por propagación vegetativa. Ediciones GESICAP, Ecuador, 74pp.

EQUIPO EDITORIAL:

Edición y Diagramación: Sergio Alejandro Rodríguez Hernández

Revisión y Corrección: Yosbel Lazo Roger.

Diseño de cubierta: Sergio Alejandro Rodríguez Hernández

Imagen de Cubierta: Pixabay.com

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento a las autoridades de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo y la Facultad de Ciencias Agropecuarias por permitirnos a diversos profesionales a través del departamento de posgrado fortalecernos académicamente, personas de gran calidad profesional y humana. De manera especial agradezco al Ing. Juan José Reyes Pérez, PhD; Coordinador de la Maestría en Agroecología y Desarrollo Sostenible y Director de mi trabajo de investigación, el cual ha sabido guiarme con sus conocimientos y apoyo en todo momento de la realización de la misma. Agradezco a la vida que me ha permitido ser una persona normal sin ningún tipo de discapacidad y cumplir mis metas, en especial la realización de este trabajo.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de investigación a Dios, puesto que me brindó salud y sabiduría para culminar esta etapa de formación académica. De manera especial a mi madre que manifestó su apoyo incondicional en todos los momentos de mi vida, a mi esposa por su motivación y ayuda constante en esta etapa y a mi hijo que es la principal razón que me impulsa a superarme y ser mejor persona.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS / v

DEDICATORIA / vii

ÍNDICE / viii

ÍNDICE DE FIGURAS / ix

ÍNDICE DE TABLAS / xii

I. CAPITULO 1. MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN / 1

INTRODUCCIÓN / 3

1.1 PROBLEMA CIENTÍFICO / 4

1.2 HIPÓTESIS CIENTÍFICA / 4

1.3 OBJETIVO GENERAL / 4

1.4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS / 5

II. CAPITULO 2. MARCO TEÓRICO DE LA INVESTIGACIÓN / 7

2.1. EL CACAO (THEOBROMA CACAO L.) / 9

2.1.1. Origen y distribución / 9

2.1.2. Importancia del cultivo / 10

2.1.3. Sistemática y características botánicas / 11

2.1.4. Variedades de cacao / 13

2.1.5. Clones de cacao / 14

2.2. MÉTODOS DE PROPAGACIÓN / 15

2.2.1. Propagación sexual / 16

2.2.2. Propagación asexual / 16

2.3. BIOESTIMULANTES / 18

2.3.1. Oligosacarinas / 19

2.3.2.1. Tipos, clasificación y obtención de Oligosacarinas / 20

2.3.2.1. Actividad auxínica de los OGAs / 20

2.3.2.2. Quitosano / 20

III. CAPITULO 3. MATERIALES Y MÉTODOS / 23

3.1 LOCALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN. / 25

3.2. INFLUENCIA DEL QUITOSANO SOBRE LA CAPACIDAD
REGENERATIVA DE LOS ESQUEJES DE T. CACAO / 26

3.3. EFECTO DEL QUITOSANO SOBRE EL DESARROLLO DE
PLANTAS DE T. CACAO / 28

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS / 29

IV. CAPITULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN / 31

4.1. INFLUENCIA DEL QUITOSANO SOBRE LA CAPACIDAD

REGENERATIVA DE LOS ESQUEJES DE T. CACAO / 33

4. 2. EFECTO DEL QUITOSANO SOBRE EL DESARROLLO DE PLANTAS DE T. CACAO / 37

DISCUSIÓN / 49

5.1. INFLUENCIA DEL QUITOSANO SOBRE LA CAPACIDAD REGENERATIVA DE LOS ESQUEJES DE T. CACAO / 49

5. 2. EFECTO DEL QUITOSANO SOBRE EL DESARROLLO DE PLANTAS DE T. CACAO / 51

V. CAPITULO 5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES / 55

VII. RECOMENDACIONES / 58

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS / 59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Localización de la Finca Experimental "La María", UTEQ / 25

Figura 2. Disposición de las bolsas en el interior de la casa de cultivo / 27

Figura 3. Análisis estadístico del IPR a los 60 días después de plantados los esquejes en el clon CCN-51 / 34

Figura 4. Relación entre la dosis de Quitosano y el IPR en el clon EETP-801 a los 60 días después de plantados / 35

Figura 5. Gráfico de Caja correspondiente al número de hojas en clones de T. cacao a los 60 días después de plantados los esquejes. A – Clon CCN-51; B – Clon EETP-80 / 36

Figura 6. Curva obtenida al realizar la Prueba de Kruskall-Wallis para la fracción radical del clon CCN-51 / 38

Figura 7. Análisis de la fracción radical a los 90 días después de plantados los esquejes en el clon CCN-51 / 39

Figura 8. Curva obtenida al realizar la Prueba de Kruskall-Wallis para la fracción radical del clon EETP-801 / 40

Figura 9. Análisis de la fracción radical en las plantas enraizadas del clon EETP-801 / 40

Figura 10. Gráfico de Caja correspondiente al peso de la biomasa seca de las hojas en el clon CCN-51 de T. cacao a los 90 días después de plantados los esquejes / 45

Figura 11. Gráfico de Caja correspondiente al peso de la biomasa

seca de las hojas en el clon EETP-801 de T. cacao a los 90 días después de plantados los esquejes / 46

Figura 12. Análisis estadístico de la biomasa seca del tallo en plantas enraizadas del clon CCN-51 / 48

Figura 13. Relación entre la dosis de Quitosano y la Biomasa seca del tallo. / 49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tratamientos utilizados durante el bioensayo para el efecto del Quitosano sobre la capacidad regenerativa de esquejes de T. cacao / 26

Tabla 2. Porcentaje de plantas regeneradas del clon CCN-51 a los 60 días después de plantados los esquejes / 33

Tabla 3. Índice de plantas regeneradas del clon EETP-801 a los 60 días después de plantados los esquejes / 35

Tabla 4. Cantidad de raíces en las plantas de T. cacao provenientes de esquejes enraizados / 37

Tabla 5. Biomasa fresca de las raíces en el clon CCN-51 / 41

Tabla 6. Biomasa fresca de las raíces a los 90 días después de plantados los esquejes en el clon EETP-801 / 42

Tabla 7. Biomasa seca de las raíces de plantas enraizadas pertenecientes al clon CCN 51 a los 90 días después de plantado los esquejes / 42

Tabla 8. Biomasa seca de las raíces de plantas enraizadas pertenecientes al clon EETP 801 / 43

Tabla 9. Biomasa fresca de las hojas a los 90 días después de plantados los esquejes de T. cacao / 44

Tabla 10. Biomasa seca del tallo en el clon CCN-51 a los 90 días después de plantados los esquejes / 47

Tabla 11. Biomasa seca del tallo en el clon CCN-51 a los 90 días después de plantados los esquejes / 49

CAPÍTULO I



MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN

I. CAPITULO I. MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN

INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) ha tenido un rol importante en la economía de la historia ecuatoriana al ser uno de los productos primarios de exportación. Adicionalmente, el impacto del cacao en la economía ha estado vinculado a las dimensiones cultural y económica de este producto en el país (Abad et al., 2020). La cultura de los pueblos vive arraigada a su entorno, y su alimentación juega un rol determinante en esta relación. Se necesitan los nutrientes que los alimentos proporcionan para vivir por lo cual la alimentación está ligada a la familia, al ritual religioso y a la tierra. Así, *T. cacao* es un notable ejemplo de la relación que mantiene un cultivo con el hábitat, la economía y el desarrollo cultural de un país (Pérez et al., 2021).

En el ámbito sudamericano no son pocos los proyectos contemporáneos que ya se han emprendido en nombre del cacao; sin embargo, existe todavía un gran vacío en cuanto a las investigaciones históricas en torno a este cultivo (de la Cuba, 2017). El género *Theobroma* es originario de la cuenca alta del río Amazonas, pero no está claro si su expansión fue de manera natural o con la intervención del hombre (Terán, 2019). La especie se reproduce en bosques tropicales húmedos, lo cual delimita su origen a ciertas áreas del planeta, específicamente América del Sur (Pérez, y otros, 2021).

África es el responsable del 60 % de la producción mundial (Ramírez S. , 2008); pero Ecuador es el segundo productor mundial respecto al valor de sus producciones (Orús, 2021), siendo el principal productor de cacao fino a nivel mundial (ACEPROCACAO, 2012).

A pesar de ser el principal ingrediente del chocolate, del cacao se obtienen productos de gran importancia como el licor de cacao, la manteca de cacao, la torta de cacao y el cacao en polvo (Marín, 2012; Delgado, 2019). También la industria cosmética lo utiliza como ingrediente de diversos cosméticos (Delgado, 2019); mientras que la industria farmacéutica extrae la teobromina para elaborar diuréticos y estimulantes del sistema nervioso (ANACAFE, 2004).

Pese a la importancia del cultivo, el bajo rendimiento es una de las limitantes que impide obtener producciones elevadas que permitan suplir la demanda del mercado. Uno de los factores que afecta el rendimiento es el déficit de materiales genéticos productivos; sin embargo, la productividad de algunos clones supera las 2 t/ha (Loor-Solórzano et al., 2019). De ahí la importancia de multiplicar esos clones a través de diversas tecnologías que permitan la clonación masiva de los genotipos mejorados (Batista, 2009; Gómez et al., 2015).

La propagación vegetativa con esquejes o estacas ortotrópicas obtenidas de “plantas madres” constituye una alternativa para la producción masiva de plantas de cacao. Las plantas obtenidas por este método de propagación poseen las características genéticas de la planta madre y morfológicamente son similares a las producidas por semillas. Este método es poco costoso y tiene un potencial muy alto de multiplicación (Gómez et al., 2015). El enraizamiento de esquejes permite obtener posturas de alta calidad, con un notable ahorro de tiempo (Hernández et al., 2013). No obstante, el uso de agroquímicos de origen natural puede contribuir a la eliminación de los problemas existentes de enraizamiento en los esquejes de cacao.

Muchas sustancias se han utilizado para el tratamiento de esquejes, pero los biopolímeros se han convertido en una alternativa prometedora en este sentido (Velásquez, 2008). Las oligosacarinas son sustancias naturales que poseen potenciales aplicaciones agrícolas, ya que promueven la germinación, el crecimiento de las plantas, el incremento de los rendimientos y el beneficio en los procesos simbióticos. Estas sustancias son biorreguladores endógenos de las plantas y pueden regular la síntesis y acción de las hormonas que produce la misma (Borges et al., 2015).

Uno de los polisacáridos más abundantes en la naturaleza es la quitina, pero su poca solubilidad hace que sea utilizada en la obtención del Quitosano (Sayari, y otros, 2016). El Quitosano posee importantes propiedades que induce resistencia sistémica en las plantas y favorece el desarrollo de estas; además, posee gran potencial en la agricultura como bioestimulante (Acosta et al., 2018).

1.1 PROBLEMA CIENTÍFICO

¿Cómo incrementa la regeneración de plantas de *T. cacao* el uso de Quitosano?

1.2 HIPÓTESIS CIENTÍFICA

El uso del Quitosano en la zona basal de esquejes de *Theobroma cacao* L. incrementa la regeneración y el desarrollo de las plantas en condiciones de propagación vegetativa.

1.3 OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto del Quitosano en la regeneración y desarrollo de plántulas de *T. cacao* en condiciones de propagación vegetativa.

1.4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la influencia del Quitosano en el enraizamiento de esquejes de *T. cacao* en condiciones de propagación vegetativa.
- Evaluar el crecimiento de plantas enraizadas de diferentes variedades de cacao tratadas con Quitosano, en condiciones de propagación vegetativa.

CAPÍTULO II



MARCO TEÓRICO DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. EL CACAO (*THEOBROMA CACAO* L.)

2.1.1. ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN

El género *Theobroma* es originario de la cuenca alta del río Amazonas que comprende países como Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia y Brasil, siendo esta la región donde se presenta la mayor variación de *T. cacao*. Este cultivo en la época precolombina se extendió a México y Costa Rica, pero no está claro si su expansión fue de manera natural o con la intervención del hombre (Terán, 2019).

Especímenes de *Theobroma* se han encontrado en bosques a lo largo de los ríos Amazonas, Orinoco y sus afluentes. Algunos investigadores expresan que el cultivo se inició en México y América Central, afirmación que se sustenta porque los españoles no vieron su cultivo cuando arribaron al continente; pero lo encontraron creciendo de forma natural en muchos bosques (Batista, 2009; Miguel, 2011). Sin embargo, la especie se reproduce en bosques tropicales húmedos, lo cual delimita su origen a ciertas áreas del planeta, específicamente América del Sur (Pérez et al., 2021). Otro dato importante es que se concentra en una banda estrecha que no supera los 20° al norte y al sur de la Línea Ecuatorial (Marín, 2012; Delgado, 2019).

Originario de la Amazonía, su cultivo fue extendido por América Central. Las culturas nativas de estas regiones (los Olmec y los Mayas) ya lo conocían y utilizaban; sin embargo, existen registros de que los granos eran utilizados como unidad monetaria por los Aztecas (Marín, 2012). Igualmente, el cacao era tan importante dentro de esas culturas que lo usaban en ritos religiosos para honrar a los dioses. Además, era utilizado para eliminar el cansancio y mejorar las capacidades físicas de los guerreros que lo consumían (Delgado, 2019)

Durante el siglo XIV, los aztecas utilizaron tanto el comercio como la guerra para acceder a los granos de cacao (Poelmans & Swinnen, 2019), a los que le atribuían un origen divino. Además, Cristóbal Colón describió a este árbol en América, pero fue Hernán Cortés el que envió los granos junto a la receta de como consumirlo al Rey Carlos V. Posteriormente, los españoles para mejorar el sabor calentaron los ingredientes y le adicionaron azúcar, canela y otras especies (Marín, 2012; Delgado, 2019).

En 1573, Carlos Linneo le confirió el nombre científico de *Theobroma* a la planta, cuya definición es “alimento de los dioses” (Katz, 2003). Algunos estudios expresan que el material encontrado por los españoles

correspondió al cacao criollo, principal fuente de material utilizado para el mejoramiento genético en las áreas destinadas a producir cacao de calidad (Terán, 2019); sin embargo, los mayas conocían y cultivaban esta planta antes de los conquistadores y contribuyeron con la expansión del cultivo (Bond, 2011). Además, investigaciones recientes han develado vestigios de cacao en el suroeste de Ecuador de hace 5 500 a 5 300 años, lo cual cataloga a esta región como la más antigua conexión respecto a la domesticación de cacao (Gaikwad et al., 2018).

Desde México se siguió su propagación y evolución, siendo referido este lugar como el centro de formación de dos grandes grupos, los cacaos Criollo y Forastero (Enríquez, 2010). Sin embargo, otros investigadores refieren que el cacao Criollo se originó en tierras más bajas, en Venezuela, Colombia y Ecuador; mientras que el cacao Forastero tiene su origen en la parte baja del Amazonas, hacia el norte de Brasil (Terán, 2019).

A pesar de las investigaciones realizadas, la gran mayoría concuerdan en que la región amazónica es uno de los principales centros de origen de *T. cacao*, donde comparten el espacio con otras especies que le aportan la sombra necesaria para su desarrollo (Ordoñez et al., 2011; Pérez S. , 2013; Rice & Greenberg, 2020). Después de la colonización española, el cultivo fue introducido en el continente africano, Asia y Oceanía (Orús, 2021).

2.1.2. IMPORTANCIA DEL CULTIVO

África es el responsable del 60 % de la producción mundial, siendo Costa de Marfil, Ghana, Nigeria y Camerún los principales productores del continente. En América, los mayores productores son Brasil, Ecuador, Colombia y México (Ramírez S. , 2008); siendo Ecuador el segundo productor mundial respecto al valor de sus producciones (578 539 miles de USD) (Orús, 2021), siendo el principal productor de cacao fino a nivel mundial; por eso, la necesidad e importancia de salvaguardar el legado de estas producciones. Además, el cacao se considera como el producto de exportación con mayor historia en la economía ecuatoriana e involucra numerosas familias de pequeños y medianos productores (ACEPROCACAO, 2012).

En Ecuador el cacao se cultiva principalmente en las provincias de Los Ríos, Guayas, Manabí y Sucumbíos, especialmente los cacaos Nacional y CCN-51 aunque las plantaciones de CCN-51 han ido sustituyendo al Nacional debido por su productividad (Gómez et al., 2019). La producción de este producto significó un rublo importante durante el 2015 para el país, beneficiando a los productores agrícolas (Moncayo, 2015).

A pesar de lo expuesto, la explotación de este cultivo es la fuente de ingreso de 40-50 millones de personas (Cuadra, 2020). El valor de la producción fue en aumento a partir del 2008 (ANECACAO, 2015), pero en el 2017 este indicador alcanza picos de 2 660 USD por tonelada de semillas y se espera que continúe su aumento (Cuadra, 2020), lo que obedece a la creciente demanda del producto en el mercado internacional. No obstante, la sobreproducción obtenida en algunos países africanos ha afectado los precios del producto. Los países africanos se concentraron en producir el llamado “cacao corriente” y los de América se especializaron en los cacaos finos, muy demandados por Europa y Estados Unidos (Deutsche Welle, 2021). Los 10 principales productores concentran el 94 % de la producción mundial (Cuadra, 2020).

Aunque es muy conocido por ser el ingrediente principal del chocolate, existen productos como el licor de cacao, la manteca de cacao, la torta de cacao y el cacao en polvo que poseen gran importancia (Marín, 2012; Delgado, 2019). También la industria cosmética lo utiliza para crear Shampú, cremas, mascarillas, protector solar, jabones y uno de los productos más novedosos que han surgido, la plastilina a base de manteca de cacao que no es tóxica en caso de ser ingerida por niños (Delgado, 2019).

Utilizado por la industria farmacéutica de este producto se extrae la teobromina para elaborar diuréticos y estimulantes del sistema nervioso; a la vez, la manteca de cacao se utiliza en la elaboración de pomadas y supositorios. La industria alimenticia deseca las semillas y después de molerlas, elabora polvo de cacao. Los granos molidos, tostados y desengrasados, se mezclan con leche, azúcar, canela, constituyendo el producto básico en la fabricación del chocolate (ANACAFE, 2004).

El cacao contiene muchas sustancias importantes (se estima que superan las 300) como la anandamida, arginina, dopamina, epicatequina, histamina, magnesio, serotonina, triptófano, feniletilamina, polifenoles, tiramina, salsolinol y flavonoides. Su efecto estimulante se debe a la teobromina, que produce un aumento del nivel de serotonina y dopamina (Marín, 2012). Pese a esto, el uso de estas sustancias y los productos que se laboran con ellas muestran como el mercado del cacao va en aumento, surgiendo cada vez nuevas utilidades que se les pueden dar a estos productos (Delgado, 2019).

2.1.3. SISTEMÁTICA Y CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS

El cacao dentro del Reino Plantae, se ubica en la División Tracheophyta, Clase Magnoliopsida, Orden Malvales, Familia Malvaceae, Género

Theobroma, Especie: *T. cacao* L. (Integrated Taxonomic Information System, 2021). Debido a su distribución e importancia, *T. cacao* es la especie más conocida del género.

El árbol de cacao puede alcanzar los 20 m de altura cuando crece de forma natural en los bosques tropicales húmedos de América del Sur (CONABIO, 2014). En condiciones de cultivo generalmente alcanza alturas que oscilan entre 6 a 8 m (Batista, 2009), aunque algunas plantas pueden alcanzar los 12 m (Cook, 2021).

El tallo en la primera fase de crecimiento tiene un crecimiento ortotrópico (vertical) durante 12-15 meses, pero luego forma de 4 a 5 ramas secundarias que poseen un crecimiento plagiotrópico (horizontal); aunque puede variar su ángulo de desarrollo (Enríquez, 2010). Siendo una especie cauliflora, las flores aparecen insertadas en el tronco o en ramificaciones viejas (CONABIO, 2014).

La planta tiene un sistema radical que puede alcanzar los 2 m de profundidad, en dependencia del suelo y los 6 m de longitud. Sin embargo, la mayor cantidad de raíces secundarias se encuentra en los primeros 30 cm del suelo. Este sistema de raíces secundarias es el encargado de absorber los nutrientes y el agua que necesita la planta (CONABIO, 2014).

Las hojas adultas son simples, enteras, membranosas, de tamaño medio, con base obtuso-atenuada, margen entero, ápice largamente acuminado, coriáceas, de color verde. La longitud de las mismas supera los 15 cm y la anchura los 5 cm (CONABIO, 2014). Cada dos o tres meses las hojas más viejas son reemplazadas por hojas jóvenes (Rondón & Cumana, 2005).

Las flores son pentámeras (están constituidas de cinco sépalos, pétalos, estaminodios, estambres y lóculos por ovario), hermafroditas, crecen en simetría radiada a lo largo del tronco y las ramas, en racimos o solitarias. Las inflorescencias con el paso de los años se convierten en cojinetes florales (Terán, 2019). El ovario es oblongo-ovoide, pentagonal, pubescente.

El polen de la flor es demasiado pegajoso por lo cual necesita la intervención de ciertos insectos para ser trasladado a otras flores. Pese a esto, se pueden realizar polinizaciones controladas (Alvarado, 2017).

Los frutos, conocidos como mazorcas, son bayas que pueden variar de forma, espesor, rugosidad, color y tamaño, según el origen genético de la planta, el ambiente donde se desarrolla el árbol y el manejo realizado al cultivo. Ellos pueden exteriorizar diversas tonalidades de colores y su forma les permiten ser clasificados como amelonado, calabacillo, angoleta, cundeamor, según el genotipo (Batista, 2009).

El color de la semilla depende del genotipo y puede ser desde blanco a morado. El color interno de las almendras es generalmente violeta pálido, aunque algunas son blancas. Estas semillas presentan tamaños diferentes y forma oblonga (en dependencia del tipo de cacao) y la cantidad en las mazorcas depende del número de óvulos en cada ovario. En la parte exterior se encuentra el mucílago que permite diferenciar algunos genotipos existentes (Batista, 2009). La semilla no requiere de reposo para germinar y pierden su vigor cuando sufren deshidratación (Sánchez, 2016).

2.1.4. VARIEDADES DE CACAO

Uno de los países con mayor diversidad de cacao es Ecuador (Paredes, 2009) por lo cual sus programas de mejoramiento son enfocados al aumento de los rendimientos y la resistencia a plagas (Dostert et al., 2012). La mayoría de las formas cultivadas de cacao corresponden a híbridos, pero tradicionalmente al cacao se le clasifica en cuatro grupos genéticos (Criollo, Forastero, Trinitario y Nacional) (Delgado, 2019).

- Grupo Criollo: fue bautizado así por los españoles y se cultiva en México, Venezuela, Colombia, Nicaragua, Guatemala, países del Caribe e Indonesia. Es un cacao reservado para la fabricación de chocolates finos, posee mucho aroma y poco contenido de tanino (Guamán, 2007). Generalmente son árboles poco robustos, de porte bajo, copa verde, gruesa y redonda, con hojas pequeñas, almendras de color blanco marfil de sabor a nuez y fruta (Paredes, 2009). Ha sido adaptado a diferentes regiones del planeta, pero es susceptible a enfermedades lo que le hace más delicado (Sánchez, 2016). Se refiere que tiene poca productividad, aunque en algunas plantaciones se han cosechado 2 t/ha del mismo (Gómez et al., 2019).

Este tipo de cacao se caracteriza por tener mazorcas alargadas de colores verdes y rojizos en estado inmaduro, tornándose amarillas y anaranjadas rojizas cuando están maduras, el chocolate obtenido de este cacao es apetecido por el sabor a nuez y fruta. Comercialmente se enmarca dentro de los cacaos finos (Marín, 2012).

- Grupo Forastero: comprende los cacaos cultivados en Brasil y África Occidental. Los representantes de este grupo proporcionan el 80 % de la producción mundial. Se les puede conocer como Amazónico por estar distribuido en la cuenca del Amazonas de forma natural (Sánchez K. C., 2016). Las almendras son aplanadas y pequeñas, con cotiledones de color morado. De este tipo de cacao se obtiene un chocolate con sabor básico de cacao (Marín, 2012).

- Cacao Nacional: por mucho tiempo fue considerado dentro del grupo Forastero, pero su calidad y aroma se asemejan a los Criollos por lo cual se clasifican como un grupo distinto e independiente (Guamán, 2007). Es el único grupo natural de cacao que se cultiva en el occidente de Ecuador. Por su calidad está más relacionado con el grupo Criollo que con el Forastero (Sánchez K. C., 2016).

De este grupo existen pocas plantaciones puras. Las mazorcas son amelonadas, pero con estrangulaciones en la base y el ápice de la misma, con surcos y lomos poco profundos. El color interno de las almendras es violeta pálido o lila (Marín, 2012). Esta variedad se ha destacado por su aroma, sabor y consistencia, pero debido a su sensibilidad a plagas su producción es baja (Delgado, 2019). De este tipo de cacao se obtiene uno de los mejores chocolates del mundo (Paredes N. , 2009).

- Grupo Trinitario: botánicamente son un grupo complejo constituido por una población híbrida originada en la Isla de Trinidad. Ocupan del 10 al 15 % de la producción mundial y las características genéticas, morfológicas y de calidad que poseen son catalogadas como intermedias entre Criollos y Forasteros (Guamán, 2007). Este tipo de cacao es resistente a enfermedades y ha podido adaptarse a muchos ambientes (Sánchez K. C., 2016). Es el cacao que más se cultiva en América. Presentan sabor a cacao de medio a alto, usualmente con sabor a frutas y nueces (Marín, 2012).

2.1.5. CLONES DE CACAO

La mayor parte del cacao comercial pertenece a la especie *T. cacao* y de ella se comercializan los principales clones producidos en Ecuador (INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS, 2000; García, 2010). Estos clones suelen identificarse con letras y números provenientes de su investigación (Marín, 2012).

Las ventajas que presentan los clones son el excelente sabor, aroma, resistente al ataque de enfermedades como la moniliasis y escoba de bruja, la calidad del producto y el aroma. No obstante, posee entre las desventajas la poca disponibilidad del material para la renovación o establecimiento de nuevas plantaciones de cacao y el poco interés de productores cacaoteros en renovar sus fincas con esos clones (Terán, 2019).

Algunos de los clones son:

- CCN-51: Este cacao es el resultado de la combinación de dos clones amazónicos (ICM-67 y Canelo) y uno Trinitario (ICS-95) (Trinitario) que

a su vez proviene de un amazónico criollo; de ahí que no sea considerado como Trinitario. Es una planta de 5 a 6 m de altura, de arquitectura buena. Esta planta posee un tallo del cual emergen de tres a cinco ramas, a la altura de un metro, con crecimiento lateral que forma la horqueta. Las mazorcas se distribuyen desde la parte basal hasta la parte superior del árbol. Generalmente contienen de 35 a 45 granos de forma aplanada, de 2,4 cm de longitud, recubiertos por pulpa dulce y ligeramente ácida (Paredes G. F., 2019). Este clon cubre parte de las plantaciones de la Amazonía ecuatoriana. Es moderadamente susceptible a la Moniliasis y su rendimiento es de 2,7 t/ha de semillas y tiene sabor a cacao de medio a bajo. Contiene alta cantidad de grasa y pulpa (Sánchez K. C., 2016).

- EET-48: pertenece al grupo genético Nacional x desconocido. Es autoincompatible, tolerante a la Escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa*) y a la Monilla (*Moniliophthora roreri*).

- EETP-95: pertenece al grupo genético Nacional x desconocido. Las plantas necesitan suelos con buen drenaje, ricos en materia orgánica. Es moderadamente susceptible a la Moniliasis y su rendimiento oscila alrededor de 1,5 t/ha de semilla.

- EETP-96: perteneciente al grupo genético Nacional x Venezolano amarillo, necesita de suelos con buen drenaje. Es autocompatible, tolerante a la Escoba de bruja (*M. perniciosa*), poco tolerante a la Moniliasis (*M. roreri*) y susceptible a Mal de machete (*Ceratocystis cacaofunesta*). Posee un rendimiento de 1,6 t/ha en semilla.

- EETP-103: pertenece al grupo genético Nacional x Venezolano amarillo adaptado a suelo con buen drenaje. Es autocompatible, tolerante a la Escoba de bruja (*M. perniciosa*) y la Moniliasis (*M. roreri*), susceptible al Mal de machete (*C. cacaofunesta*). Su rendimiento es de 1,5 t ha⁻¹ de semillas.

- EET-575: pertenece al grupo Nacional. Es autocompatible, poco tolerante a la Escoba de bruja (*M. perniciosa*) y tolerante a la Moniliasis (*M. roreri*).

- EETP-801: Es un clon de cacao fino de aroma y alto rendimiento, adaptado a las zonas agroecológicas del Ecuador. Tolerante a la Moniliasis. Posee un rendimiento superior a las 2 t/ha de semillas (FAO, 2018; Jairo, 2019).

2.2. MÉTODOS DE PROPAGACIÓN

El cultivo de *T. cacao* puede propagarse de dos maneras, por vía sexual (semilla botánica) o asexual (estacas, acodos e injertos) (Quintanilla, 2015).

Tradicionalmente, la reproducción sexual ha sido utilizada para la siembra de muchos huertos, pero la inestabilidad en las producciones ha propiciado que se renueven las plantaciones (Enriquez, 2010). Sin embargo, para el establecimiento del cultivo se recomienda el método de propagación asexual para lograr uniformidad, precocidad y calidad en las producciones (Martín, 2018).

2.2.1. PROPAGACIÓN SEXUAL

A través de este método se utiliza la semilla botánica, preferentemente, adquiridas de campos de productores oficiales o seleccionando plantas madres (Quintanilla, 2015). La reproducción sexual es la forma común que se ha utilizado, pero a través de la misma se obtiene una gran variabilidad de árboles, por lo que no se recomienda su utilización, salvo cuando se empleen semillas de elevada calidad. Este método es muy utilizado por ser fácil y proveer rápidamente del material necesario para la siembra; sin embargo, requiere semillas certificadas de los clones (ANACAFE, 2004).

El uso de semillas para la propagación del cacao posee gran importancia genética por eso es importante conocer sus progenitores (Enriquez, 2010). Las semillas pierden rápidamente la viabilidad durante el almacenamiento y conservación de la misma (CONABIO, 2014).

Para la obtención de semillas se debe primero seleccionar la “plantas madre” (de donde se obtienen semillas y esquejes o estacas). Estas plantas son seleccionadas según los criterios de tolerancia a plagas y enfermedades, producción (el árbol debe producir más de 100 frutos sanos por campaña), representatividad del clon, entre otros factores. A la vez, los frutos a seleccionar del mismo deben ser mazorcas sin deformaciones por agentes externos, de las ramas primarias. Las semillas deben ser grandes, no dañadas, de la parte central de la mazorca (Quintanilla, 2015).

El cacao obtenido por la siembra de semillas es generalmente utilizado como planta patrón; siendo la variedad Criollo comúnmente utilizada por sus características en rusticidad y resistencia a plagas radiculares (Quintanilla, 2015).

2.2.2. PROPAGACIÓN ASEXUAL

La propagación asexual es a través de partes vegetativas de las plantas seleccionadas. No implica un cambio en la constitución genética de la nueva planta (Quintanilla, 2015) por lo cual es el único método para perennizar los genotipos y dar lugar a la formación de clones. Estos genotipos pueden ser obtenidos a través de injertos, esquejes, acodos o propagación in vitro

(Enriquez, 2010). El método más utilizado es el injerto, ya que no requiere de instalaciones costosas y permite aprovechar el material vegetativo de la “planta madre” al máximo posible.

A través de los injertos se perpetúan los clones y obtienen plantación con fines comerciales en poco tiempo, se renuevan árboles viejos, reproducen árboles altamente productivos, aprovecha el sistema radical de los patrones y homogenizan las épocas de producción, pero muchas veces existe incompatibilidad y el injerto no prende (López, 2019).

Los acodos y esquejes poseen un sistema radicular superficial que puede afectar la adaptación de las plantas al nuevo hábitat. A su vez, la embriogénesis es un método costoso y puede originar células proembriogénicas con diferente aptitud al expresar la información genética (Enriquez, 2010).

Las plantaciones obtenidas por esquejes o estacas se caracterizan por ser uniformes, dando lugar a árboles fuertes que pueden ser podados para mejorar la estructura de los mismos. Igualmente, se obtienen mejores rendimientos por superficie, concentrando la producción de las plantas en las zonas más próximas al suelo, lo que reduce los costos durante la cosecha (ANACAFE, 2004). El uso de esquejes es fácil por lo cual este método se ha visto por productores como una herramienta potencial para incrementar la producción de sus áreas. Pese a esto, existen factores que influyen en el proceso de enraizamiento como son las propiedades del suelo, el sustrato utilizado, las condiciones del vivero, el tamaño del recipiente utilizado, la humedad, la temperatura... (Osorio et al., 2017).

Las estacas o esquejes deben ser obtenidas de ramas sanas con hojas adultas, de color pardo, sin flores. Las mismas deben poseer un mínimo de tres hojas que se cortarán a 1/3 de la superficie foliar. Igualmente, para la obtención de “yemas” se deben seleccionar “varas yemeras” que no tengan más de 24 horas de cortadas o extraídas de la planta (Quintanilla, 2015).

Para favorecer el enraizamiento los esquejes deben proceder de ramas jóvenes con hojas debido a que las mismas tienen una fuerte influencia en el proceso de rizogénesis. Los tejidos de las hojas son ricos en auxinas, hormonas necesarias para regular los procesos fisiológicos de las plantas, la formación de callosidades y la diferenciación celular. Igualmente, pueden utilizarse medios enraizantes y reguladores de crecimiento para este enraizamiento (Enriquez, 2010). El sustrato debe poseer buena aireación, retención de agua, drenaje y nutrientes debido a que estos factores benefician el enraizamiento. Como no siempre un sustrato reúne todas las características deseables,

entonces se deben mezclar diversos materiales para obtenerlas (Alvarado & Munzón, 2020).

2.3. BIOESTIMULANTES

Las fitohormonas son moléculas orgánicas producidas por la planta que inician, terminan, aceleran o desaceleran un proceso. Su efecto lo produce actuando en muy bajas concentraciones y pertenecen a cinco grupos de compuestos conocidos (etileno, auxinas, giberelinas, citoquininas y el ácido abscísico). Las hormonas de enraizamiento, son todas sustancias de la familia fisiológica de las auxinas, siendo las más empleadas el Ácido indol acético (AIA), el Ácido indol butírico (AIB), y el Ácido naftalén acético (ANA). No obstante, aunque en la mayoría de los casos el tratamiento con auxinas favorece el rápido enraizamiento, en otros casos no tiene efecto alguno (Arroyo, 2013; Armijos, 2017; Osorio et al, 2017).

Para la iniciación de raíces adventicias en los esquejes se utilizan especialmente las auxinas (Alvarado & Munzón, 2020). Los productos enraizantes se elaboran a base de hormonas y se presentan en forma líquida o en polvo (Grupo Iñesta, 2018). Estas hormonas regulan el crecimiento vegetal y favorecen la multiplicación celular (Flores & Plantas, 2017). No obstante, pueden ser utilizados agentes hormonales como la sábila (cuyo gel es rico en aminoácidos y promueve la formación de raíces) y el agua de coco que es capaz de estimular la elongación de las células (Alvarado & Munzón, 2020).

Los enraizadores hormonales son sustancias de moléculas grandes, generalmente ácidos orgánicos o sus sales que pueden ser utilizados ampliamente debido a su solubilidad en agua. Las concentraciones que se utilizan de estos productos son muy bajas (expresadas generalmente en ppm) debido a la alta toxicidad que pueden presentar para el material vegetal. En general su efecto puede obtenerse con elevadas concentraciones, cercanas a las que tienen efecto tóxico, factor este que limita el uso de dosis muy elevadas y propicia la búsqueda de mejores resultados (Osorio et al., 2017)

Los productos utilizados como enraizantes actúan eficazmente en los procesos de enraizamiento, pero también ayudan durante todas las fases de desarrollo de las plantas. Estos productos son bioestimulantes vegetales y pueden ser cualquier sustancia o microorganismo que al ser aplicado a las plantas mejoraran la nutrición de la misma y la tolerancia al estrés abiótico

independientemente del contenido de nutrientes que pueden poseer. Igualmente, se consideran sustancias bioestimulantes a los productos comerciales compuestos por mezclas de sustancias y/o microorganismos que estimulen el desarrollo de las plantas. Dentro de los bioestimulantes enraizantes se pueden encontrar productos formulados con rizobacterias, *Trichoderma* spp., sustancias húmicas y los hidrolizados de proteínas (Ibargüen, 2021).

Los hidrolizados de proteínas son una mezcla de polipéptidos, oligopéptidos y aminoácidos fabricados a partir de fuente de proteínas. Son obtenidos a través de hidrólisis (química o enzimática), pero la calidad del producto depende de la fuente proteica (animal o vegetal) (Ibargüen, 2021).

El enraizamiento de esquejes es una técnica eficiente y relativamente simple que es utilizada para la reproducción comercial de plantas por lo que constituye una opción a la técnica de embriogénesis. El uso de bioestimulantes, a pequeñas dosis, no afecta la acción de las hormonas de la planta y favorece el enraizamiento (Matamoros et al., 2020). Los bioestimulantes, fertilizantes foliares y activadores de las funciones biológicas de las plantas permiten desarrollar, con un mínimo de impacto, los procesos agrícolas (Mompie y et al., 2019).

2.3.1. OLIGOSACARINAS

Las oligosacarinas, conocidos mundialmente por sus siglas OGA, son poli- y oligosacáridos que se caracterizan por provocar una respuesta biológica de la planta, relacionada con el crecimiento, el desarrollo y la protección contra el estrés (Rodríguez et al., 2019). Algunos componentes de las paredes celulares ejercen efectos sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas a bajas concentraciones. El término Oligosacarinas se refiere, por tanto, a oligosacáridos de diferentes orígenes (Mederos & Hormaza, 2008); (Rodríguez et al., 2015).

Las características fisicoquímicas y estructurales de las oligosacarinas influyen en la actividad biológica que desempeñan las mismas (Reyes et al., 2021). Los oligosacáridos pueden obtenerse mediante hidrólisis ácidas y enzimáticas (Mederos & Hormaza, 2008). Estas sustancias influyen sobre el crecimiento y el enraizamiento de las plantas (Chonillo, 2016), lo cual ha sido probado en el cultivo *in vitro*, donde han sustituido compuestos hormonales (Rodríguez et al., 2019).

2.3.2.1. TIPOS, CLASIFICACIÓN Y OBTENCIÓN DE OLIGOSACARINAS

Las Oligosacarinas pueden ser de tipo endógena o exógena, de acuerdo a la manera de ser obtenidas o liberadas de las paredes celulares de la planta o patógeno, respectivamente, siendo clasificadas de igual manera. Las endógenas más conocidas y estudiadas son los Oligogalacturónidos y los Xiloglucanos (sustancias que son liberadas de la pectina mediante hidrólisis enzimática); mientras que de las exógenas se conocen los Oligoglucanos, Oligoquitinas, Poli y Oligoquitosanas y Lipo-quitin-oligosacáridos (Rodríguez et al., 2015). Estas sustancias pueden ser extraídas de otras fuentes de polisacáridos más ricas (López et al., 2020).

2.3.2.1. ACTIVIDAD AUXÍNICA DE LOS OGAS

Los OGAs son considerados biorreguladores endógenos de las plantas, ya que pueden regular la síntesis y acción de las hormonas que produce la misma, así como los distintos procesos de organogénesis y crecimiento. Igualmente, estas sustancias se involucran en el crecimiento, la formación de raíces y la diferenciación celular (Borges et al., 2015).

Varios estudios demuestran que la mezcla de oligogalacturónidos tiene un efecto auxínico en plantas. Estas sustancias estimulan del enraizamiento y crecimiento de diferentes especies vegetales; además, puede activar mecanismos de defensa y disminuir o atenuar el estrés ambiental en plantas (Rodríguez et al., 2019). A la vez, algunos estudios refieren que son muy efectivas en todas las fases del cultivo, desde semillero hasta la producción (Rodríguez et al., 2019).

2.3.2.2. QUITOSANO

Uno de los polisacáridos más abundantes en la naturaleza es la quitina, compuesto muy utilizado en la obtención de Quitosano a través de la desacetilación. Esta sustancia es el mayor compuesto del exoesqueleto de animales marinos invertebrados (Azuma et al., 2015; Khan et al., 2017) y está formada por unidades que forman cadenas de gran peso molecular, caracterizadas por tener propiedades antibacterianas, antifúngicas, biodegradabilidad, biocompatible; sin embargo, es poco soluble, lo cual hace que se concentre mayor atención en el Quitosano (Sayari et al., 2016).

El Quitosano puede ser obtenido de la quitina a través de procesos enzimáticos o químicos (Younes & Rinaudo, 2015). La solubilidad del

quitosano ha hecho posible su aplicación en varios sectores industriales dentro de los cuales se puede mencionar la biotecnología (utilizado por su capacidad antimicrobiana y antifúngica) (Navarrete, 2017). Igualmente, este producto influye sobre la activación del crecimiento de plantas al incrementar el desarrollo foliar y el rendimiento de cultivos. A este desarrollo foliar se le suma la formación de raíces con la posibilidad de garantizar un suministro eficiente de agua y sales minerales (Acosta, Menéndez, & Rodríguez, 2018).

El Quitosano posee importantes propiedades que induce resistencia sistémica en las plantas y favorece el desarrollo de las mismas. Este compuesto es inocuo y biodegradable, obtenido de exoesqueletos, considerados como desechos de la industria pesquera (FundoraI et al., 2016). Este producto posee gran potencial en la agricultura como bioestimulante, aunque también se ha probado que induce una serie de reacciones de defensa en la planta contra diversos organismos. En el cultivo in vitro, el Quitosano ha sido ampliamente estudiado, demostrándose su capacidad como sustituto de hormonas tradicionales (Acosta, Menéndez, & Rodríguez, 2018).

CAPÍTULO III



**MATERIALES
Y MÉTODOS**

3.1 LOCALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.

La presente investigación fue desarrollada en la Finca Experimental “La María”, propiedad de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), provincia de Los Ríos (Laiño, y otros, 2017), geográficamente ubicada a los 1° 5' 33" de latitud Sur (-1,0925°) y 79° 30' 7,7" de longitud Oeste (-79,5021°) a 73 msnm (Figura 1). La misma fue ejecutada durante los meses comprendidos entre abril y agosto de 2021.

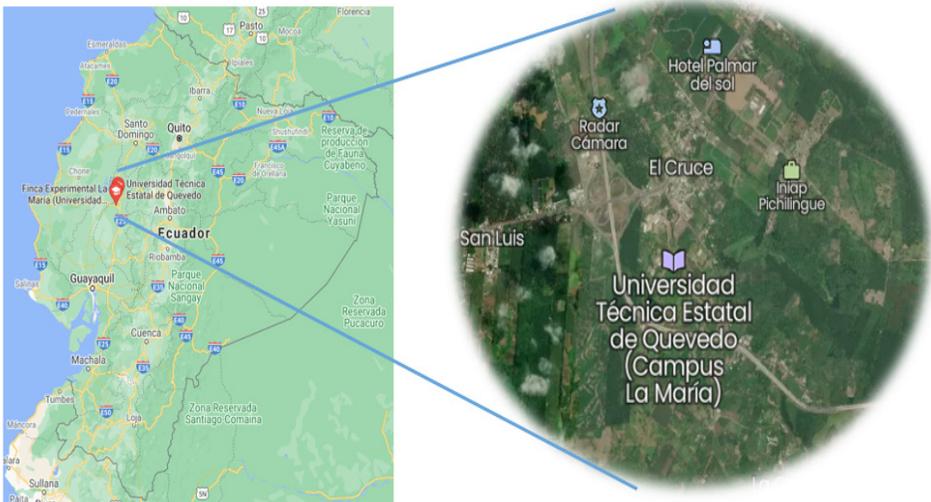


Figura 1. Localización de la Finca Experimental “La María”, UTEQ
Fuente: (Mapcarta, 2021)

El clima de la zona ecológica es clasificado como de tipo Bosque Tropical Húmedo. En el año la temperatura promedio es de 24,8 °C, las precipitaciones de 2252,2 mm, la humedad relativa media del 84 % y la heliofanía de 894 horas luz/año.

El material vegetal utilizado para la investigación descendió de clones comerciales de cacao. Los clones seleccionados fueron CCN-51 y EETP-801 debido a que ostentan un aroma y calidad muy característicos de cada uno de ellos; además, son altamente productivos y existe un interés marcado en la propagación de los mismos. Las plantas madres se encuentran ubicadas y correctamente identificadas en el jardín clonal de cacao de la Facultad de Ciencias Agrarias, UTEQ.

De las plantas clonadas sanas se tomaron los esquejes de los dos clones en horas de la mañana. Los mismos fueron cortados del tercio superior de la planta madre, de las ramas terminales más abiertas, dispuestas en abanico. Primeramente, se cortaron los esquejes de un clon y después los del otro para evitar errores en la manipulación del material vegetal. Todos los esquejes tenían consistencia semileñosa, de 30 a 40 cm de largo, con 1 a 1,5 cm de diámetro, de coloración parda por el haz y verde por el envés. Inicialmente poseían cuatro hojas, pero las mismas se redujeron posteriormente a un tercio.

Cada esqueje, después de haber sido extraído, fue desinfectado con una solución de hipoclorito de sodio al 1 % para lo cual fueron sumergidos, durante cinco minutos, por separado. Posteriormente a este procedimiento, se enjuagaron con abundante agua y colocaron en dos recipientes con agua destilada para su traslado a una casa de cultivo tapado de plástico perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrarias, ubicada en la propia finca.

3.2. INFLUENCIA DEL QUITOSANO SOBRE LA CAPACIDAD REGENERATIVA DE LOS ESQUEJES DE T. CACAO

Se ejecutó un bioensayo con el propósito de evaluar cómo influye el Quitosano sobre la capacidad regenerativa de los esquejes. Para ello fue utilizado un Diseño Completamente al Azar (DCA) constituido por cinco tratamientos y las repeticiones de cada uno de ellos (10 esquejes de cada clon por tratamiento de manera independiente). Los tratamientos estuvieron formados por tres dosis de Quitosano a base de Quitomax®, un tratamiento con un producto comercial (recomendado para el enraizamiento de esquejes debido a sus propiedades inductoras de enraizamiento) y un testigo o control absoluto, en el cual solo fue utilizada agua destilada desionizada (Tabla 1).

Tabla 1. Tratamientos utilizados durante el bioensayo para el efecto del Quitosano sobre la capacidad regenerativa de esquejes de T. cacao

Tratamiento	Descripción
T1	Solo H ₂ O destilada desionizada (Control absoluto)
T2	100 mg/L de Quitosano
T3	500 mg/L de Quitosano
T4	1000 mg/L de Quitosano
T5	200 mg/L del producto comercial Raizyner GNS

A través del método de inmersión se aplicaron los tratamientos para lo cual, después de seleccionar aleatoriamente los esquejes de cada tratamiento (según el clon), se colocaron en grupos de 10 dentro de recipientes de 1000 mL de volumen que contenían 200 mL de producto (según tratamiento) en su interior, dejando sumergido durante 15 ± 1 minuto la base de los mismos. Al cabo del tiempo fueron sacados y después de escurridos, plantados en bolsas negras de polietileno perforadas de 5 x 8 pulgadas (12,7 cm x 20,32 cm).

Cada bolsa contenía en su interior 1 kg de sustrato compuesto por una mezcla en volumen de 25 % de arena y 75 % de materia orgánica (cachaza descompuesta). El sustrato fue humedecido previamente con agua destilada hasta la capacidad de campo y después se abrió un orificio de 3 a 5 cm de profundidad, en el centro, con un palo ahoyador de 40 cm de largo por 1,8 cm de diámetro para facilitar la plantación del esqueje. Inmediatamente fue colocado el esqueje y apretado el sustrato superficial contra el mismo para ajustarle.

Las bolsas fueron trasladadas a condiciones semicontroladas en la casa de cultivo tapado de plástico, donde permanecieron por 60 días, estableciéndose en hileras de cinco bolsas de largo, creando diez bloques por clon, separados a 0,35 m para facilitar las atenciones culturales, el riego y las evaluaciones. Las hileras quedaron constituidas por los representantes de una réplica de cada tratamiento, colocados indistintamente (Figura 2). Con el uso de un nebulizador se aplicó semanalmente el riego para evitar estrés hídrico, evitando el encharcamiento, pero mojando el sustrato en su totalidad hasta lograr la capacidad de campo.

Figura 2. Disposición de las bolsas en el interior de la casa de cultivo

	Hilera 1	Hilera 2	Hilera 3	Hilera 4	Hilera 5	Hilera 6	Hilera 7	Hilera 8	Hilera 9	Hilera 10
Clon CCN-51	T4	T2	T1	T3	T5	T3	T2	T4	T1	T5
	T3	T4	T3	T2	T1	T1	T5	T2	T4	T3
	T1	T3	T2	T5	T4	T2	T1	T3	T5	T4
	T5	T1	T5	T4	T2	T4	T3	T5	T2	T1
	T2	T5	T4	T1	T3	T5	T4	T1	T3	T2
Clon EETP-801	T3	T2	T4	T1	T5	T4	T2	T1	T3	T5
	T1	T5	T2	T4	T3	T5	T1	T5	T4	T2
	T2	T1	T3	T5	T4	T1	T3	T2	T5	T4
	T4	T3	T5	T2	T1	T3	T4	T3	T2	T1
	T5	T4	T1	T3	T2	T2	T5	T4	T1	T3

Para todas las labores de fitotecnia ejecutadas en la casa de cultivo se siguieron las prácticas detalladas en el instructivo técnico del cacao (Sánchez

et al., 2017), excepto la aplicación de bioestimulantes. El control de arvenses se realizó manualmente en presencia de las mismas; de esa forma se eliminó la competencia y evitó cualquier interferencia sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas de *T. cacao* dentro de la estructura en la que se llevó a cabo el bioensayo.

Los indicadores evaluados a los 60 días después de la siembra (plantación del esqueje) fueron: el índice de plantas regeneradas y el número de hojas. En la determinación del primer indicador se tuvo en cuenta el porcentaje de plantas enraizadas con nuevos brotes de hojas; mientras que el segundo indicador fue definido a través del conteo visual de la totalidad de hojas en los esquejes enraizados para saber que tratamiento tuvo mayor influencia sobre este indicador.

3.3. EFECTO DEL QUITOSANO SOBRE EL DESARROLLO DE PLANTAS DE T. CACAO

En el bioensayo se utilizó el material vegetal adquirido en el experimento anterior para lo cual, las bolsas con esquejes enraizados de *T. cacao* fueron mantenidas durante 30 días. Siguiendo las prácticas referidas en el instructivo técnico del cacao, se continuaron con las labores de fitotecnia orientadas para los viveros (Sánchez et al., 2017). Las arvenses fueron controladas manualmente, siendo ejecutada la labor de deshierbe cuando se detectaban las mismas. Para el riego, de manera similar a lo expuesto en el epígrafe 3.1, fue aplicado semanalmente, evitando el encharcamiento. Pasados los 30 días (a los 90 días después de la siembra) las plantas fueron sacrificadas y después de ser lavadas con agua y ser secadas al ambiente, les fueron evaluados los siguientes indicadores:

- Número de raíces
- Fracción radical (%)
- Biomasa fresca y seca de la raíz (g)
- Biomasa fresca y seca de las hojas (g)
- Biomasa seca del tallo (g)

Para determinar el número de raíces se procedió a lavar el sistema radical con abundante agua, eliminando de esta manera residuos de sustrato impregnados en este. El agua fue sin presión para evitar daño innecesario a las raíces. Posteriormente se procedió al conteo de raíces totales. En la fracción radical se tuvo en cuenta el número de plantas totales con raíces; mientras que en la determinación de las biomásas frescas se utilizó una

balanza analítica con 0,01 mg de precisión. Una vez obtenido el peso fresco de los órganos de las plantas, se colocaron estos en bolsas de papel en el interior de una estufa de secado a 80 °C durante 72 horas, hasta obtener la deshidratación completa. Subsiguientemente se procedió al pesado de cada uno en la balanza analítica, quedando expresado el peso en gramos de materia vegetal seca.

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Todos los datos obtenidos fueron tabulados en Microsoft Excel 2016. En el procesamiento estadístico se utilizó el programa XLSTAT 2021.3.1 (Addinsoft, 2021) y STATGRAPHICS Centurión XVI ver. 16.1.03. Se realizaron las pruebas de ANOVA, Regresión Simple (en la determinación de la relación entre variables), Shapiro-Wilk (para comprobar la normalidad de los datos) y Bartlett (para verificar la homoscedasticidad). Para determinar las posibles diferencias entre los tratamientos, fue realizada la prueba de Tukey cuando se cumplieron los supuestos de normalidad y homoscedasticidad; de no cumplirse estos supuestos, se sometieron los datos a la prueba de Kruskal-Wallis. Todas las pruebas fueron ejecutadas con un nivel de confianza del 95 %.

CAPÍTULO IV



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. INFLUENCIA DEL QUITOSANO SOBRE LA CAPACIDAD REGENERATIVA DE LOS ESQUEJES DE *T. CACAO*

El Quitosano influye sobre el índice de plantas regeneradas. En el clon CCN-51 el promedio de IPR más elevado fue obtenido con T4 (esquejes tratados con dosis de 1000 mg/L de Quitosano), único tratamiento que sobrepasa el 50 % de las plantas regeneradas (Tabla 2). Pese a lo mencionado, se aprecia que en todos los tratamientos donde se utilizó un producto enraizante el porcentaje de IPR es superior al control absoluto (T1); siendo este último el único tratamiento que no sobrepasa el 20 % de plantas regeneradas. En T5 (tratamiento con Raizyner GNS) este índice oscila entre 28 y 30 % a pesar de ser un producto comercial recomendado para el enraizamiento de esquejes de *T. cacao*. No obstante, los diferentes tratamientos con Quitosano tuvieron un porcentaje superior a 32 % independientemente de la dosis utilizada para tratar los esquejes; a la vez, se percibe como aumenta el índice de regeneración al aumentar la dosis de Quitosano.

Tabla 2. Porcentaje de plantas regeneradas del clon CCN-51 a los 60 días después de plantados los esquejes

Tratamiento	IPR (%)	Mín.	Máx.	D.E.
T1	16.33	15.00	18.00	1.30
T2	35.00	32.00	38.00	2.55
T3	43.67	42.00	45.00	1.30
T4	54.00	53.00	55.00	0.85
T5	29.00	28.00	30.00	0.85

Leyenda: IPR – índice de plantas regeneradas; Mín. – mínimo; Máx. – máximo; D.E. – desviación estándar.

Al analizar estadísticamente los datos alcanzados en CCN-51 se observa que existen diferencias significativas entre todos los tratamientos (Figura 3). Con todo, los tratamientos que más influyeron sobre este indicador fueron T4, T3, y T2; correspondiendo estos a los esquejes tratados con Quitosano. Los resultados alcanzados por el producto comercial Raizyner GNS estuvieron entre los logrados con la dosis más baja de Quitosano y el control absoluto, exhibiendo diferencias estadísticas con los dos, pero siendo superior solamente al control.

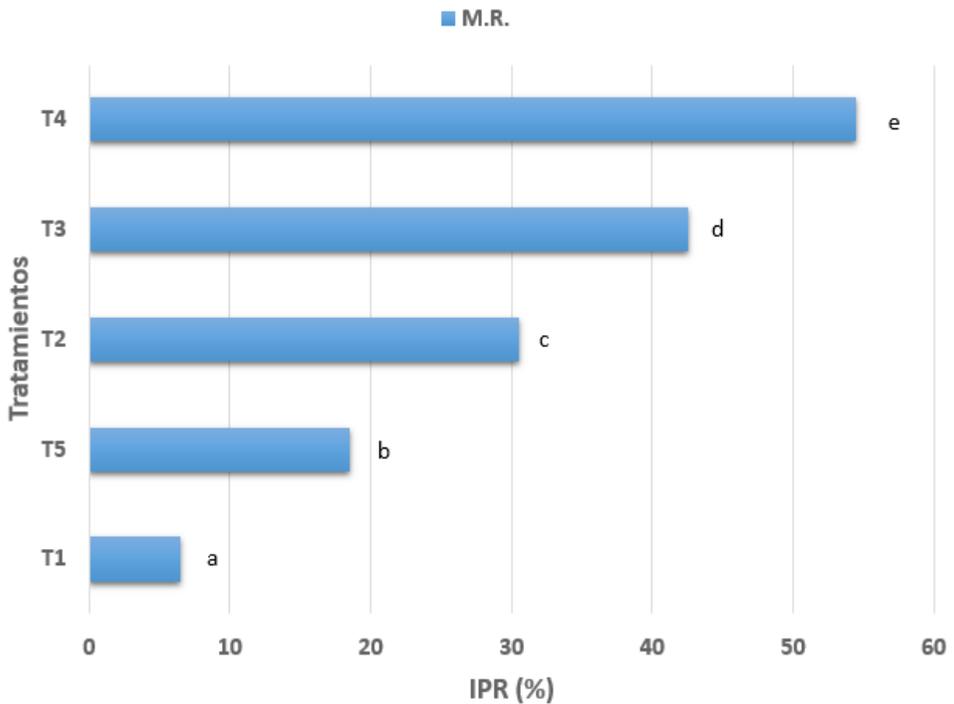


Figura 3. Análisis estadístico del IPR a los 60 días después de plantados los esquejes en el clon CCN-51

Leyenda: M.R. - Media de Rangos según Kruskal-Wallis. IPR - índice de plantas regeneradas.

Letras diferentes en las barras denota diferencias significativas según la Prueba de Comparación Múltiple de Pares Rankeados de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner para un alfa de 0,05. Valor crítico de Comparación de $\pm 5,957$.

En el clon EETP-801 se aprecia que, para este indicador, todos los tratamientos de esquejes tratados con Quitosano tuvieron porcentajes de regeneración superior al 30 % (Tabla 3). Igualmente, estos tratamientos muestran diferencias estadísticas respecto al control absoluto y al tratamiento con producto comercial; pero también exhiben diferencias significativas entre ellos. La variante con mayor índice de plantas regeneradas es en la que se utilizó la mayor dosis de Quitosano (1000 mg/L); siendo este valor superior al 50 %. El tratamiento con 500 mg/L de Quitosano alcanza valores de IPR superiores al 48 %; mientras que T2 exhibe un porcentaje que oscila entre 31 y 37 %.

Tabla 3. Índice de plantas regeneradas del clon EETP-801 a los 60 días después de plantados los esquejes

Tratamiento	IPR (%)	Mín.	Máx.	D.E.	M.R.
T1	9.33	8.00	11.00	1.30	6.50 a
T2	34.00	31.00	37.00	2.55	30.50 c
T3	48.33	48.00	49.00	0.49	42.50 d
T4	57.33	55.00	59.00	1.77	54.50 e
T5	23.00	19.00	26.00	3.07	18.50 b

Legenda: M.R. - Media de Rangos según Kruskall-Wallis; IPR - índice de plantas regeneradas; D.E. - desviación estándar; Mín. - mínimo; Máx. - máximo. Letras diferentes en la columna denota diferencias significativas según la Prueba de Comparación Múltiple de Pares Rankeados de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner para un alfa de 0,05. Valor crítico de Comparación de $\pm 5,957$.

De manera similar a los resultados obtenidos en CCN-51, el IPR en el clon EETP-801 incrementa a medida que aumenta la dosis de Quitosano (Figura 4). Esto se debe a que existe dependencia del indicador respecto a la dosis utilizada del producto. El R^2 ajustado permite asegurar con un 94 % de confianza que el aumento de la dosis del producto eleva el porcentaje de regeneración, lo cual explica la variabilidad del IPR. A la vez, el coeficiente de correlación es 0,97, lo que indica la existencia de una relación relativamente fuerte entre estas variables.

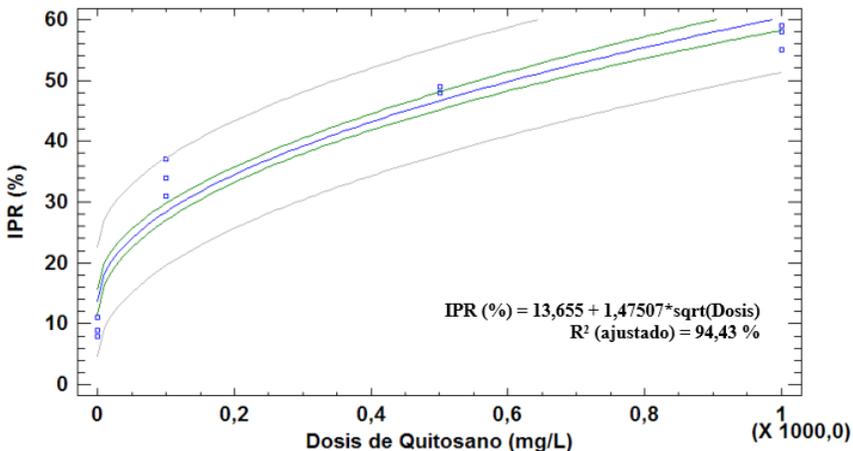


Figura 4. Relación entre la dosis de Quitosano y el IPR en el clon EETP-801 a los 60 días después de plantados. Leyenda: IPR – índice de plantas regeneradas. *La regresión fue ajustada a un modelo raíz cuadrada-X para describir la relación entre variables.

Al contar las hojas de manera visual se observa que, para los dos clones, el promedio de las mismas fue diferente entre los diversos tratamientos (Figura 5). En ambos clones, siempre la menor cantidad de hojas se contabiliza en el control absoluto, no sobrepasando las 12 hojas en ninguno de los esquejes, independientemente del clon; sin embargo, los valores de este indicador fueron inferiores en el clon EETP-801 respecto a CCN-51, excepto en T2. Igualmente, en los esquejes tratados con la dosis menor de Quitosano la cantidad de hojas fue inferior a 15 para los dos clones.

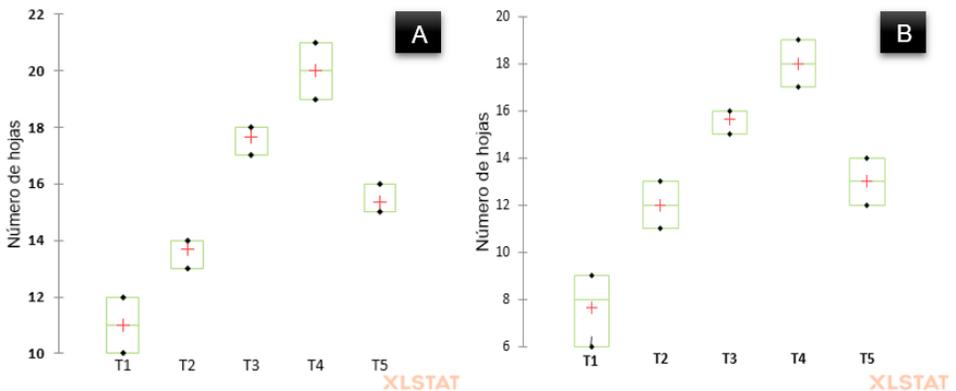


Figura 5. Gráfico de Caja correspondiente al número de hojas en clones de *T. cacao* a los 60 días después de plantados los esquejes. A – Clon CCN-51; B – Clon EETP-801

Respecto a este indicador (número de hojas) en el clon CCN-51 se aprecia que existen diferencias significativas entre todos los tratamientos, ya que no se superponen los valores graficados. La mayor cantidad de hojas fue contada en T4 (21 hojas) seguido de T3 (18 hojas). Al analizar el clon EETP-801, la mayor cantidad de hojas corresponde igualmente al tratamiento T4 (19 hojas); no obstante, los esquejes de este clon exhiben que no hay diferencias significativas entre la cantidad de hojas de T2 (12 hojas) y las de T5 (13 hojas), perteneciendo estos valores a la menor dosis de Quitosano y al tratamiento con Raizyner GNS respectivamente. A pesar de lo descrito,

los tratamientos con Quitosano a las dosis de 500 y 1000 mg/L muestran buenos resultados de este indicador en las plantas regeneradas de los clones.

4. 2. EFECTO DEL QUITOSANO SOBRE EL DESARROLLO DE PLANTAS DE T. CACAO

El Quitosano interviene en el desarrollo de las plantas de cacao enraizadas. La mayor cantidad de raíces siempre fue contada en el tratamiento de los esquejes tratados con 1000 mg/L del producto (T4) independiente al clon evaluado. Igualmente, en los dos clones los tratamientos T2 y T5 no presentan diferencias significativas en este indicador. Para ambos clones la cantidad de raíces en el control absoluto fue de 4,67 raíces como promedio; siendo éste el tratamiento con menor cantidad, exteriorizando diferencias estadísticas con los demás tratamientos (Tabla 4).

Tabla 4. Cantidad de raíces en las plantas de T. cacao provenientes de esquejes enraizados

Tratamiento	CCN-51		EETP-801	
	Cantidad de raíces	M.R.	Cantidad de raíces	M.R.
T ₁	4.67	6.50 a	4.67	8.50 a
T ₂	7.33	22.50 b	7.00	20.50 b
T ₃	9.33	42.50 d	8.33	41.17 d
T ₄	11.67	54.50 e	10.33	54.50 e
T ₅	7.67	26.50 c	6.33	27.83 c

Leyenda: M.R. - Media de Rangos según Kruskall-Wallis. Letras diferentes en la columna denota diferencias significativas según la Prueba de Comparación Múltiple de Pares Rankeados de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner para un alfa de 0,05. Valor crítico de Comparación de $\pm 5,957$.

En CCN-51 la diferencia del promedio de raíces entre T2 y T5 es 0,34, siendo superior en el tratamiento con Raizyner GNS, pero no suficiente para exteriorizar diferencias estadísticas entre esos tratamientos. Un efecto similar ocurre en el clon EETP-801, a pesar de esto, el promedio de raíces fue ligeramente inferior en las plantas de esquejes tratados con Raizyner GNS (0,67). Igualmente, al contar las raíces en las plantas se considera que

ambos productos utilizados (Quitosano y Raizyner GNS) favorecieron el enraizamiento de las estacas.

La curva de la prueba de Kruskal-Wallis para la fracción radical de CCN-51 evidencia que al menos un tratamiento difiere significativamente de los demás (Figura 6). Al comparar las medias de rango, el tratamiento con mayor fracción radical es T4, mostrando diferencias significativas respecto a los demás tratamientos (Figura 7). No obstante, todos los tratamientos mostraron diferencias significativas entre ellos; aunque las plantas provenientes de esquejes tratados con Quitosano fueron las que manifestaron los mayores valores. Además, la fracción radical en este clon nunca supero el 15 %, pero siempre los valores alcanzados en los tratamientos con enraizantes fue mayor del 5 %.

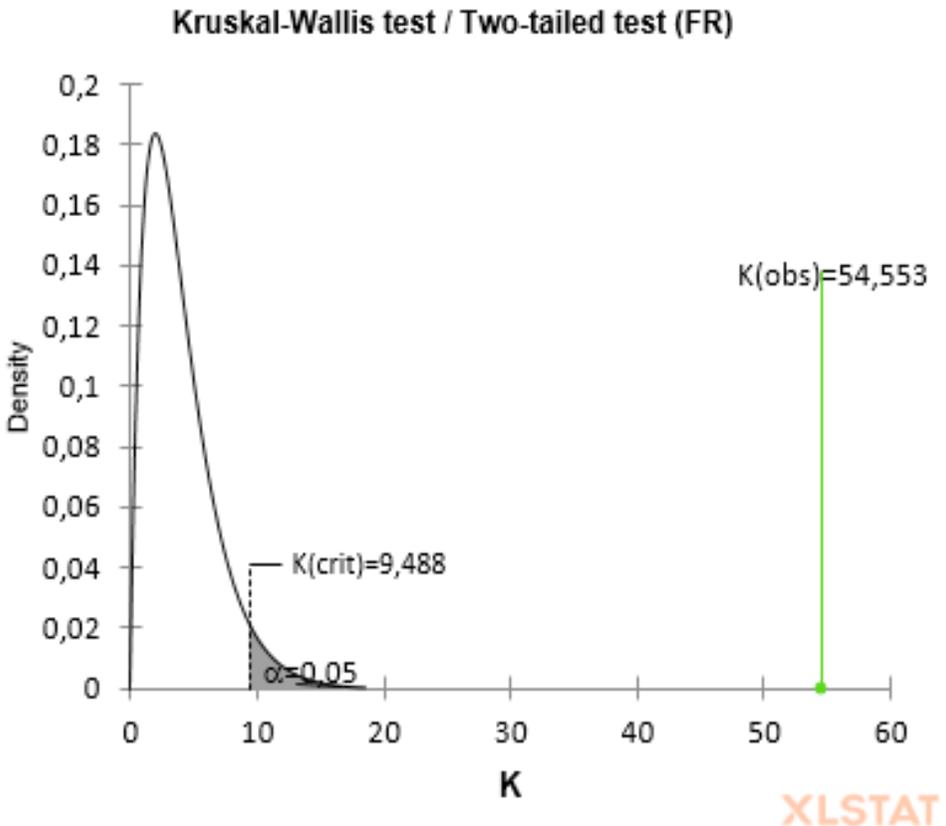


Figura 6. Curva obtenida al realizar la Prueba de Kruskall-Wallis para la fracción radical del clon CCN-51

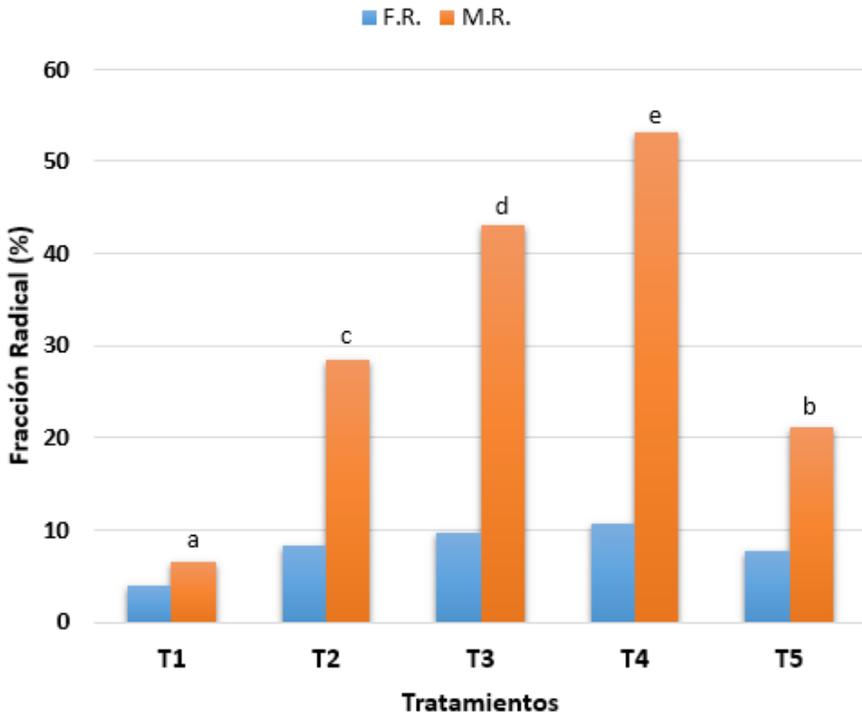


Figura 7. Análisis de la fracción radical a los 90 días después de plantados los esquejes en el clon CCN-51

Leyenda: F.R. - Fracción radical; M.R. - Media de Rangos según Kruskal-Wallis. Letras diferentes en las barras denota diferencias significativas según la Prueba de Comparación Múltiple de Pares Rankeados de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner para un alfa de 0,05. Valor crítico de Comparación de $\pm 3,068$.

Al evaluar este indicador en EETP-801 se estima que, al igual que en CCN-51, en este clon también existen diferencias significativas entre los tratamientos según los resultados obtenidos a través de la curva estadística (Figura 8). No obstante, los resultados alcanzados en este clon son ligeramente inferior, pero este valor estuvo por encima del 5 % en los tratamientos con enraizantes (Figura 9). Independientemente a lo descrito, la fracción radical en los dos clones fue similar en cada tratamiento, lo que demuestra que los valores alcanzados no dependieron del clon, pero sí de los productos y dosis utilizadas.

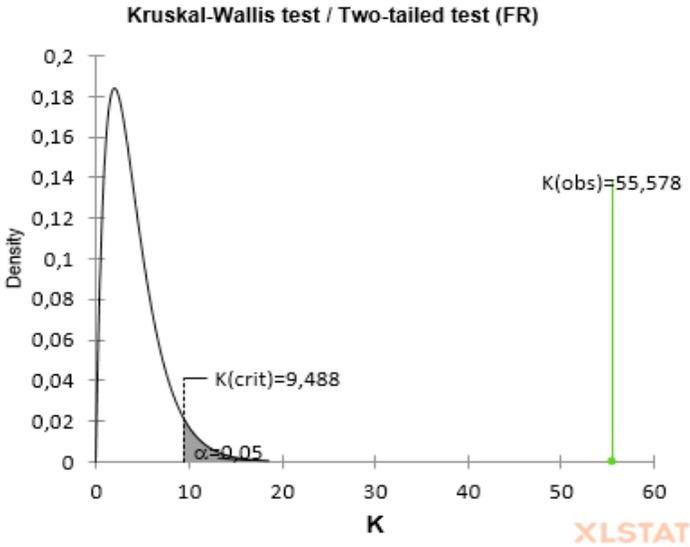


Figura 8. Curva obtenida al realizar la Prueba de Kruskal-Wallis para la fracción radical del clon EETP-801

El mejor tratamiento al analizar la biomasa fresca de las raíces en el clon CCN-51 es T4, presentando diferencias significativas con los demás tratamientos (Tabla 5). El segundo tratamiento que muestra resultados elevados es T3, pero este no muestra diferencias estadísticas con T2 y a la vez, T2 no tiene diferencias con T5. En todos los tratamientos con bioestimulantes el peso de las biomazas frescas fue superior a 4 g, no siendo así en el tratamiento control absoluto que nunca el peso supero este valor.

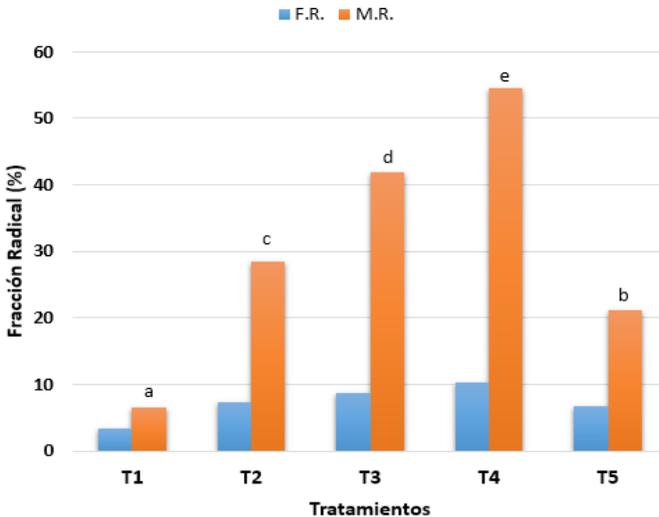


Figura 9. Análisis de la fracción radical en las plantas enraizadas del clon EETP-801.

Leyenda: F.R. - Fracción radical; M.R. - Media de Rangos según Kruskal-Wallis. Letras diferentes en las barras denota diferencias significativas según la Prueba de Comparación Múltiple de Pares Rankeados de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner para un alfa de 0,05. Valor crítico de Comparación de $\pm 3,068$.

Tabla 5. Biomasa fresca de las raíces en el clon CCN-51

Variable	Min.	Máx.	Biomasa fresca (g)	D.E.	M.R.
T1	2.60	3.30	3.03	0.32	6.50 a
T2	4.30	5.50	4.77	0.54	29.83 c
T3	4.60	5.80	5.20	0.51	39.83 d
T4	5.90	6.50	6.20	0.25	54.50 e
T5	4.20	4.50	4.37	0.13	21.83 b

Leyenda: M.R. - Media de Rangos según Kruskal-Wallis; Min - mínimo; Máx. - máximo; D.E. - desviación estándar. Letras diferentes en la columna denota diferencias significativas según la Prueba de Comparación Múltiple de Pares Rankeados de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner para un alfa de 0,05. Valor crítico de Comparación de $\pm 5,957$.

En el clon EETP-801 los mejores tratamientos fueron T4 y T3, los cuales no tienen diferencias significativas entre ellos, pero si respecto a los otros tratamientos (Tabla 6). T2, T5 y T1 tienen diferencias entre ellos, siendo T1 el de resultados más pobres. Los valores de desviación estándar son bajos, lo cual demuestra la precisión de los datos porque el promedio de los valores en cada tratamiento está cerca de la predicción. En el tratamiento con Raizyner GNS el peso de la biomasa fresca no supera los 4 g, siendo este un valor inferior a los obtenidos con la menor dosis de Quitosano.

Tabla 6. Biomasa fresca de las raíces a los 90 días después de plantados los esquejes en el clon EETP-801

Variable	Mín.	Máx.	Biomasa fresca (g)	D.E.	M.R.
T1	2.30	2.80	2.53	0.21	6.50 a
T2	4.70	5.10	4.86	0.17	30.50 c
T3	5.60	5.90	5.76	0.13	47.17 d
T4	5.70	6.10	5.86	0.17	49.83 e
T5	3.60	4.00	3.80	0.17	18.50 b

Leyenda: M.R. - Media de Rangos según Kruskal-Wallis; Mín - mínimo; Máx. - máximo; D.E. - desviación estándar. Letras diferentes en la columna denota diferencias significativas según la Prueba de Comparación Múltiple de Pares Rankeados de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner para un alfa de 0,05. Valor crítico de Comparación de $\pm 5,957$.

En correspondencia con los resultados obtenidos en la biomasa fresca de las raíces, la biomasa seca de este órgano de la planta fue superior en el tratamiento T4 (esquejes tratados con 1000 mg/L de Quitosano). Este tratamiento muestra diferencias significativas respecto a los otros tratamientos evaluados. Igualmente, todos los tratamientos muestran diferencias estadísticas entre ellos (Tabla 7). Al analizar el coeficiente de variación (relación entre el tamaño de la media y la variabilidad de la variable) se aprecia que los valores obtenidos son bajos, demostrando la homogeneidad existente en los datos tomados. No obstante, en todos los tratamientos el peso de la biomasa seca fue superior a 0,5 g.

Tabla 7. Biomasa seca de las raíces de plantas enraizadas pertenecientes al clon CCN-51 a los 90 días después de plantado los esquejes

Tratamiento	Biomasa seca de la raíz (g)	D.E.	C.V. (%)	Mín.	Máx.
T1	0.52 a	0.01	2.48	0.51	0.55
T2	0.72 d	0.01	1.80	0.71	0.78
T3	0.87 c	0.01	1.49	0.86	0.90
T4	1.16 e	0.00	0.73	1.15	1.21
T5	0.66 b	0.01	2.23	0.65	0.70
E.E.	± 0.0036				

Leyenda: D.E. – desviación estándar; C.V. – coeficiente de variación (%); Mín – mínimo; Máx – máximo. a, b, c, d, e - letras diferentes en la columna, exhiben diferencias significativas según Tukey HSD para $p \leq 0,05$.

Pese a lo expuesto, al analizar los datos mediante la Prueba de Comparación Múltiple de Pares Rankeados de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner se observa que existen diferencias entre los tratamientos con Quitosano en el clon EETP-801 debido a que T4 difiere de T3 y ambos presentan diferencia con T2 (Tabla 8). Igualmente, estos tratamientos difieren significativamente con el control absoluto, lo que confirma el efecto positivo que ejerce este bioestimulante sobre el indicador analizado. Además, T5 expresan diferencias con los otros tratamientos aun cuando es un producto comercial recomendado para el enraizamiento de esquejes.

Al prestar atención a la biomasa seca de la raíz del clon EETP-801 se muestra que el tratamiento con Raizyner GNS tuvo más peso que en CCN-51; sin embargo, los resultados obtenidos en ambos tratamientos con este producto son inferiores a los obtenidos en los tratamientos con Quitosano, independientemente a la dosis utilizada. La respuesta obtenida en T2 fue superior a la esperada porque casi no se aprecian diferencias entre el promedio de biomasa seca obtenido en este tratamiento respecto a la dosis 500 mg/L de Quitosano (T3). No obstante, los resultados obtenidos confirman el efecto positivo que ejerce el Quitosano sobre los valores que se obtienen en este parámetro.

Tabla 8. Biomasa seca de las raíces de plantas enraizadas pertenecientes al clon EETP-801

Tratamiento	Biomasa seca de la raíz (g)	D.E.	C.V. (%)	Mín.	Máx.	M.R.
T1	0.62	0.00	1.37	0.62	0.65	6.50 a
T2	0.81	0.02	3.15	0.88	0.93	31.83 c
T3	0.85	0.02	2.51	1.12	1.18	41.17 d
T4	1.09	0.02	1.80	0.75	0.83	54.50 e
T5	0.73	0.01	2.42	0.71	0.74	18.50 b

Leyenda: M.R. - Media de Rangos según Kruskall-Wallis; Mín - mínimo; Máx. - máximo; D.E. - desviación estándar; C.V. - Coeficiente de Variación. Letras diferentes en la columna denota diferencias significativas según la Prueba de Comparación Múltiple de Pares Rankeados de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner para un alfa de 0,05. Valor crítico de Comparación de $\pm 3,068$.

El mejor tratamiento al analizar la biomasa fresca de las hojas en los clones es T4, exhibiendo diferencias significativas con los demás tratamientos (Tabla 9). Igualmente, en ambos clones el segundo tratamiento con mejores resultados es T3, presentando diferencias significativas con el resto de los tratamientos. Tanto en CCN-51 como en EETP-801 los tratamientos T2 y T5 no expresan tener diferencias significativas. Este resultado muestra como las plantas obtenidas de esquejes tratados con la dosis de 100 mg/L de Quitosano tienen un desarrollo similar a las que se obtienen con 200 mg/L del producto comercial utilizado. Algo importante es que los valores fueron muy similares en ambos clones, demostrando la estabilidad de los tratamientos aplicados y homogeneidad del material vegetal utilizado de ambos clones.

Tabla 9. Biomasa fresca de las hojas a los 90 días después de plantados los esquejes de T. cacao

Tratamiento	CCN-51		EETP-801	
	Biomasa fresca (g)	M.R.	Biomasa fresca (g)	M.R.
T ₁	10.73	6.50 a	9.06	6.50 a
T ₂	12.76	23.83 b	11.16	21.17 b
T ₃	13.93	41.17 d	12.86	42.50 d
T ₄	16.36	54.50 e	16.96	54.50 e
T ₅	12.83	26.50 c	11.76	27.83 c

Leyenda: M.R. - Media de Rangos según Kruskall-Wallis. Letras diferentes en las columnas denota diferencias significativas según la Prueba de Comparación Múltiple de Pares Rankeados de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner para un alfa de 0,05. Valor crítico de Comparación de $\pm 3,068$.

En los dos clones, la biomasa fresca de todos los tratamientos fue superior a los 5 g, pero este valor, en T4 estuvo por encima de los 15 g, lo que demuestra la efectividad del mismo. Pese a lo expuesto, al interpretar los resultados obtenidos en la biomasa seca de las hojas queda demostrado que, en este parámetro, el mejor tratamiento en el clon CCN-51 sigue siendo T4, exhibiendo diferencias significativas con el resto de los tratamientos utilizados, con valores superiores a 4,5 g como promedio. Conjuntamente, los resultados obtenidos en los tratamientos T3 y T5 son similares, con valores superiores a 3,5 g, no existiendo diferencias estadísticas entre ellos, pero si respecto a T2 y T1 (Figura 10). Sin embargo, en todos los tratamientos con enraizantes el peso seco de las hojas fue superior a 3 g, no alcanzándose este valor en el tratamiento control absoluto.

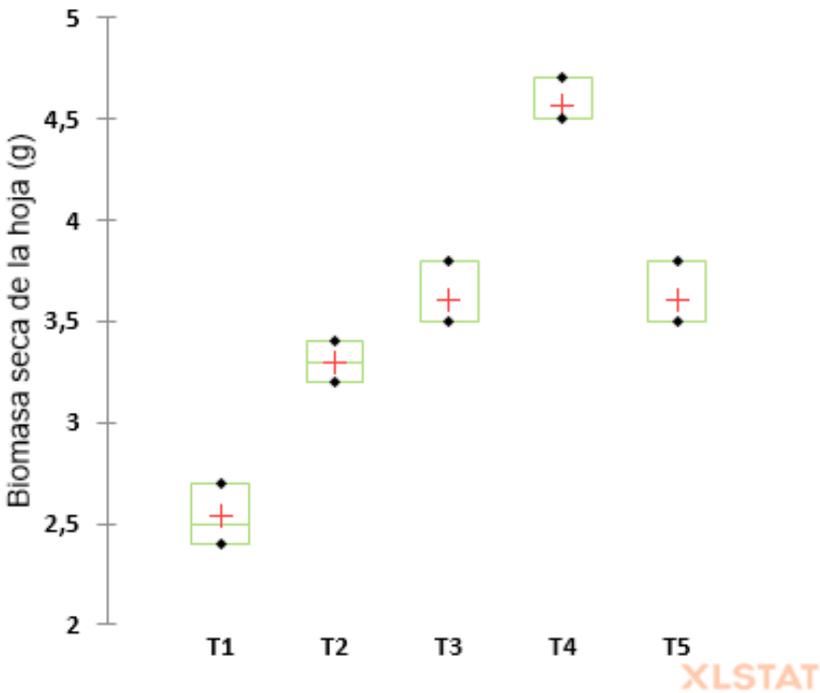


Figura 10. Gráfico de Caja correspondiente al peso de la biomasa seca de las hojas en el clon CCN-51 de T. cacao a los 90 días después de plantados los esquejes

El clon EETP-801 muestra que la biomasa seca de las hojas presenta diferencias entre los tratamientos. En este clon el control absoluto no sobrepasó los 2,3 g como promedio, mientras que en T1 este valor osciló

entre 2,6 y 3,1 g (Figura 11). El mayor valor alcanzado es obtenido en el tratamiento T4 con la dosis de 1000 mg/L, donde la cantidad de soluto presente en las hojas fue de casi 5 g y nunca este valor estuvo por debajo de 4,5 g. Pese a lo expuesto, T3 y T5 no muestran diferencias significativas al igual que T5 respecto a T2. Este resultado demuestra que los valores alcanzados en el tratamiento T5 se encuentran más dispersos a los logrados con el Quitosano, lo que a su vez pone a la vista la estabilidad presente en la respuesta de los esquejes y plantas de los clones al tratamiento de Quitosano. El tratamiento con Raizyner GNS no sobrepasó en ninguna de las réplicas los 3,6 g como promedio.

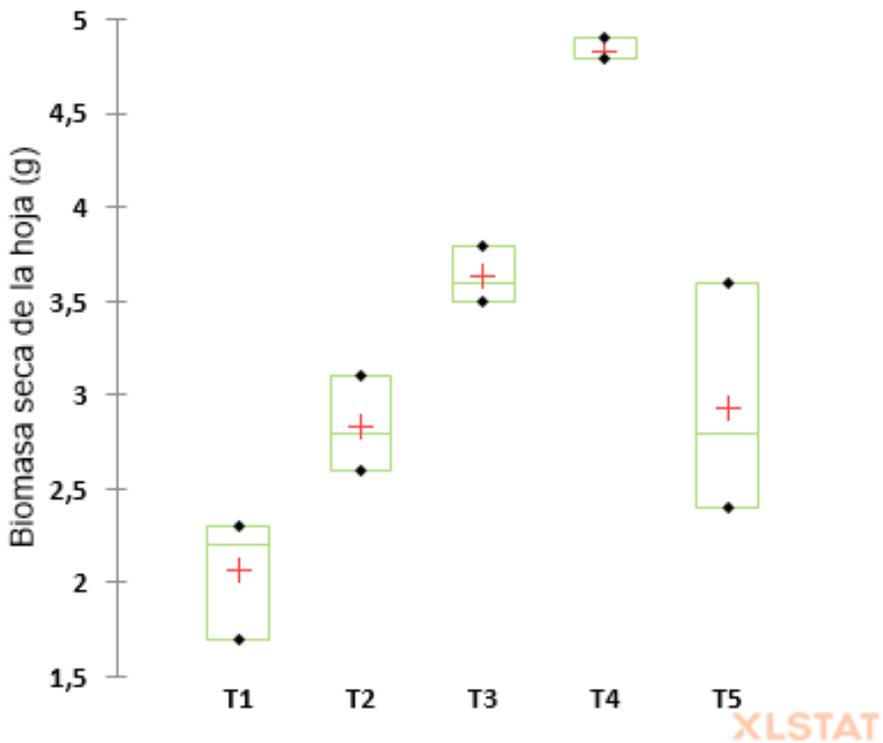


Figura 11. Gráfico de Caja correspondiente al peso de la biomasa seca de las hojas en el clon EETP-801 de *T. cacao* a los 90 días después de plantados los esquejes

La biomasa seca del tallo es menor en el control absoluto, sin embargo, los resultados muestran que los tratamientos con Quitosano tienen más de 0,6 g como promedio en el clon CCN-51. El mayor peso de la

biomasa seca del tallo se alcanza cuando se aplica la dosis de 1000 mg/L de Quitosano; sin embargo, los resultados obtenidos en este tratamiento son seguidos por T2, donde se aplicó solo 100 mg/L del producto (Tabla 10). En los tratamientos con bioestimulantes el peso de la biomasa seca del tallo siempre es superior a 0,5 g, valor este que no es alcanzado por las plantas del tratamiento control absoluto.

Tabla 10. Biomasa seca del tallo en el clon CCN-51 a los 90 días después de plantados los esquejes

Tratamiento	Biomasa seca (g)	Mín.	Máx.	D.E.
T1	0.41	0.40	0.43	0.01
T2	0.71	0.68	0.75	0.03
T3	0.63	0.62	0.65	0.01
T4	0.86	0.85	0.89	0.01
T5	0.61	0.58	0.64	0.02

Leyenda: Mín. – mínimo; Máx. – máximo; D.E. – desviación estándar.

Al analizar estadísticamente los datos obtenidos en este clon no se observan diferencias estadísticas entre T3 y T5; pero estos tratamientos si difieren con los restantes (Figura 12). Indistintamente, los resultados obtenidos en el clon EETP-801 confirman los alcanzados en el clon CCN-51. En EETP-801 los tratamientos T5 y T3 no difieren estadísticamente, pero éstos sí muestran diferencias significativas con los otros tratamientos. A pesar de lo expuesto, el tratamiento con resultados superiores es T4 (Tabla 11) con pesos que superan los 0,7 g de biomasa seca. En el tratamiento con Raizyner GNS este valor siempre sobrepaso los 0,5 g como promedio al igual que en T3 (tratamiento de esquejes tratados con 500 mg/L de Quitosano). A diferencia del CCN-51, en este clon la biomasa seca del tallo en el tratamiento control no alcanza los 0,4 g.

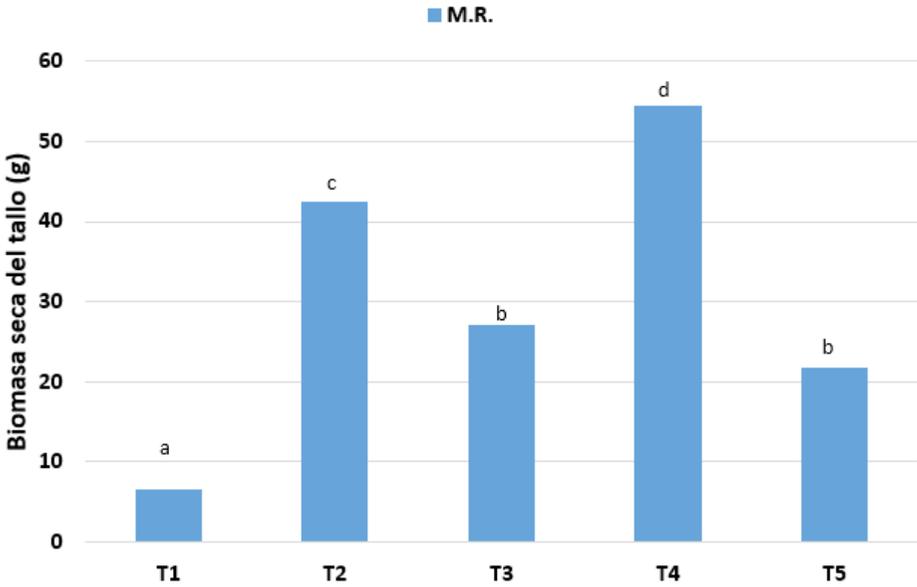


Figura 12. Análisis estadístico de la biomasa seca del tallo en plantas enraizadas del clon CCN-51

Leyenda: M.R. - Media de Rangos según Kruskal-Wallis. Letras diferentes en las columnas denota diferencias significativas según la Prueba de Comparación Múltiple de Pares Rankeados de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner para un alfa de 0,05. Valor crítico de Comparación de $\pm 3,068$.

Al analizar la dependencia existente entre las variables para ambos clones se aprecia que el peso de la biomasa seca del tallo se subordina a la dosis del producto (Figura 13). Para ambos modelos el R^2 ajustado permite asegurar con más de un 95 % de confianza que el aumento de la dosis del producto eleva el porcentaje de regeneración, aunque este porcentaje va a disminuir en dosis comprendidas entre 250 a 800 mg/L de Quitosano, aumentando los resultados con dosis superiores a los 800 mg/L.

Tabla 11. Biomasa seca del tallo en el clon CCN-51 a los 90 días después de plantados los esquejes

Tratamiento	Biomasa seca (g)	E.E. (±)	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
T1	0.38 a	0.00	0.36	0.40
T2	0.63 d	0.00	0.62	0.64
T3	0.53 c	0.00	0.52	0.54
T4	0.73 e	0.00	0.72	0.74
T5	0.53 b	0.00	0.52	0.53

a, b, c, d - letras en común en la columna titulada Biomasa seca (g), no presentan diferencias significativas según Tukey HSD para $p \leq 0,05$.

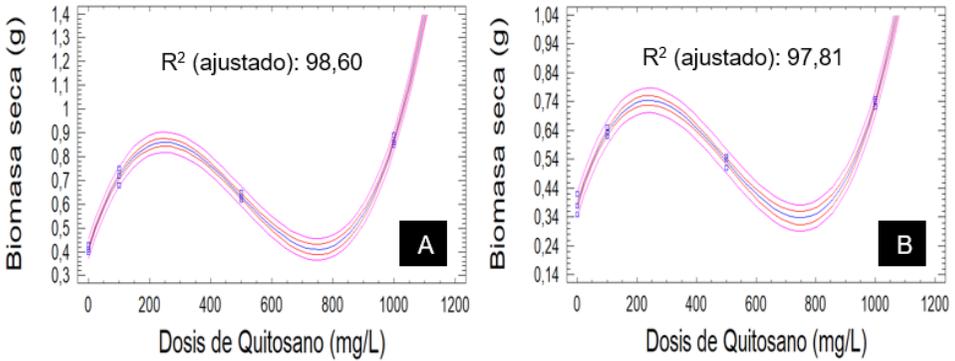


Figura 13. Relación entre la dosis de Quitosano y la Biomasa seca del tallo.

A - Clon CCN-51; B - Clon EETP-801

*La regresión polinomial fue ajustada a un de grado 3 para describir la relación entre variables.

DISCUSIÓN

5.1. INFLUENCIA DEL QUITOSANO SOBRE LA CAPACIDAD REGENERATIVA DE LOS ESQUEJES DE T. CACAO

El Quitosano aumentó significativamente el índice de plantas regeneradas respecto al control absoluto y al tratamiento de esquejes con el producto comercial Raizyner GNS, independientemente a la dosis utilizada y al clon evaluado. Ninguno de los tratamientos evaluados alcanzó la regeneración del 100 % de los esquejes.

Diversas investigaciones expresan que es difícil la propagación por

esquejes de *T. cacao* (Gomes et al., 2015); sin embargo, en la dosis de 1000 mg/L de Quitosano este valor estuvo por encima del 50 %, lo cual confirma el potencial que posee esta sustancia en la regeneración de los esquejes. A la vez, estos resultados confirman que este producto estimula el cultivo, resultado similar al obtenido en cultivos como el tomate (Terry et al., 2019). Al apreciarse valores de IPR superiores al 30 % para ambos clones en los tratamientos de Quitosano se demuestra la efectividad de este producto en el enraizamiento de esquejes.

La aplicación del producto comercial Raizyner GNS, solo tuvo un índice de regeneración que oscila entre 28 y 30 % para el clon CCN-51 y del 19 al 26 % para EETP-801, inferiores a los valores obtenidos con Quitosano, a pesar de ser un producto recomendado para el enraizamiento de estacas. Este resultado confirma los estudios realizados por varios investigadores que muestran como las Oligosacarinas tienen efecto auxínico en plantas y es un estimulante del enraizamiento, crecimiento y diferenciación celular de diferentes especies de plantas (Rodríguez et al., 2019).

Los oligogalacturónidos son considerados biorreguladores del desarrollo de las plantas. Estas sustancias pueden regular la síntesis y acción de las hormonas, así como distintos procesos de organogénesis y crecimiento; a la vez, se involucran en el crecimiento y la formación de raíces laterales, raíces adventicias y diferenciación celular (Acosta et al., 2018) y (Reyes et al., 2021). No obstante, algunos investigadores refieren que se comportan como antagonistas del ácido indol-acético, interactuando con los sitios de enlace de las auxinas en la membrana celular. Con todo, se ha demostrado que la aplicación de este compuesto puede sustituir el uso de hormonas vegetales en la propagación vegetativa comercial de cultivos (Izquierdo et al., 2009) y (Reyes et al., 2021).

El índice de plantas regeneradas en otras investigaciones ha arrojado resultados superiores, pero esos estudios refieren la necesidad de sumergir la parte inferior del tallo durante 24 horas en el enraizante (Ibargüen, 2021); sin embargo, el contacto con el Quitosano durante 15 minutos propició el enraizamiento de más del 50 % de las plantas a la dosis de 1000 mg/L. al considerar estos resultados se aprecia que el uso del Quitosano responde a la búsqueda de nuevas alternativas para disminuir los costos de producción sin afectar la calidad y los rendimientos del cultivo, garantizando la clonación de plantas altamente productoras.

Al analizar la cantidad de hojas se aprecia que el tratamiento con el

producto comercial Raizyner GNS fue superior en el clon CCN-51 al tratamiento con la menor dosis de Quitosano y en el clon EETP-801 no existieron diferencias entre estos tratamientos, pero las dosis superiores de Quitosano favorecieron el desarrollo de hojas, mostrando diferencias con el testigo absoluto. El área foliar del árbol de *T. cacao* define la capacidad para interceptar la radiación solar (fuente primaria de energía utilizada por las plantas).

El área foliar es sinónimo de potencial fotosintético e influye en todos los procesos de la planta; además, se relaciona con procesos agronómicos, biológicos, ambientales y fisiológicos (Leiva et al., 2019). Por eso, el número de hojas de los esquejes enraizados es un factor importante a considerar, ya que favorece el desarrollo posterior de la planta. Mayor cantidad de hojas es sinónimo a mayor área fotosintética.

Los OGAs en cultivos como la papa, favorece la inducción de estolones (Mompie et al., 2017); sin embargo, los resultados obtenidos muestran que también favorece la producción de hojas en esquejes de *T. cacao*. Los bioestimulantes son beneficiosos como sustitutos de productos químicos. Estos actúan sobre las plantas, inducen mecanismos defensivos en las mismas, estimulan el crecimiento vegetal y no dañan al ambiente (Mederos & Hormaza, 2008). Por lo expuesto, el Quitosano puede ser utilizado en la regeneración de estacas de cacao porque favorece la misma.

5. 2. EFECTO DEL QUITOSANO SOBRE EL DESARROLLO DE PLANTAS DE T. CACAO

En los dos clones evaluados la cantidad de raíces fue mayor cuando se utilizaron dosis de 500 y 1000 mg/L de Quitosano, exhibiendo diferencias con el tratamiento Raizyner GNS. La necesidad de aumentar los porcentajes de enraizamiento y el desarrollo de las plantas requieren de estudios profundos (Matamoros et al., 2020) y la evaluación de diversos enraizantes es necesario para conocer el efecto que ejercen los mismos sobre los esquejes de las plantas a ser propagadas.

El uso de sustancias auxínicas durante la fase de enraizamiento es un método simple y eficiente (Matamoros et al., 2020). Los enraizantes, además de tener efectos estimulantes en el enraizamiento, también estimulan el crecimiento y desarrollo de la planta, con un efecto dependiente de la concentración utilizada. Las oligosacarinas pueden ejercer un efecto auxínico o citoquinínico en dependencia del balance hormonal existente (Mederos & Hormaza, 2008).

Para la iniciación de raíces se utilizan especialmente las auxinas (Alvarado-Aguayo & Munzón-Quintana, 2020). Estas hormonas regulan el crecimiento vegetal y favorecen la multiplicación celular (Flores & Plantas, 2017). No obstante, las concentraciones que se utilizan deben ser muy bajas debido a la alta toxicidad que poseen para el material vegetal en elevadas dosis (Osorio et al., 2017). Al igual que las auxinas, el Quitosano tiene un efecto positivo en la activación del crecimiento de plantas, pero a este efecto se le suma la formación de raíces con la posibilidad de garantizar un suministro eficiente de agua y sales minerales (Acosta et al., 2018). La aplicación de Quitosano a fragmentos de tejidos y esquejes de distintos cultivos, estimula el enraizamiento, acelera el crecimiento vegetal e induce procesos metabólicos que favorecen la defensa de la planta contra diversas enfermedades (Falcón et al., 2015).

Sin embargo, investigaciones recientes han demostrado que altas dosis de quitosano aplicado a la rizosfera de varias especies de plantas, causa reducción del desarrollo de las raíces de las plantas como resultado de provocar la acumulación de ácido indolacético en la raíz por la vía de biosíntesis dependiente del triptófano y reprimir el principal gen involucrado en la translocación de este compuesto en la raíz (Reyes et al., 2021).

La mayor biomasa fresca de hojas fue obtenida con la aplicación de Quitosano a 1000 mg/L, resultado este que se debe al efecto que ejerce el producto sobre la absorción de agua, beneficiando la turgencia celular. Igualmente, esta dosis logró alcanzar mayor cantidad de hojas, factor que influye directamente sobre la biomasa de las mismas. El tratamiento con Quitosano a 1000 mg/L alcanzó elevados valores de biomasa seca de hojas, raíz y tallo, lo cual tiene implicaciones prácticas para las plantaciones porque las plántulas procedentes del vivero, al tener mayor biomasa, potencialmente tienen un crecimiento más acelerado.

Comercialmente son varias las hormonas de crecimiento vegetal que se utilizan; algunas, como el ácido beta-indol butírico, estimulan la formación de raíces y regeneración de plantas, a partir de esquejes. Sin embargo, el alto costo de estos productos propicia la búsqueda de nuevas alternativas (Cordero et al., 2014). Los esquejes tratados con Raizyner GNS, en comparación con los sumergidos en las mayores dosis de Quitosano, reflejaron generalmente resultados inferiores en las variables evaluadas, a pesar de ser un producto comercial recomendado para el tratamiento a los esquejes. Los bajos resultados obtenidos en el tratamiento con Raizyner GNS

puede estar dado al poco tiempo de contacto entre la base de los esquejes y el producto porque diversas investigaciones refieren que este tiempo debe ser mayor para obtener buenos resultados (Armijos, 2017); Cajamarca et al., 2017) y (Terán, 2019).

Los OGAs influyen positivamente en el enraizamiento y aclimatización de las plantas. Estudios realizados en papaya (*Carica papaya* L.) garantizaron mayor área foliar, masa fresca, número de raíces, tasa fotosintética, conductancia estomática, porcentaje de enraizamiento y menor porcentaje de estomas abiertos respecto al control (Posada et al., 2016). Adicionalmente, el Quitosano tiene efecto positivo en la activación del crecimiento de plantas, incrementando el desarrollo foliar y con ello, la producción de soluto y el rendimiento del cultivo. Los OGAs promueven el proceso de crecimiento y desarrollo de distintos órganos en las plantas y los procesos fisiológicos (Acosta et al., 2018).

La Quitina es el mayor compuesto del exoesqueleto de animales marinos invertebrados (Azuma et al., 2015) y (Khan et al., 2017) y se caracteriza por tener propiedades antibacterianas, antifúngicas, biodegradabilidad, biocompatible; sin embargo, es poco soluble, lo cual hace que aumente el valor del Quitosano (Sayari et al., 2016).

El Quitosano induce la resistencia sistémica en las plantas y favorece el desarrollo de las mismas. Este compuesto es inocuo, biodegradable (Fundoral et al., 2016) y posee gran potencial en la agricultura como bioestimulante, aunque también se ha probado que induce una serie de reacciones de defensa en la planta contra diversos organismos (Acosta et al., 2018).

La solubilidad del quitosano ha hecho posible su aplicación en las plantas, estimulando el desarrollo foliar y el rendimiento de diversos cultivos. A este desarrollo foliar se le suma la formación de raíces con la posibilidad de garantizar un suministro eficiente de agua y sales minerales (Acosta et al., 2018). Debido a lo expuesto, los resultados de este trabajo poseen gran importancia debido a la aplicabilidad que tienen en el cultivo de ambos clones de *T. cacao*, siendo muy similares a los resultados obtenidos con OGAs en cultivos como plátano, guayaba y plantas ornamentales (Cabrera et al., 2013). No obstante, se necesita evaluar las concentraciones y la manera de aplicación de los OGAs para obtener respuestas fisiológicas y bioquímicas dirigidas a mejorar el desarrollo de los cultivos, además de aumentar el rendimiento y la calidad de estos (Acosta et al., 2018).

Para Ecuador la obtención de plántulas aptas para establecer plantaciones mediante mejoras en la propagación sigue siendo uno de los procesos más importantes, ya que garantizaría una buena producción (Peña López, 2019). En la práctica, la propagación vegetativa a través de esquejes permite conservar la constitución genética de la planta madre (Borges et al., 2015). Sin embargo, es necesario mejorar la eficacia en la regeneración de las plantas (Cajamarca et al., 2017). Los OGAs son una alternativa a ese problema y dentro de ellos, el Quitosano se clasifica como una sustancia muy activa (Mederos & Hormaza, 2008).

Algunos experimentos para producir estacas de *T. cacao* a gran escala han utilizado dosis 400 ppm de ácido indolbutírico (IBA) reportándose el 86 % plantas enraizadas (Mata, 2006). Igualmente, se han logrado el 98,25 %, 70,83 % y 59,16 % de enraizamiento en estacas semileñosas de cacao, con dosis de 600 ppm, 200 ppm y 100 ppm de IBA respectivamente (Luna, 2003); pero los resultados se han obtenido cuando los esquejes han sido sometidos durante 24 horas a estos productos.

En este trabajo el material vegetal fue tratado solamente 15 minutos con Quitosano por lo que estos resultados justifican el uso del bioestimulante. Debido a la eficacia, bajo costo y disponibilidad de materia prima que tiene este producto otros investigadores muestran interés por el mismo (Guarnizo et al., 2020).

CAPÍTULO V



CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- El Quitosano aplicado a la zona basal de los esquejes de los clones CCN-51 y EETP-801 estimula el enraizamiento de los esquejes al contribuir con la regeneración de las plantas en condiciones de propagación vegetativa e incrementar la cantidad de hojas en ellas.
- El índice de regeneración de las plantas de T. cacao en el tratamiento de Quitosano a dosis de 1000 mg/L es superior al índice alcanzado con el producto comercial Raizyner GNS, lo que demuestra la efectividad del Quitosano en el tratamiento a esquejes de cacao.
- El Quitosano influye positivamente en la activación del crecimiento de las plantas e incrementa la biomasa de raíz, tallo y hojas; estos efectos son superiores a la dosis de 1000 mg/L.
- Es factible el tratamiento con Quitosano a los esquejes de los clones CCN-51 y EETP-801 debido a que este producto influye positivamente en el crecimiento de las plantas enraizadas, en condiciones de propagación vegetativa.

RECOMENDACIONES

- Utilizar el Quitosano en la propagación vegetativa de los clones CCN-51 y EETP-801.
- Evaluar otras dosis del producto en el enraizamiento de otros clones de *T. cacao*.
- Evaluar el efecto que ejercen los periodos de exposición de los esquejes al Quitosano sobre el índice de regeneración de las plantas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abad, A., Acuña, C., & Naranjo, E. (2020). El cacao en la Costa ecuatoriana: estudio de su dimensión cultural y económica. *Estudios de la Gestión*(7), 59-83. doi:<https://doi.org/10.32719/25506641.2020.7.3>
- ACEPROCACAO. (2012). Proyecto de Fortalecimiento de la Asociación Ecuatoriana de Cacao Nacional Fino de Aroma. Ecuador.
- Acosta, D. L., Menéndez, D. C., & Rodríguez, A. F. (2018). Los oligogalacturónidos en el crecimiento y desarrollo de las plantas. *Cultivos Tropicales*, 39(2), 127-134. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362018000200020
- Addinsoft. (2021). XLSTAT statistical and data analysis solution. New York, USA. Recuperado el 12 de Agosto de 2021, de <https://www.xlstat.com>
- Alvarado, D., Pérez, J., Velásquez, G., & Velásquez, M. (2017). Manual de polinizaciones controladas en cacao. Guatemala: IIDESO; USAC. Recuperado el 28 de Julio de 2021
- Alvarado-Aguayo, A., & Munzón-Quintana, M. (2020). Evaluación de la efectividad de gel de sábila y agua de coco como enraizantes naturales en diferentes sustratos para propagación asexual de árboles de ficus benjamina. *Agronomía Costarricense*, 44(1), 65-77. doi:10.15517/RAC.V44I1.40002
- ANACAFE. (2004). Cultivo de cacao. Programa de diversificación de ingresos en la empresa cafetalera. 23 p. Guatemala: ANACAFE. Recuperado el 28 de Julio de 2021
- ANECACAO. (2015). Estadísticas, boletín estadístico mensual. Recuperado el 25 de Julio de 2021, de <http://www.anecacao.com/es/estadisticas/>
- Armijos, J. A. (2017). Efectos de dos hormonas enraizantes sobre estacas de Cacao (*Theobroma cacao* L.) de la variedad CCN 51 en la zona de Matilde Esther, en la Provincia Del Guayas. Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Ambato.

- Arroyo, D. E. (2013). Enraizamiento de esquejes para la producción de plantas de café variedad robusta *Coffea canephora*. Trabajo De Investigación Como Requisito Para Optar El Título De Ingeniero Agrónomo, Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ingeniería Agronómica, Ambato, Ecuador.
- Azuma, K., Izumi, R., Osaki, T., Ifuku, S., Morimoto, M., Saimoto, H., . . . Okamoto, Y. (2015). Chitin, chitosan and its derivatives for wound healing: old and new materials. *J. Funct. Biomater*, 6, 104-142.
- Bartley, B. (2005). The genetic diversity of cacao and its utilization. 357 p. Massachusetts, EE.UU.: Cabi Publishing.
- Batista, L. (2009). Guía Técnica el Cultivo de Cacao en la República Dominicana. Santo Domingo, República Dominicana: CEDAF.
- Bond, T. J. (2011). Teas, Cocoa and Coffee: Plant Secondary Metabolites and Health. London, England: Wiley-Blackwell.
- Borges, M., Reyes, D., Zayas, J., & Destrade, R. (2015). Efecto de Pectimorf en el enraizamiento in vitro de plantas de "FHIA-18" (*Musa AAAB*). *Biotecnología Vegetal*, 15(4), 227-232.
- Cabrera, J. C., Nápoles, M. C., Falcón, A., Costales, D., Diosdado, E., González, S., . . . Wattiez, R. (2013). Practical use of oligosaccharins in agriculture. *Acta Horti*.(1009), 195-212.
- Cajamarca-Marín, E. S., Quevedo-Guerrero, J. N., & García-Batista, R. M. (2017). Eficiencia de hormonas en el enraizamiento de ramillas de cacao (*Theobroma cacao* L.) tipo nacional x trinitario. . *Rev. Cient. Agroecosist.* , 5, 6-15 .
- Chonillo, M. (2016). Propagación de café robusta (*Coffea canephora*) por esquejes usando fitohormonas y mezcla de sustratos, en la zona de Vinces-Ecuador. (tesis de pregrado). Universidad de Guayaquil.
- CONABIO. (2014). Descripción botánica del cacao. Recuperado el 23 de Agosto de 2014, de <http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/infoespecies/arboles/doctos/68-sterc03m.pdf>
- Cook, R. (2021). Cacao tree. Recuperado el 28 de Julio de 2021, de *Encyclopaedia Britannica*: <https://britannica.com/plant/cacao>
- Cordero Rivera, F. F., Castellón, O. M., & Pérez, O. F. (2014). Tipos de enraizadores en varetas de (*Theobroma cacao* L.), comunidad carao Siuna. *Cienc. Intercul.*, 14, 98-105.
- Córdova Ávalos, V., Sánchez Hernández, M., Estrella Chulím, N. G., Macías Layalle, A., Sandoval Castro, E., Martínez Saldaña, T., & Ortiz García, C.

- F. (2001). FACTORES QUE AFECTAN LA PRODUCCIÓN DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) EN EL EJIDO FRANCISCO I MADERO DEL PLAN CHONTALPA TABASCO, MÉXICO. *Universidad y Ciencia*, 34(17), 93-100. Recuperado el 4 de Agosto de 2021, de <https://www.redalyc.org/pdf/154/15403405.pdf>
- Cuadra, Y. M., Rodríguez, M. Y., & Vega, Y. L. (2020). El cacao peruano y su impacto en la economía nacional. *Universidad y Sociedad*, 12(3).
- de la Cuba, O. H. (2017). Cacao. Producción, consumo y comercio. Del período prehispánico a la actualidad en América Latina. *Fronteras de la Historia*, 22(1), 237-242.
- Delgado, A. C. (2019). Propuesta para la creación de un consorcio orientado a la exportación de pasta de cacao a la República de Argentina. Proyecto de grado para la obtención del título de Magíster en Negocios Internacionales, UIDE, Facultad de Ciencias Administrativas y Económicas.
- Deutsche Welle. (2021). Cacao: el precio necesario para una vida digna. Recuperado el 28 de Julio de 2021, de DW: <https://amp.dw.com/es/cacao-el-precio-necesario-para-una-vida-digna/a-56908232>
- Dirección de Inteligencia Comercial e Inversiones PROECUADOR. (2013). Análisis del sector cacao y elaborados. Guayaquil, Ecuador: PROECUADOR. Obtenido de http://infocafes.com/portal/wp-content/uploads/2016/06/PROEC_AS2013_CACAO.pdf
- Dostert, N., Roque, J., Cano, A., Torre, M. I., & Weigend, M. (2012). Hoja botánica: Cacao. *Theobroma cacao* L. Lima, Perú: GIZ, SECO, MINCETUR, PROMPERU, MINAM. Recuperado el 28 de Julio de 2021
- Enriquez, E. A. (2010). Potencial de enraizamiento de estacas ortotrópicas provenientes de plantas somáticas de cuatro genotipos de cacao (*Theobroma cacao* L.) tipo nacional, Quevedo, Los Ríos. Tesis de grado previa a la obtención del título de ingeniero agrónomo, 49 p. Quito, Ecuador: Universidad Central del Ecuador.
- Enríquez, G. (2010). Cacao Orgánico. Guía para productores ecuatorianos (2da ed.). Quito, Ecuador: INIAP. Obtenido de <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/4571>
- Falcón, A. B., Costales-Menéndez, D., González-Peña, D., & Nápoles-García, M. (2015). Nuevos productos naturales para la agricultura: las oligosacarinas. *Cult. Trop.*, 36(supl.1), 111-129.

- FAO. (2018). Liberación de clones de cacao de alto rendimiento EETP 800 y EETP 801. Recuperado el 29 de Julio de 2021, de Plataforma de conocimientos sobre la agricultura familiar: www.fao.org/family-farming/detail/es/c/449707/
- Flores y Plantas. (2017). Hormonas de enraizamiento. Recuperado el 11 de Agosto de 2021, de Flores y Plantas.net: <https://www.floresyplantas.net/hormonas-de-enraizamiento/>
- Fundora I, D. G.-P, Izaguirre II, G. G., Morales II, A. F., & Daymara Vaillant Flores II, A. B.-R. (2016). Actividad inhibitoria de un polímero de quitosana en el crecimiento vegetativo y la reproducción asexual de un aislado de *Phytophthora palmivora* Butler. *Rev. Protección Veg.*, 31(2), 99-106.
- Gaikwad, S. Z., Lanaud, C., Powis, T., Viot, C., Lesur, I., Fouet, O., . . . Valdez, F. (2018). The use and domestication of *Theobroma cacao* during the mid-Holocene in the upper Amazon. *Nature Ecology & Evolution*, 2(12), 1879-1888. doi:10.1038/s41559-018-0697-x
- García, L. (2010). Catálogo de cultivares de cacao del Perú. 111 p. Lima, Perú: Ministerio de Agricultura y Riego.
- Gomes, A. R., Sodr , G. A., Guiltinan, M., Lockwood, R., & Maximova, S. (2015). Supplying new cocoa planting material to farmers: A review of propagation methodologies. (B. Lalibert , & M. End, Edits.) Rome, Italy: Bioversity International. Obtenido de <https://plantscience.psu.edu/research/labs/guiltinan/cacao-for-peace/research/research-symposium-agenda-and-other-information/general-cacao-related-information/bioversity-materials/supplying-new-cocoa-planting-material-to-farmers-2014/view>
- Gómez, N., Bernal, M., Rodríguez, C., Macías, V., Romero, C., & Miranda, F. (Mayo de 2019). Cacao, el sabor dulce del Ecuador. *Revista El Productor, El periódico del campo*, pág. 40 p.
- Grupo Iñesta. (2018). Enraizantes: estimula el crecimiento natural de las raíces de tu cultivo. Recuperado el 11 de Agosto de 2021, de <https://www.grupoinesta.com/enraizantes/>
- Guamán, C. (2007). Estudio de factibilidad para el cultivo de “cacao 51” en la parroquia Cristóbal Colon de la ciudad de Santo Domingo de los Colorados y su comercialización. Ecuador: Escuela Polit cnica Nacional.
- Guarnizo, N., Oliveros, D., Murillo-Arango, W., & Bermúdez-Cardona, M. B. (2020). Oligosaccharides: Defense Inducers, Their Recognition in

- Plants, Commercial Uses and Perspectives. *Molecules*, 25(24), 59-72.
- Hernández, L. R., Daza, N. J., Acosta, J. L., Cisnero, F. G., Aguilar, Y. T., Hidalgo, E. C., . . . Rodríguez-Ortiz, G. (2013). Dosis de pectimorf para el enraizamiento de esquejes de guayaba var. Enana Roja Cubana. *Revista Mexicana de Ciencia Agrícola*(Pub. Esp. Núm. 6), 1093-1105.
- Ibargüen, I. S. (2021). ¿Qué son los bioestimulantes con efecto enraizante? Recuperado el 30 de Julio de 2021, de sembralia: <https://sembralia.com/bioestimulantes-enraizante/>
- INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS. (2000). Características agronómicas de clones recomendados por INIAP. 45 p.
- Integrated Taxonomic Information System. (2021). *Theobroma cacao* L. TSN 505487. (ITIS, Ed.) Recuperado el 28 de 07 de 2021, de ITIS Report: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=505487#null/
- Izquierdo, H., Núñez, M., González, M. C., Proenza, R., & Cabrera, J. C. (2009). Influencia de un oligogalacturónido en la aclimatización de vitroplantas de banano (*Musa spp.*) del clon FHIA18 (AAAB). *Cultivos Tropicales*, 30, 1-7.
- Jairo, F. V. (2019). Comportamiento de híbridos de maíz (*Zea mays* L.) como sistema asociado en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la Parroquia Lodana. 52 p. Manabí, Ecuador: Universidad Estatal del Sur de Manabí.
- Katz, S. H. (2003). *Encyclopedia of Food and Culture*. (Vol. 1). New York, EE.UU.: Thomson Gale Group.
- Khan, F., Rahman, S., Queen, A., Ahamad, S., Ali, S., Kim, J., & Hassan, M. (2017). Implications of molecular diversity of chitin and its derivatives. *Appl. Microbiol, Biotechnol*, 101, 3513-3536.
- Laiño, A. S., Navarrete, E. T., Guerra, Í. E., Torres, J. S., Vélez, N. S., & Navarrete, B. T. (2017). Forrajeras arbustivas tropicales en el engorde de cuyes (*Cavia porcellus* Linnaeus). *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología*, 6(3), 244-249.
- Leiva-Rojas, E. I., Gutiérrez-Brito, E. E., Pardo-Macea, C. J., & Ramirez-Pizco, R. (2019). COMPORTAMIENTO VEGETATIVO Y REPRODUCTIVO DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.) POR EFECTO DE LA PODA. *Rev. Fitotec. Mex.*, 42(2), 137-146.

- Lloor-Solórzano, R. G., Amores-Puyutaxi, F. M., Vasco-Medina, S. A., Quiroz-Vera, J. G., Casanova-Mendoza, T. d., Garzón-Catota, A. I., . . . Zambrano-Flores, F. G. (2019). INIAP-EETP-800 “Aroma Pichilingue”, nueva variedad ecuatoriana de cacao fino de alto rendimiento. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 42(2), 187-189.
- López, J. L. (2019). Propagación de plantas de cacao mediante injertos. *Kuxulkab’*, 25(51), 33-40. Obtenido de <https://revistas.ujat.mx>
- López-Corona, B. E., Mondaca-Fernández, I., Gortáres-Moroyoqui, P., Meza-Montenegro, M. M., Balderas-Cortés, J. d., Ruiz-Alvarado, C., & Rueda-Puente, E. O. (2020). Enraizamiento de esquejes de *Salicornia bigelovii* (Torr.) por quitosano como un bioproducto de origen marino. *Terra Latinoamericana*, 37(4). doi:<https://doi.org/10.28940/terra.v37i4.517>
- Luna, J. (2003). Utilización de tres dosis del ácido indolbutírico en el enraizamiento de clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) en Pucallpa. Tesis de Ingeniero Agrónomo, Universidad Nacional de Ucayali, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Perú.
- Mapcarta. (2021). Universidad Técnica Estatal de Quevedo (Campus La María). Recuperado el 2 de Agosto de 2021, de Mapcarta: <https://mapcarta.com/es/W468948920>
- Marín, E. J. (2012). Proyecto de prefactibilidad para la exportación de pasta de cacao orgánico de Puerto Quito. Tesis de grado para la obtención del Título de Magister en Negocios Internacionales, UIDE, Quito, Ecuador.
- Martín, R. L. (2018). Proyecto de Factibilidad para la producción de cacao con vista a la exportación en la finca “Lesly” ubicada en la Provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas. Previa a la obtención del Grado Académico de Magister en Finanzas y Economía Empresarial, 77 p. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.
- Mata, R. V. (2006). Establecimiento de un sistema de propagación vegetativa de genotipos superiores de cacao (*Theobroma cacao* L.) por medio de ramillas. Instituto Tecnológico de Costa Rica, Escuela de Biología, Costa Rica.
- Matamoras-Quesada, A., Mesén-Sequeira, F., & Jiménez-Alvarado, L. D. (2020). Efecto de fitohormonas y fertilizantes sobre el enraizamiento y crecimiento de mini-estaquillas de híbridos F1 de café (*Coffea arabica*). *Ciencias Ambientales*, 54(1). doi:<http://dx.doi.org/10.15359/rca.54-1.4>
- Mederos, Y., & Hormaza, J. (2008). CONSIDERACIONES GENERALES

EN LA OBTENCIÓN, CARACTERIZACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LOS OLIGOGALACTURÓNIDOS . Cultivos Tropicales, 29(1). Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362008000100014

- Miguel, W. (2011). Guía técnica del cultivo de cacao manejado con técnicas agroecológicas. San Salvador, El Salvador: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE).
- Mompie, E. J., Martín, R. M., Guevara, D. M., & Escobar, I. R. (2017). EFECTO DE OLIGOSACARINAS EN EL COMPORTAMIENTO DE LA PAPA (*Solanum tuberosum* L.) VARIEDAD ROMANO. Cultivos Tropicales, 38(1), 68-74. Obtenido de <https://www.redalyc.org/journal/1932/193250540008/html/>
- Moncayo, R. (2015). Exportación ecuatoriana de cacao 2015. Boletín Divulgativo, 6 p. Guayaquil, Ecuador: ANECACAO.
- Morales, E. S., Ramírez, M. V., & Medina, J. (2019). Análisis de las causas del decremento de la producción y comercialización del cacao nacional fino de aroma en el recinto estero de caña, parroquia Balzar de Vinces, Cantón Vinces provincia de los Ríos. Revista Observatorio de la Economía Latinoamericana(marzo). Recuperado el 4 de Agosto de 2021, de <https://www.eumed.net/rev/oel/2019/03/comercializacion-cacao-nacional.html>
- Morales, R. (2019). Efecto de dosis de bioestimulante en crecimiento y desarrollo de *Saccharum officinarum* L. “Caña de azúcar”. (tesis de pregrado). Huacho, Perú: Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión.
- Navarrete, L. A. (2017). Encapsulación de *Trichoderma asperellum* en partículas biopoliméricas con quitosanos de diferentes pesos moleculares para el control biológico de *Moniliophthora roreri*. . Trabajo de titulación de pregrado presentado como requisito para la obtención del título de Ingeniero Químico, Universidad San Francisco De Quito, Colegio de Ciencias e Ingenierías, Quito, Ecuador.
- Ordoñez, L., Gavilánez, C., & Salazar, A. (2011). Secuestro de Carbono en Biomasa Aérea en Sistemas Agroforestales de Cacao y Café ubicados en la Reserva de Biosfera Sumaco. Programa GTZ – GESOREN, 44 p. Quito, Ecuador.
- Orús, A. (13 de Julio de 2021). Cacao: principales productores del mundo por valor en 2019. Recuperado el 28 de Julio de 2021, de statista: <https://>

es.statista.com/estadisticas/636071/cacao-principales-productores-del-mundo-por-valor/

- Osorio, M. A., Leiva, E. I., & Ramírez, R. (2017). Crecimiento de plántulas de cacao (*Theobroma cacao* L.) en diferentes tamaños de contenedor. *REVISTA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS*, 34(2), 73-82. Recuperado el 30 de Julio de 2021, de <http://www.scielo.org.co/pdf/rcia/v34n2/v34n2a06.pdf>
- Paredes, G. F. (2019). Cadmio y polifenoles totales en la fermentación de los granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) Clon CCN-51. Tesis para optar al grado académico de Maestro en Ciencias Agrícolas, mención: Cultivos Tropicales, Universidad Nacional Agraria de La Selva, Escuela de Posgrado, Tingo María, Perú.
- Paredes, N. (2009). Manual de cultivo de cacao para la Amazonía ecuatoriana. Quito, Ecuador: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Estación Experimental Central de la Amazonía DENAREF-Unidad de recursos fitogenéticos.
- Peña López, J. L. (2019). Propagación de plantas de cacao mediante injertos. *Kuxulkab*, 25(51), 33-40.
- Pérez, E., Guzmán, R., Álvarez, C., Lares, M., Martínez, K., Suniaga, G., & Pavani, A. (2021). Cacao, cultura y patrimonio: un hábitat de aroma fino en Venezuela. *Revista RIVAR*, 8(22), 146-162. doi:<https://doi.org/10.35588/rivar.v8i22.4781>
- Pérez, S. (2013). Kallari, historia de un grupo de artesanos y agricultores emprendedores y patriotas de la provincia de Napo, Ecuador. Estudio de caso, 17 p. Quito, Ecuador.
- Poelmans, E., & Swinnen, J. (2019). A Brief Economic History of Chocolate. (412). (K. U. Leuven, Ed.) Leuven, BELGIUM: LICOS Centre for Institutions and Economic Performance. Obtenido de <http://hdl.handle.net/10419/200496>
- Posada-Pérez, L., Padrón-Montesinos, Y., González-Olmedo, J., Rodríguez-Sánchez, R., Barbón-Rodríguez, R., & Norman-Montenegro, O. (2016). Efecto del Pectimorf® en el enraizamiento y la aclimatización in vitro de brotes de papaya (*Carica papaya* L.) cultivar Maradol Roja. *Cultivos Tropicales*, 37(3), 50-59. doi:DOI:10.13140/RG.2.1.1642.2642
- Quintanilla, J. D. (2015). Producción orgánica de cacao (*Theobroma cacao*) en el Valle del Río Apurímac, Ene y Mantaro (VRAEM). Trabajo Monográfico para optar por el título de Ingeniero Agrónomo, Universidad Nacional Agraria La Molina, Facultad de Agronomía, Lima, Perú.

- Ramírez, A., Cruz, N., & Franchialfaro, O. (2003). Uso de bioestimuladores en la producción de guayaba (*P. guajava* L.) mediante el enraizamiento de esquejes. *Cult. Trop.*, 24, 59-63.
- Ramírez, S. (2008). La Moniliasis un desafío para lograr la sostenibilidad del sistema cacao México. *Tecnología en Marcha*, 21(1), 97-110.
- Ramos-Hernández, L., Arozarena-Daza, N. J., Leiscalle-Acosta, J., Castañeda-Hidalgo, E., Rodríguez-Ortiz, G., & Lozano-Trejo, S. (2014). Dosis de Fitomas[®]-E para el enraizamiento de esquejes de guayaba var. Enana Roja Cubana. *Ciencia Ergo Sum*, 21(2), 133-139.
- Redagrícola Perú. (2017). Cacao: la demanda crece, la oferta en deficit y los precios en alza. Recuperado el 28 de Julio de 2021, de Redagrícola: <https://redagricola.com/pe/cacao-la-demanda-crece-la-oferta-deficit-los-precios-al-alza/>
- Reyes Pérez, J. J., Ramos Remache, R. A., Llerena Ramos, L. T., Ramírez Arrebato, M. Á., & Falcón Rodríguez, A. B. (2021). Potencialidades de oligogalacturónidos y quitosacáridos en el enraizamiento de las plantas. *Terra Latinoamericana*, 39, 1-9.
- Rice, R. A., & Greenberg, R. (2020). Cacao Cultivation and the Conservation of Biological Diversity. *AMBIO*, 29(3), 167-173. doi:DOI: 10.1639/0044-7447(2000)029[0167:CCATCO]2.0.CO;2
- Rodríguez, A. B., González-Peña, D., García, M. C., Guevara, D. M., Vázquez, M. C., Rubio, O. E., . . . Arteaga, M. C. (2019). Oligosacarinas como bioestimulantes para la agricultura cubana. *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba*, 11(1). Recuperado el 30 de Julio de 2021, de <http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/article/view/852/981>
- Rodríguez, A. B., Menéndez, D. C., Fundora, D. G.-P., & García, M. C. (2015). Nuevos productos naturales para la agricultura: Las Oligosacarinas. *Cultivos Tropicales*, 36(No. especial), 111-129.
- Rodríguez, P., Lopes, S., Swarowsky, A., Rosales, R., Nogueira, C., & Maffei, M. (2016). Non-destructive models to estimate leaf area on bell pepper crop. *Ciência Rural*, 46, 1938-1944. doi:10.1590/0103-8478cr20151324
- Rondón, J., & Cumana, L. (2005). Revisión Taxonómica del género *Theobroma* (Sterculiaceae) en Venezuela. *Acta. Bot. Venez.*, 28(1), 113-133.
- Sabater, C., Blanco-Doval, A., Montilla, A., & Corzo, N. (2021). Optimisation of an enzymatic method to obtain modified artichoke pectin and pectic oligosaccharides using artificial neural network tools. In silico and in vitro assessment of the antioxidant a using artificial neural network tools. In silico and in vitro. *Food Hydrocolloids*, 110, 106-161.

- Sanchez, K. C. (2016). Caracterización de *Moniliophthora roreri* Evans et al. y evaluación de alternativas de control biológico en cacao, para la Amazonía ecuatoriana. Departamento de Agronomía. Santa Clara: Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas.
- Sánchez, M. Á., León, D. G., Arce, S. M., López, T. D., & López, P. M. (2017). Manual técnico del cultivo de cacao: prácticas latinoamericanas. San José, Costa Rica: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. Obtenido de <http://www.iica.int>
- Sánchez, V. H., Zambrano, J. L., & Iglesias, C. (2019). La cadena del valor del cacao en América Latina y el Caribe. Ecuador: FONTAGRO; ESPOL; INIAP. Recuperado el 04 de Agosto de 2021, de https://www.fontagro.org/new/uploads/adjuntos/Informe_CACAO_linea_base.pdf
- Sayari, N., Sila, A., Abdelmalek, B., Abdallah, R., Ellouz-Chaabouni, S., Bougatef, A., & Balti, R. (2016). Chitin and chitosan from the Norway lobster by products: antimicrobial and anti-proliferative activities. *Int. J. Biol. Macromol.*, 87, 163-171.
- Suárez, L., & Hernández, M. (2015). Efecto del Pectimorf® en el cultivo de ápices de plantas in vitro de yuca (*Manihot esculenta* Crantz), clones ‘CMC-40’ y ‘Señorita’. *Cultivos Tropicales*, 36(4), 55-62.
- Terán, L. M. (2019). Evaluación de enraizadores en estacas de cacao (*Theobroma cacao* L.) con tres diferentes cortes de hoja tolerantes a la monilia en La Estacion Experimental Sapecho - Alto Ben. Tesis de Grado, Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Agronomía Carrera De Ingeniería Agronómica, La Paz, Bolivia.
- Terry-Alfonso, E., Ruiz-Padrón, J., Falcón-Rodríguez, A., & Socarrás-Armenteros, Y. (2019). Oligosacarinas estimulan el crecimiento y rendimiento del tomate (*Solanum lycopersicum* L) bajo condiciones protegidas. *Cultivos Tropicales*, 40(4).
- Velásquez, C. L. (2008). Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en Latinoamérica. *Revista UDO Agrícola*, 8(1), 1-22.
- Vidal, G. G., Vilar, L. G., & Campdesuñer, R. P. (2017). Tendencias de la investigación del cacao: Oportunidades para la investigación en santo domingo de los tsáchilas. *SATHIRI*, 12(2), 24-45.
- Younes, I., & Rinaudo, M. (2015). Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Mar. Drugs*, 13, 1133-1174 .



El cacao ha tenido un rol importante en la economía de la historia ecuatoriana al ser uno de los productos primarios de exportación. Adicionalmente, el impacto del cacao en la economía ha estado vinculado a las dimensiones cultural y económica de este producto en el país. La cultura de los pueblos vive arraigada a su entorno, y su alimentación juega un rol determinante en esta relación. Se necesitan los nutrientes que los alimentos proporcionan para vivir por lo cual la alimentación está ligada a la familia, al ritual religioso y a la tierra. Así, el cacao es un notable ejemplo de la relación que mantiene un cultivo con el hábitat, la economía y el desarrollo cultural de un país



UTEQ
UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE
QUEVEDO



www.uteq.edu.ec

ISBN: 978-9942-626-07-3



9 789942 626073