



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS

CARRERA INGENIERÍA AGROPECUARIA

Proyecto de Investigación previo
a la obtención del Título de
Ingeniero Agropecuario

Título del proyecto de Investigación:

**“CONSERVACIÓN Y VIABILIDAD DE VARETAS EN LA MULTIPLICACIÓN
CLONAL DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) CCN-51”**

Autor:

Douglas Joel Veliz Arana

Tutor de Proyecto de Investigación:

Dr. Gregorio Vásquez Montufar

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

2017

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, Douglas Joel Veliz Arana declaro que la investigación aquí descrita es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este documento, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.

Douglas Veliz Arana
C.C. 120667750-0

CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

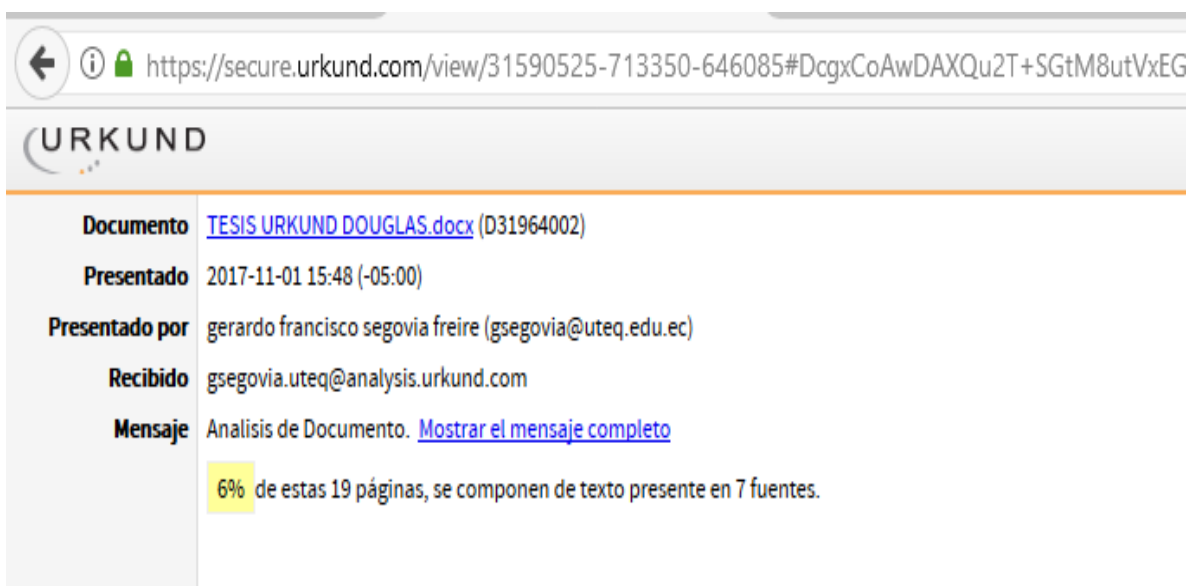
El suscrito, Dr. Gregorio Vásquez Montufar Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que el estudiante Douglas Joel Veliz Arana, realizó el Proyecto de Investigación de grado titulado “CONSERVACIÓN Y VIABILIDAD DE VARETAS EN LA MULTIPLICACIÓN CLONAL DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) CCN-51”, previo a la obtención del título de INGENIERO AGROPECUARIO, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

Dr. Gregorio Vásquez Montufar

TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO.

Dando cumplimiento al Reglamento de la Unidad de Titulación Especial de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo y a las normativas y directrices establecidas por el SENESCYT, el suscrito Dr. Gregorio Vásquez Montufar, en calidad de Director del Proyecto de Investigación titulado “CONSERVACIÓN Y VIABILIDAD DE VARETAS EN LA MULTIPLICACIÓN CLONAL DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) CCN-51”, de autoría del estudiante **VELIZ ARANA DOUGLAS JOEL**, certifica que el porcentaje de similitud reportado por el Sistema URKUND es de 6 %, el mismo que es permitido por el mencionado software y los requerimientos académicos establecidos.



The screenshot displays the URKUND web interface. At the top, there is a navigation bar with a back arrow, an information icon, and a lock icon, followed by the URL: <https://secure.urkund.com/view/31590525-713350-646085#DcgxCoAwDAXQu2T+SGtM8utVxEG>. Below the navigation bar is the URKUND logo. The main content area is a table with the following details:

Documento	TESIS URKUND DOUGLAS.docx (D31964002)
Presentado	2017-11-01 15:48 (-05:00)
Presentado por	gerardo francisco segovia freire (gsegovia@uteq.edu.ec)
Recibido	gsegovia.uteq@analysis.urkund.com
Mensaje	Analisis de Documento. Mostrar el mensaje completo

Below the table, a yellow box highlights the result: **6%** de estas 19 páginas, se componen de texto presente en 7 fuentes.

Atte.

Dr. Gregorio Vásquez Montufar

TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS

CARRERA INGENIERÍA AGROPECUARIA

Proyecto de Investigación

Título:

**“CONSERVACIÓN Y VIABILIDAD DE VARETAS EN LA MULTIPLICACIÓN
CLONAL DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) CCN-51”**

Presentado a la Comisión Académica como requisito previo a la obtención del título de Ingeniero Agropecuario.

Aprobado por:

Presidente del tribunal

Ing. Wilfrido Escobar P. M.Sc.

Miembro del tribunal

Ing. Jaime Vera C. M.Sc.

Miembro del tribunal

Ing. Gary Meza M.Sc.

Quevedo -- Los Ríos -- Ecuador

2017

AGRADECIMIENTO

A DIOS, Por darme la vida y ayudarme a cumplir mis metas.

A la Dra. Jenny Torres Navarrete, Decana de la Facultad de Ciencias Pecuarias y Al Ing. Gerardo Segovia Freire, Coordinador de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria, por su correcto desempeño como autoridades de nuestra prestigiosa Universidad.

Al Ing. miembros de tribunal.

A mis padres en especial a Rosa Arana y Cirso Veliz por su apoyo invaluable e incondicional y todas las personas que, de una forma u otra, han colaborado en la culminación de esta carrera de Ingeniería Agropecuaria.

Douglas Veliz Arana

DEDICATORIA

Mi Proyecto de Investigación se lo dedico a Dios por darme las fuerzas necesarias para seguir luchando por lo que quiero y deseo lograr, ya que a pesar de las adversidades con su ayuda eh logrado superar los obstáculos en mi vida.

De manera exclusiva a mis amados padres, ya que, gracias a sus consejos, el apoyo moral y financiero han sido un pilar fundamental en la culminación de mi carrera.

También este trabajo va dedicado con todo mi aprecio a mis hermanos y amigos que sin ellos mi vida no sería la misma, ya que a pesar de los momentos difíciles que he atravesado siempre han estado brindándome su apoyo.

Douglas Veliz Arana

RESUMEN

En Ecuador el cacao (*Theobroma cacao* L.) representa el tercer rubro de exportación agrícola y constituye una fuente de empleo directo e indirecto al país, no obstante, la mayor parte de las plantaciones de cacao nacional son viejas e improductivas, representando un problema para los campesinos que dependen directamente de este cultivo. El empleo del método de injertación de varetas debe ser complementada con metodologías de conservación de material vegetal para posterior empleo sin que este pierda su vigor, razón por la cual se establece la presente investigación que busca determinar el efecto de las variaciones de temperatura en la conservación y posterior viabilidad del material vegetal, se empleó un diseño experimental completo al azar con arreglo factorial 4x3, siendo para factor A los niveles de temperatura de conservación (ambiente, 12, 6 y 3° C), mientras que para el Factor B se estableció los periodos de conservación (24, 48 y 72 horas). Las variables evaluadas fueron: prendimiento (PP), número de brotes (NB), altura de brotes (AB), diámetro de brotes (DB) y número de hojas (NH). Los resultados obtenidos permitieron establecer que PP se vio afectado por la interacción entre los factores A*B, alcanzando el 95% a temperatura ambiente y 24 horas de conservación; el vigor de las varetas no se vio afectado al alcanzar los 12° C, independientemente del tiempo de conservación, alcanzando valores de NB, AB, DB y NH similares a temperatura ambiente e incluso superiores. Los periodos de conservación no tuvieron un efecto significativo sobre las variables evaluadas.

Palabras clave: interacción, cacao, injerto, conservación, viabilidad.

ABSTRACT

In Ecuador, cocoa represents the third item of agricultural exports and constitutes a source of direct and indirect employment to the country. However, most of the national cocoa plantations are old and unproductive, representing a problem for farmers directly dependent on this crop. The use of the rod grafting method should be complemented with methodologies for the conservation of plant material for later use without losing its vigor, which is why we establish the present research that seeks to determine the effect of temperature variations on conservation and subsequent viability of the plant material, for which a complete randomized experimental design with a factorial arrangement 4x3 was established, being for factor A the conservation temperature levels (ambient, 12, 6 and 3° C), while for Factor B established conservation periods (24, 48 and 72 hours). The variables evaluated were: stunting (PP), number of shoots (NB), shoot height (AB), shoot diameter (DB) and leaf number (NH). The results obtained allowed to establish that PP was affected by the interaction between the factors A * B, reaching 95% at room temperature and 24 hours of preservation; the vigor of the rods was not affected when reaching 12 ° C, regardless of the shelf life, reaching values of NB, AB, DB and NH similar at room temperature and even higher. The conservation periods did not have a significant effect on the evaluated variables.

Key words: interaction, cocoa, grafting, conservation

TABLA DE CONTENIDO

Contenido.....	Pág
Portada.....	i
Declaración de autoría y cesión de derechos.....	ii
Certificación de culminación del proyecto de investigación.....	iii
Certificado del reporte de la herramienta de prevención de plagio académico.....	iv
Certificado de aprobación por los miembros de tribunal	v
Agradecimiento	vi
Dedicatoria.....	vii
Resumen	viii
Abstract.....	ix
Tabla de contenido.....	x
Índice de tablas	xiv
Índice de figuras	xvi
Índice de anexos	xvii
Código Dublin	xviii
Introducción.....	1
CAPÍTULO I	3
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	3
1.1. Problema de la Investigación.	4
1.1.1. Planteamiento del Problema.	4
1.1.2. Formulación del problema.	5
1.1.3. Sistematización del problema.	5
1.2. Objetivos.	6
1.2.1. Objetivo general.	6
1.2.2. Objetivos específicos.	6
1.3. Justificación.	6
CAPÍTULO II.....	8
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN	8

2.1.	Marco conceptual.....	9
2.2.	Marco referencial.....	11
2.2.1.	Antecedentes.....	11
2.2.2.	Método de conservación por aplicación de baja temperatura.....	12
2.2.3.	Viabilidad.....	12
2.2.4.	Taxonomía del cultivo.....	12
2.2.5.	Morfología de la planta.....	13
2.2.5.1.	Raíz.....	13
2.2.5.2.	Tallo y Ramas.....	13
2.2.5.3.	Hojas.....	14
2.2.5.4.	Flores.....	14
2.2.5.5.	Frutos.....	14
2.2.5.6.	Semillas.....	14
2.2.6.	Eco-tipos de cacao.....	15
2.2.6.1.	Trinitario.....	15
2.2.6.2.	Criollo.....	15
2.2.6.3.	Forastero.....	16
2.2.6.4.	Trinitario.....	16
2.2.7.	Requerimientos climáticos.....	16
2.2.7.1.	Clima.....	16
2.2.7.2.	Precipitación.....	16
2.2.7.3.	Heliofanía.....	17
2.2.7.4.	Altitud.....	17
2.2.7.5.	Luminosidad.....	17
2.2.7.6.	Viento.....	17
2.2.8.	Instalación del vivero.....	18
2.2.9.	Propagación del cultivo.....	18
2.2.9.1.	Sexual.....	18
2.2.9.2.	Asexual.....	18
2.2.10.	Metodología de la propagación asexual del cacao.....	19
2.2.11.	Injerto del cultivo.....	19

2.2.12.	Factores que influyen en el prendimiento del injerto.....	19
2.2.12.1.	Factores climáticos.....	20
2.2.12.2.	Patrón o porta injerto.	20
2.2.12.3.	Varetas.	20
2.2.13.	Investigaciones relacionadas.	21
CAPÍTULO III		22
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN		22
3.1.	Localización.	23
3.2.	Tipo de investigación.	23
3.3.	Métodos de investigación.	23
3.3.1.	Método de observación.	23
3.3.2.	Método deductivo.	24
3.3.3.	Método inductivo.	24
3.3.4.	Método analítico.	24
3.4.	Fuentes de recopilación de información.	24
3.4.1.	Fuentes primarias.	24
3.4.2.	Fuentes secundarias.	25
3.5.	Diseño de la investigación.	25
3.6.	Instrumentos de investigación.....	27
3.6.1.	Porcentaje de prendimiento.....	27
3.6.2.	Altura de los brotes.	28
3.6.3.	Número de hojas.	28
3.6.4.	Grosor de los brotes.	28
3.6.5.	Número de brotes.	28
3.7.	Tratamiento de los datos.	28
3.8.	Recursos humanos y materiales.	29
3.8.1.	Material vegetativo.	29
3.8.2.	Materiales de campo.	29
3.8.3.	Materiales de oficina.....	29
CAPÍTULO IV		30
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		30

4.1.	Resultados y discusión.....	31
4.1.1.	Porcentaje de prendimiento.....	31
4.1.2.	Numero de brotes.....	33
4.1.3.	Altura de brotes.....	35
4.1.4.	Diámetro de brotes.....	37
4.1.5.	Número de hojas.....	39
4.1.6.	Análisis económico.....	42
CAPÍTULO V		43
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		43
5.1.	Conclusiones.....	44
5.2.	Recomendaciones.....	45
CAPITULO VI		46
BIBLIOGRAFÍA.....		43
6.1.	Referencias bibliográficas.....	47
CAPÍTULO VII.....		51
ANEXOS.....		51

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla.....	Pág.....
Tabla 1. Condiciones agroecológicas de la zona bajo estudio.....	23
Tabla 2. Esquema del análisis de la varianza.....	26
Tabla 3. Tratamientos evaluados.	27
Tabla 4. Promedio de porcentaje de prendimiento para los factores A. Temperatura de conservación y B. Tiempo de conservación de varetas en clones injertados de cacao trinitario. Mocache 2017.....	31
Tabla 5. Interacciones entre temperatura y tiempo de conservación en el porcentaje de prendimiento de injertos en clones de cacao trinitario. Mocache 2017.....	32
Tabla 6. Promedio de número de brotes para los factores A. Temperatura de conservación y B. Tiempo de conservación de varetas en clones injertados de cacao trinitario. Mocache 2017.....	34
Tabla 7. Interacciones entre temperatura y tiempo de conservación en la variable número de brotes en clones injertados de cacao trinitario. Mocache 2017.	35
Tabla 8. Promedio de altura de brotes para los factores A. Temperatura de conservación y B. Tiempo de conservación de varetas en clones injertados de cacao trinitario. Mocache 2017.....	36
Tabla 9. Interacciones entre temperatura y tiempo de conservación en la variable altura de brotes en clones injertados de cacao trinitario. Mocache 2017.	37
Tabla 10. Promedio de diámetro de brotes para los factores A. Temperatura de conservación y B. Tiempo de conservación de varetas en clones injertados de cacao trinitario. Mocache 2017.....	38
Tabla 11. Interacciones entre temperatura y tiempo de conservación en la variable diámetro de brotes en clones injertados de cacao trinitario. Mocache 2017.	39
Tabla 12. Promedio de número de hojas para los factores A. Temperatura de conservación y B. Tiempo de conservación de varetas en clones injertados de cacao trinitario. Mocache 2017.....	40

Tabla 13. Interacciones entre temperatura y tiempo de conservación en la variable número de hojas en clones injertados de cacao trinitario. Mocache 2017.	40
Tabla 14. Análisis económico del proyecto investigativo	41

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico.....	Pág
Gráfico 1. Pérdida de la viabilidad de las varetas de cacao en relación con el tiempo de conservación.	31
Gráfico 2. Pérdida de la viabilidad de las varetas de cacao en relación con el tiempo de conservación.	32

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexos.....	Pág
Anexo 1. Croquis de Campo.	52
Anexo 2. Análisis de varianza.	53
Anexo 2.1. Análisis de varianza para la variable prendimiento.	53
Anexo 2.2. Análisis de varianza para la variable número de brotes a los 45 días.	53
Anexo 2.3. Análisis de varianza para la variable número de brotes a los 60 días.	53
Anexo 2.4. Análisis de varianza para la variable altura de brotes a los 45 días.	54
Anexo 2.5. Análisis de varianza para la variable altura de brotes a los 60 días.	54
Anexo 2.6. Análisis de varianza para la variable grosor de brotes a los 45 días.	54
Anexo 2.7. Análisis de varianza para la variable grosor de brotes a los 60 días.	55
Anexo 2.8. Análisis de varianza para la variable número de hojas a los 45 días.	55
Anexo 2.9. Análisis de varianza para la variable número de hojas a los 60 días.	55
Anexo 3. Evidencia fotográfica.	56
Anexo 3.1. Varetas ubicadas en el congelador a temperatura de 3°C	53
Anexo 3.2. Limpieza del congelador para la conservación de varetas.	53
Anexo 3.3. Desenfundando las plantas injertadas de los tratamientos.	54
Anexo 3.4. Revisión de aparición de brotes en el vivero a los 20 días	54
Anexo 3.5. Registro del diámetro de brote a los 60 días.	55
Anexo 3.6. Planta a los 60 días.	55

CÓDIGO DUBLIN

Título:	Conservación y viabilidad de varetas en la multiplicación clonal de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) CCN-51
Autor:	<u>Douglas Joel Veliz Arana</u>
Palabras clave:	Interacción, cacao, injerto, conservación, viabilidad
Fecha publicación:	
Editorial:	Quevedo: UTEQ, 2017
Resumen:	Resumen: En Ecuador el cacao representa el tercer rubro de exportación agrícola y constituye una fuente de empleo directo e indirecto al país, no obstante, la mayor parte de las plantaciones de cacao nacional son viejas e improductivas, representando un problema para los campesinos que dependen directamente de este cultivo. El empleo del método de injertación de varetas debe ser complementada con metodologías de conservación de material vegetal para posterior empleo sin que este pierda su vigor, razón por la cual se establece la presente investigación que busca determinar el efecto de las variaciones de temperatura en la conservación y posterior viabilidad del material vegetal, para lo cual se estableció un diseño experimental completo al azar con arreglo factorial 4x3, siendo para factor A los niveles de temperatura de conservación (ambiente, 12°, 6° y 3° C), mientras que para el Factor B se estableció los periodos de conservación (24, 48 y 72 horas). Las variables evaluadas fueron: prendimiento (PP), número de brotes (NB), altura de brotes (AB), diámetro de brotes (DB) y número de hojas (NH). Los resultados obtenidos permitieron establecer que PP se vio afectado por la interacción entre los factores A*B, alcanzando el 95% a temperatura ambiente y 24 horas de conservación; el vigor de las varetas no se vio afectado al alcanzar los 12° C, independientemente del tiempo de conservación, alcanzando valores de NB, AB, DB y NH similares a temperatura

	ambiente e incluso superiores. Los periodos de conservación no tuvieron un efecto significativo. Abstract: In Ecuador, cocoa represents the third item of agricultural exports and constitutes a source of direct and indirect employment to the country. However, most of the national cocoa plantations are old and unproductive, representing a problem for farmers directly dependent on this crop. The use of the rod grafting method should be complemented with methodologies for the conservation of plant material for later use without losing its vigor, which is why we establish the present research that seeks to determine the effect of temperature variations on conservation and subsequent viability of the plant material, for which a complete randomized experimental design with a factorial arrangement 4x3 was established, being for factor A the conservation temperature levels (ambient, 12 °, 6 ° and 3 ° C), while for Factor B established conservation periods (24, 48 and 72 hours). The variables evaluated were: stunting (PP), number of shoots (NB), shoot height (AB), shoot diameter (DB) and leaf number (NH). The results obtained allowed to establish that PP was affected by the interaction between the factors A * B, reaching 95% at room temperature and 24 hours of preservation; the vigor of the rods was not affected when reaching 12 ° C, regardless of the shelf life, reaching values of NB, AB, DB and NH similar at room temperature and even higher. The conservation periods did not have a significant effect.
Descripción:	74 hojas + CD ROM
URI	

Introducción

Ecuador es un país agrícola por excelencia, donde el cultivo de cacao representa el tercer rubro de exportación agrícola del país y constituye una fuente de ingreso para más de 100000 pequeños productores ubicados en las provincias de Esmeraldas, Los Ríos, Guayas, Manabí y la región Amazónica, siendo un producto con una gran demanda en los mercados nacionales e internacionales. La producción bordea las 100 000 TM/año, las mismas que son cultivadas en aproximadamente 400 000 has y dan trabajo a más de 100 000 familias. Según estadísticas de la Organización Internacional del Cacao (ICCO), Ecuador exporta el 75% del cacao fino de aroma (1).

Durante años el cacao se ha multiplicado a través del empleo de semilla de un fruto, originado de la polinización de una flor ocurrida por acción de un insecto o del ser humano a través de la polinización artificial. El productor utiliza esta semilla de las mejores plantas, desconociendo el origen del polen, ya que la mayoría de las plantas son autoincompatibles, es decir, necesitan del polen de otra planta diferente para ser fecundadas, hecho que provoca que en un cultivo se den muchos tipos de plantas con características diferentes entre una y otra, incluso muchas veces muy diferentes a la planta madre que les dio origen, esta variabilidad genética incide en la capacidad de producción, en el tamaño de los frutos, en la calidad de los granos y, muy seguramente, en su comportamiento frente a las plagas y enfermedades (1).

La propagación del cacao se realiza generalmente por semillas, acodo e injertación, ya que, en la actualidad, el desarrollo de un protocolo eficiente por embriogénesis somática (ES) para la propagación clonal de plantas de cacao sería de gran importancia. Esta actividad se presenta como el desarrollo de procesos por el cual, las células somáticas se reestructuran para generar células embriogénicas, las cuales atraviesan por cambios morfológicos y bioquímicos que dan como resultado la formación de embriones somáticos y la regeneración de plantas (2).

Existen varias actividades nacionales de rescate, caracterización y conservación de árboles de cacao de tipo Criollo, hoy nuestro país cuenta con varias colecciones vivas que preservan esta diversidad, ya analizada en caracteres agronómicos, morfológicos y moleculares, cuyo

comportamiento de estas colecciones ante enfermedades recién se han comenzado a evaluar, siendo esta una información necesaria para identificar plantas resistentes y más productivas, con el fin de integrarlas a programas de propagación vegetativa como la establecida en la presente investigación como estrategias de mejoramiento genético más avanzado (3).

Gran parte de los cultivos de cacao en el país son plantaciones antiguas y poco productivos, por tal razón necesitan ser renovados debido a sus bajos rendimientos, empleando la producción masiva de plántulas injertadas con materiales de alta productividad, que sin embargo presentan problemas en el prendimiento y desarrollo de las yemas (4).

La presente investigación exploratoria está enfocada a determinar el efecto de las variaciones de temperatura en la conservación y posterior viabilidad del material genético previo a la propagación clonal de variedades de cacao trinitario, debido a que el método más empleado de propagación es mediante el injerto y la conservación de las varetas es su principal problema, puesto que inciden directamente en el porcentaje de prendimiento y por ende en la producción de plantas para los productores.

CAPÍTULO I
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Problema de la Investigación.

1.1.1. Planteamiento del Problema.

El cacao se ha venido multiplicado a través de la semilla originada de la polinización de una flor ocurrida en la naturaleza, por acción de un insecto o del ser humano, para formar un nuevo individuo o semilla, capaz de originar una nueva planta con una variabilidad genética enorme (5), sin embargo, el hombre ha querido resolver el problema de la variabilidad en la producción buscando individuos genéticamente similares y que produzcan una cantidad parecida de frutos ya que de otra manera sería imposible obtener cosechas abundantes.

Diagnóstico.

Los países productores de cacao están empeñados en mejorar la productividad, por lo que han estado desarrollando nuevas plantaciones y rehabilitación de las existentes por medio de la propagación asexual de plantas, favoreciendo la conservación de caracteres deseables de producción, que lo hace valioso para el desarrollo cacaotero.

Pronóstico.

La obtención de plantas productivas y vigorosas por parte del agricultor es una de los principales objetivos de la agricultura actual, por esta razón la reproducción sexual (semilla), al no alcanzar los resultados esperados debido a la alta variabilidad genética presente en las fincas obliga a buscar nuevas alternativas como la reproducción asexual o “clonación” ya que al no emplear metodologías apropiadas la producción cacaotera disminuirá y traerá problemas económicos a los productores y al país.

1.1.2. Formulación del problema.

La multiplicación vegetativa mediante el uso de injertos se presenta como una solución al problema de la variabilidad genética obtenida mediante la siembra de semillas, sin embargo, su uso se ve limitado a la hora del manejo del material vegetal debido a su carácter perecible por naturaleza por lo que no puede conservarse varetas de un individuo elite para su posterior multiplicación, siendo aquí donde se pretende implementar una metodología de conservación de este material de propagación para que su uso posterior pueda ser efectuado sin problemas.

En base al problema propuesto se plantea la siguiente interrogante:

¿El establecimiento de una metodología para la conservación y viabilidad de varetas permitirá su uso posterior de manera eficiente en la multiplicación clonal de cacao CCN-51?

1.1.3. Sistematización del problema.

¿Es posible conservar el material vegetativo a diferentes temperaturas para su posterior empleo en la multiplicación por injertos de cacao?

¿Este material vegetativo será viable después de varios periodos de tiempo determinados?

¿Las varetas conservadas a diferentes variaciones de tiempo y temperatura tienen la capacidad de alcanzar altos porcentajes de prendimiento?

¿Esta metodología es económicamente rentable?

1.2. Objetivos.

1.2.1. Objetivo general.

Evaluar el efecto de la temperatura en la conservación y viabilidad de material vegetativo para su uso posterior en la multiplicación clonal de cacao (*Theobroma cacao* L.) CCN-51 de origen trinitario.

1.2.2. Objetivos específicos.

- Determinar la temperatura de conservación que permita alcanzar el mayor porcentaje de prendimiento de las varetas injertadas.
- Establecer la tasa de pérdida de viabilidad a través del tiempo y temperaturas de almacenamiento.
- Evaluar la viabilidad de las varetas expuesta a las diferentes temperaturas y tiempo.
- Evaluar económicamente el proyecto mediante el empleo de la relación beneficio/costo.

1.3. Justificación.

El cultivo de cacao es una de las especies arbustivas más cultivada en el litoral ecuatoriano durante los últimos años, razón por la cual se ha vuelto un cultivo indispensable para las familias situadas en este sitio determinado, donde la propagación de este cultivo se está llevando a cabo específicamente en viveros donde emplean la metodología del injerto de enchape lateral para la obtención de plantas, donde el éxito de esta labor radica en la selección de individuos elite para asegurar la producción.

Muchas veces, este material genético no puede conseguirse siempre que se vaya a injertar o se necesite trasladarlo a otro sitio específico y sea necesario conservarlo, razón por la cual se

plantea la presente investigación con el fin de determinar las metodologías necesarias para una correcta conservación del material vegetativo a una temperatura adecuada y durante un tiempo determinado, siempre y cuando este no genere exceso de gastos que puedan volver económicamente inviable esta propuesta.

El objetivo de la presente investigación está enfocado a la conservación de material vegetativo para la propagación asexual de las plántulas de cacao de excelente calidad, para lo cual se pretende determinar la metodología y condiciones idóneas para la correcta conservación de las células somáticas contenidas en fragmentos de material vegetativo previo a su empleo en la injertación.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Marco conceptual.

Se presentan a continuación algunos de los términos de mayor relevancia empleados en el desarrollo de la presente investigación, con la finalidad de conocer su significado y que sean comprendidos con mayor facilidad.

➤ Biomasa.

Biomasa se define como la materia orgánica originada en un proceso biológico, espontáneo o provocado, utilizable como fuente de energía, siendo la única fuente renovable disponible de forma masiva para la producción de productos, materiales y combustibles basados en carbono (6).

➤ Jardín clonal.

Fuente de material vegetativo para la propagación de plantas de manera asexual, estos deben ser estar bajo condiciones favorables para poder entregar su mayor potencial de células vegetativas (7).

➤ Vivero.

Es el área o superficie de terreno que tiene como propósito principal la multiplicación de plantas con características ideales, este puede prestar condiciones controladas que disminuyan las plagas y enfermedades (8).

➤ Injerto.

Es una parte vegetal provistas de yemas que es tomada de una planta seleccionada por su producción, la cual va a generar un nuevo árbol y que es colocada en otro individuo denominado porta injerto o patrón (5).

➤ **Porta injerto.**

También denominado patrón, constituye la base o el soporte de la planta que conforma el sistema radicular, indispensable para el estado nutricional de la misma, por lo que debe ser seleccionado por su adaptabilidad a diferentes condiciones de suelo y clima, tolerancia a diferentes plagas y enfermedades radicales y por su buen vigor vegetativo (5).

➤ **Híbridos.**

Las plantas híbridas se crean cuando el polen de un tipo de planta se emplea para polinizar una variedad completamente diferente, resultando en una planta totalmente nueva. A menudo no son fértiles y por lo tanto no pueden reproducirse. Como definición estricta se considera al descendiente del cruce entre especies, géneros o, en casos raros, familias, distintas. Individuo aquel que procede del cruce entre progenitores de subespecies distintas o variedades de una especie (9).

➤ **Clones.**

Organismos que son la copia genética exacta de otro organismo, la cual se desarrolla a partir de una o varias de las células del organismo progenitor a través de la propagación vegetativa sin que intervenga la reproducción sexual, sin embargo, no existe ningún proceso de desarrollo que ocurra exactamente de la misma manera, ni en las mismas condiciones, aun cuando se comparte el mismo genoma y el mismo recinto de desarrollo (10).

➤ **Yemas.**

Son las estructuras encargadas del crecimiento del tallo, además de producir también hojas y ramificaciones. Una yema es el extremo joven de un vástago, y por lo tanto además del meristema apical, lleva hojas inmaduras o primordios foliares. Se encuentran en la unión de las hojas con el tallo y son denominadas yemas axilares (11).

2.2. Marco referencial.

2.2.1. Antecedentes.

Los bancos de germoplasma son una de las vías de conservación de los recursos genéticos vegetales más empleadas a nivel global, muchas de estas variantes están basadas en la conservación *in vitro*, lo cual es de gran utilidad para la conservación de cultivos tropicales de importancia agrícola y alimenticia. Puntualmente se busca maximizar la vida latente y diversidad de ejemplares vegetales recolectados de poblaciones en campo o en su centro de origen que permitan su posterior empleo en la propagación vegetativa o mejoramiento genético. En cuanto a los bancos de genes en la actualidad, el número de accesiones supera los seis millones, por lo que representan gran potencialidad para el mejoramiento genético (12).

La multiplicación sexual es una manera de reproducción que se ha efectuado de forma convencional por medio de semillas durante generaciones, sin embargo, el surgimiento de nuevos métodos de propagación empleando partes de plantas seleccionadas ha permitido el desarrollo de nuevos individuos con potenciales productivos destacables, dentro de los cuales trasciende la reproducción por injerto, que generalmente se emplea en los programas de mejoramiento genético y su uso es más frecuente en la fruticultura (13).

Estas vías de propagación son limitadas, aún más cuando se desea introducir las plantas a gran escala en sistemas integrales de producción, ya que los altos costos de las tecnologías *in vitro* hacen necesaria la búsqueda de soluciones viables y sostenibles que permitan menores desembolsos financieros y resultados similares en los coeficientes de multiplicación, así como el crecimiento y desarrollo de las plantas, lo que ha obligado a los investigadores a buscar o combinar alternativas de reproducción vegetativa que permitan lograr altas tasas de multiplicación y apropiada calidad de las características morfológicas y fisiológicas de las plantas, presentándose a la macropropagación como una vía acelerada de pocos insumos (13).

2.2.2. Método de conservación por aplicación de baja temperatura.

La refrigeración consiste en la conservación de los productos a bajas temperaturas, pero por encima de su temperatura de congelación. De manera general, la refrigeración se enmarca entre -1° C y 13° C, de esta forma se consigue que el valor nutricional y las características físicas casi no se diferencien de las de los productos al inicio de su almacenaje. Es por esta razón que los productos refrigerados son considerados por los consumidores como frescos. La refrigeración evita el crecimiento de los microorganismos termófilos que crecen a una temperatura arriba 45°C como *Bacillus* y *Clostridium* además de algunas algas y hongos y de muchos mesófilos que crecen en temperaturas de entre -5 a -7 °C como bacterias (14).

2.2.3. Viabilidad.

El objetivo del control de la viabilidad es detectar la pérdida de viabilidad durante el almacenamiento, antes de que se reduzca por debajo del umbral para la regeneración (85%). Para el caso de especies locales se puede establecer un umbral más bajo, como el 70% (15).

2.2.4. Taxonomía del cultivo.

Esta especie de manera general responde a la siguiente clasificación taxonómica (16).

Reino:	Vegetal
Tipo:	Espermatofita
Subtipo:	Angiosperma
Clase:	Dicotiledoneas
Subclase:	Dialipetalas
Orden:	Malvales
Familia:	Esterculiaceae
Tribu:	Buettnerieae
Género:	<i>Theobroma</i>
Especie:	<i>cacao</i>

2.2.5. Morfología de la planta.

2.2.5.1. Raíz.

La raíz principal es pivotante, inmediatamente debajo del cuello se desarrollan la mayoría de las raíces secundarias a unos 15 a 20 cm de profundidad, en la porción superior de la capa de humus. Estas se extienden en forma horizontal a 5 y 6 metros del tronco con raíces laterales que se dividen repetidamente, las raíces secundarias que se encuentran en la parte inferior de la raíz pivotante, tienen un crecimiento hacia abajo en dirección hacia a la roca madre o hacia la capa freática las plantas que son reproducidas por medios vegetativos o asexuales no desarrollan raíz pivotante, pero si raíces primarias y secundarias de crecimiento horizontal. La forma y desarrollo de las raíces del cacao dependen principalmente de la textura, estructura y consistencia del suelo así como el modo de reproducción. En suelos profundos bien ventilados su crecimiento puede alcanzar hasta dos metros de profundidad; en suelos pedregosos su crecimiento es tortuoso, cuando el suelo es de una estructura granular uniforme y de textura arcillosa, la raíz crece erecta o derecha (17).

2.2.5.2. Tallo y Ramas.

Las ramas del árbol de cacao, al igual que las de otras especies del genero *Theobroma* son dimórficas, unas de crecimiento vertical hacia arriba, denominadas ramas de crecimiento ortotropico y constituyen el tallo y o los chupones, otras son de crecimiento oblicuo hacia fuera, denominadas ramas de crecimiento plagiotropico y constituyen el tallo y o los chupones. Las plantas de cacao reproducidas por semillas, desarrollan un tallo principal de crecimiento vertical que puede alcanzar de uno a dos metros de altura a la edad de 12 a 18 meses. A partir de ese momento la yema apical detiene su crecimiento, y del mismo nivel emergen de 3 a 5 ramas laterales. A este conjunto de ramas se le llama comúnmente verticilio u horqueta, El cacao tipo criollo normalmente desarrolla un verticilio de 3 a 5 ramas laterales las cuales presentan un espacio bien marcado entre sus puntos de origen (17).

2.2.5.3. Hojas.

Cuando el árbol es adulto, las hojas son de color verde oscuro y delgado, de tamaño mediano y son de textura firme, se encuentran unidas a las ramas por el peciolo. El peciolo tiene una hinchazón llamado yema de donde se origina ramas que se usan para los injertos (16).

2.2.5.4. Flores.

Las flores, son hermafroditas, pentámeras (5 sépalos, 5 pétalos, 5 estaminodios, 5 estambres, y 5 lóculos por ovario), completas (todos sus verticilios florales) y perfectas (conandroceo y gineceo). Estas aparecen en el tronco en forma solitaria o en grupos denominados “cojines florales” (18).

2.2.5.5. Frutos.

Los frutos son bayas, con tamaños que oscilan de 10 – 42 cm, de forma variable (oblonga, elíptica, ovada, abovada, esférica y oblata) de superficie lisa o rugosa, y de color rojo o verde al estado inmaduro, que depende de los genotipos. El ápice puede ser agudo, obtuso, atenuado, redondeado, apezonado o dentado; la cáscara gruesa, delgada o intermedia; de surcos superficiales, intermedios o profundos. El epicarpio y el endocarpio son carnosos estando separados por un mesocarpio fino y leñoso (18).

2.2.5.6. Semillas.

Las semillas son polimorfas (aplanadas, elipsoides, ovoides, triangulares) de 2 a 4 cm de largo, cubiertas por un mucílago. Luego de fermentadas y secadas al sol las semillas se desprenden de su tegumento, y después de tostadas se extrae los principales ingredientes del chocolate (19).

2.2.6. Eco-tipos de cacao.

2.2.6.1. Trinitario.

El cacao Trinitario, es originario de Trinidad, después de que un huracán arrasara prácticamente con toda la isla y sus plantaciones surgió este híbrido, tiene el aroma y calidad del cacao Criollo y goza de la resistencia y productividad del Forastero, no se puede indicar con exactitud cuál es el porcentaje de participación del cacao criollo y del forastero, pero se sabe que tiene más características del segundo. Está presente en el 10-15% de la producción mundial y cada vez aumenta la demanda de este híbrido para la elaboración de chocolates, por lo que los agricultores poco a poco van sustituyendo las viejas plantaciones de su antecesor. Sus mazorcas pueden presentar varios colores tienen surcos bien marcados y rugosos, su corteza es gruesa y algo rugosa, en su interior contiene un promedio de 35 semillas redondeadas, de color blanco a violeta y de un sabor y aroma agradable (20).

Dentro de esta clasificación se encuentra el clon de cacao nacional CCN51, que fue creado por el agrónomo ecuatoriano Homero Castro Zurita, este clon presenta características de alta producción y tolerancia a las enfermedades, pero no tiene el aroma que posee la variedad nacional. Esta variedad fue cultivada en Trinidad y esparcida a Venezuela hasta llegar a Ecuador, Camerún, Samoa, Sri Lanka, Java y Papúa Nueva Guinea. El cacao en grano se divide en “cacao común” y “cacao fino de aroma”, el 95% de la producción mundial se considera cacao común y es producido por países como África, Asia y Brasil (20).

2.2.6.2. Criollo.

Tipo genético de cacao cuyo cultivo se dispersó desde México a Centro América, de alta calidad y sabor agradable. Ha sido domesticado y adaptado a diferentes zonas, la planta es muy delicada, de poca productividad y susceptible a enfermedades. Se puede distinguir por la arquitectura de un árbol débil, hojas grandes y oscuras, los rebrotes nuevos son verde pálido, estaminodios de color rojo intenso, el tipo de mazorca es rústica de cáscara delgada y de forma cundeamor. La almendra es de color blanco, con sabor y aroma de chocolate, superior a

cualquier tipo de cacao en el mundo. Tiene gran demanda en el mercado nacional e internacional (19).

2.2.6.3. Forastero.

Se caracterizan por sus frutos de cáscara dura y leñosa, de superficie relativamente tersa y de granos aplanados, pequeños de color morado y sabor amargo. Dentro de esta raza se destacan distintas variedades como Cundeamor, Amelonado, Sambito, Calabacillo y Angoleta. La variedad Nacional originaria de Ecuador se caracteriza por ser un cacao fino y de gran aroma y también pertenece a este grupo, es muy deficiente a la obtención de plagas y enfermedades durante las primeras etapas de desarrollo (21).

2.2.7. Requerimientos climáticos.

2.2.7.1. Clima.

La temperatura es un factor de mucha importancia debido a su relación con el desarrollo, floración y fructificación. La temperatura para el cultivo de cacao debe estar entre los valores siguientes:

Mínima de 23 °C

Máxima de 32°C

Optima de 25 °C (21).

2.2.7.2. Precipitación.

La planta de cacao es muy sensible a la escasez de agua, así como al encharcamiento, un adecuado suministro y manejo del agua es esencial para que la planta efectuara sus procesos metabólicos. En general la lluvia es el factor climático más variable durante el año y es diferente de una región a otra siendo este un factor que determina diferencias en el manejo del cultivo (16).

2.2.7.3. Heliofanía.

La radiación solar influye en el crecimiento y fructificación del árbol de cacao, en las zonas productivas es necesario el brillo solar en cantidad de 800 -1000 horas/año, es preciso conocer que el grado de luz que debe recibir una plantación de cacao está en concordancia a la disponibilidad de agua y nutrientes presentes en el suelo (22).

2.2.7.4. Altitud.

Las condiciones de altitud para la producción de cacao, oscila desde el nivel del mar hasta los 1000 m.s.n.m., siendo la condición optimo entre los 250 a 900 m.s.n.m., Sin embargo, en latitudes cercanas a la zona ecuatorial las condiciones climatológicas son más propicias para el cultivo del cacao, pudiendo producirse en altitudes hasta los 1400 m.s.n.m. La altitud tiene correlación directa con la temperatura, a medida que aumenta la altitud, disminuye la temperatura (22).

2.2.7.5. Luminosidad.

La intensidad de la luz es otro factor determinante en el cultivo del cacao, especialmente porque influye en la fotosíntesis. En etapas de establecimiento del cultivo se recomienda la siembra de otras plantas para proporcionar sombra ya que las plantas de cacao en estas etapas son muy susceptibles a la acción directa de los rayos solares (16).

2.2.7.6. Viento.

El cacao es una planta muy sensible al viento. A medida que la velocidad del viento se incrementa, por ejemplo, más allá de 5m/segundo, aumenta la transpiración y probabilidad de daño directo a las hojas (19).

La duración e intensidad del viento puede variar de un lugar a otro y el principal efecto de los vientos fuertes es que causan la defoliación del cacao (19).

2.2.8. Instalación del vivero.

El terreno debe tener facilidades de acceso y adecuadas para el transporte de plantas, insumos y materiales. Se recomienda el establecimiento del vivero en terrenos con pendientes no mayores al 2%, para facilitar las labores culturales dentro del vivero (8).

2.2.9. Propagación del cultivo.

2.2.9.1. Sexual.

La propagación por semilla es un método recomendable por la forma deseable de crecimiento de la planta. Las semillas poseen una viabilidad máxima de hasta 10 días que puede prolongarse hasta 30 días almacenado en carbón pulverizado con 30% de humedad, la siembra debe de ser inmediata (23).

2.2.9.2. Asexual.

Es utilizado con fines específicos, de propagación clonal, para obtener pureza varietal o conferir resistencia a enfermedades, existen tres métodos de reproducción asexual o clonal: por injerto, por ramilla e in vitro (23).

Ventajas:

- Fácil conservación de un clon.
- Gran facilidad en la propagación.
- Uso de poco material vegetativo de la planta madre.
- Rapidez en la obtención de nuevos individuos.
- Posibilidad de lograr plantas totalmente homogéneas.
- Uso de patrones resistentes a condiciones desfavorables.

2.2.10. Metodología de la propagación asexual del cacao.

La reproducción de especies de cacao (*Theobroma cacao* L.) de alto valor genético necesita una práctica eficaz y eficiente de multiplicación asexual y así poder ofrecer plantas de alta calidad a los productores, los cuales cuentan con plantaciones provenientes de semillas, dando como resultado una alta segregación genética de sus individuos (24).

La generación de tecnología para propagar clones de alta calidad genética se ha desarrollado a través de la investigación, utilizando técnicas de injerto como: injerto de parche o de lengüeta, injerto de yema terminal o de púa, siendo la injertación temprana y microinjertación las técnicas más novedosas para la clonación de individuos a través del injerto de germoplasma de alto potencial productivo garantizando combinaciones de clones autocompatibles e intercompatibles de alto rendimiento (24).

2.2.11. Injerto del cultivo.

El injerto se compone de dos partes, independientes y de composición genética diferente entre sí, las cuales llegan a formar una sola planta, un solo individuo. La yema (injerto) es tomada de una planta seleccionada por su producción (clon), la cual se va transformar en la copa del nuevo árbol, por lo que será la encargada de formar las ramas, las hojas, las flores y los frutos. La otra, el patrón (portainjerto), constituye la base o el soporte de la planta, por lo que conforma el sistema radicular, indispensable para el estado nutricional de la planta (25).

2.2.12. Factores que influyen en el prendimiento del injerto.

Existen varios factores que influyen directa o indirectamente en el correcto prendimiento del injerto, asegurando así una baja mortalidad y un alto rendimiento de plantas al emplear la metodología de propagación mediante injerto.

2.2.12.1. Factores climáticos.

Los factores climáticos pueden llegar a alterar el prendimiento, y por ende perder germoplasma valioso de especies altamente productivas. La temperatura influye significativamente en el prendimiento siendo una temperatura necesaria para el correcto injerto entre los 15-30 °C, asimismo el tiempo de injertación no debe sobrepasar los 30 segundos porque las actividades enzimáticas oxidan las superficies de tejido vegetal (26).

Se establece que existen diferentes factores que pueden ser internos o externos (27). Entre estos tenemos los siguientes:

- Temperatura, esta debe ser fresca, preferiblemente en las horas de la mañana y durante la época seca.
- Material vegetativo, debe ser fresco y tener buenas condiciones sanitarias.
- Vivero, este debe estar limpio, aireado y bajo sombra.

2.2.12.2. Patrón o porta injerto.

El patrón tiene la misión de permitir el crecimiento de la yema del clon comercial deseado, de influenciar su hábito vegetativo y superar problemas adversos relacionados con el medio donde crece, junto con la absorción de nutrientes y agua y la más importante, prolongar la vida productiva de la copa (22).

2.2.12.3. Varetas.

Las varetas porta yemas puede escogerse de brotes plagiotrópicos u ortotrópicos), con edades que fluctúen entre los 60 y 90 días. Estas varetas deben tener una coloración café de la parte superior o haz de la vareta y verde en el envés, también se debe realizar cortes alrededor de la yema para que al proceder a retirarla ésta salga con facilidad lo cual es un indicador del buen grado de turgencia de la vareta, con lo cual se asegura el prendimiento de la yema (22).

2.2.13. Investigaciones relacionadas.

En el año 2015, Gómez (27), evaluó el porcentaje de prendimiento en micro-injertación en su investigación titulada “Compatibilidad del patrón y métodos de micro-injertación en la propagación del clon de cacao (*Theobroma cacao* L.) CCN-51” realizada en el cantón Quevedo finca La María a una altura de 82 msnm. Obteniendo los mejores porcentajes de prendimientos en los micro-injertos de púa terminal y púa lateral con promedios de 95.5% y 92.5% respectivamente.

En el año 2015, Balón (21), evaluó el diámetro de los brotes en su investigación titulada “Instalación de una plantación clonal de cacao en la parroquia Simón Bolívar, provincia de Santa Elena” realizada en la parroquia Simón Bolívar a una altura de 6 msnm. obteniendo los mayores diámetros el clon ETT-544 alcanzó el mayor diámetro 17,35 mm.

CAPÍTULO III
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización.

Esta investigación se dio lugar en finca Experimental “La María” en la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), ubicada en el Km 7,5 de la vía Quevedo – El Empalme, cantón Mocache provincia de Los Ríos. Las condiciones agroecológicas de la zona de estudio se presentan en la tabla a continuación.

Tabla 1. *Condiciones agroecológicas de la zona bajo estudio.*

Parámetros	Medias
Temperatura (°C)	25.0
Humedad Relativa (%)	84.0
Heliofanía (horas luz/año)	974.0
Precipitación (mm/año)	2286.6
Zona ecológica	Bosque Húmedo Tropical bh-T

Fuente (28).

3.2. Tipo de investigación.

La investigación siguió un lineamiento de tipo exploratorio, permitiendo obtener información sobre las características de conservación de material vegetativo para multiplicación asexual de plantas para el cultivo de cacao, considerando que pueda servir de base para futuras investigaciones más específicas.

3.3. Métodos de investigación.

3.3.1. Método de observación.

Este método científico permitió la observación directa de los eventos que puedan ocurrir durante la etapa de campo, identificando los factores que influyan en la respuesta final de los organismos y registrando su comportamiento para su posterior análisis. Se identificaron las

características que posea el material vegetativo sometido a varios niveles de temperatura y tiempo que permita su correcta conservación para uso posterior en el tiempo.

3.3.2. Método deductivo.

Este método permitió el establecimiento de un planeamiento experimental fundamentado en experiencias de otros investigadores compartidas a través de sus publicaciones, con la finalidad de establecer criterios que permitan la construcción de tratados empleados para sustentar la relevancia del tema.

3.3.3. Método inductivo.

Mediante la aplicación de este método le logró establecer las ideas principales y teorías resultantes de este ensayo, mediante la construcción de las conclusiones partiendo de los conocimientos generales y la observación de los fenómenos locales que permiten generar conocimiento nuevo.

3.3.4. Método analítico.

Para el presente trabajo investigativo se empleó además el método analítico, basado en la experimentación y la lógica empírica, que, en conjunto con la observación de los fenómenos y el posterior registro de los sucesos obtenidos y análisis estadístico de los datos.

3.4. Fuentes de recopilación de información.

3.4.1. Fuentes primarias.

Se obtuvo información primaria mediante la observación directa de los fenómenos ocurridos durante el ensayo, su posterior registro y análisis estadístico que permitieron obtener datos precisos sobre el tema planteado.

3.4.2. Fuentes secundarias.

La información secundaria se obtuvo a partir de libros, manuales; además de información específica obtenida de revistas indexadas online actualizadas con fecha de publicación no menor al año 2011.

3.5. Diseño de la investigación.

Para el presente trabajo se empleó un arreglo factorial 4x3, dentro de un diseño completamente al azar, evaluando para este fin el efecto del factor A Temperatura en rangos de temperatura que van desde el ambiente (25°C aproximadamente), 12, 6 y 3°C respectivamente, mientras que por el factor B Tiempo se emplearon intervalos de 24, 48 y 72 horas de conservación, obteniendo así 12 tratamientos.

Este diseño experimental responde al modelo matemático expuesto a continuación.

$$Y_{klj} = \mu + \alpha_k + \gamma_l + \varepsilon_{kl} + \epsilon_{klj}$$

Donde:

Y_{klj} es la variable de respuesta o variable dependiente

μ es la media general

α_k es el efecto del factor A (Temperatura)

γ_l es el efecto del factor B (Tiempo)

ε_{kl} es la interacción de los factores A x B

ϵ_{klj} es el error experimental

Se empleó el análisis de varianza para determinar la influencia de los factores en la respuesta final de la variable dependiente. El efecto de cada fuente, como se puede observar en la siguiente tabla.

Tabla 2. *Esquema del análisis de la varianza.*

Fuente de variación		Grados de libertad
Tratamientos	(ab-1)	11
Temperatura	(a-1)	2
Tiempo de conservación	(b-1)	3
Interacción AxB	(a-1)(b-1)	6
Error experimental	ab(n-1)	36
Total	abn-1	47

Los tratamientos estuvieron formados por la combinación de los factores de estudios, los mismos que son los siguientes:

Factor A

Temperatura de conservación

A1: Temperatura ambiente

A2: 12° C

A3: 6° C

A4: 3° C

Factor B

Tiempo de conservación

B1: 24 horas

B2: 48 horas

B3: 72 horas

Los tratamientos de las combinaciones de los factores a evaluados se presentan en la tabla 3.

Tabla 3. *Tratamientos evaluados.*

Tratamiento		Descripción	Rep.	Injertos	Total
T1	a1b1	Temperatura ambiente + 24 horas	4	20	80
T2	a1b2	Temperatura ambiente + 48 horas	4	20	80
T3	a1b3	Temperatura ambiente + 72 horas	4	20	80
T4	a2b1	12 °C + 24 horas	4	20	80
T5	a2b2	12 °C + 48 horas	4	20	80
T6	a2b3	12 °C + 72 horas	4	20	80
T7	a3b1	6 °C + 24 horas	4	20	80
T8	a3b2	6 °C + 48 horas	4	20	80
T9	a3b3	6 °C + 72 horas	4	20	80
T10	a4b1	3 °C + 24 horas	4	20	80
T11	a4b2	3 °C + 48 horas	4	20	80
T12	a4b3	3 °C + 72 horas	4	20	80
				Total	960

3.6. Instrumentos de investigación.

Las variables evaluadas durante la presente investigación consistieron en las siguientes.

3.6.1. Porcentaje de prendimiento.

Esta variable refleja la viabilidad de las varetas y para la determinación de este parámetro se empleó la siguiente ecuación:

(Ecuación1)

$$Prendimiento(\%) = \frac{Injertos\ vivos}{Total\ de\ injertos} \times 100$$

3.6.2. Altura de los brotes.

Esta variable determinó el vigor de las varetas, para lo cual se procedió a medir la longitud de los brotes mediante el empleo de una regla milimetrada, estos resultados se expresaron en centímetros (cm).

3.6.3. Número de hojas.

En el registro de datos de esta variable se empleó el conteo directo de las hojas en las plantas a los 45 y 60 días en todas las unidades experimentales.

3.6.4. Grosor de los brotes.

Esta variable evaluó el grosor de los brotes en mm y se registraron con un calibrador pie de rey a los 45 y 60 días.

3.6.5. Número de brotes.

Para la toma de datos de esta variable se contaron los brotes de las plantas a los 45 y 60 días en todas las unidades experimentales.

3.7. Tratamiento de los datos.

Los datos fueron ordenados estadísticamente utilizando el programa informático Excel 2016, mientras que la tabulación estadística de los mismos se realizó mediante el empleo de un software estadístico libre versión estudiantil.

3.8. Recursos humanos y materiales.

Para llevar a cabo la presente investigación como talentos humanos participaron como director del proyecto de investigación Dr. Gregorio Vásquez y el autor Sr. Douglas Veliz.

3.8.1. Material vegetativo.

Las plántulas que sirvieron como patrones y las varetas fueron compradas en una plantación de cacao CCN-51 propagada asexualmente perteneciente al Ing. Jeison Zambrano localizada en el km 4 de vía Quevedo – Mocache.

3.8.2. Materiales de campo.

- Tijera
- Navajas
- Cinta plástica
- Letreros
- Cuaderno de campo
- Cámara digital

3.8.3. Materiales de oficina.

- Computador
- Hojas INEN A4
- Carpetas
- Lápices
- Esferos
- Pendrive

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados y discusión.

4.1.1. Porcentaje de prendimiento.

De acuerdo al análisis de la varianza realizado para la variable porcentaje de prendimiento (Anexo 2.1.), se demostró alta significancia estadística para los niveles de temperatura de conservación del material vegetativo, así como para la interacción entre los factores, no así para el tiempo de conservación. La prueba de Tukey demostró diferencias entre las temperaturas evaluadas ($P < 0.05$) donde el porcentaje de prendimiento fue mayor en temperatura ambiente y fue descendiendo conforme la temperatura disminuye; mientras que para el tiempo de conservación se estableció que no existieron diferencias significativas ($P > 0.05$), sin embargo, se observó que existe un mayor prendimiento a las 24 horas de conservación. Estos datos pueden verificarse en la Tabla 4.

Tabla 4. Promedio de porcentaje de prendimiento para los factores A. Temperatura de conservación y B. Tiempo de conservación de varetas en clones injertados de cacao trinitario. Mocache. FCP. 2017.

Temperatura de conservación (A)	Porcentaje de prendimiento (%)
Ambiente	85.83 a
12° C	73.75 a
6° C	52.08 b
3° C	27.50 c
Tiempo de conservación (B)	
24 horas	63.44 ab
48 horas	66.25 a
72 horas	49.69 b
Promedio	59.79
C.V. (%)	30.65

Ledesma (19), atribuye que el comportamiento de los datos planteados en la presente investigación se debe a que gran parte del éxito de un método de propagación vegetativa depende de las condiciones medio ambientales, además indica que el material vegetal debe ser lo más fresco posible para alcanzar mayores rendimientos al momento de propagar plantas.

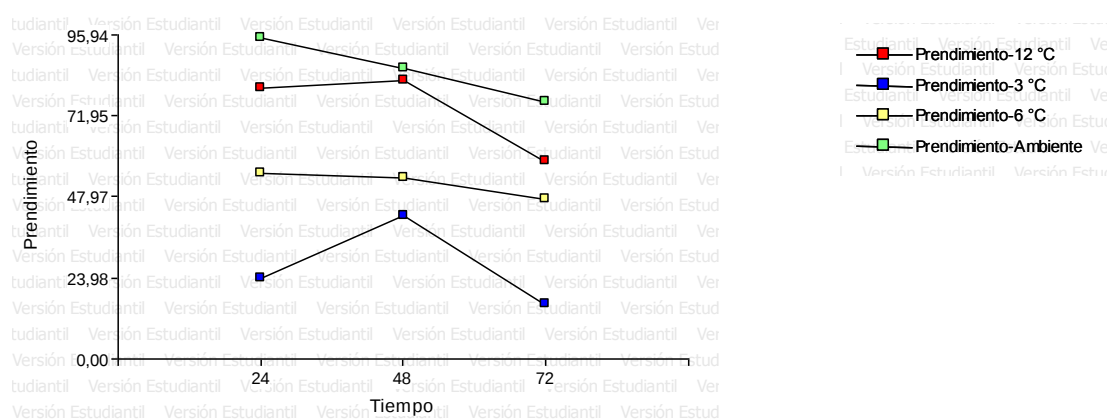
Se evidenció una interacción significativa entre los factores evaluados, demostrando que los mayores porcentajes de prendimiento con el 95 % al alcanzar un menor tiempo de conservación (24 horas) y a temperatura ambiente. Estos valores pueden verificarse en la Tabla 5.

Tabla 5. Interacciones entre temperatura y tiempo de conservación en el porcentaje de prendimiento de injertos en clones de cacao trinitario. Mocache. FCP. 2017.

Temperatura	Tiempo de conservación		
	24 horas	48 horas	72 horas
Ambiente	95.00 a	86.25 a	76.25 a
12° C	80.00 a	82.50 a	58.75 abc
6° C	55.00 abc	53.75 abc	47.50 bc
3° C	23.75 c	42.50 bc	16.25 c
Promedio	63.43	66.25	49.69
C.V.	26.01	15.76	27.46

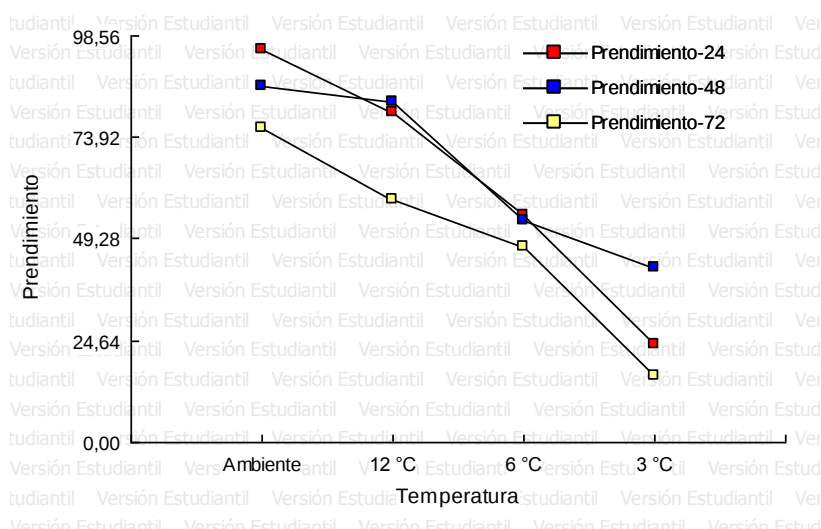
La pérdida de la viabilidad de las varetas de cacao en función del tiempo de conservación, como se puede observar en el gráfico 1, determina que el porcentaje de prendimiento demuestra una tendencia negativa, puesto que, conforme aumenta el tiempo de conservación de las varetas disminuye su viabilidad. Se observa además que los mayores porcentajes de prendimiento se alcanzan a temperatura ambiente.

Gráfico 1. Perdida de la viabilidad de las varetas de cacao en relación con el tiempo de conservación.



El gráfico 2 demuestra que la viabilidad de las varetas en función a la temperatura de conservación también sigue una tendencia negativa, puesto que conforme disminuye la temperatura la viabilidad también se reduce, no obstante, se puede observar que la viabilidad alcanzada a las 48 horas se presenta más estable en comparación con los demás periodos de evaluación.

Gráfico 2. *Perdida de la viabilidad de las varetas de cacao en relación con el tiempo de conservación.*



4.1.2. Número de brotes.

El análisis de la varianza realizado a la variable número de brotes en dos periodos de evaluación a los 45 y 60 días demostró significancia para la temperatura de conservación, mientras que no fue significativo para los tiempos de conservación ni su interacción entre los factores (Anexos 2.2 y 2.3). La prueba de Tukey realizada indicó la existencia de diferencias estadísticas entre las medias de temperatura a los 45 y 60 días ($P < 0.05$), se puede observar un mayor número de brotes a temperatura ambiente con 2.42 y 2.30 brotes respectivamente. Para los tiempos de conservación no se demostró diferencias estadísticas entre las medias a los 45 y 60 días ($P > 0.05$), no obstante, se registra mayores números de brotes para en menor tiempo de conservación evaluado en ambos periodos de evaluación, como puede observarse en la Tabla 6.

La viabilidad de las varetas disminuye conforme avanza los tiempos y la temperatura de conservación, Paredes (29), establece que el vigor de las yemas empieza a disminuir a medida que pasan las 24 horas una vez separadas de la planta madre, siendo una de las principales causas la deshidratación.

Tabla 6. Promedio de número de brotes para los factores A. Temperatura de conservación y B. Tiempo de conservación de varetas en clones injertados de cacao Trinitario. Mocache. FCP. 2017.

Temperatura de conservación (A)	Número de brotes producidos	
	45 días	60 días
Ambiente	2.42 a	2.30 a
12° C	1.99 a	1.58 b
6° C	1.91 a	1.88 ab
3° C	1.85 a	1.70 ab
Tiempo de conservación (B)		
24 horas	2.34 a	2.24 a
48 horas	2.01 ab	1.79 ab
72 horas	1.78 b	1.56 b
Promedio	2.04	1.86
C.V. (%)	30.51	31.87

No existió interacción entre los factores evaluados para esta variable, por lo cual no se observaron diferencias entre las combinaciones entre factores como puede observarse en la Tabla 7, sin embargo, se puede apreciar que a temperatura ambiente se alcanza mayor número de brotes independiente del tiempo de conservación durante los 45 y 60 días de evaluación.

Tabla 7. Interacciones entre temperatura y tiempo de conservación en la variable número de brotes en clones injertados de cacao trinitario. FCP. Mocache 2017.

Temperatura	Tiempo de conservación		
	45 días		
	24 horas	48 horas	72 horas
Ambiente	2.34 a	2.56 a	2.35 a
12° C	2.37 a	2.05 a	1.55 a
6° C	2.29 a	1.69 a	1.76 a
3° C	2.38 a	1.75 a	1.44 a
Promedio	2.34	2.01	1.77
C.V	1.72	19.75	22.85
	60 días		
	24 horas	48 horas	72 horas
	24 horas	48 horas	72 horas
Ambiente	2.17 a	2.50 a	2.23 a
12° C	2.13 a	1.57 a	1.05 a
6° C	2.29 a	1.69 a	1.66 a
3° C	2.38 a	1.42 a	1.31 a
Promedio	2.24	1.80	1.56
C.V	5.08	26.89	32.66

4.1.3. Altura de brotes.

Los análisis de la varianza realizados para la variable altura de brotes demostró significancia estadística para el factor temperatura de conservación, mientras que para el factor tiempo no registró significancia de acuerdo a los anexos (Anexo 2.4 y 2.5). El test Tukey demostró diferencias estadísticas entre las medias del factor A ($P < 0.05$), obteniendo mayores alturas con varetas conservadas a 12° C a los 45 y 60 días con medias de 5.70 y 8.93 cm respectivamente; mientras que para los periodos de conservación no se registraron diferencias estadísticas entre sus medias. Estos valores pueden observarse en la Tabla 8.

Tabla 8. Promedio de altura de brotes para los factores A. Temperatura de conservación y B. Tiempo de conservación de varetas en clones injertados de cacao trinitario. Mocache, FCP. 2017.

Temperatura de conservación (A)	Altura de brotes (cm)	
	45 días	60 días
Ambiente	5.56 a	8.51 ab
12° C	5.70 a	8.93 a
6° C	5.28 a	6.63 ab
3° C	5.11 a	4.93b
Tiempo de conservación (B)		
24 horas	5.62 a	7.64 a
48 horas	5.53 a	5.92 a
72 horas	5.09 a	8.18 a
Promedio	5.41	7.25
C.V. (%)	13.57	15.82

No se registró significancia para la interacción entre los factores evaluados, sin embargo, se observa (Tabla 9) un descenso en la altura de los brotes conforme disminuye la temperatura de conservación independiente de los tiempos.

Esta variable demostró que las varetas sometidas a diferentes parámetros de conservación, determinándose que pueden conservarse en refrigeración a temperaturas no tan bajas (12°C) sin perder el vigor de las mismas, sin embargo, Gamboa (30), atribuye este efecto a la edad, altura y diámetro del patrón mas no a la temperatura de conservación del injerto o medioambiental.

Tabla 9. *Interacciones entre temperatura y tiempo de conservación en la variable altura de brotes en clones injertados de cacao trinitario. Mocache. FCP. 2017.*

Temperatura	Tiempo de conservación		
	45 días		
	24 horas	48 horas	72 horas
Ambiente	5.03 a	5.52 a	6.13 a
12° C	5.56 a	5.63 a	5.90 a
6° C	5.48 a	4.79 a	5.38 a
3° C	3.00 a	4.42 a	5.06 a
Promedio	4.76	5.09	5.61
C.V	25.19	11.43	8.66
	60 días		
	24 horas	48 horas	72 horas
	24 horas	48 horas	72 horas
Ambiente	8.33 a	8.47 a	9.73 a
12° C	8.61 a	8.93 a	9.25 a
6° C	6.26 a	6.24 a	8.37 a
3° C	4.38 a	4.04 a	6.38 a
Promedio	6.90	6.92	8.43
C.V.	28.68	32.52	17.55

4.1.4. Diámetro de brotes.

De acuerdo a los análisis de varianza realizados para la variable de brotes (Anexos 2.6 y 2.7) se demostró que existió significancia para la temperatura de conservación, mientras que no se verificó significancia para el tiempo de conservación. La prueba de Tukey permitió determinar diferencias estadísticas ($P < 0.05$) entre los promedios de diámetros a diferentes temperaturas de conservación a los 45 y 60 días de evaluación, obteniendo mayores medidas con varetas en refrigeración, coincidiendo con los valores obtenidos en la altura de brotes demostrando mejores resultados con varetas refrigeradas a 12°C. Los diámetros obtenidos a diferentes periodos de conservación no difirieron entre sí ($P > 0.05$). Los valores obtenidos pueden observarse en la Tabla 10.

Los resultados obtenidos difieren con los datos obtenidos en investigaciones realizadas por Angulo (31), quien describe que se obtiene un mayor vigor de las plantas obtenidas por injertos al emplear material vegetal fresco recién recolectado de la planta madre, además de que este vigor desciende conforme pasa el tiempo y la vareta comienza a deshidratarse.

Tabla 10. *Promedio de diámetro de brotes para los factores A. Temperatura de conservación y B. Tiempo de conservación de varetas en clones injertados de cacao trinitario. Mocache. FCP. 2017.*

Diámetro de brotes (mm)		
Temperatura de conservación (A)	45 días	60 días
Ambiente	5.14 ab	8.07 ab
12° C	5.81 a	8.35 a
6° C	3.33 b	5.56 ab
3° C	3.29 b	4.92 b
Tiempo de conservación (B)		
24 horas	4.82 a	7.08 a
48 horas	3.42 a	5.62 a
72 horas	4.94 a	7.47 a
Promedio	4.39	6.72
C.V. (%)	9.28	4.14

La interacción entre los factores no fue significativa, sin embargo, se puede apreciar en la Tabla 11, que los diámetros de los brotes aumentan conforme se incrementa el periodo de conservación del material vegetal y se mantiene la temperatura ambiente.

Tabla 11. *Interacciones entre temperatura y tiempo de conservación en la variable diámetro de brotes en clones injertados de cacao trinitario. Mocache. FCP. 2017.*

Temperatura	Tiempo de conservación		
	45 días		
	24 horas	48 horas	72 horas
Ambiente	4.65 ab	5.09 a	5.69 a
12° C	5.71 a	5.73 a	5.99 a
6° C	5.66 a	3.75 a	3.83 b
3° C	3.25 b	2.73 a	4.25 ab
Promedio	4.81	4.32	4.94
C.V	23.94	31.11	21.46
	60 días		
	24 horas	48 horas	72 horas
	24 horas	48 horas	72 horas
Ambiente	7.41 a	8.24 a	8.57 a
12° C	8.22 a	8.17 a	8.65 a
6° C	8.38 a	5.00 a	6.29 a
3° C	4.31 a	4.09 a	6.38 a
Promedio	7.08	6.36	7.47
C.V.	26.76	33.66	17.59

4.1.5. Número de hojas.

Los resultados obtenidos demuestran que existió significancia para el factor temperatura de conservación, de acuerdo al análisis de la varianza realizado a la variable número de hojas (Anexos 2.8 y 2.9) a los 45 y 60 días de evaluación. La prueba de Tukey determinó que existen diferencias estadísticas entre las medias obtenidas ($P < 0.05$) a los 45 y 60 días respectivamente para el factor temperatura, logrando 6.72 hojas producidas con varetas conservadas al ambiente a los 45 días y 9.62 hojas producidas con varetas conservadas a 12° C a los 60 días. Los promedios de producción de hojas en el factor tiempo de conservación no presentaron diferencias estadísticas ($P > 0.05$) a los 45 y 60 días. Estos datos se presentan en la Tabla 12.

Tabla 12. Promedio de número de hojas para los factores A. Temperatura de conservación y B. Tiempo de conservación de varetas en clones injertados de cacao trinitario. Mocache. FCP. 2017.

Temperatura de conservación (A)	Número de hojas	
	45 días	60 días
Ambiente	6.47 a	9.52 a
12° C	6.10 a	9.62 a
6° C	3.37 b	5.29 b
3° C	3.55 b	5.75 b
Tiempo de conservación (B)		
24 horas	5.18 a	6.40 a
48 horas	4.12 a	7.83 a
72 horas	5.33 a	8.41 a
Promedio	4.91	7.54
C.V. (%)	18.69	15.68

La interacción entre los factores no fue significativa, sin embargo, se puede apreciar en la Tabla 13, que el mayor número de hojas se obtiene a temperatura ambiente y hasta 24 horas de conservación, y esta media disminuye conforme baja la temperatura de conservación del material vegetal independiente del periodo de conservación tanto a los 45 como a los 60 días de evaluación.

La temperatura de conservación juega un papel importante en la producción de hojas por parte de los injertos, sin embargo, Paredes *et al.*, (32), demostraron en sus investigaciones que el número de hojas producido es relativamente proporcional al nivel de luminosidad al que se encuentren expuestas las plantas, además de que existe una relación positiva al aumentar la humedad relativa y la temperatura con las características de los brotes y hojas de árboles frutales y maderables del trópico.

Tabla 13. *Interacciones entre temperatura y tiempo de conservación en la variable número de hojas en clones injertados de cacao trinitario. Mocache. FCP. 2017.*

Temperatura	Tiempo de conservación		
	45 días		
	24 horas	48 horas	72 horas
Ambiente	7.38 a	5.85 ab	6.18 ab
12° C	5.45 ab	6.47 ab	6.38 ab
6° C	4.51 ab	3.75 ab	4.12 ab
3° C	3.38 ab	2.65 b	4.63 ab
Promedio	5.18	4.68	5.33
C.V.	32.69	38.14	21.07
	60 días		
	24 horas	48 horas	72 horas
	24 horas	48 horas	72 horas
Ambiente	10.14 a	8.90 ab	9.53 ab
12° C	8.90 ab	10.14 a	9.82 a
6° C	7.66 ab	7.29 ab	6.73 ab
3° C	4.63 b	5.06 b	7.56 ab
Promedio	7.83	7.84	8.41
C.V.	30.16	27.96	17.88

4.1.6. Análisis económico.

El análisis económico de la investigación refleja que existe beneficio al emplear esta técnica de propagación asexual al momento de obtener plantas de cacao, no obstante, el conservar el material vegetal y darle el respectivo mantenimiento puede reflejar costos adicionales.

La relación beneficio costo alcanzó un índice de 1.05, lo que demuestra que por cada dólar invertido se obtiene \$ 1.05 de ganancia. Se pudo observar que los costos generados pueden reducirse al sembrar los porta injertos y no comprarlos, siendo este el rubro de mayor costo en la investigación. Estos valores pueden observarse en la Tabla 11.

Tabla 14. *Análisis económico del proyecto investigativo.*

Rubro	Valor
Materiales	
Plástico	12.00
Malla	15.00
Clavos	2.00
Costos de refrigeración	7.00
Material vegetal	
960 plantas portainjerto	96.00
Insumos	
Abono foliar	4.00
Fungicida	4.00
Total Costos	140.00
Venta de plantas	287.00
Total ingresos	287.00
Beneficio	147.00
Relación beneficio/costo	1.05

CAPÍTULO V
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones.

Se determinó que la temperatura de conservación que permitió alcanzar el mayor porcentaje de prendimiento de las varetas injertadas fue a temperatura ambiente, logrando hasta un 95 % de injertos vivos con varetas conservadas dentro de las primeras 24 horas.

Existió interacción entre los factores temperatura y tiempo solo para la variable prendimiento, lo cual refleja que conforme el tiempo de conservación aumenta el porcentaje de injerto obtenidos disminuye; sin embargo, la pérdida de viabilidad de las varetas a través del tiempo en cada una de las temperaturas de almacenamiento no fue significativa para el resto de variables evaluadas, estableciéndose que no existió diferencias al evaluar diferentes periodos de almacenamiento.

Las varetas expuestas a diferentes temperaturas y tiempo de conservación no se vieron afectadas hasta una temperatura de almacenamiento de 12° C, llegando incluso a superar los promedios obtenidos a temperatura ambiente, permitiendo establecer este rango de temperatura como idóneo para conservación de material vegetal en refrigeración.

Al emplear este tipo de conservación del material vegetal se obtuvo una relación beneficio/costo de 1.05, lo que demuestra la rentabilidad del proyecto.

5.2. Recomendaciones.

Evaluar medios de almacenamiento de material vegetal que permitan conservar la humedad del mismo, siendo este un punto clave para mantener las características de las varetas para su posterior uso.

Extender los periodos de conservación con el fin de determinar la vida útil del material vegetal conservado en refrigeración.

Aplicar estos resultados obtenidos en viveristas y productores de cacao del cantón Quevedo.

Iniciar investigaciones que demuestren en qué nivel de la planta (bajo-medio-alto) y en qué edad de varetas poseen mejores características para viabilidad y prendimiento.

CAPITULO VI
BIBLIOGRAFÍA

6.1. Referencias bibliográficas

1. Molina V. Influencia de las fases lunares sobre la reproducción vegetativa de ramillas de diferentes variedades de cacao (*Theobroma cacao* L.), en la zona de Babahoyo. Primera ed. Babahoyo: Universidad Tecnica de Babahoyo; 2014.
2. Alejandro A, Azpeitia A, Saénz L, Mirafuentes F. Embriogénesis somática secundaria en el genotipo de cacao (*Theobroma cacao* L.) INIFAP 1 y su descripción histológica. Nova Scientia. 2015 Mayo; 7(2): p. 398-417.
3. Mora V, Marcano M, Rumbos R, Chacon I, Gómez A, Rosales M, et al. Asociación entre microsatélites y la resistencia a *Phytophthora megasperma*, en árboles de *Theobroma cacao* L., análisis del fenotipo y del genotipo. Pittieria. 2016 Enero; 1(40): p. 144-163.
4. Cárdenas J, Alvarez J, Barragán E, Rivera C. Efecto del ácido giberélico y la 6-bencilaminopurina sobre el desarrollo de yemas en injertos de cacao (*Theobroma cacao* L.). Agronomía Colombiana. 2010; 28(1): p. 19-27.
5. Hernandez J, Ariza J, Cano H, Contreras J. Estandarización de una técnica para la certificación de jardines clonales de plantas de cacao (*Theobroma cacao* L.) usando marcadores moleculares RADP. Bistua Revista de la Facultad de Ciencias Básicas. 2010; 10(2): p. 75-84.
6. Arauzo J, Bimbela F, Abrego J, Sanchez JL, Gonzalo A. Introducción a las tecnologías de aprovechamiento de biomasa. Grupo Español Carbon. 2014 Septiembre; 1(33): p. 1-5.
7. Phillips W, Mata , Arciniegas , Motamayor. Catálogo de clones de cacao seleccionados por el CAITE para siembras comerciales Turrialba- Costa Rica; 2012.
8. MAGAP. Guía para buenas prácticas agrícolas para el cacao resolución técnica.: primera; 2012.

9. Arias L. Comportamiento agronomico de cuatro híbridos de pimiento (*Capsicum annum* L.) en la parroquia Luz de America canton Santo Domingo. Primera ed. Quevedo: Universidad Tecnica Estatal de Quevedo; 2013.
10. Ponce de Leon L, Barbosa C, Jimenez C. Clones, copias exactas o réplicas únicas. ContactoS. 2008; 67(1): p. 34-39.
11. Grupo de investigación en Viticultura. Morfología de la vid (*Vitis vinifera* L.) Madrid: UPM; 2012.
12. Perez S, Ávila G, Coto O. El aguacatero (*Persea americana* Mill). Cultrop. 2015 Junio; 36(2): p. 111-123.
13. Jimenez F, Agramonte D. Cultivo in vitro y macropropagación como vía de sostenibilidad de la propagacion de especies forestales. Biotecnologia vegetal. 2013 Enero; 13(1): p. 3-21.
14. Umaña E. Conservacion de alimentos por frio. Alimentos. 2014; 1(1).
15. Centro de investigacion y tecnolgia agroalimentaria de Aragon. Banco de germoplasma de especies hortícolas del centro de investigacion y tecnologia agroalimentaria.. 2014..
16. Torres. Manual de producción de cacao fino de aroma a través de manejo ecológico Cuenca; 2012.
17. Zambrano M. Evaluación de tres métodos de propagación clonal, bajo dos tipos de cubierta, utilizando dos variedades de cacao (*Theobroma cacao* L.) genéticamente diferentes, en su fase de prendimiento definitivo a nivel comercial en Santo Domingo de los Tsáchilas Loja; 2013.
18. Segundo I. Propagación de vegetativa de plántulas de cacao CCN-51 (*Theobroma cacao* L.) con diferentes concentraciones de hormona en el cantón las Naves provincia de Bolívar Año 2015 Las Naves ; 2015.

19. Ledesma G. Evaluación de la eficacia de tres tipos de injertos en cacao nacional (*Theobroma cacao* L.), en patrones de tres edades, en la zona de Ventanas, provincia de Los Ríos. Guaranda ; 2015.
20. Aviles R. Generación de valor agregado al cacao ecuatoriano como herramienta para incrementar la rentabilidad del mercado cacaotero Guayaquil; 2015.
21. Balón M. Instalación de una plantación clonal de cacao en la parraquia Simón Bolívar provincia de Santa Elena Libertad; 2015.
22. Armijo A. Validación de tres métodos de propagación de cacao (*Theobroma cacao* L) nacional y trinitario en la finca experimental la represa, UTEQ. Quevedo; 2015.
23. Macías J. Propagación vegetativa de cacao CCN-51 por acodo aéreo con tres dosis de hormonas enraizadoras ANA y AIB Guevedo; 2013.
24. Ramos Y, Rivas A, Villalta L. Evaluación de diferentes técnicas de injerto en cacao (*Theobroma cacao* L.) y su incidencia en el prendimiento en fase de vivero Ciudad Universitaria: Universidad de El Salvador; 2015.
25. Santana J. Resepa e injertación del clon ETT -116 Y reciembra en lote de cacao (*Theobroma cacao* L.) ESPAM - MFL.
26. Reyes M, Marin L, Montalvan O. Prendimiento de dos tipos de injertos en cacao en distintas fases lunares, Siuna. Ciencia e Interculturalidad. 2015; 17(8): p. 92-106.
27. Gomez M. Compatibilidad del patrón y métodos de micro injertación en la propagación del clon de cacao (*Theobroma cacao* L.) CCN-51 Quevedo: Universidad Tecnica Estatal de Quevedo; 2015.
28. INAMHI. Anuario Meteorologico. 51st ed. Quito: Instituto Nacional de Meteorología e Hidrografía; 2015.

29. Paredes M. Manual de cultivo del cacao Lima, Perú: Ministerios de Agricultura. Programa para el desarrollo de la amazonia PROAMAZONIA; 2003.
30. Gamboa R. Comportamiento en vivero de cuatro clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) sobre diferentes patrones en Satipo Lima- Peru Lima, Peru; 2015.
31. Angulo F. Evaluación de cuatro bioestimulantes comerciales en el desarrollo de plantas injertadas de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar Nacional Riobamba, Ecuador: ESPOL; 2009.
32. Paredes O, Soudre M, Chavez J, Guerra W. Propagación vegetativa de bolaina blanca (*Guazuma crinita* Mart.) mediante injerto, bajo condiciones ambientales controladas. Folia Amazónica. 2010; 19(1-2): p. 69-77.
33. Saltos J. Niveles de harinas de cucarda (*Hibiscus rosa - sinensis*) y maní forrajero (*Arachis pintoi*) en la alimentación de pollos organicos,finca La María, Mocache-Ecuador 2013 Quevedo: Universidad Tecnica Estatal de Quevedo; 2015.

CAPÍTULO VII

ANEXOS

7.1. Anexo 1. Croquis de Campo.

T.A. + 48 H	3°C + 48 H	3°C + 72 H	T.A. + 24 H	6°C + 48 H	T.A. + 24 H
6°C + 72 H	6°C + 48 H	3°C + 24 H	3°C + 24 H	3°C + 48 H	3°C + 24 H
3°C + 48 H	3°C + 72 H	6°C + 72 H	T.A. + 24 H	3°C + 48 H	6°C + 24 H
T.A. + 72 H	T.A. + 48 H	6°C + 24 H	T.A. + 72 H	T.A. + 72 H	T.A. + 72 H
3°C + 72 H	3°C + 24 H	3°C + 48 H	6°C + 72 H	6°C + 72 H	3°C + 48 H
3°C + 72 H	6°C + 48 H	3°C + 72 H	T.A. + 24 H	3°C + 24 H	3°C + 72 H
6°C + 48 H	3°C + 24 H	3°C + 72 H	3°C + 24 H	6°C + 24 H	3°C + 48 H
T.A. + 48 H	3°C + 24 H	T.A. + 48 H	3°C + 48 H	3°C + 72 H	6°C + 24 H

7.2. Anexo 2. Análisis de varianza.

Anexo 2.1. Análisis de varianza para la variable prendimiento.

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
Modelo.	52755,73	11	4795,98	12,91	<0,0001**
Temperatura	44530,73	3	14843,58	39,97	<0,0001**
Tiempo	2038,54	2	1019,27	2,74	0,0777 ^{ns}
Temperatura*Tiempo	6186,46	6	1031,08	2,78	0,0253*
Error	13368,75	36	371,35		
Total	66124,48	47			
DMS:	45.22				

NS: No significativo; *Significativo; **Altamente significativo

Anexo 2.2. Análisis de varianza para la variable número de brotes a los 45 días.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	20,91	11	1,9	2,44	0,0216*
Temperatura	12,65	3	4,22	5,41	0,0035**
Tiempo	2,44	2	1,22	1,57	0,2221 ^{ns}
Temperatura*Tiempo	5,82	6	0,97	1,24	0,3070 ^{ns}
Error	28,03	36	0,78		
Total	48,94	47			
DMS:	1.54				

NS: No significativo; *Significativo; **Altamente significativo

Anexo 2.3. Análisis de varianza para la variable número de brotes a los 60 días.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	20,38	11	1,85	2,63	0,0140
Temperatura	10,79	3	3,6	5,11	0,0048
Tiempo	3,38	2	1,69	2,4	0,1047
Temperatura*Tiempo	6,21	6	1,04	1,47	0,2157
Error	25,33	36	0,7		
Total	45,71	47			
DMS:	1.47				

NS: No significativo; *Significativo; **Altamente significativo

Anexo 2.4. Análisis de varianza para la variable altura de brotes a los 45 días.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	118,8	11	10,8	3,16	0,0044
Temperatura	69,13	3	23,04	6,74	0,0010
Tiempo	17,81	2	8,9	2,6	0,0879
Temperatura*Tiempo	31,86	6	5,31	1,55	0,1896
Error	123,15	36	3,42		
Total	241,95	47			
DMS:	1.81				

NS: No significativo; *Significativo; **Altamente significativo

Anexo 2.5. Análisis de varianza para la variable altura de brotes a los 60 días.

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
Modelo.	252,31	11	22,94	2,04	0,0526
Temperatura	122,03	3	40,68	3,62	0,0220
Tiempo	44,48	2	22,24	1,98	0,1526
Temperatura*Tiempo	85,8	6	14,3	1,27	0,2936
Error	404,05	36	11,22		
Total	656,37	47			
DMS:	4.58				

NS: No significativo; *Significativo; **Altamente significativo

Anexo 2.6. Análisis de varianza para la variable grosor de brotes a los 45 días.

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
Modelo.	123,16	11	11,2	3,41	0,0026
Temperatura	58,98	3	19,66	5,99	0,0020
Tiempo	22,72	2	11,36	3,46	0,0422
Temperatura*Tiempo	41,46	6	6,91	2,11	0,0766
Error	118,14	36	3,28		
Total	241,29	47			
DMS:	1.72				

NS: No significativo; *Significativo; **Altamente significativo

Anexo 2.7. *Análisis de varianza para la variable grosor de brotes a los 60 días.*

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
Modelo.	209,45	11	19,04	2,29	0,0302
Temperatura	108,64	3	36,21	4,36	0,0102
Tiempo	30,31	2	15,15	1,82	0,1761
Temperatura*Tiempo	70,5	6	11,75	1,41	0,2364
Error	299,24	36	8,31		
Total	508,69	47			
DMS:	0.84				

NS: No significativo; *Significativo; **Altamente significativo

Anexo 2.8. *Análisis de varianza para la variable número de hojas a los 45 días.*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	133,81	11	12,16	2,36	0,0259
Temperatura	96,63	3	32,21	6,25	0,0016
Tiempo	13,93	2	6,97	1,35	0,2718
Temperatura*Tiempo	23,25	6	3,88	0,75	0,6121
Error	185,6	36	5,16		
Total	319,41	47			
DMS:	2.89				

NS: No significativo; *Significativo; **Altamente significativo

Anexo 2.9. *Análisis de varianza para la variable número de hojas a los 60 días.*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	312,61	11	28,42	2,5	0,0188
Temperatura	198,05	3	66,02	5,81	0,0024
Tiempo	34,17	2	17,09	1,5	0,2358
Temperatura*Tiempo	80,38	6	13,4	1,18	0,3390
Error	408,9	36	11,36		
Total	721,51	47			
DMS:	3.79				

NS: No significativo; *Significativo; **Altamente significativo

7.3. Anexo 3. Evidencia fotográfica.



Anexo 3.1. *Varetas ubicadas en el congelador a temperatura de 3°C*



Anexo 3.2. *Limpieza del congelador para la conservación de varetas.*



Anexo 3.3. *Desenfundando las plantas injertadas de los tratamientos.*



Anexo 3.4. *Revisión de aparición de brotes en el vivero a los 20 días*



Anexo 3.5. Registro del diámetro de brote a los 60 días.



Anexo 3.6. Planta a los 60 días