

Correspondence:

AUTOCOMPATIBILIDAD Y CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DE LAS FLORES DE 40 CRUCES EXPERIMENTALES DE CACAO (*Theobroma cacao* L.)**SELF-COMPATIBILITY AND PHENOTYPIC CHARACTERIZATION OF THE FLOWERS OF 40 EXPERIMENTAL CROSSES OF CACAO (*Theobroma cacao* L.)****Jaime Fabian Vera Chang**

Universidad Americana de Europa- México
Cancún. Bonampak, Sm. 6, Mz. 1, Lt. 1,
77500 verac@uteq.edu.ec

Karem Stefanie Mindiola Veliz

Facultad de Ciencias Pecuarias, Ingeniería
en Alimentos, Universidad Técnica Estatal
de Quevedo, Campus Experimental La
María Km, 7 vía al Empalme, Los Ríos
Ecuador:

karemsvel.mindiola@uteq.edu.ec

Gregorio Humberto Vásquez Montufar

Facultad de Ciencias Pecuarias, Ingeniería
Agropecuaria, Universidad Técnica
Estatal de Quevedo, Campus Experimental
La María Km, 7 vía al Empalme, Finca
experimental La Represa km 7,5 San
Carlos, Los Ríos Ecuador

gvasquez@uteq.edu.ec

Luis Alberto Godoy Montiel

Facultad de Ciencias Pecuarias, Ingeniería
Agropecuaria, Universidad Técnica
Estatal de Quevedo, Campus Experimental
La María Km, 7 vía al Empalme, Finca
experimental La Represa km 7,5 San
Carlos, Los Ríos Ecuador

lgodoy@uteq.edu.ec

Diana Verónica Veliz Zamora

Facultad de Ciencias Pecuarias, Ingeniería
Agropecuaria, Universidad Técnica
Estatal de Quevedo, Campus Experimental
La María Km, 7 vía al Empalme, Finca
experimental La Represa km 7,5 San
Carlos, Los Ríos Ecuador

dvveliz@uteq.edu.ec

Resumen

Esta investigación tuvo lugar en la finca experimental “La Represa”, Quevedo, Ecuador. Se determinó, la auto-compatibilidad y la morfología de la flor. Su desarrollo consistió en el uso de un diseño completamente al azar DCA, con cuarenta tratamientos, y tres repeticiones. Se aplicó la prueba Tukey ($P \leq 0,05$). Se realizaron pruebas de polinización manual obteniendo porcentajes de 80 y 100% de auto compatibilidad. Se registraron variables de morfología y peso de la flor con diferencias estadísticas entre los cruces evaluados. Estos análisis demostraron que T1 y T11 fueron los mejores en cuanto al largo y ancho del sépalo. Los tratamientos T10 y T26 en el largo y ancho del pétalo. El tratamiento T20 y T6 para el largo del estaminoide y el T10 para el largo del pistilo. El peso de la flor registrado demostró que el T13 y T20, obtuvieron el promedio más alto con 0.065 g, con relación a los demás cruces estudiados.

Palabras clave: estaminoides, hibridación, polinización, auto-compatibilidad

<http://>
Quito
Attrib
<https://>

Leonela Alexandra Álvarez Coello

Facultad de Ciencias Pecuarias, Ingeniería
en Alimentos, Universidad Técnica Estatal
de Quevedo, Campus Experimental La
María Km, 7 vía al Empalme, Los Ríos
Ecuador
leonela.alvarez2013@uteq.edu.ec,
joma_1203@hotmail.com

Abstract

This investigation took place in the experimental farm "La Represa", Quevedo, Ecuador. It was determined, the self-compatibility and the morphology of the flower. Its development consisted in the use of a completely randomized DCA design, with forty treatments, and three repetitions. The Tukey test ($P \leq 0.05$) was applied. Manual pollination tests were carried out, obtaining percentages of 80 and 100% of self-compatibility. Variables of morphology and weight of the flower were registered with statistical differences between the crosses evaluated. These analyzes showed that T1 and T11 were the best in terms of length and width of the sepal. The treatments T10 and T26 in the length and width of the petal. The treatment T20 and T6 for the length of the staminoid and the T10 for the length of the pistil. The weight of the registered flower showed that the T13 and T20, obtained the highest average with 0.065 g, in relation to the other crosses studied.

Keywords: staminoids, hybridization, pollination, self-compatibility.

Introducción

Los bajos rendimientos del cacao Nacional han contribuido a que los agricultores lo sustituyan por materiales de origen trinitario más productivos y tolerantes a enfermedades, ocasionando una erosión genética, especialmente de genes relacionados con la calidad [1].

El cacao (*Theobroma cacao* L.) en el Ecuador se encuentra históricamente enlazado con la actividad, política, económica y social del país. Debido a su producción y calidad de aroma único en el mundo ha generado una gran demanda de mano de obra en la región, tanto como en el sector agrícola o industrial. Se cultivan varios tipos de cacao, pero la variedad conocida como "Nacional" es la más requerida por los fabricantes de chocolate [2].

En la caracterización fenotípica en flores de cacao se evalúa el tamaño, forma y demás descriptores físicos que caracterizan a la variedad, determinando si son diferentes estructural o morfológicamente a las otras variedades en calidad y si son susceptibles a enfermedades [3]. El aumento de la base genética y estudio con variedades mejoradas pueden funcionar bien en diferentes condiciones para el desarrollo óptimo de la producción de cacao, la supervivencia

y el rendimiento es un paso esencial debido a que es un objetivo a largo plazo en los programas de mejoramiento que sugiere la selección dentro de las familias de alto rendimiento [4].

Mediante la “Auto-compatibilidad genética y calidad física de almendra de cacao (*Theobroma cacao* L.),” se descubrió que la autopolinización en cruces interclonales es enormemente baja con un promedio de 24.13%, mientras que en morfología de la flor de estos cruces interclonales se encontraron discrepancias entre flores [5].

La investigación pretende evaluar las características fenotípicas de flores provenientes de 40 cruces de cacao (*Theobroma cacao* L.) de la finca experimental “La Represa”. Debido a la importancia de los órganos florales para la diferenciación de materiales genéticos altamente adaptadas y resistentes a enfermedades de la zona, para identificar parámetros aceptables de auto compatibilidad, además de tener información base sobre su estructura floral y determinar cómo se asocia las flores fecundadas con una alta productividad en campo.

Materiales y Métodos

Sitio experimental

La presente investigación se llevó a cabo en la finca experimental “La Represa” propiedad de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), localizada en el recinto la “Fayta”, Ecuador. Su ubicación geográfica es de 01°03'18" de latitud Sur y 79°25'24" de longitud Oeste, localizada en una zona clasificada como bosque húmedo-tropical a una altura de 73 msnm. El ensayo fue de enero a mayo del 2017 con características agroclimáticas promedio: temperatura 25.47 °C con una humedad relativa del 85.84 %, la precipitación anual fue de 2223.78 mm además la Heliofanía 898.77 horas /luz / año, evaporación mensual de 78.30 mm, su topografía ligeramente ondulada .

Material genético

Se utilizaron 40 cruces, con características similares de producción, tolerantes a las principales enfermedades, pertenecientes al Departamento de Investigación Científica y Tecnológica de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (DICYT) de la Finca Experimental “La Represa” UTEQ. Las características de los cruces en estudio fueron Trinitario x Nacional casa experimento consta de 8 plantas, fueron codificada en el siguiente cuadro:

Cuadro 1. Características de los cruces interclonales de la Experimental “La Represa”, FCP-UTEQ 2017

Nº	Cód.	Cruces	Nº	Cód.	Cruces
1	DICYT-H -272	LR17 X L46H88	21	DICYT-H -292	LR46H75 X LR14
2	DICYT-H -273	LR17 X L12H27	22	DICYT-H -293	LR20 X L40H66
3	DICYT-H -274	CCN-51 XL46H75	23	DICYT-H -294	LR15 X L20H43
4	DICYT-H -275	LR18 X T19	24	DICYT-H -295	LR16L11H18 X L19H43

5	DICYT-H -276	CCN-51 X L46H57	25	DICYT-H -296	LR14 X LR16XL18H58
6	DICYT-H -277	CCN-51 X L49H98	26	DICYT-H -297	LR20H21XLR14X L18H58
7	DICYT-H -278	LR17 X JHVH-10	27	DICYT-H -298	LR19 X L42H80
8	DICYT-H -279	CCN-51 X L4H98	28	DICYT-H -299	LR14XL26H64 X L46H66
9	DICYT-H -280	CCN-51X L26H64rl	29	DICYT-H- 300	LR20XH26XLR18X L49H98
10	DICYT-H -281	CCN-51 X L26H64	30	DICYT-H -301	LR19 X LR18XL26H69
11	DICYT-H -282	LR14 X L12H27	31	DICYT-H -302	LR16D11H19 X L15H34
12	DICYT-H -283	LR14 X L46H67	32	DICYT-H -303	LR18L23H64
13	DICYT-H 284	LR20 X L12H27	33	DICYT-H -304	LR20 X LR16L18H58
14	DICYT-H -285	LR20 X L40H49	34	DICYT-H -305	LR20 (LR16) (EET- 103)
15	DICYT-H -286	LR20 X L8H12	35	DICYT-H -306	LR14 X LR14L18H53
16	DICYT-H -287	LR18 X L12H37	36	DICYT-H -307	LR20 X LR17L11H19
17	DICYT-H -288	LR18 X LN3H27	37	DICYT-H -308	LR17L11H19 X L8H12
18	DICYT-H -289	LR18 X L21H38	38	DICYT-H -309	LR17L11H19 X L32H72
19	DICYT-H -290	LR14 X L13H37	39	DICYT-H -310	LR19 X L12H27
20	DICYT-H -291	LR14 X L46H75	40	DICYT-H -311	L46H75 X LR20
			41	TESTIGO	JHVH-10

DICYT= Departamento de Investigación Científica y Tecnológica

Técnicas de autopolinización

Para polinizar las flores de un mismo cruce, se utilizó la técnica manual o controlada, se colocó en los botones florales un tubo eppendorf transparente de 1 cm de diámetro por 1.5 cm de largo de este modo la flor no entra en contacto con ningún insecto polinizador.

Cuando los botones estaban abiertos se retiró el tubo sin dañar la flor, se utilizaron pinzas de metal para retirar los estaminoides, estambres y pétalos para dejar libre el estigma y poder polinizar a la flor donante; de este modo se procedió a frotar las anteras sobre el estigma o estilo de la flor de abajo hacia arriba hasta haber depositado el polen en el órgano femenino.

Número y caracterización de las flores

Para la identificación de flores polinizadas se utilizaron alfileres, los cuales sujetaron pequeñas láminas plásticas que indicaron los datos de cada clon, nombre y fecha de polinización. Luego

se procedió a registrar el número de flores polinizadas, fecundadas y el porcentaje de fecundación.

Se evaluó el largo del pedúnculo (mm), desde la base de la flor hasta la unión de los sépalos con la ayuda de una hoja milimetrada. También el largo y ancho del sépalo (mm) se consideró la longitud desde el punto de unión con el receptáculo hasta su ápice, mientras que el ancho se lo midió registrando la parte más ancha del sépalo entre los bordes laterales utilizando papel milimetrado mediante observación directa.

Otro parámetro de estudio fue el largo y ancho del pétalo (mm) se registró en la misma hoja milimétrica. El largo del estaminodio (mm) se procedió a medir con una hoja milimetrada la longitud desde el encuentro con la columna estaminal hasta el ápice. También el largo del pistilo (mm) se midió la longitud desde el estigma hasta el ovulo de cada flor. Además, se consideró el peso de la flor (g) se pesaron 10 flores enteras, con una balanza de precisión.

Análisis estadístico

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), donde se determinó la caracterización fenotípica de las flores de cacao pertenecientes a 40 cruces, conformada por 40 tratamientos y tres repeticiones. Cada unidad experimental fue un grupo de diez flores de cacao, totalizando treinta flores por tratamiento. Además, se realizará un análisis de componentes principales CP a las variables (Largo del sépalo, ancho del sépalo, largo del pétalo, ancho del pétalo, largo del pedúnculo, largo del estaminodio, y largo del pistilo).

Para el peso de la flor se aplicará un análisis multivariado de conglomerados (Método de Ward Cluster) para estructurar y evidenciar los cruces de mayor y menor peso representado por un dagrama correspondiente a la evolución del agrupamiento de acuerdo a sus resultados.

Tratamientos de los datos

Los resultados experimentales se analizaron empleando modelos lineales general (GLM por sus siglas en inglés), mediante el empleo de un paquete estadístico de software libre y las diferencias de medias fueron comparadas usando la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Resultados

Porcentajes de fecundación (autopolinización)

De acuerdo a la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) no se encontraron diferencias estadísticas en el porcentaje de autopolinización. Sin embargo, se observa que los tratamientos T26 (DICYT-H -297), y T38 (DICYT-H -309), resultaron ser auto compatibles con un porcentaje del 100% de auto compatibilidad, seguido del T15 (DICYT-H -286) y T35 (DICYT-H -306) que registraron un promedio de 80%.

Por otro lado, los tratamientos T21 (DICYT-H -292) y T24 (DICYT-H -295) fueron auto incompatibles con una fecundación del 0%, seguido del T4 (DICYT-H -275), T5 (DICYT-H -276), que obtuvieron un promedio de 6.67%. Estos promedios registrados concuerdan con la investigación realizada por Mendoza (2015), quien obtuvo un índice de auto compatibilidad de 1.00.

Por su parte, Meza (2016) al evaluar el sistema de reproducción sexual y morfología floral de cinco clones de cacao encontró que el clon DIRCYT 186 presentó el mayor índice de auto compatibilidad 0.93. Veliz, (2015) evaluó la autocompatibilidad de cruces de cacao, obteniendo un promedio 0.60 en el 71% de los tratamientos evaluados.

Según Zambrano (2000), en un estudio de caracterización fenotípica encontró que la auto polinización en 55 clones de cacao tipo Nacional, 39 resultaron ser auto compatibles con un índice 0.85 de fecundación y una compatibilidad de 0.60. Otro estudio realizado por Arciniegas (2005), estudió la compatibilidad de clones de cacao, encontró que un 67.7% de los 62 árboles evaluados fueron auto compatibles, mientras que 32.2% fueron auto incompatibles. Valores superiores registrados en la presente investigación.

Estudios en la zona central del Ecuador realizado por Vera et al, (2016) quienes evaluaron tres métodos de polinización artificial en clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) CCN-51 cuyas evaluaciones correspondieron al número de flores fecundadas. Los resultados indicaron que el T1 polinización manual registró 28 flores fecundadas, diferente estadísticamente del T0 (Polinización natural) con 15 flores.

Se clasificaron los materiales en grupos de acuerdo al porcentaje de prendimiento >40% para determinar la auto compatibilidad, razón por la cual, no se puede asegurar que niveles inferiores a este indiquen que los árboles sean incompatibles, si no que posiblemente, esto se deba a que en ocasiones el polen no queda bien adherido al pistilo de la flor o que las temperaturas en las cuales se realizaron dichos eventos no sean la sugeridas.

Los valores de auto compatibilidad y auto incompatibilidad de 40 cruces de cacao, se observa que el 75% de las flores son auto-compatibles, mientras que el 25% restante son auto incompatibles. Entendiéndose como auto compatible a aquellos valores que superen el 40%, y como auto incompatibilidad a los valores comprendidos entre 0 y 40% .

Cuadro 2 . Porcentajes de fecundación (autopolinización) en 40 cruces experimentales en la Finca Experimental “La Represa” UTEQ 2017.

CRUCES	PF (%)
T1 (DICYT-H-272)	53.3+a
T2 (DICYT-H -273)	20.00a
T3 (DICYT-H -274)	33.33 b

T4 (DICYT-H -275)	6.67 b
T5 (DICYT-H -276)	6.67 b
T6 (DICYT-H -277)	46.66+ a
T7 (DICYT-H -278)	26.66 b
T8 (DICYT-H -279)	33.33 b
T9 (DICYT-H -280)	40.00+ab
T10 (DICYT-H -281)	60.00+ a
T11 (DICYT-H -282)	26.66a
T12 (DICYT-H -283)	20.00a
T13 (DICYT-H 284)	46.66+ a
T14 (DICYT-H -285)	13.33a
T15 (DICYT-H -286)	80.00+ a
T16 (DICYT-H -287)	40.00+ab
T17 (DICYT-H -288)	33.33 b
T18 (DICYT-H -289)	73.33+ a
T19 (DICYT-H -290)	33.33 b
T20 (DICYT-H -291)	26.66a
T21 (DICYT-H -292)	0.00b
T22 (DICYT-H -293)	33.33b
T23 (DICYT-H -294)	53.33+a
T24 (DICYT-H -295)	0.00 b
T25 (DICYT-H -296)	26.66 b
T26 (DICYT-H -297)	100.00+a
T27 (DICYT-H -298)	13.33b
T28 (DICYT-H -299)	20.00 b
T29 (DYRCYT-H- 300)	60.00+a
T30 (DICYT-H -301)	46.66+ a
T31 (DICYT-H -302)	40.00+ a
T32 (DICYT-H -303)	53.33+ a
T33 (DICYT-H -304)	46.66+ a
T34 (DICYT-H -305)	66.66+ a
T35 (DICYT-H -306)	80.00+ a
T36 (DICYT-H -307)	46.66+ a
T37 (DICYT-H -308)	66.66+ a
T38 (DICYT-H -309)	100.00+ a
T39 (DICYT-H -310)	60.00+ a

T40 (DICYT-H -311)	73.33+ a
Promedio	42.67
Coeficiente de variación	20.65
Error estándar	0.002
*PF: Porcentaje de fecundación. +Auto compatible	

Caracterización floral

Los dos primeros componentes principales explicaron el 65% de la variabilidad total figura 2. Los resultados del largo del sépalo presentaron diferencias estadísticas entre los tratamientos evaluados. El mejor fue el T11 (DICYT-H -282) con 0.82 mm. No obstante, el menor promedio lo presentó el T22 (DICYT-H -293) con 0.70 mm, presente en el primer componente con 30 % de variabilidad según la Figura 2.

El estudio realizado por Pacheco (2015), muestra un promedio inferior de 6 a 8 mm. Además, Meza (2016), en su investigación y registró un promedio de 8.49 longitud del sépalo. Por su parte, Villegas y Astorga (2000), en su estudio de “caracterización morfológica del cacao Nacional Boliviano”, registraron promedios aproximados de 0.84 para el largo del sépalo.

Según Tukey ($p>0.05$) no se encontraron diferencias estadísticas para el ancho del sépalo. Sin embargo, el promedio más alto lo presentaron los tratamientos T1 (DICYT-H -272) y T3 (DICYT-H -274) con 0.27 mm. El tratamiento que presentó el menor valor fue el T22 (DICYT-H -293) con 0.20 mm.

Laje (2013), evaluó la auto compatibilidad en algunos cultivares de cacao (*Theobroma cacao* L.) Tipo Nacional y Trinitario, en donde mencionó que el ancho de sépalo puede alcanzar un promedio de 2 mm. Mientras que Villegas y Astorga (2005), evaluaron la caracterización morfológica del cacao Nacional en Bolivia, con un promedio aproximado de 0.24 mm para el ancho del sépalo, resultado similar obtenido en este estudio.

El largo del pétalo presentó diferencias significativas entre los cruces evaluados, de acuerdo a la prueba de Tukey ($P\leq 0.05$), siendo T10 (DICYT-H -281) el tratamiento que registro el mayor promedio con 0.25 mm, a diferencia de T3 (DICYT-H -274) y T19 (DICYT-H -290) que registraron el menor valor (0.19 mm). Estos valores fueron inferiores a los reportados por Veliz (2015) que obtuvo un promedio de 7.00 mm de longitud.

El ancho de pétalo se encontraron diferencias estadísticas entre los cruces de cacao evaluados, siendo T26 (DICYT-H -297) el tratamiento que obtuvo el mayor promedio (0.25 mm)

mientras que T22 (DICYT-H -293) obtuvo el menor con (0.16 mm).

Estos valores estuvieron dentro del rango encontrado por Veliz (2015) cuyos promedios de ancho de pétalo no superaron los 2.00 mm. De la misma forma Mendoza (2015), registró un promedio aproximado de 2.19 mm para el ancho de sépalo.

El largo del pedúnculo, presentó diferencias significativas entre todos los tratamientos evaluados, tal como se muestra en el (figura 2), donde el tratamiento que presentó la mejor característica fue el T20 (DICYT-H -291) con un promedio de (1.81 mm). Mientras que el tratamiento T23 (DICYT-H -294) presentó el menor promedio (1.21 mm).

Por su parte, Baena y García Baena (2012) mencionan que la longitud del pedúnculo es de entre 10 a 30 mm, lo que concuerda con lo registrado en la presente investigación. Sin embargo, Meza (2016) en su investigación en flores de cacao Nacional y Trinitario encontró un promedio de 21.90 mm para la longitud del pedúnculo. Por su parte Villegas y Astorga (2005) registraron un promedio 16.60 mm para el largo del pedúnculo, valores inferiores a los reportados en la presente investigación.

Se encontraron diferencias estadísticas ($P \leq 0.05$) en el largo del estaminodio, por cuanto T6 (DICYT-H -277), obtuvo el mayor promedio (0.62 mm); sin embargo, T21 (DICYT-H -292) presentó el menor valor (0.48 mm). Peña (2003), estudiaron el largo del estaminodio en flores de cacao y encontraron promedios de 6.50 a 7.50 mm de longitud, por lo tanto, estos valores fueron superiores a los registrados en la presente investigación, en donde se obtuvo promedios comprendidos entre 0.48 y 0.62 mm.

En el análisis de la variancia se evidenció diferencias estadísticas entre los cruces de cacao. El T10 (DICYT-H -281) obtuvo el mayor promedio en el largo del pistilo (0.25 mm) y el menor promedio lo presentaron los cruces T3 (DICYT-H -274) y T19 (DICYT-H -290) con 0.19 mm. Cabe recalcar que esta variable presentó un coeficiente de variación de 25.07%.

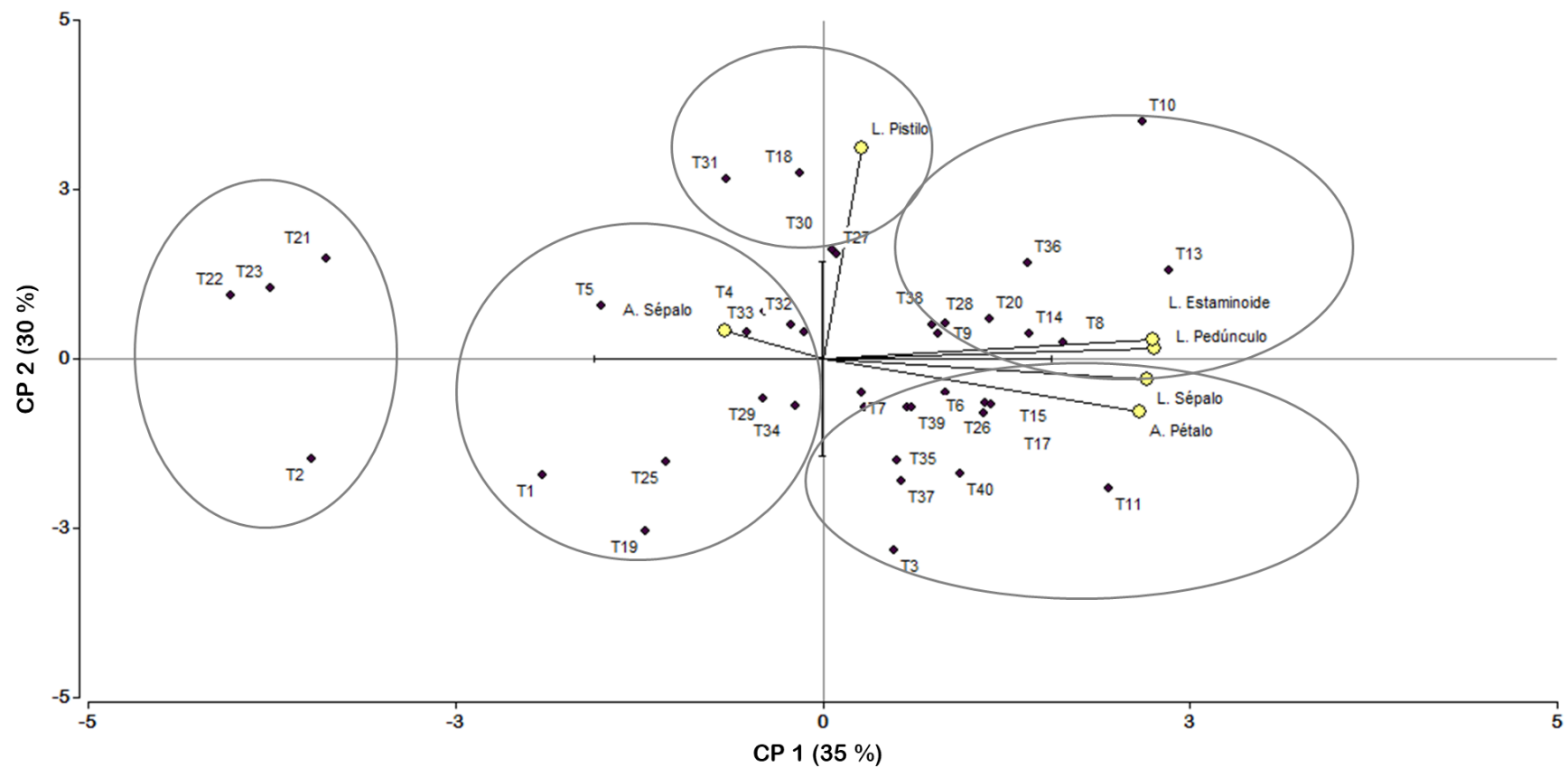


Figura 1. Análisis de componentes principales (CP) para los Índices de caracterización floral (Largo del sépalo, ancho del sépalo, largo del pétalo, ancho del pétalo, largo del pedúnculo, largo del estaminoide, y largo del pistilo) en 40 cruces experimentales en la Finca Experimental “La Represa”.

Correspondence:

En la figura 2. El peso de las flores de los 40 cruces, la amplia variabilidad se estructuró en 4 grupos principales y describe los resultados del dendograma obtenido por el método de Ward. En donde, los miembros de cada grupo comparten características comunes.

El peso de la flor reportó diferencias estadísticas ($P \leq 0.05$), con un promedio general de 0.05 g. El T13 (DICYT-H 284) y T20 (DICYT-H 291), registraron el promedio más alto del peso de la flor con 0.06 g, con relación a los demás cruces estudiados.

El promedio más bajo fue de (0.04 g) obtenido en la mayoría de los cruces estudiados, como se observa en la figura 2. Estos valores promedios fueron similares a los citados por Mendoza (2015), quien obtuvo un valor de 0.063 g en el peso de la flor. Por su parte, Veliz (2015) encontró un promedio inferior de 0.040 g en el peso de la flor, con un coeficiente variación de 13.72%.

Meza (2016) menciona que en la caracterización de la estructura floral se identificó que el tamaño de los órganos florales influye en la compatibilidad genética. Siendo el clon DIRCYT 217 quien registró el mayor peso de la flor con 0.0749.

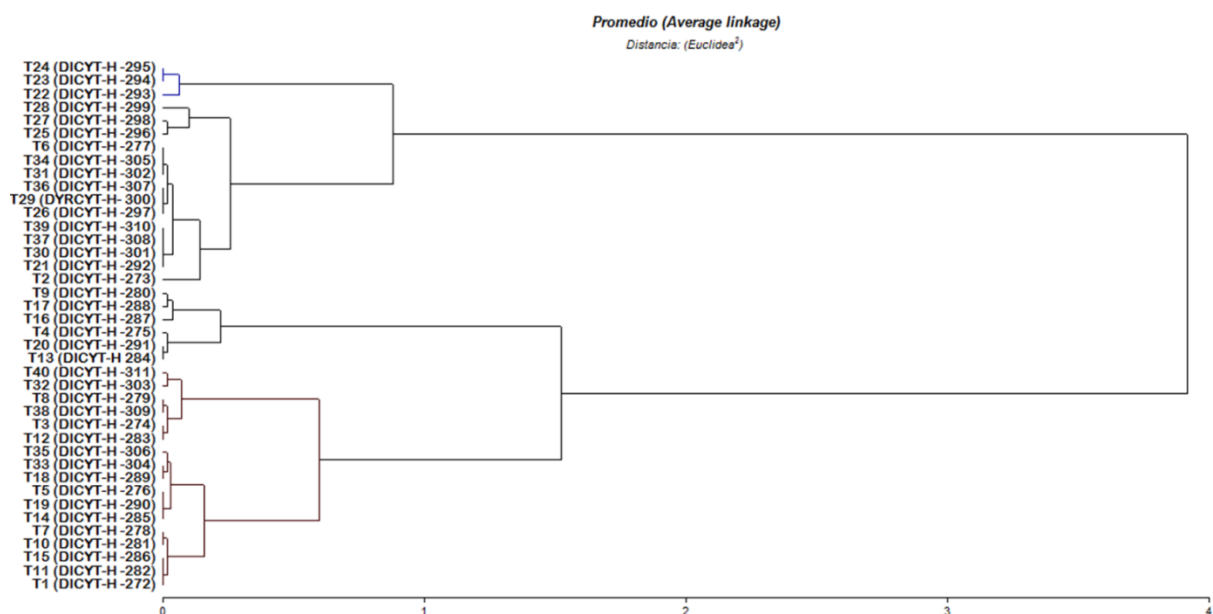


Figura 2. Dendograma de similitud del Peso de la flor entre 40 líneas híbridas experimentales en la finca experimental “La Represa”

CONCLUSIONES

- Los cruces de cacao evaluados que resultaron ser auto-compatibles fueron los DICYT-H 286, DICYT-H 297, DICYT-H 306 y DICYT-H 309 con porcentajes comprendidos entre 80 y 100 %.
- La mayoría de los tratamientos evaluados obtuvieron porcentajes muy bajos de fecundación entre 0 y 50%.
- Respecto a la morfología de la flor los cruces que presentaron los valores más altos fueron el DICYT-H 292, DICYT-H 293.
- En cuanto al peso de la flor los cruces DYRCYTH 284 y DICYT-H 291 alcanzaron el mayor peso de la flor con 0.06 g.
- La caracterización floral permitió conocer la variabilidad existente entre los cruces evaluados, para su selección y utilización en programas de mejoramiento genético.
- Las pruebas de polinización manual no presentaron mayor variabilidad, por lo que se deduce que su utilización para programas de propagación no es efectiva.

REFERENCIAS

- [1] M. F. D. Sánchez, J. Z. Montufar, C. J. Vera, R. R. Ramos, F. F. R. Garcés y M. G. H. Vásconez, «Productividad de clones de cacao tipo Nacional en una zona del bosque húmedo tropical de la Provincia de Los Ríos,» *Revista Ciencia y Tecnología*, vol. 7, n° 1, pp. 33-41, 2014.
- [2] C. J. F. Crespo y P. P. Salvatierra, *Nuevos mercados para la exportación del cacao fino de aroma producido en los cantones Portoviejo y Santa Ana y su incidencia en el desarrollo local.*, Guayaquil, Guayas, 2012, pp. 18-25.
- [3] A. Avalos, A. Porres, E. Pöll, E. Dardón, L. Arévalo y J. Rosales, *Caracterización agronómica, botánica y molecular de clones de cacao tipo criollo y mejorado de la zona sur*, 9 ed., vol. 24, Guatemala, 2012, pp. 2-6.
- [4] A. Ofori, F. K. Padi, A. Akpertey, P. Adu-Gyamfi, M. A. Dadzie y F. M. Amoah, «Variability of survival and yield traits in cacao (*Theobroma cacao* L.) clones under marginal field conditions in Ghana,» *Journal of Crop Improvement.*, vol. 31, n° 6, p. 847–861, 2017.

- [5] A. B. M. Veliz, «“Auto-compatibilidad genética y calidad física de almendra en veinte cruces interclonales de cacao (*Theobroma Cacao* L.),» Tesis, pp. 1-48, 2015.
- [6] INAMHI, «Departamento Agrometeorológico del INIAP. Información Agrometeorológica de la Finca Experimental "La María". Quevedo, Ecuador: Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI), Estación Experimental Tropical,» 2016.
- [7] C. Mendoza, Compatibilidad genética de 64 clones élitos de cacao (*Theobroma cacao* L.) Tipo Nacional y Trinitario., Quevedo, 2015, p. 86.
- [8] G. Meza, Sistema de reproducción sexual y morfología floral de cinco clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) Tipo Nacional y dos Trinitarios en la finca experimental La Represa Quevedo;, 2016, pp. 1-49.
- [9] J. Zambrano, Caracterización fenológica de 67 genotipos de cacao (*Theobroma cacao* L.) tipo Nacional y otros orígenes en la colección de la Estación Experimental Tropical Pichilingue. INIAP Quevedo, 2000.
- [10] A. Arciniegas, Caracterización de árboles superiores de cacao (*Theobroma cacao* L.) seleccionados por el programa de mejoramiento genético del CATIE, Turrialba, 2005, pp. 5-47.
- [11] C. J. Vera, V. R. Cabrera, M. J. Morán, R. K. Neira, B. R. Haz, B. J. Vera, T. Molina, C. O. Moncayo, O. E. Díaz- y V. C. Cabrera, «Evaluación de tres métodos de polinización artificial en clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) CCN-51,,» Scielo, vol. 34, n° 6, pp. 1-5, 2016.
- [12] E. Pacheco, Producción del clon de cacao (*Theobroma cacao* L.) CCN-51 orgánico a tres distanciamientos en un sistema triangular de doble hilera, Quevedo, Los Rios, 2015, p. 50.
- [13] R. Villegas y C. Astorga, «Caracterización morfológica del cacao Nacional Boliviano,» vol. 43, n° 44, pp. 4-30, 2005.
- [14] O. Laje, Evaluación de la autocompatibilidad en algunos cultivares de cacao (*Theobroma cacao* L.) Tipo Nacional y Trinitario en el Litoral ecuatoriano, 2013, p. 5.

- [15] Baena y García., Obtencion y caracterizacion de fibra dietariaa partir de cascarilla de las semillas tostadas de Thebroma cacao L. de una industria chocolatera colombiana., 2012, pp. 1-20.
- [16] G. Peña, Caracterizacion morfologica de 57 secciones de cacao (Theobroma cacao L.) Tipo Nacional del banco de germoplasma de la Estacion Experimental Pichilingue, Quevedo, 2003, pp. 36-42.