

## INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS - INIAP

### PROTOCOLO BASE PARA ENSAYOS DE VALIDACIÓN DE CULTIVARES - CACAO (*Theobroma cacao* L.)<sup>1</sup>

#### 1. ANTECEDENTES

Ecuador es un país megadiverso, ya que se caracteriza por ser rico en ecosistemas, especies y genes (polimorfismo) que deben ser conservados y utilizados de manera racional y estratégica (Torres, 2010). Según Salvatore et al (2005), los sistemas agrícolas productivos actuales, dependen de la diversidad genética para obtener materiales mejorados que den respuestas al desarrollo y demanda de la agricultura y contribuyan a la producción en cantidad y calidad de alimentos para una población creciente.

De acuerdo a los objetivos y lineamientos del Plan Estratégico del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) 2018-2022, la institución, entre otros objetivos, debe contribuir al incremento sostenido y sustentable de la producción, productividad y al mejoramiento de los productos agropecuarios mediante la generación de nuevos cultivares o variedades, priorizando el uso racional y conservación de los recursos naturales, además de impulsar actividades para obtención de certificaciones relacionadas a la gestión de la I&D+i y de propiedad intelectual, refiriéndose en este último punto al registro y protección de las nuevas variedades o clones mejorados (Zambrano et al., 2018).

Un equipo técnico de especialistas, realizará los ensayos en campo y dichas pruebas indicarán que la variedad a ser registrada cumple con los requisitos de adaptación y distinguibilidad para emitir un informe técnico.

En este contexto, el Programa Nacional de Cacao y Café del INIAP, en el año 2016 identificó como prioritaria la materialización de un documento que, desde una perspectiva técnica y científica, tenga como objetivo “orientar los trabajos de investigación, validación y producción que desarrolla el equipo multidisciplinario del INIAP en el rubro cacao sobre el territorio nacional”.

Es así, que en base a la literatura disponible y la experiencia del equipo de investigadores del INIAP y de otras instancias externas, se definieron protocolos de validación en territorio, debidamente ilustrados para facilitar su comprensión y aplicación por parte del público en general titulado “Mejoramiento y Homologación de los Procesos y Protocolos de investigación, validación y producción de servicios en cacao y café”.

Según INGENIOS (2017) y otros autores (Gilliland y Gensollen, 2010; Ramírez et al., 2010) es importante conocer que el derecho de obtentor no concede a su titular el impedimento para que otras personas realicen los siguientes actos con respecto a la variedad protegida:

- a) Hacer uso en el ámbito privado y sin fines comerciales.
- b) Con fines de enseñanza, investigación científica o académica

<sup>1</sup> Documento elaborado por Ignacio Sotomayor Cantos.

- c) Actos realizados con el fin de obtener una nueva variedad.

De esta forma, el Estado garantiza y promueve un mayor equilibrio y equidad en el sector agrícola del país. *“La protección establecida en el presente Título se extiende a las variedades pertenecientes a todos los géneros y especies vegetales siempre que su cultivo, posesión o utilización no se encuentre prohibido por razones de salud humana, animal o vegetal, soberanía alimentaria, seguridad alimentaria y seguridad ambiental.”* Como lo manifiesta el Artículo 471 de INGENIOS sobre Material protegible.

La Ley Orgánica de Agrobiodiversidad, Semillas y Fomento de la Agricultura Sustentable, en su artículo Nro. 33 indica que sólo podrán ser sometidas al proceso de certificación de semilla los cultivares inscritos como tales en el Registro Nacional de Cultivares. Adicionalmente en el artículo Nro. 39 señala que la Autoridad Agraria Nacional inscribirá por una sola vez el material para la producción de semillas certificadas en el registro nacional de semillas y que está prohibido comercializar semillas certificadas que no estén inscritas en el indicado Registro.

En el Reglamento a la Ley Orgánica de Agrobiodiversidad, Semillas y Fomento de la Agricultura Sustentable en el artículo Nro. 45 se estable los requisitos para realizar el registro de los cultivares, entre los cuales consta el informe de resultados de ensayos de validación de cultivares. Además, en dicho reglamento indica en su Sección II, Artículo 50, que los ensayos de validación de cultivares son las pruebas en campo, a las que se somete un cultivar como requisito previo al registro de cultivares, con la finalidad de verificar: 1) La adaptación a una zona agroecológica definida; 2) Validación agronómica y/o agroindustrial, según la información proporcionada en la ficha técnica del cultivar; y 3) Validación de los descriptores varietales reportados por el interesado.

## 2. JUSTIFICACIÓN

A fin de dar cumplimiento a lo establecido en el Reglamento a la Ley Orgánica de Agrobiodiversidad, Semillas y Fomento de la Agricultura Sustentable- LOASFAS emitido por parte de la Presidencia de la República y publicado en registro oficial Nro. 194, el Instituto tiene que acogerse a las competencias establecidas en dicho documento y debe elaborar los protocolos de para ejecutar los ensayos de validación.

El Reglamento a la Ley Orgánica de Agrobiodiversidad, Semillas y Fomento de la Agricultura Sustentable indica en su Sección II, Artículo 51, indica que los ensayos de validación de cultivares deberán realizarse con base al protocolo establecido por el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), el cual será adaptado según cada caso.

Además, este Reglamento indica en el Artículo 53 que la Autoridad Agraria Nacional, como parte del proceso del registro del cultivar recibirá de parte del INIAP una copia del informe de resultados y verificará los resultados favorables de dichos ensayos, para emitir el certificado de registro respectivo previa recomendación del Comité Técnico de Semillas.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo General

- Validar el desarrollo y productividad de cultivares de cacao en parcelas de investigación y/o comerciales.

#### 3.2 Objetivos Específicos

- Validar la adaptación de cultivares de cacao en una zona agroecológica definida.
- Evaluar descriptores cualitativos y cuantitativos de cultivares de cacao.

### 4. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 4.1 Materiales

##### 4.1.1 Material vegetal

Plantas del nuevo cultivar de cacao a registrarse y de los materiales notoriamente conocidos (testigos) para su evaluación. Se evaluarán máximo tres cultivares que entregue el interesado y los testigos comerciales o de referencia se definirán en el protocolo específico.

##### 4.1.2 Insumos agropecuarios

Insumos requeridos para el mantenimiento del experimento, que incluirá fertilizantes, fungicidas, insecticidas, herbicidas, y otros, acordes a un manejo racional de los mismos.

##### 4.1.3 Materiales y Equipos

Se indicarán los materiales y equipos que se requerirán para la validación de los cultivares de cacao, según sea el caso del interesado.

#### 4.2 Metodología

##### 4.2.1 Características del sitio experimental

###### 4.2.1.1 Ubicación

Se indicarán las características del sitio experimental donde se realice el ensayo de validación. La información a registrarse se indica en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Ubicación del experimento.

Provincia
Cantón
Parroquia
Sitio
Latitud
Longitud

El ensayo se realizará mínimo en dos localidades dependiendo de los clones o materiales genéticos y los requerimientos del interesado. Cualquier variación en el número de localidades se definirá en el protocolo específico.

#### 4.2.1.2 Características agroclimáticas

Se registrarán las condiciones climáticas del sitio experimental donde se realice el ensayo de validación. La información a registrarse se indica en el cuadro 2.

Cuadro 2. Condiciones climáticas del sitio experimental.

Zona climática
Altitud
Temperatura promedio
Precipitación media anual
Heliofanía
Humedad relativa promedio

#### 4.2.1.3 Características edáficas

Previo a la implementación del ensayo, se realizará un análisis de suelo para conocer las características físico-químicas del mismo, como base para el manejo nutricional y riego del cultivo en evaluación, evitando restricciones nutrimentales y de agua para que los cultivares expresen sus caracteres distintivos.

#### 4.2.2 Tratamientos

Se indicará el número de cultivares de cacao con sus nombres respectivos (Cuadro 3).

Cuadro 3. Tratamientos a evaluarse.

Nº Tratamiento	Descripción
T1	
T2	
T3	
T4	

#### 4.2.3 Unidad experimental

La unidad experimental, estará constituida por al menos 5 plantas en el caso de clones y para híbridos al menos 10 plantas por repetición (al menos 3 repeticiones) de cada cultivar, debiendo registrarse la siguiente información (Cuadro 4).

Cuadro 4. Características de la unidad experimental.

Unidad experimental	Características
Número de unidades experimentales	
Número de repeticiones	
Número de tratamientos	
Área total del experimento (m <sup>2</sup> )	
Área neta del experimento (m <sup>2</sup> )	
Distancia entre hileras (m)	
Distancia entre plantas (m)	
Distancia entre caminos (m)	
Número de plantas por parcela total	
Número de plantas por parcela neta	
Área parcela total (m <sup>2</sup> )	
Área parcela neta (m <sup>2</sup> )	
Número de plantas total por tratamiento	
Número de plantas por ensayo total	
Número de plantas parcelas netas total	

#### 4.2.4 Análisis estadístico

En todos los ensayos de campo se aplicarán las técnicas de la estadística descriptiva, univariadas y multivariada, los análisis de varianza mediante un diseño de bloques completamente al azar (DBCA). Además, se utilizará la Prueba de Tukey al 5% para determinar diferencias entre medias. Para el análisis de datos se utilizan paquetes estadísticos como INFOSTAT o R.

#### 4.2.5 Variables o descriptores y métodos de evaluación

Para la evaluación de cultivares de cacao, se elaborará un listado de variables o descriptores específicos, utilizados para el registro de nuevas variedades de cacao publicados por el IEPI (2016), actualmente SENADI. Utilizando como referencia los descriptores generados por los países miembros de la UPOV para la evaluación armonizada de los caracteres, o los descriptores generados por Biodiversity International. Según la UPOV (2002), esta armonización es importante porque facilita la distinguibilidad y también contribuye a proporcionar una protección eficaz mediante el establecimiento de descripciones armonizadas y reconocidas internacionalmente. Como se mencionó anteriormente, en lo referente a las variables productivas, sanitarias y de laboratorio (análisis físicos y sensoriales de los granos de cacao), se evaluarán de acuerdo a la Miscelánea N°433 del INIAP, publicada por Loo et al., (2016).

##### 4.2.5.1 Selección de los descriptores

Los requisitos básicos que un descriptor debería satisfacer antes de su utilización consisten en que su expresión: a) resulta de un cierto genotipo o de una cierta combinación de genotipos; b) es lo suficientemente consistente y repetible en un medio ambiente particular; c) muestra una variación suficiente entre las variedades que permite establecer la distinción; d) puede definirse y reconocerse con precisión; e) permite que se cumplan los requisitos sobre la homogeneidad; f) permite que se cumplan los requisitos sobre la estabilidad, es decir, produce resultados consistentes



y repetibles después de cada reproducción o multiplicación repetida o, en caso necesario, al final de cada ciclo de reproducción o multiplicación.

Cabe mencionar que no existe ningún requisito que exija que el carácter tenga valor o utilidad comercial. No obstante, si un carácter que tiene valor o utilidad comercial satisface todos los criterios para su inclusión, podrá considerarse en la manera habitual.

#### **4.2.5.2 Niveles de expresión de los caracteres**

Con el fin de poder validar los cultivares, cada carácter se divide en una serie de niveles, y se atribuye una “Nota” numérica a la redacción de cada nivel.

#### **4.2.5.3 Caracteres cualitativos**

Los “caracteres cualitativos” son los que se expresan en niveles discontinuos (por ejemplo, el sexo de la planta: dioico femenino (1), dioico masculino (2), monoico unisexual (3), monoico hermafrodita (4)). Estos niveles de expresión se explican por sí mismos y tienen un significado independiente. Todos los niveles son necesarios para describir la gama completa del carácter, mientras que toda forma de expresión puede describirse mediante un único nivel. El orden de los niveles no es importante. Por regla general, los caracteres no son influenciados por el medio ambiente (UPOV, 2002).

#### **4.2.5.4 Caracteres cuantitativos**

En los “caracteres cuantitativos”, la expresión abarca toda la gama de variaciones, de un extremo a otro. La expresión puede inscribirse en una escala unidimensional lineal continua o discontinua. La gama de expresión se divide en varios niveles de expresión a los fines de la descripción (por ejemplo, longitud del tallo: muy corto (1), corto (3), medio (5), largo (7), muy largo (9). La división tiene por fin proporcionar, en la medida en que resulta práctico, una distribución equilibrada a lo largo del nivel (UPOV, 2002).

#### **4.2.5.5 Caracteres pseudocualitativos**

En el caso de los “caracteres pseudocualitativos”, la gama de expresión es, al menos parcialmente, continua pero varía en más de una dimensión (por ejemplo, la forma: oval (1), elíptica (2), redonda (3), oboval (4) y no puede describirse adecuadamente definiendo únicamente los extremos de una gama lineal. De manera similar a los caracteres cualitativos (discontinuos), de ahí el uso del término “pseudocualitativo”, cada nivel de expresión individual tiene que ser determinado para describir adecuadamente la gama del carácter (UPOV, 2002).

#### **4.2.5.6 Variables a registrarse.**

Para cada cultivar de cacao se definirán los descriptores armonizados en base a lo descrito en el punto 4.2.5. El registro de las variables se realizará con un técnico especialista (SP 10) y un asistente de campo (SP 5).

##### **4.2.5.6.1. Características agronómicas de la planta:**

###### **a. Altura de planta (AP)**

Híbridos.- se mide desde el nivel del suelo hasta la altura de la formación de verticilo (molinillo u horqueta), utilizando una regla graduada en centímetros (cm).

Clones.- Se mide desde el nivel del suelo hasta el ápice de la planta (hoja más alta), utilizando una regla graduada en centímetros. Se realizan tres mediciones puntuales: 6, 12 y 18 meses, antes de la primera poda de formación.

#### **b. Diámetro del tallo (DT)**

Híbridos.- Se realiza la medición del diámetro del tallo principal, a una altura de 40 cm sobre el nivel del suelo, utilizando un calibrador Vernier. Se realiza a los 6, 12 y 18 meses.

Clones.- Se considera la sumatoria de los diámetros de las ramas principales, medidos a una altura de 40 cm sobre el nivel del suelo, utilizando un calibrador Vernier. Se realiza a los 6, 12 y 18 meses de edad.

#### **c. Diámetro de la corona foliar (DCF)**

Tanto en híbridos como en clones, se mide la longitud existente entre el ápice de las hojas ubicadas en las dos ramas más distantes, al nivel del tercio medio de la planta, utilizando una regla o cinta métrica. Esta variable se registra conjuntamente con las variables altura de planta y diámetro del tallo a los 6, 12 y 18 meses de edad.

#### **d. Circunferencia del tallo (CT)**

Para obtener el valor de circunferencia del tallo (C) se realiza la conversión del valor obtenido en la variable diámetro del tallo, aplicando la siguiente fórmula:

$$C = D * \pi$$

Donde:

C = Circunferencia del tallo

D = Diámetro del tallo

$\pi = 3.1416$

#### **e. Índice de Vigor (IV)**

Es una medida que hace referencia al volumen de biomasa de la planta. Tanto en híbridos como en clones, se determinará en la época seca (julio-agosto). Se registra a los 6, 12 y 18 meses de edad de la planta, utilizando los datos de circunferencia de tallo, altura de planta y diámetro de corona foliar, aplicando la siguiente fórmula:

$$IV = \frac{C^2}{4} \sqrt{H^2 * \frac{L^2}{4}}$$

Donde:

IV = Índice de vigor

C = Circunferencia del tallo (cm)

H = Altura de planta (cm)

L = Diámetro de corona foliar (cm)

#### **f. Ángulo de inserción del verticilo (° grados)**

Esta variable se evalúa en plantas provenientes de semilla (híbridos), plantas somáticas y plantas provenientes de estacas ortotrópicas. Se registra luego del apareamiento del verticilo (molinillo u horqueta), considerando el promedio del

número de grados del ángulo formado en el punto de inserción de las ramas principales y el tallo de la planta, utilizando un graduador.

#### g. Forma de la copa (FC)

Tanto en híbridos como en clones, se registra en la época seca (julio) mediante la observación visual, utilizando la siguiente escala:

- 1 = Copa horizontal
- 2 = Copa semi-erecta
- 3 = Copa erecta

#### 4.2.5.6.2. Características morfológicas de hojas, flores y semillas.

A continuación, se presenta una lista de descriptores morfológicos básicos de hojas, flores y frutos de cacao. La caracterización morfológica se efectuará dos veces al año (época seca y época lluviosa), en el tercer y cuarto año de evaluación del ensayo (Cuadro 5).

Para todos los caracteres se realizarán 4 mediciones en total (en el tercer año una medición en época lluviosa y una en época seca y en el cuarto año una medición en época lluviosa y una en época seca).

Cuadro 5. Descriptores básicos de cultivares de cacao.

Descriptor	Nivel de expresión	Nota	Observación carácter
Color de la Hoja Joven	Verde Claro Verde medio Marrón Rojo Claro Rojo Medio Rojo Oscuro	1 2 3 4 5	Se registra en brotes nuevos (hojas de 5 cm de largo) N° de muestras: 10. Se evalúa de forma visual.
Flor: Pigmentación Antociánica del Pedicelo	Ausente o débil Moderada Fuerte	1 2 3	Se evalúa en flores completamente formadas. N° de flores: 10. Se evalúa de forma visual.
Flor: Estaminodio, pigmentación antociánica	Ausente o débil Débil Media Fuerte	1 2 3 4	Se evalúa en flores completamente formadas. N° de flores: 10. Se evalúa de forma visual.
Flor: Color de la Lígula	Crema Amarillo crema Amarillo	1 2 3	Se evalúa en flores completamente formadas. N° de flores: 10. Se evalúa de forma visual.
Fruto: forma	Cundeamor Ovado Circular Elíptica Oblonga Obovado	1 2 3 4 5 6	Fruto maduro. N° de frutos: 10. Se evalúa de forma visual.
Fruto: constricción basal	Ausente Débil Intermedia Fuerte	1 3 5 7	Fruto maduro. N° de frutos: 10. Se evalúa de forma visual.
Fruto: Forma del ápice	Atenuado Agudo Obtuso Redondeado Apezonado Dentado	1 2 3 4 5 6	Fruto maduro. N° de frutos: 10. Se evalúa de forma visual.



Fruto: Superficie (rugosidad)	Ausente Ligera Intermedia Fuerte	1 3 5 7	Fruto maduro. N° de frutos: 10. Se evalúa de forma visual.
Fruto: color	Amarillo verde Amarillo Anaranjado Rojo medio Rojo oscuro púrpura	1 2 3 4 5 6	Fruto maduro. N° de frutos: 10. Se evalúa de forma visual.
Fruto: grosor del exocarpio (cm)	Delgado ( $\leq 10$ mm) Medio (11-15 mm) Grosso ( $<15$ mm)	3 5 7	Fruto maduro. Se mide con calibrador digital Vernier. N° de frutos: 10. Se utiliza calibrador digital.
Fruto: Longitud (cm)	Corta ( $\leq 12$ cm) Media (12,1-15,0 cm) Largo ( $< 15$ cm)	3 5 7	Fruto maduro. Se mide con calibrador digital Vernier o cinta métrica. N° de frutos: 10. Se utiliza calibrador digital.
Fruto: diámetro (cm)	Pequeño ( $\leq 4,5$ cm) Medio (4,6 – 7,0 cm) Larga ( $< 15$ cm)	3 5 7	Fruto maduro. Se mide con calibrador digital Vernier o cinta métrica. N° de frutos: 10. Se utiliza calibrador digital.
Fruto: superficie rugosidad	Ausente (lisa) Ligera Intermedia fuerte	1 3 5 7	Fruto maduro. N° de frutos: 10. Se evalúa de forma visual.
Fruto: profundidad de los surcos	Ausente ( $\leq 2$ mm) Poco profunda (2,1 – 4 mm) Media (4,1-6 mm) Profunda (6,1-8 mm)	1 2 3 4	Fruto maduro. N° de frutos: 10. Se utiliza calibrador digital.
Fruto: dulzor del pulpa (° brix)	Débil (0-30° brix) Medio (31-60° brix) Intenso (más 61° brix)	3 5 7	Fruto maduro. Se mide con refractómetro. N° de frutos: 10. Se utilizará medidor medidor de grados brix
Fruto: número de semillas	Bajo ( $\leq 40$ ) Medio (41-45) Alto ( $<45$ )	3 5 7	Fruto maduro. Se cuenta el número de semillas de cada fruto. N° de frutos: 10. Se evalúa de forma visual.
Semilla: longitud (mm)	Corta ( $\leq 15$ mm) Media (16-20 mm) Larga ( $< 20$ mm)	3 5 7	Se mide con calibrador Vernier. N° de semillas: 10. Se utiliza calibrador digital.
Semilla: anchura (mm)	Estrecha ( $\leq 5$ mm) Media (6-10 mm) Ancha ( $<10$ mm)	3 5 7	Se mide con calibrador Vernier. N° de semillas: 10. Se utiliza calibrador digital.
Semilla grosor (mm)	Delgado ( $\leq 4$ mm) Media (4,1-6,0 mm) Grosso ( $< 0,6$ mm)	1 2 3	Se mide con calibrador Vernier. N° de semillas: 10. Se utiliza calibrador digital.
Semilla: forma en sección longitudinal	Oblonga Elíptica Ovada irregular	1 2 3 4	N° de semillas a observar: 100. Se evalúa de forma visual.
Semilla: color del cotiledón	Blanco Crema Rosa Rojo oscuro Púrpura oscuro	1 2 3 4 5	N° de semillas a observar: 100. Se evalúa de forma visual.

**4.2.5.6.3. Características productivas:****a. Número de mazorcas sanas (NMS)**

Se contabiliza el número de mazorcas total de mazorcas sanas fisiológicamente maduras por árbol, en función del pico y frecuencia de cosecha.

**b. Peso de cacao fresco (g) por planta (PCF)**

En cada evento de cosecha, se registra el peso total fresco por árbol, sin maguey.

**c. Índice de mazorca (IM)**

Es el número de mazorcas maduras y sanas necesarias de cada genotipo, para obtener un kg de cacao seco. Esta variable se calcula dos veces al año, en coincidencia con cada pico de cosecha (uno en invierno y otro en verano). Para su cálculo, se utiliza la siguiente fórmula:

$$IM = \frac{(\text{Número de mazorcas} \times 1000)}{(\text{peso (g) de las almendras secas})}$$

**d. Índice de semilla (IS)**

Es el peso de una semilla fermentada y seca. Para determinar esta característica, se registra el peso en gramos de 100 almendras tomadas al azar. Para efectos de cálculo, se aplica la siguiente fórmula:

$$IS = \frac{\text{Peso (g) de 100 almendras}}{100 \text{ almendras}}$$

**4.2.5.6.4. Evaluación de enfermedades en campo:****a. Incidencia de escobas de bruja vegetativas (*Moniliophthora perniciosa*):**

Para el efecto, se realizan las siguientes actividades:

- En cada planta se registra el número de escobas vegetativas por número total de brotes encontrados en cada planta.
- La incidencia (en porcentaje) se obtiene aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Incidencia (\%)} = \frac{\text{Número de escobas vegetativas}}{\text{Número total de brotes}} \times 100$$

**b. Incidencia de mazorcas enfermas:**

La incidencia de frutos enfermos se obtiene mediante el conteo de todos los frutos que presente síntomas y signos diferentes a Monilia. El total de frutos enfermos se obtiene aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Incidencia de (\%)} = \frac{\text{Número de mazorcas enfermas con síntomas y signos diferentes a Monilia}}{\text{Número total mazorcas colectadas}} \times 100$$

#### c. Incidencia de mazorcas enfermas con Monilia (*Moniliophthora roreri*):

La incidencia de frutos enfermos con Monilia se obtiene mediante el conteo de todos los frutos que presenten síntomas y signos de Monilia. El total de frutos enfermos con Monilia se obtiene aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Incidencia de (\%)} = \frac{\text{Número de mazorcas enfermas con síntomas y signos de Monilia}}{\text{Número total mazorcas colectadas}} \times 100$$

#### 4.2.5.6.5. Calidad integral del grano:

##### a. Análisis físico.

Se colecta muestras de mazorcas en estado fisiológico óptimo para posteriormente proceder a los procesos de fermentación y secado. La colecta de muestras se realizará tanto en invierno como en verano, para evaluar sus perfiles según la época del año, se medirán las siguientes variables:

- Contenido de humedad en la almendra.
- Porcentaje de fermentación.
- Porcentaje de cascarilla o testa (%).
- Índice de frecuencia del peso de las almendras.
- pH del cotiledón.

##### b. Análisis químico.

- Polifenoles.
- Determinación de alcaloides.
- Grasa.

##### c. Perfil sensorial

- Preparación de licor de cacao
- Evaluación sensorial de licor de cacao

### 4.3 Manejo específico del experimento

#### 4.3.1 Duración de los ensayos

La duración mínima de los ensayos (ensayos nuevos) deberá ser al menos cinco años, para así tener al menos tres años consecutivos de cosecha; sin embargo, esta duración podrá extenderse si es pertinente por la confiabilidad de los resultados. En caso de que el interesado cuente con información previa de datos productivos (número de mazorcas sanas/hectárea/año y kilogramos de cacao seco/hectárea/año de cada cultivar), sanitarios (número de mazorcas enfermas/hectárea/año de cada

cultivar) y análisis sensoriales por cultivar, de al menos tres años (ensayos instalados previamente), se debe validar un año más de producción.

#### 4.3.2 Siembra

El tiempo de esta actividad dependerá de la densidad recomendada para cada clon y se definirá en el protocolo específico.

#### 4.3.3 Podas

Se realizará la poda de formación de las plantas de los 12 a 18 meses después de la siembra en campo, para seleccionar de 3 a 4 ejes o ramas que conformarán la estructura de la planta, esto va a depender del método de propagación de las plantas (injerto, estacas enraizadas o ramillas). Las podas de mantenimiento se las realizará a partir del segundo año (las veces que sea necesario) eliminando ramas quebradas, enfermas o mal ubicadas. Al mismo tiempo, se controlará la altura máxima de los árboles (3 m de altura). Esta práctica se la realizará periódicamente cada tres meses.

#### 4.3.4 Riego

Se abastecerá de riego en la época seca (junio-diciembre). El método de riego que se recomienda es sub-foliar.

#### 4.3.5 Controles fitosanitarios

Se procederá a eliminar ramas y frutos enfermos con Escoba de bruja, Monilia, *Phytophthora sp.*, cánceres y deformadas.

#### 4.3.6 Fertilización

De acuerdo a un previo análisis de suelo, los requerimientos del cultivo y recomendaciones técnicas del Departamento de Suelos y Aguas del INIAP. Se realizará un fraccionamiento de la fertilización edáfica dos aplicaciones: la primera se aplicará a inicios de la época lluviosa (enero) y la segunda hacia el final del mismo periodo (abril-mayo). La aplicación se efectuará en forma de corona, a una distancia de 60 cm alrededor del tallo principal.

#### 4.3.7 Sistema de conducción

No aplica.

#### 4.3.8 Control de malezas

Se combinará el uso de moto-guadaña con rozas manuales, estas últimas principalmente para la limpieza de las coronas alrededor de las plantas. La frecuencia del control será mensual durante la época de lluvias, la cual promueve el vigoroso crecimiento de las malezas.

#### 4.3.9 Cosecha

Consiste en la colecta de mazorcas que cumplen su madurez fisiológica. Se realiza con la frecuencia necesaria para evitar la sobre maduración de las mazorcas.

#### 4.3.10 Registro de datos

El registro de datos depende de las variables a evaluar. En relación a los datos productivos y sanitarios se registrarán mensualmente por árbol en cada tratamiento. Al término de cada año, se procederá a realizar el análisis estadístico de la base de datos del ensayo.

### 5. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Por tratarse de un cultivo perenne, se estima un cronograma de actividades de evaluación y validación de aproximadamente cinco años (Cuadro 6). Sin embargo, para su aplicación se contemplan 2 casos específicos:

**5.1 Desde la siembra del ensayo:** Para este caso se estima una participación integral del INIAP por 5 años, teniendo en cuenta que va desde la siembra de las plantas hasta alcanzar tres años de cosecha consecutiva.

**5.2 Validación de información pre-existente:** En este caso, se estima una intervención del INIAP de aproximadamente 12 meses, pero teniendo en cuenta que el solicitante deberá proveer todos los datos e información generada durante los primeros 5 años de vida del material en campo, lo cual deberá incluir el detalle de tres años consecutivos de cosecha.

Cuadro 6. Cronograma de actividades.

ACTIVIDADES	AÑOS				
	1	2	3	4	5
1. Elaboración perfil específico para el cultivar de cacao.	X				
2. Análisis de suelo	X				
3. Preparación de plantas clonales	X				
4. Preparación terreno	X				
5. Instalación del ensayo de validación.	X				
6. Manejo agronómico y sanitario del cultivar o cultivares en evaluación en la o las localidades.	X	X	X	X	X
7. Caracterización morfológica (hojas, flores y frutos) del cultivar en estudio (época lluviosa y época seca).			X	X	
8. Registro mensual de datos productivos y sanitarios.		X	X	X	X
9. Análisis de datos a finales de cada año para la identificación del cultivar o cultivares con mejor adaptación en la o las localidades		X	X	X	X
10. Cosecha de mazorcas para procesos de fermentación y secado de almendras, tanto en época lluviosa y época seca.			X	X	X
11. Caracterización física y organoléptica de las almendras y preparación de licor de cacao y posteriores cataciones.			X	X	X
12. Elaboración de matriz de perfiles sensoriales del cultivar de cacao en evaluación.			X	X	X
13. Análisis de datos de los perfiles sensoriales.				X	X
14. Elaboración de informe técnico					X



Estas actividades se realizan cuando INIAP ejecute en su totalidad los ensayos de validación de cultivares. Sin embargo, cuando el interesado opte por la modalidad de supervisión, el equipo técnico definirá en el protocolo específico el número de visitas obligatorias que INIAP deberá realizar a fin de constatar los parámetros solicitados para los ensayos de validación.

## 6. PRESUPUESTO DEL ENSAYO

Se elaborará un presupuesto con base al número de cultivares, los insumos requeridos para la implementación y manejo del experimento, número de visitas, tiempo de evaluación y localidades a evaluarse.

## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Braudeau, J. (2001). El cacao. Técnicas agrícolas y producciones tropicales. Barcelona, España. Editorial Blumé. Recuperado de: <http://www.inocua.org/site/Archivos/libros/m%20evaluacion%20sensorial.pdf>. p 297.

Gilliland, T; Gensollen V. 2010. Review of the protocols used for assessment of DUS and VCU in Europe – Perspectives. En: Huyghe C. [Ed.]. Sustainable use of genetic diversity in forage and turf breeding. Heidelberg: Springer. pp. 261 - 275.

Instituto Ecuatoriano de Propiedad Intelectual. Directris Nacional para la Ejecución del Exámen de la Distinción, Homogeneidad y Estabilidad. Descripción de Cultivares de cacao (*Theobroma cacao* L.) 2016.

INGENIOS (Obtenciones Vegetales). 2017. El Derecho de Obtentor, su proceso de solicitud es un beneficio justo para el sector agrícola del país. Boletín 005. Quito, Ecuador. <https://www.propiedadintelectual.gob.ec/el-derecho-de-obtentor-su-proceso-de-solicitud-es-un-beneficio-justo-para-el-sector-agricola-del-pais/>

Loor, R., Casanova, T., y Plaza, L. (2016). Mejoramiento y homologación de los procesos de investigación, validación y producción de servicios en cacao y café. Eds. *Publicación Miscelánea N° 433, 1ra Ed. INIAP (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias), EET-Pichilingue, Mocache, Ecuador*. 103 p. ISBN: 978-9942-22-103-2.

Ramírez, M; Carballo A; Santacruz, A; Conde, V; Espitia, E; González, F. 2010. Distinción, homogeneidad y estabilidad mediante caracterización morfológica en variedades de amaranto. Rev. Mex. Cienc. Agríc vol.1 no.3. p. 335-349.

Salvatore, M., Pozzi, F., Ataman, E., Huddleston, B. y Bloise, M. 2005. Mapping global urban and rural population distributions. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.

Torres, María de Lourdes (2010). Agrobiodiversidad y Biotecnología. Rev. *Polémika*. Vol 2 No 5. USFQ, Quito, Ecuador. p 130-139.

Unión Internacional para la Protección de Variedades Vegetales -UPOV-. Directrices de examen. Directrices para la ejecución del examen de la Distinción, Homogeneidad y la Estabilidad de cacao (*Theobroma cacao* L.). 2011.

UPOV (Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales). 2002. Introducción General al examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad y a la elaboración de descripciones armonizadas de las obtenciones vegetales. TG/1/3. Ginebra, Suiza. 28 p.

Zambrano, J; Barrera, V; Murillo, I; Domínguez, J. 2018. Plan Estratégico de Investigación y Desarrollo Tecnológico del INIAP 2018 – 2022. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. INIAP, Quito, Ecuador.

**Elaborado por:**

Ing. Ignacio Sotomayor Cantos  
Investigador Auxiliar 1 / Programa Nacional de Cacao y Café

**Revisado por:**

Ing. Doris Tixe  
Directora de Producción y Servicios (E)

**Aprobado por:**

Ing. William Viera  
Director de Gestión del Conocimiento Científico (E)

## 8. ANEXOS

Para cada material genético de cacao se pueden adjuntar gráficos o fotografías que ayuden a la descripción de los caracteres.