



Contenido de clorofilas totales en doce clones de cacao (*Theobroma cacao* L.)

Total chlorophyll content in twelve cocoa clones (*Theobroma cacao* L.)

Autores: Eduardo Fidel Héctor Ardisana¹
Antonio Torres García²
Osvaldo Fosado Téllez³
Janner Álava Álava⁴
Gema Tatiana Sancán Pin⁵
Rolando León Aguilar⁶

Dirección para correspondencia: ehectorardisana@gmail.com

Recibido: 26-07-2018

Aceptado: 18-09-2018

Resumen

El contenido de pigmentos fotosintéticos, en particular las clorofilas, está relacionado con la adaptación de los genotipos a las condiciones climáticas en que estos se desarrollan. En varias especies, la cantidad de clorofila está relacionada con el rendimiento de los cultivos. El objetivo de la presente investigación fue determinar el contenido de clorofilas totales en 12 clones de *Theobroma cacao* L. que están siendo empleados como progenitores en un programa de mejoramiento genético en la Facultad de Ingeniería Agronómica de la Universidad Técnica de Manabí. El contenido de clorofilas totales se midió en las hojas adultas de tres plantas de cada clon, en condiciones de secano, en los

¹ Facultad de Ingeniería Agronómica, Universidad Técnica de Manabí, Ecuador.

² Facultad de Ingeniería Agronómica, Universidad Técnica de Manabí, Ecuador. E-mail: catorres@utm.edu.ec

³ Facultad de Ingeniería Agronómica / Instituto de Postgrado, Universidad Técnica de Manabí, Ecuador. E-mail: osvaldo.fosado@gmail.com

⁴ Estudiante de la Facultad de Ingeniería Agronómica, Universidad Técnica de Manabí, Ecuador. E-mail: eduardo-alava1994@hotmail.es

⁵ Estudiante de la Facultad de Ingeniería Agronómica, Universidad Técnica de Manabí, Ecuador. E-mail: gsancan4039@utm.edu.ec

⁶ Facultad de Ingeniería Agronómica, Universidad Técnica de Manabí, Ecuador. E-mail: rolandoleon1959@gmail.com

meses de enero, junio y julio de 2017, con el medidor de clorofila Minolta SPAD-502®. Se encontraron diferencias significativas entre los clones en cada uno de los tres muestreos, en particular en el último realizado en la estación seca, lo que se atribuye a la mayor adaptabilidad de algunos clones a las condiciones de baja disponibilidad de agua. No se observaron diferencias significativas en la evolución del contenido de clorofilas de los clones.

Palabras clave: cacao; *Theobroma cacao* L.; clorofilas; clones.

Abstract

The content of photosynthetic pigments, particularly chlorophylls, is related to the adaptation of genotypes to the climatic conditions in which they develop. In several species, the amount of chlorophyll is related to the yield of crops. The objective of the present investigation was to determine the total chlorophyll content in 12 clones of *Theobroma cacao* L. that are being used as progenitors in a breeding program in the Facultad de Ingeniería Agronómica of the Universidad Técnica de Manabí. The total chlorophyll content was measured in the adult leaves of three plants of each clone, under rain-fed conditions, in the months of January, June and July of 2017, with the chlorophyll meter Minolta SPAD-502®. Significant differences were found between the clones in each of the three samplings, particularly in the last one carried out in the dry season, which is attributed to the greater adaptability of some clones to the conditions of low water availability. No significant differences were observed in the evolution of the chlorophyll content of the clones.

Keywords: cocoa; *Theobroma cacao* L.; chlorophylls; clones.

Introducción

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es una planta de la familia de las malváceas (De Almeida y Valle, 2007) originaria de América Central y del Sur (Tezara *et al.*, 2016). Los ocho países que lideran la producción mundial de cacao son Costa de Marfil, Ghana, Indonesia, Nigeria, Camerún, Brasil, Ecuador y Malasia, pero se cultiva en numerosas regiones por encima y por debajo de la línea ecuatorial (Peña y Bermúdez, 2015).

Ecuador, además de ser el séptimo productor global (con el 4 % de la producción total del planeta), es el primer productor de cacao fino de aroma, y obtiene un rendimiento de 0.60 t.ha⁻¹, superior a la media mundial de 0.40 t.ha⁻¹ (MAGAP, 2015). Sin embargo, para mantener este liderazgo se impone la realización constante de estudios de mejoramiento y selección de clones promisorios, que se adapten a las condiciones climáticas del país (Sánchez *et al.*, 2014).

El contenido de pigmentos fotosintéticos representa una medida del sistema fotosintético (Huang *et al.*, 2004; García *et al.*, 2005; Suárez *et al.*, 2017). En el cacao, como en otras especies, la tasa fotosintética neta puede no estar relacionada directamente con el rendimiento, ya que sus valores a nivel de la

hoja pueden diferir del valor total de la planta, por factores como las características del dosel y la partición de la biomasa (Daymond *et al.*, 2002). No obstante, las características fotosintéticas determinan la adaptación del cultivo a las condiciones particulares del área en que crece (Daymond *et al.*, 2011).

En la Facultad de Ingeniería Agronómica de la Universidad Técnica de Manabí, 12 clones de cacao están siendo empleados como progenitores en un programa de mejoramiento genético. Como contribución a la caracterización de estos genotipos, este trabajo se propuso como objetivo determinar el contenido de clorofila en estos clones de *Theobroma cacao* L.

Metodología

La investigación se realizó en el Campus Experimental “La Teodomira”, ubicado en la parroquia de Lodana, cantón Santa Ana, provincia de Manabí, perteneciente a la Facultad de Ingeniería Agronómica de la Universidad Técnica de Manabí, Ecuador, localizado a 01°09' S de latitud y 80°21' W de longitud, con una altitud de 60 msnm. Los clones estudiados fueron: L11-H19, L18-H58, L21-H38, L21-H43, L26-H64, L29-H04, L46-H57, L46-H75, L46-H88, L49-H98, EET-103 y CCN-51. Los árboles, de una edad de 12 años, estaban plantados desde 2005 en un diseño de bloques al azar con dos réplicas (6 por réplica), en condiciones de secano, sin fertilización y parcialmente sombreados por árboles de *Guava* spp.

El contenido de clorofilas totales se determinó con el medidor de clorofila Minolta SPAD-502®. Para el estudio se seleccionaron y marcaron 3 plantas sombreadas de cada clon en una de las dos réplicas. Se realizaron tres muestreos (inicios de enero, inicios de junio y fines de julio de 2017). Se efectuaron 3 mediciones en hojas adultas del tercio medio de cada planta seleccionada, de lo que resultó un total de 9 mediciones por clon en cada muestreo.

El contenido de clorofilas totales en los clones en cada uno de los tres muestreos se procesó por análisis de varianza simple, para determinar posibles diferencias entre los clones en estudio. La comparación de las medias se realizó con la prueba de Tukey ($p < 0,05$). Para analizar el comportamiento general del contenido de clorofilas totales en el tiempo en el conjunto de clones estudiados se utilizó un diseño de mediciones repetidas (Lambda de Wilks). Se aplicó la prueba de Bonferroni, previa verificación del supuesto de esfericidad de la matriz de varianza-covarianza a través del test de W de Mauchly (Montgomery, 2013). Los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el software IBM® SPSS® Statistics v. 21.

Resultados

En la Tabla 1 se muestran los resultados de las comparaciones de las medias de la cantidad de clorofilas (unidades SPAD) en los doce clones estudiados en cada uno de los momentos de muestreo.

Al hacer un análisis integral de los muestreos, se aprecia que el clon L46H75 mostró altos valores en cada uno de los momentos de evaluación, comportamiento inverso al del clon L26H64 que en general expresó valores bajos con respecto a los restantes.

Tabla 1. Contenido de clorofilas (unidades SPAD) en doce clones de cacao en los tres momentos de muestreo. Letras distintas indican diferencias significativas para la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

CLON	1er muestreo (05/01/2017)		2do muestreo (03/06/2017)		3er muestreo (27/07/2017)	
	Media	Error típico	Media	Error típico	Media	Error típico
L11H19	42,8778 ab	1,71535	52,4556 a	1,88747	52,3000 ab	0,93437
L18H58	42,0667 b	2,23601	53,3444 a	1,45842	55,8889 a	1,56449
L21H38	50,6667 ab	1,70799	45,5667 ab	1,99639	47,7556 b	1,64883
L21H43	43,4444 ab	1,31288	50,1000 ab	1,98137	50,9222 ab	1,68282
L26H64	30,3111 c	1,79300	40,5667 b	2,34224	50,0556 ab	1,31689
L29H04	43,7333 ab	1,01146	51,8556 ab	1,65463	47,8000 b	1,29733
L46H57	49,8778 ab	2,49943	51,0889 ab	1,55362	48,8000 b	1,08410
L46H75	51,6556 a	2,77499	53,3444 a	1,38405	55,4556 a	1,04604
L46H88	42,3444 b	1,79962	48,6667 ab	6,18093	52,5111 ab	1,55550
L49H98	43,5889 ab	1,36346	53,1333 a	0,88333	53,6000 ab	1,27290
EET-103	43,1333 ab	2,05980	54,2778 a	1,86910	49,8889 ab	1,64506
CCN-51	45,2444 ab	1,45059	55,3556 a	1,42059	52,4667 ab	1,29056
Total	44,0787	0,72409	50,8130	0,76810	51,4537 ab	0,45487

En la Tabla 2 se presentan los resultados obtenidos al comparar la evolución en el tiempo del contenido de clorofilas totales en los clones. En todos los casos se cumplió el supuesto de esfericidad.

Tabla 2. Evolución de las mediciones de clorofila en los tres momentos (*) p -valor $< \alpha = 0,05$; (ns) p -valor $> \alpha = 0,05$. Letras iguales indican que no hay diferencias significativas ($\alpha = 0,05$)

Clon	p-valor Lambda de Wilks	p-valor Esfericidad W de Mauchly	Test de Bonferroni		
			05/01/2017	03/06/2017	27/07/2017
L11H19	0.261 (ns)	0.631 (ns)	a	a	a
L18H58	0.185 (ns)	0.776 (ns)	a	a	a
L21H38	0.075 (ns)	0.069 (ns)	a	a	a
L21H43	0.023 (*)	0.051 (ns)	b	a	a
L26H64	0.183 (ns)	0.700 (ns)	a	a	a
L29H04	0.416 (ns)	0.818 (ns)	a	a	a
L46H57	0.901 (ns)	0.956 (ns)	a	a	a
L46H75	0.913 (ns)	0.641 (ns)	a	a	a
L46H88	0.391 (ns)	0.808 (ns)	a	a	a
L49H98	0.123 (ns)	0.304 (ns)	a	a	a
EET-103	0.136 (ns)	0.409 (ns)	a	a	a
CCN-51	0.296 (ns)	0.205 (ns)	a	a	a

Como se puede observar, sólo en el clon L21H43 se obtuvo un incremento significativo a partir de la segunda medición, que se mantuvo constante en las dos últimas fechas de muestreo. En el resto de los clones no se apreciaron diferencias significativas entre los tres momentos de determinación de esta variable.

Discusión

Los estudios realizados en el mundo sobre la fotosíntesis en cacao son relativamente recientes, no muy abundantes, y se han concentrado en pocos países: Brasil (Da Silva *et al.*, 2017), Colombia (Suárez *et al.*, 2017), Ghana (Acheampong *et al.*, 2013), Gran Bretaña (Daymond *et al.*, 2011; Lahive *et al.*, 2018), Nigeria (Ayegboyin y Akinrinde, 2016) y Venezuela (Araque *et al.*, 2012; Ávila-Lovera *et al.*, 2016; Tezara *et al.*, 2016; De Almeida *et al.*, 2017).

En cuanto a los estudios de este tipo realizados en Ecuador, Tezara *et al.* (2015) evaluaron la actividad fotoquímica de 20 clones y concluyeron que estos poseen alta plasticidad fisiológica aun cuando crecieron en condiciones lumínicas contrastantes. Jaimez *et al.* (2018) señalaron que la eficiencia fotosintética en los clones de cacao que crecen en la región Costa es superior a la de los clones que se cultivan en otras regiones, probablemente porque la baja evaporación en esta región resulta en poco gasto energético para la fotoprotección de las plantas. En general, los conocimientos acerca de la fisiología de la fotosíntesis en esta especie son limitados, excepto su relación estrecha con la disponibilidad de agua, la concentración de nitrógeno y la conductancia estomática de las hojas, sobre todo en plantas jóvenes.

La fotosíntesis es el proceso que permite la captación de la energía lumínica a través de pigmentos y su conversión en energía química para la elaboración de compuestos carbonados primarios, esenciales para el metabolismo vegetal. Los pigmentos más abundantes en el reino vegetal son las clorofilas; por tanto, en teoría, es de esperar que una planta con mayor contenido de pigmentos sea capaz de producir mayor rendimiento, lo cual se ha demostrado en otras especies (Saínz y Echeverría, 1998; Gutiérrez *et al.*, 2005; González, 2009).

Los resultados obtenidos para el contenido de clorofilas totales en la presente investigación demostraron la existencia de variabilidad para este parámetro en los clones de cacao en los tres momentos estudiados, lo cual es el primer requisito para que pueda considerarse como una variable predictora del rendimiento.

No obstante, la variabilidad se manifestó sobre todo en el tercer muestreo, realizado a fines de julio, época de menor precipitación en la región costera de Ecuador. Posiblemente, aunque la plasticidad fisiológica de los clones de cacao ha sido demostrada por Tezara *et al.* (2015), el balance hídrico desfavorable en este momento haya sido la causa de que se observaran diferencias entre los clones, y que estas se deban a una distinta adaptabilidad de los genotipos a las condiciones de secano. La actividad fotosintética está correlacionada con el contenido de nitrógeno foliar (Daymond *et al.*, 2011) y la concentración de este

elemento -componente de la molécula de clorofila- es más bajo en las hojas del cacao durante la estación seca (Ávila-Lovera *et al.*, 2016).

Se han realizado diversas evaluaciones sobre la potencialidad productiva de diversos clones de cacao en Ecuador (Amores *et al.*, 2009; Anónimo, 2011; Proaño *et al.*, 2015; Sánchez *et al.*, 2014, 2015). Los caracteres genéticos vinculados al rendimiento de tres de los clones aquí estudiados fueron evaluados por Sánchez *et al.* (2014); de ellos, L46H75 fue clasificado por estos autores como de alta riqueza genética, además de mostrar un elevado índice de mazorca. En la presente investigación, el clon L46H75 estuvo en el grupo que exhibió mayor contenido de clorofilas totales en los tres muestreos.

La productividad de los 12 clones aquí estudiados fue evaluada entre 2009 y 2012 por Proaño *et al.* (2015). Los datos de estos autores muestran que L11H19, L26H64, L29H04, L46H57, L46H75, L46H88 y L49H98 se destacaron de los restantes por el número de mazorcas sanas, mientras que L11H19, L21H38, L26H64 y L46H57 lo hicieron por el rendimiento en cacao seco.

Por razones obvias, fue imposible establecer una clara relación entre el contenido de clorofilas totales y el rendimiento histórico de los clones. Las diferencias observadas entre ellos al parecer se deben a la mayor o menor adaptabilidad que estos exhiben ante las variaciones del ambiente, en particular el déficit hídrico. Sin embargo, en estos clones no se han llevado a cabo estudios simultáneos sobre el contenido de clorofilas y el rendimiento que alcanzan en un ambiente específico. Sería útil la realización de investigaciones más amplias en este sentido, que permitan esclarecer si en determinadas condiciones el contenido de clorofila está relacionado con el rendimiento final obtenido por estos genotipos -como ha sido demostrado en otras especies- sobre todo por la sencillez del método de medición empleado y su carácter no destructivo.

Conclusiones

Se detectaron diferencias significativas en el contenido de clorofilas totales de doce clones de cacao en cada uno de los tres muestreos realizados, particularmente en el último, ejecutado en la estación seca de la costa ecuatoriana. Las diferencias encontradas se atribuyen a la mayor adaptabilidad de algunos clones a las condiciones de secano y la baja disponibilidad de agua en esta época. No se encontraron tendencias significativas en el comportamiento del contenido de clorofilas totales en el tiempo, ni fue posible establecer relaciones entre esta variable y el rendimiento histórico de los clones. Estudios más profundos del contenido de clorofilas totales podrían ser útiles para establecer si esta variable muestra relación con el rendimiento en condiciones ambientales particulares.

Referencias bibliográficas

- Acheampong, K., Hadley, P. & Daymond, A. J. (2013). Photosynthetic activity and early growth of four cacao genotypes as influenced by different shade regimes under West African dry and wet season conditions. *Expl Agric.* 49 (1): 31-42.
- Amores, F., Agama, J., Suárez, C. Quiroz, J. & Motato, N. (2009). EET 575 y EET 576. Nuevos clones de cacao nacional para la zona central de Manabí. Estación Experimental Tropical Pichilingue, Boletín Divulgativo No. 346, 28 pp.
- Anónimo (2011). Comportamiento agronómico de 12 clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) en cuatro localidades del litoral ecuatoriano. Informe 2008-2010. *Revista La Técnica* 6: 54-58.
- Araque, O., Jaimez, R. E., Tezara, W., Coronel, I., Urich, R. & Espinoza, W. (2012). Comparative photosynthesis, water relations, growth and survival rates in juvenile criollo cacao cultivars (*Theobroma cacao*) during dry and wet seasons. *Expl Agric.* 48 (4): 513-522.
- Ávila-Lovera, E., Coronel, I., Jaimez, R., Urich, R., Pereyra, G., Araque, O., Chacón, I. & Tezara, W. (2016). Ecophysiological traits of adult trees of criollo cocoa cultivars (*Theobroma cacao* L.) from a germplasm bank in Venezuela. *Exp. Agric.* 52 (1): 137-153.
- Ayegboyin, K. O. & Akinrinde, E. A. (2016). Effect of Water Deficit Imposed during the Early Developmental Phase on Photosynthesis of Cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Agricultural Sciences* 7: 11-19.
- Da Silva, M. C., Furtado, A. A., Dalmolin, M. C., Ahnert, D. & Baligar, V. C. (2017). Influence of low light intensity and soil flooding on cacao physiology. *Scient. Hort.* 217: 243-257.
- Daymond, A. J., Hadley, P., Machado, R. C. R. & Ng, E. (2002). Canopy characteristics of contrasting clones of cacao (*Theobroma cacao*). *Exp. Agr.* 38: 359-367.
- Daymond, A. J., Tricker, P. J. & Hadley, P. (2011). Genotypic variation in photosynthesis in cacao is correlated with stomatal conductance and leaf nitrogen. *Biol. Plant.* 55 (1): 99-104.
- De Almeida, A. & Valle, R. R. (2007). Ecophysiology of the cacao tree. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 19, 425-448.
- De Almeida, J., Ávila, E., Jaimez, R. E., Araque, O., Móvil, O., González, R. & Tezara, W. (2017). Características fotosintéticas de cuatro clones de cacao en un sistema agroforestal en Barlovento, Edo. Miranda. *Investigación y Saberes* 3 (3): 3-21.
- García, X., García, E., Rascón, Q., Herrera, L. & Aguado, G. A. (2005). Chlorophyll accumulation is enhanced by osmotic stress in graminaceous chlorophyll cells. *J. Plant Physiol.* 162: 650-667.
- González, A. (2009). Aplicación del medidor portátil de clorofila en programas de mejora de trigo y cebada. *Agroecología* 4: 111-116.
- Gutiérrez, M., Reynolds, M. P., Escalante, J. A. & Larqué, A. (2005). Algunas consideraciones en la relación entre fotosíntesis y el rendimiento de grano en trigo. *Ciencia Ergo Sum* 12 (2): 149-154.

- Huang, X. D., Alawi, Y. E., Penrose, D. M., Glick, B. R. & Greenberg, B. M. (2004). Responses of three grass species to creosote during phytoremediation. *Environ. Poll.* 130: 453-459.
- Jaimez, R. E., Amores, F., Vasco, A., Loor, R. G., Tarqui, O., Quijano, G., Jiménez, J. C. & Tezara, W. (2018). Photosynthetic response to low and high light of cacao growing without shade in an area of low evaporative demand. *Acta Biol. Colomb.* 23 (1): 95-103.
- Lahive, F., Hadley, P. & Daymond, A. J. (2018). The impact of elevated CO₂ and water deficit stress on growth and photosynthesis of juvenile cacao (*Theobroma cacao* L.). *Photosynthetica* 56 (3): 911-920.
- MAGAP (2015). *Cacao: producción y rendimiento*. Recuperado de: http://sipa.agricultura.gob.ec/phocadownload/modulos/cadenas_agroproductivas/cacao/produccion/superficie_produccion_rendimiento_cacao.pdf
- Montgomery, D.C. (2013). *Diseño y Análisis de experimentos*. México DF, México: LIMUSA, S.A.
- Peña, J. M. & Bermúdez, C. P. (2015). Vinculación universidad empresa. Innovación para la diversificación de mercados de cacao. *RICEA Revista Iberoamericana de Contaduría, Empresa y Administración* 4 (7), 103-121.
- Proaño, O. H., Toro, J. V., Corozo, L., Sánchez-Mora, F. D., Matute, A. F. & Vásquez, V. F. (2015). Potencial productivo de clones experimentales de cacao tipo "Nacional". *Revista La Técnica* 14: 24-29.
- Sáinz, H. & Echeverría, H. E. (1998). Relación entre las lecturas del medidor de clorofila (Minolta SPAD 502) en distintos estadios del ciclo de cultivo de maíz y el rendimiento en grano. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata* 103 (1): 37-44.
- Sánchez, F. D., Medina, S. M., Díaz, G. T., Ramos, R. A., Vera, J. F., Vásquez, V. F., Troya, F. A., Garcés, F. R. & Onofre, R. (2015). Potencial sanitario y productivo de 12 clones de cacao en Ecuador. *Rev. Fitotec. Mex.* 38 (3): 265-274.
- Sánchez, F., Zambrano, J., Vera, J., Ramos, R., Garcés, F. & Vásquez, G. (2014). Productividad de clones de cacao tipo nacional en una zona del bosque húmedo tropical de la provincia de Los Ríos, Ecuador. *Ciencia y Tecnología* 7 (1), 33-41.
- Suárez, J. C., Duran, E. H., Rojas, J. A. & Ortiz, N. (2017). Pigmentos fotosintéticos y conductancia estomática en ecotipos de copoazú (*Theobroma grandiflorum* Willd. Ex Spreng K. Schum.). *Agron. Mesoam.* 28 (1): 199-206.
- Tezara, W., De Almeida, J., Valencia, E., Cortes, J. L. & Bolaños, M. J. (2015). Actividad fotoquímica de clones élites de cacao (*Theobroma cacao* L.) ecuatoriano en el norte de la provincia Esmeraldas. *Investigación y Saberes* 4 (3): 37-52.
- Tezara, W., Urich, R., Jaimez, R., Coronel, I., Araque, O., Azócar, C. & Chacón, I. (2016). Does Criollo cocoa has the same ecophysiological characteristics as Forastero? *Botanical Sciences* 94 (3), 563-574.