Revista MINERVA

VOL. 2, NÚM. 1
ENERO / JUNIO 2019
ISSN 2521-8794

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

SIC-UES

Secretaría de Investigaciones Científicas de la Universidad de El Salvador

AUTORIDADES UNIVERSITARIAS

Rector
M.Sc. Roger Armando Arias Alvarado

Vicerrector Académico
PhD. Raúl Ernesto Azcúnaga López

Vicerrector Administrativo
Ing. Agr. M.Sc. Juan Rosa Quintanilla Quintanilla

Secretario General
Ing. Francisco Antonio Alarcón Sandoval

Fiscal General
Lic. Rafael Humberto Peña Marín

Presidente Asamblea General Universitaria (AGU)
Lic. Iván Hernández

Secretario de Investigaciones Científicas (SIC-UES)
Director Ejectutivo del Consejo de Investigaciones Científicas (CIC-UES)
Ing. Agr. M.Sc. José Miguel Sermeño Chicas

SIC-UES
Secretaría de Investigaciones Científicas de la Universidad de El Salvador

COMITÉ EDITORIAL:

Ruth Fernández de Quezada
Docente, Facultad de Odontología, Universidad de El Salvador.

Dagoberto Pérez
Docente de Cultivos Anuales, Departamento de Ciencias Agronómicas, Facultad Multidisciplinaria Paracentral, Universidad de El Salvador.

Brenda Iliana Gallegos
Docente de Educación Alimentaria y Nutricional, Facultad de Medicina, Universidad de El Salvador.

Ignacio Aisur Agudo Padrón
Gerente Investigador Projeto "Avulsos Malacológicos - AM", Florianápolis, Santa Catarina / SC, Brasil.

José Ismael Guevara Zelaya
Jefe Departamento Ingeniería Agronómica, Facultad Multidisciplinaria Oriental, Universidad de El Salvador.

Rudis Yilmar Flores
Docente Investigador, Facultad Multidisciplinaria Oriental, Universidad de El Salvador.

Evelin P. Gutiérrez de Doradea
Investigadora, Unidad de Investigación, Facultad de Jurisprudencia y Ciencias Sociales, Universidad de El Salvador.

José Roberto Ramos López
Docente, Escuela de Ingeniería Eléctrica, Universidad de El Salvador.

Carlos Enrique Ruano Iraheta
Docente, Departamento de Zootecnia, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.

Andrea L. Joyce
Assistant Professor, University of California, Merced. Estados Unidos.

Paul Almeida
Professor and Chair of Sociology, University of California, Merced. Estados Unidos.

Víctor D. Carmona Galindo
Associate Professor and Director of Sustainability, College of Engineering and Science, University of Detroit Mercy. Estados Unidos.

Luis Pineda
Técnico en Gestión de Cuencas y Humedales. Autoridad Científica en Fauna Silvestre - CITES. Dirección General de Ecosistemas y Vida Silvestre. Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales, MARN, El Salvador.

Mónica Lara Uc
Profesora Investigadora, Universidad Autónoma de Baja California Sur, México.

David A. Hernández
Director Editorial Universitaria. Director Revista "La Universidad", Universidad de El Salvador.

Tania Vianney Gutiérrez Santillán
Estancia Postdoctoral, Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma de Nuevo León, México.

Luis A. Mejía
Adjunct Professor, Department of Food Science and Human Nutrition
University of Illinois, Urbana-Champaign

José Miguel Sermeño Chicas
Secretario de Investigaciones Científicas de la Universidad de El Salvador (SIC-UES), Director Ejecutivo del Consejo de Investigaciones Científicas de la Universidad de El Salvador (CIC-UES).

Revista MINERVA

REVISTA MINERVA
Revista Científica Multidisciplinaria
Volumen 2, Número 1
Enero - Junio de 2019.

Universidad de El Salvador,
Secretaría de Investigaciones Científicas.

ISSN 2521-8794

Periodicidad:
Tiene una periodicidad semestral, con dos números publicados anualmente, correspondientes a los períodos de enero - junio y julio - diciembre.

Alcance:
La Revista Minerva es una revista de acceso abierto. Publica artículos científicos de las diferentes áreas del conocimiento, entre ellas la Física, la Química, la Biología, las Matemáticas, Ciencias Ambientales, Ciencias Sociales, Ciencias Humanísticas, Medicina, Ingenierías, entre otras. Su objetivo es difundir investigaciones inéditas y originales, de calidad científica, elaboradas por los miembros de la comunidad académica y profesional nacional e internacional. Todas las conclusiones presentadas en los artículos deben estar basadas en el estado actual del conocimiento y soportadas por un análisis riguroso y una evaluación equilibrada. La revista acepta artículos de investigación, revisión y reflexión en español e inglés.

COMITÉ TÉCNICO SIC-UES:

Isidro Galileo Romero Castro
Director Editorial

Andrea Veraliz Delgado de Martínez
Correctora de estilo

Luis Alberto Sánchez Alfaro
Editor Gráfico

Saúl Antonio Vega Baires
Editor Digital

Plataforma digital:
Sus artículos están disponibles en
https://minerva.sic.ues.edu.sv

Dirección postal:
Final Avenida Mártires Estudiantes y Héroes del 30 de julio, Edificio de CENSALUD, Ciudad Universitaria, San Salvador, El Salvador.

Teléfono:
(503) 2225-8434

Correo electrónico:
revista.minerva@ues.edu.sv

ACLARATORIA

LAS IDEAS Y OPINIONES CONTENIDAS EN LOS TRABAJOS Y ARTÍCULOS SON DE RESPONSABILIDAD EXCLUSIVA DE LOS AUTORES Y NO EXPRESAN NECESARIAMENTE EL PUNTO DE VISTA DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.

Contenido

ARTÍCULOS

Fuentes alimenticias del vector de la Enfermedad de Chagas *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) en ambientes domiciliares de la región oriental de El Salvador 9-21
Ana Karla Castillo-Ayala, Víctor D. Carmona-Galindo, Andrea Romero-Magaña, Jenny Amaya, Enrique Posada, Saúl Gámez, Guillermo Recinos, María Fernanda Marín

Evaluación de medios de inducción *in vitro* a callo vegetal en explantes foliares de *Annona diversifolia* Safford (Magnoliales: Annonaceae) 22-30
Huilhuinic Ángel Orantes-Ramos, Yanira Elizabeth López-Ventura

Caracterización morfoagronómica de cacao criollo (*Theobroma cacao* L.) y su incidencia en la selección de germoplasma promisorio en áreas de presencia natural en El Salvador 31-50
Jose Alexander López-Hernández, Fredy Noe Ortiz-Mejía, Fidel Angel Parada-Berríos, Francisco Lara-Ascencio, Elías Antonio Vásquez-Osegueda

Producción de plantas de cacao criollo (*Theobroma cacao* L.), utilizando dos técnicas de injerto con modificaciones y su efecto en el éxito del prendimiento en fase de vivero 51-62
Leticia Beatriz Villalta-Cartagena, Ana Teresa Rivas-García, Yeni Marcela Ramos, Fidel Angel Parada-Berríos, Marvin Orlando Molina-Escalante

Nutrición de portainjertos de cacao (*Theobroma Cacao* L.) utilizando diferentes dosis de fórmula 15-15-15 y su influencia en el prendimiento de cuatro tipos de injerto 63-78
Marvin Alfredo Meza-Calderón, Xiomara Milagro Moya-Menjívar, Fidel Angel Parada-Berríos, Elías Antonio Vásquez-Osegueda

Monitoreo parasitológico de peces en aguas continentales en El Salvador 79-94
Juan Francisco Alvarado-Panameño

ESTUDIO DE CASOS

Desequilibrio oclusal y su influencia en la alineación vertebral: Un ensayo en ratones 97-106
Ana Alexandra Escobar-Majano, Ligia Elena Escobar-Rivas, Sandra Guadalupe Góngora-Renderos, Óscar Emerson Mártir-Ventura, Muriel Denisse Rivera-López, Carmen Cecilia Santeliz-Flores, Douglas Oswaldo Escobar-Osegueda, José Guillermo Mejía-Valencia

NOTAS TÉCNICAS

Rescate de patashte (*Theobroma bicolor* Humb & Bonpl.) y cushta (*Theobroma angustifolium*) dos especies promisorias en peligro de extinción en El Salvador 109-122
Fidel Angel Parada-Berríos, Elías Antonio Vásquez-Osegueda, Luis Miguel Lovo-Lara, Ada Yanira Arias-de-Linares, Marvin Orlando Molina-Escalante

ARTÍCULOS

Revista
MINERVA
Plataforma digital de la revista: https://minerva.sic.ues.edu.sv

Fuentes alimenticias del vector de la Enfermedad de Chagas *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) en ambientes domiciliares de la región oriental de El Salvador

Food sources of the vector of the Chagas disease *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) in home environments in the eastern region of El Salvador

Ana Karla Castillo-Ayala[1], Víctor D. Carmona-Galindo[1,2], Andrea Romero-Magaña[1], Jenny Amaya[1], Enrique Posada[1], Saúl Gámez[1], Guillermo Recinos[1], María Fernanda Marín[1]

RESUMEN

La enfermedad de Chagas es una infección parasitaria causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi*, transmitida por triatominos hematófagos, y parásito de varias especies de mamíferos reservorios. La enfermedad principalmente se encuentra en las áreas rurales de Latinoamérica y se considera como la infección parasitaria con mayor carga económica en dicha región. Uno de los retos para El Salvador es enriquecer las acciones de control y prevención de la enfermedad de Chagas mediante la identificación de aspectos biológicos y ecológicos de los vectores triatominos que facilitan la transmisión del parásito *T. cruzi*. Se analizó el ADN intestinal de chinches *T. dimidiata* mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para identificar entre ratas, ratones, cerdos, aves, perros y humanos las posibles fuentes alimenticias del vector y para detectar infección del vector por el parásito *T. cruzi*. Se evaluó la distribución de fuentes alimenticias con respecto a la división política administrativa (DPA), sexo del vector, e infección del vector por *T. cruzi* a través de pruebas de Chi-Cuadrado de 2-factores. Se encontró que las fuentes alimenticias de *T. dimidiata* cambiaron significativamente con respecto al sexo y la DPA del vector, pero no cambiaron con respecto a la infección del vector por *T. cruzi*. Se concluyó que la inclusión de variables ecológicos y elementos de biología poblacional en el desarrollo de acciones eficaces del control y prevención de la enfermedad de Chagas pueden aportar significativamente a la eliminación de la infestación domiciliar y la interrupción de la transmisión vectorial de *T. cruzi* en El Salvador.

Palabras Clave: Biología poblacional, ecosalud, ecología de vectores, tripanosomiasis americana

1 Universidad de El Salvador; Centro de Investigación y Desarrollo en Salud; Laboratorio de Entomología de Vectores; San Salvador, El Salvador.
2 University of Detroit Mercy; Biology Department; Detroit, Michigan, USA.

Este es un artículo bajo la licencia CC BY NC (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

ABSTRACT

Chagas disease is a parasitic infection caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, that is transmitted by hematophagous triatomine insects and maintained by means of several mammal-reservoir species. The disease is found throughout rural areas of Latin America and is considered the most costly parasitic infection of the region. One of the principal challenges for El Salvador is to enrich existing management plans and control systems for Chagas via the identification of biological and ecological factors associated with the *T. dimidiata* vector transmission of the *T. cruzi* parasite. We analyzed intestinal DNA of *T. dimidiata* dimidiata insects using Polymerase Chain Reaction (PCR) techniques to identify the possible feeding sources of the vector from among rat, mouse, pig, bird, dog and human reservoir-types as well as to detect infection of the vector by the *T. cruzi* parasite. We evaluated the distribution of feeding sources with respect to geo-political distribution of the vector, sex of the vector, and infection of the vector by *T. cruzi* using 2-factor Chi Squares analyses. We found that feeding sources of *T. dimidiata* insects changed significantly with respect to the sex of the vector as well as the geo-political distribution of the vector but did not change with respect to the infection of the vector by *T. cruzi*. We conclude that the addition of ecological variables and population biology parameters in the development of management and control systems for Chagas disease in El Salvador can significantly enhance the eradication of domiciliar infestations and interrupt the vector transmission of the *T. cruzi* parasite.

Keywords: Population biology, global health, tripanosomiasis americana, vector ecology

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana es una infección parasitaria sistémica y crónica causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi*, y se transmite principalmente por contacto con heces u orina infectadas de los insectos hematófagos de la subfamilia Triatominae (OMS 2016). El parásito se presenta en una gran variedad de cepas e infecta a más de 150 especies de animales domésticos y silvestres (Rassi *et al.* 2010). Actualmente, no existe una vacuna contra *T. cruzi* y los únicos fármacos disponibles para el tratamiento de la enfermedad son los compuestos nitro-heterocíclicos Nifurtimox y el Benznidazol, los cuales son parcialmente eficaces durante la etapa aguda de la infección (OMS 2005; Rassi y Marin-Neto 2010). Dentro de los esfuerzos realizados para mejorar los tratamientos se destacan los ensayos clínicos como *Clinical trial for the treatment of chronic Chagas disease with posaconazole and benznidazole* (CHAGASAZOL) y E1224 (evaluando el posaconazol y ravuconazol); además, se esperan resultados favorables con el estudio de *Benznidazole Evaluation for Interrupting Trypanosomiasis* (BENEFIT) y *Tratamiento En pacientes Adultos* (TRAENA) (Belaunzarán 2015). A nivel mundial, se estima que hay ocho millones de personas infectadas con Chagas (OMS 2016) y se encuentra ampliamente difundida en zonas endémicas de 21 países de América Latina, considerándose como la infección parasitaria con mayor carga económica en esa región debido a su prolongada cronicidad (OMS 2005). Para el 2005, en El Salvador se estimó un total de 232,000 personas infectadas y el 39% de la población se encontraba en riesgo (Cedillos *et al.* 2011a; Rassi *et al.* 2010). En los últimos años, el control de la enfermedad ha mejorado en Centroamérica a través de iniciativas de intervención temprana en los pacientes infectados, monitoreo y vigilancia de la enfermedad de Chagas (Rassi *et al.* 2010).

Los miembros de la subfamilia Triatominae (Hemíptera, Reduviidae) tienen una alta capacidad vectorial por su dieta hematófaga, coadaptación a los ambientes domiciliares,

y por la adaptación del parásito *T. cruzi* en el intestino del insecto (Dujardin *et al.* 2002). Se reconocen más de 130 especies pertenecientes a cinco tribus y 16 géneros (WHO 2003), sin embargo, desde el punto de vista epidemiológico, los géneros de mayor importancia son *Triatoma, Rhodnius y Panstrongylus* (Dujardin *et al.*2002; WHO 2003), los cuales se distribuyen desde México hasta Argentina y Chile. Dentro del género Triatoma se encuentran 72 especies, siendo *T. infestans* el principal vector para suramérica (Dujardin *et al.* 2002). No obstante, *T. dimidiata* es el vector activo desde México hasta Perú a lo largo de la costa pacífica (Dujardin *et al.* 2002) y parece estar adaptado a los ambientes modificados antropogénicamente (Zeledón 1983). Los triatominos son capaces de existir en ambientes domiciliares que les permiten alimentarse y dar paso a la transmisión vectorial del parásito (Jurberg y Galvão 2006). En dichos ambientes, existen diversos factores que influyen en la probabilidad de infestación, tales como el nivel socioeconómico del hogar, materiales de construcción para la vivienda, y las condiciones de higiene que se mantienen (Bustamante *et al.* 2015).

La especie *T. dimidiata* presenta una alta dispersión, infestación e índices de colonización en El Salvador, con una transmisión vectorial activa (Ponce 2007). El Ministerio de Salud de El Salvador (MINSAL), junto con la Agencia de Cooperación Internacional de Japón (JICA) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS), llevan a cabo actividades de vigilancia de la enfermedad de Chagas que han permitido controlar el vector mediante la fumigación de viviendas con insecticidas de acción residual. En El Salvador, no existen programas de intervención a nivel de mejora de vivienda (Cedillos *et al.* 2011a; OPS 2010), a pesar de que hay evidencia que el tipo de construcción de la vivienda y mala higiene crean condiciones propicias para la domiciliación del vector (Bustamante *et al.* 2009).

En El Salvador, los estudios realizados sobre la enfermedad de Chagas se han enfocado principalmente en describir su prevalencia en el país (Sasagawa *et al.* 2014b). La prevalencia del parásito en donantes de sangre ha disminuido a nivel nacional, sin embargo, este patrón difiere entre los departamentos de El Salvador (Sasagawa *et al.* 2014b). Casos agudos de la enfermedad suceden con más frecuencia en los departamentos de occidente (Ahuachapán, Santa Ana y Sonsonate), en San Salvador y en San Miguel (Sasagawa *et al.* 2014a). A nivel de cantones, los índices de infestación y la prevalencia del parásito (en niños menores a 15 años) varían bastante entre las comunidades (Aiga *et al.* 2012). También se han documentado casos transmisión de madre a hijo de la enfermedad, así como sus factores de riesgo (Sasagawa *et al.* 2012; Sasagawa *et al.* 2015).

Uno de los principales retos para los estudios sobre la Enfermedad de Chagas es evaluar aspectos ecológicos de los Triatominos para interrumpir la transmisión vectorial de *T. cruzi* y desarrollar nuevas herramientas de control ecológico para a la eliminación de la infestación en ambientes antropogénicos (Bustamente *et al.* 2015). Modificaciones antropogénicas al medio ambiente frecuentemente contribuyen a nuevos patrones de transmisión de la enfermedad de Chagas (Briceño-León 2009). Aspectos importantes en las poblaciones de *T. dimidiata* incluyen la variación morfológica, uso de hábitat, capacidad de domiciliación, y la preferencia alimenticia entre localidades (Dorn *et al.* 2007). El objetivo de este estudio fue evaluar una colecta entomológica realizada por MINSAL en el oriente de El Salvador para explorar cómo las fuentes alimenticias de *T. dimidiata* en ambientes domiciliares cambiaban con respecto a la biología poblacional (distribución

y proporción de sexos). Hipotetizamos que las fuentes alimenticias de *T. dimidiata* cambiarían con respecto a su sexo, la División Política Administrativa (DPA), y la infección por *T. cruzi*.

METODOLOGÍA

Metadatos

Los individuos de *T. dimidiata* analizados forman parte de la colección científica del Laboratorio de Entomología de Vectores (LEV) en el Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador (UES), que fueron donadas por el Ministerio de Salud de El Salvador (MINSAL), provenientes de la colecta entomológica realizada en el mes de febrero de 2013 con base en la norma de Chagas MINSAL (2011). Las variables registradas por MINSAL fueron: infección (presencia del parásito), sexo, estadio (etapa de desarrollo biológico), DPA (Departamento, Municipio, Cantón y Caserío) y Tipo de Vivienda (material de construcción y estado de las paredes y los pisos). En este estudio solamente se analizó los metadatos: sexo, infección y DPA. Este último se tomó en consideración como una forma de explorar si existían cambios de fuentes alimenticias a nivel departamental. Se seleccionaron 45 individuos de *T. dimidiata* de hábitat domiciliar, provenientes de la región oriental del país (Morazán, San Miguel, Usulután y La Unión). Nos enfocamos en la zona oriental (1) por ser un estudio preliminar y (2) por los datos disponibles de la zona de las encuestas entomológicas.

Fase de laboratorio

El análisis de laboratorio se llevó a cabo entre los meses de mayo a octubre de 2015. Se distribuyeron 12 individuos por departamento, a excepción de Usulután (9), siendo en total de 45 chinches, (21 hembras y 24 machos). Se realizaron dos pruebas para determinar si cada individuo se encontraba infectado con el parásito *T. cruzi*. Una prueba parasitológica realizada por el Ministerio de Salud realizada después de su captura, según lo dicta la Norma Técnica para Prevención y Control de la Enfermedad de Chagas (MINSAL 2011). La segunda prueba se llevó a cabo en el 2015 gracias a que los individuos de *T. dimidiata* se preservaron en Alcohol- Glicerina al 5% (Menes 2007). Dicha prueba consistió en la evaluación mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para corroborar los resultados de la anterior.

Para la prueba de PCR se extrajo el ADN intestinal de cada individuo utilizando el kit comercial Qiagen y se amplificó el ADN con la técnica de PCR forense para seis especies de vertebrados (ave, cerdo, rata, ratón, perro y humano) y *T. cruzi* (Pizarro y Stevens 2008; Moser *et al.* 1989; Walker *et al.* 2004; Walker *et al.* 2003) en reacciones de 30 µl con las siguientes concentraciones: 1X de Buffer PCR, 1.5 mM de MgCl2, 0.2 mM dNTPs y 1.25 unidades de AmpliTaq Gold DNA polimerasa, con excepción de *T. cruzi*, el cual se utilizó 1.5 unidades de AmpliTaq Gold DNA polimerasa. Las concentraciones de los cebadores fueron de 0.2 µM para *T. cruzi*, ave, cerdo, perro y rata y 0.5 µM para ratón y humano (Cuadro 1). Las amplificaciones se visualizaron por electroforesis en gel de agarosa al 2%.

Análisis Estadístico

La distribución observada de las fuentes alimenticias de *T. dimidiata* con relación a su sexo, DPA y la infección por *T. cruzi* (MINSAL 2011; MARN 2010), se evaluaron usando una prueba Chi-Cuadrado de 2-factores, también conocida como Tabla de Contingencia (Sokal y Rohlf 1969; Pizarro 2008). En caso de que *T. dimidiata* se alimentara de más de un hospedero se categorizó como “mixta” y fueron independientes y mutuamente excluyentes del conteo de las categorías con una sola fuente alimenticia. Los conteos

Cuadro 1. Parámetro de PCR para cada cebador.

Especie	Inicialización	Desnaturalización, unión y extensión	Extensión final
Humano (*Homo sapiens sapiens*)	10 min. a 95° C	44 ciclos 30 seg. a 94° C 1 min. a 61° C 1 min. a 72° C	7 min. a 72° C
Perro (*Canis lupus familiaris*)	10 min. a 95° C	30 ciclos 30 seg. a 94° C 1 min. a 55° C 1 min. a 72° C	7 min. a 72° C
Ave (spp.)	10 min. a 95° C	40 ciclos 30 seg. a 95° C 30 seg. a 55° C 45 seg. a 72° C	5 min. a 72° C
Ratón (*Mus musculus*)	10 min. a 95° C	30 ciclos 30 seg. a 94° C 30 seg. a 55° C 1 min. a 72° C	7 min. a 72° C
Rata (*Rattus norvegicus*)	10 min. a 95° C	40 ciclos 30 seg. a 95° C 30 seg. a 61° C 30 seg. a 72° C	(sin extensión final)
Cerdo (*Sus scrofa*)	10 min. a 95° C	30 ciclos 30 seg. a 95° C 1 min. a 63° C 1 min. a 63° C	(sin extensión final)
Parasito de Chagas (*Trypanasoma cruzi*)	10 min. a 94° C	30 ciclos 20 seg. a 94° C 10 seg. a 57° C 30 seg. a 72° C	7 min. a 72° C

categóricos se expresaron en porcentajes del total observado (n=45) para asegurar valores mayores a cinco en cada celda (Sokal y Rohlf 1969). La distribución esperada se expresó en términos de homogeneidad entre las fuentes alimenticias y las comparaciones respectivas (sexo e infección). Las pruebas estadísticas se realizaron usando una hoja de cálculo Microsoft Excel (versión 2013).

RESULTADOS

Fuentes Alimenticias del Vector

De los 45 individuos examinados, 16 se alimentaron de sangre de ave (35.6%), cinco

de sangre de perro (11.1%), dos de sangre de rata (4.4%) y 12 se alimentaron de más de un hospedero (26.7%). De estas últimas 12, 11 se alimentaron de una dieta mixta de dos fuentes alimenticias (perro-ave y rata-ave) (24.4%) y solamente uno se alimentó de tres fuentes (ave-perro-humano) (2.2%) . En los 10 individuos restantes (22.2%) los cebadores utilizados no detectaron ninguna fuente alimenticia.

Sexo del Vector

La distribución observada de las fuentes alimenticias de los individuos con relación a su sexo fue diferente a lo esperado (X^2=17.04, g.l.=2, p=1.992E-04). De las hembras *T. dimidiata*, cuatro se alimentaron de perros más de lo esperado (26.67%), siete se alimentaron de aves (46.67%) y cuatro de fuentes mixtas (26.67%) menos de lo esperado (Cuadro 2). Por otra parte, nueve de los machos de *T. dimidiata* se alimentaron de aves (45.0%) y ocho de fuentes mixtas (40.0%) más de lo esperado, y uno se alimentó de perro (5.0%)con menos frecuencia de lo esperado (Cuadro 2).

Cuadro 2. Distribución de las fuentes alimenticias (F.A.) de *T. dimidiata* con respecto a sexo del vector (n=45).

	Hembra		Macho	
F.A.	Observada	Esperada	Observada	Esperada
Ave	46.67%	48.25%	45.00%	43.42%
Mixto	26.67%	35.09%	40.00%	31.58%
Perro	26.67%	16.67%	5.00%	15.00%

Distribución DPA del vector.

La distribución de las fuentes alimenticias con relación al nivel sociopolítico fue diferente a lo esperado (X^2=7.862, g.l.=3, p=0.0489). En el Departamento de La Unión, *T. dimidiata* se alimentó de perro menos de lo esperado y se alimentó de ave más de lo esperado. En el Departamento de Morazán, *T. dimidiata* se alimentó de perro más de lo esperado y de ave menos de lo esperado. En el departamento de San Miguel, *T. dimidiata* se alimentó de perro menos de lo esperado y de ave más de lo esperado. En el departamento de Usulután, *T. dimidiata* se alimentó de perro más de lo esperado y de ave menos de lo esperado (Cuadro 3).

Infección por *T. cruzi*

El análisis parasitológico de los individuos coincidió con el análisis por la técnica de PCR. Así la distribución de las fuentes alimenticias con respecto a la infección por *T. cruzi* no fue diferente a lo esperado (X^2=2.203, g.l.=2, p=0.3324). El número de *T. dimidiata* (n=45) que resultaron negativos o positivos a la infección por *T. cruzi* se alimentaron con una distribución similar a lo esperado de ave, perro y fuentes mixtas. De las 33 *T. dimidiata* que dieron negativo a la presencia del parásito, 11 se alimentaron de ave (42.3%), nueve se alimentaron de fuentes mixtas (34.6%) y cuatro se alimentaron de perro (15.4%). Por otra parte, de las 12 *T. dimidiata* que dieron positivo a la presencia del parásito, cinco se alimentaron de ave (55.6%), tres se alimentaron de fuentes mixtas (33.3%) y una se alimentó de perro (11.1%) (Cuadro 4).

DISCUSIÓN

Nuestro estudio demuestra que las fuentes alimenticias de *T. dimidiata* cambian con respecto al sexo y la DPA, pero no cambian con respecto a la infección por *T. cruzi*.

Fuentes alimenticias de *T. dimidiata*

La principal fuente alimenticia de *T. dimidiata* en ambientes domiciliares de la región oriental de El Salvador fue la sangre de ave, seguido por la de perro y fuentes mixtas (es decir, dos o más fuentes alimenticias), y solamente en fuentes mixtas está incluida la sangre humana.

Cuadro 3. Distribución de las fuentes alimenticias (F.A.) de T. dimidiata con respecto a DPA (n=45).

	La Unión		Morazán		San Miguel		Usulután	
F.A.	Observado	Esperado	Observado	Esperado	Observado	Esperado	Observado	Esperado
Perro	31.25%	33.48%	37.50%	33.04%	12.50%	18.75%	18.75%	14.73%
Ave	35.71%	33.48%	28.57%	33.04%	25.00%	18.75%	10.71%	14.73%

Cuadro 4. Distribución de las fuentes alimenticias (F.A.) de *T. dimidiata* con respecto a la infección del vector por *T. cruzi* (n=45).

	Negativo		**Positivo**	
F.A.	Observada	Esperada	Observada	Esperada
Ave	42.31%	46.97%	55.56%	50.89%
Mixto	34.62%	32.62%	33.33%	35.33%
Perro	15.38%	12.72%	11.11%	13.78%

Similarmente, Farfán-García y Angulo-Silva (2011) en los ambientes domiciliares de Colombia detectaron una ingesta de sangre de animales domésticos en el 100% de los *T. dimidiata* analizados, con preferencia por gallinas (43.1%). Sin embargo, Calderón *et al.* (2001) en Costa Rica y Torres-Montero *et al.* (2012) en México encontraron una alta predilección por la sangre humana (67% y 87.5% respectivamente) en ambientes domiciliares. El carácter eurífago de *T. dimidiata* le permite aprovechar cualquier tipo de huésped (silvestre, doméstico) y prosperar en diferentes hábitats (Zeledon 2001; Angulo 2005a, b; Reyes y Angulo 2009).

La elección de fuentes alimenticias de los triatominos está influenciada más por su disponibilidad en el ambiente que han colonizado, que por las preferencias alimenticias del vector (Rabinovich *et al.* 2015). Las alta frecuencias de fuentes mixtas de alimentación detectadas (26.7%) sugieren que *T. dimidiata* no posee una preferencia para un hospedero específico y simplemente aprovecha las fuentes alimenticias disponibles en el hábitat (Torres-Montero *et al.* 2012). Reyes *et al.* (2011) señala que *T. dimidiata* es una especie generalista en sus hábitos alimenticios, utiliza un amplio rango de hospederos y que el desarrollo y la biología de esta especie no depende de una fuente alimenticia específica.

Sexo de *T. dimidiata*

Las hembras *T. dimidiata* prefirieron alimentarse de perros, mientras que los machos prefirieron aves y dieta mixta (más de dos fuentes alimenticias). Debido a inversiones reproductivas diferenciales entre los sexos, las hembras *T. dimidiata* durante la etapa adulta se alimentan con más frecuencia que los machos (Reyes *et al.* 2011). Sin embargo, un estudio realizado en Guatemala no encontró diferencias significativas en las fuentes alimenticias de *T. dimidiata* machos y hembras (Pellecer 2011). Aunque, también se ha registrado en Guatemala una alta movilidad de *T. dimidiata* entre domicilio y peridomicilio (Dumonteil *et al.* 2007).

División Política Administrativa

La principal fuente alimenticia de *T. dimidiata* en los departamentos de La Unión y San Miguel fueron aves, mientras que en los departamentos de Morazán y Usulután fueron perros. Farfán-García y Angulo-Silva (2011) en Colombia y Quintal y Polanco (1977) en México reportaron que las principales fuentes alimenticias para *T. dimidiata* fueron los perros y aves. Sin embargo, Sasaki *et al.* (2003) en Guatemala detectaron que las fuentes alimenticias más importantes para *T. dimidiata* fueron los humanos y los tacuazines (*Didelphis marsupialis*). Mientras

que Torres-Montero *et al.* (2012) en México encontraron que fueron los humanos y los ratones (*Mus musculus*). La variación de fuentes alimenticias entre diferentes países latinoamericanos e inclusive dentro de un respectivo país, sugiere que la proximidad del hospedero es un factor importante (Zeledon 2001, Rabinovich *et al.* 2015). Cabe destacar que en las zonas rurales de la zona oriental de El Salvador los patrones culturales (costumbre de introducir animales domésticos a la vivienda, entre otros) y la estructura de la vivienda (paredes de bajareque o adobe con grietas y piso de tierra) favorecen que los animales domésticos (pericos, palomas, gallinas, perros, etc.) duerman en domicilios o en cuartos anexos (como bodegas) a la vivienda (Velis *et al.* 2011, Cedillos *et al.* 2011b, Bustamante *et al.* 2015).

Infección por *T. cruzi*

La infección por *T. cruzi* en la población de *T. dimidiata* de la zona oriental del país no influyó en la elección de su fuente de alimento. Las fuentes alimenticias detectadas fueron: perros, aves, y fuentes mixtas. De igual manera, Zeledón *et al.* (1970) determinaron que no existe un cambio en el comportamiento alimenticio de *T. dimidiata* cuando es infectado por *T. cruzi*. Sin embargo, las diferencias de infección por *T. cruzi* en *T. dimidiata* puede deberse a cambios en la disponibilidad de fuentes alimenticias efímeras disponibles (Zeledón *et al.* 2005). Por ejemplo, un estudio realizado en Bolivia, los *T. infestans* intradomiciliares que se alimentaron de humanos, perros, y cobayas (Cavia porcellus) tuvieron mayor probabilidad de ser infectados por *T. cruzi* (Pizzarro *et al.* 2008).

Los *T. dimidiata* seleccionados de la colección entomológica de CENSALUD para el análisis molecular de fuentes alimenticias no nos permitió evaluar niveles de infección con respecto al sexo del vector. Sin embargo, en México reportaron que la tasa de infección no cambiaba significativamente con el sexo del vector (Torres-Montero *et al.* 2012). En contraste con Guatemala, donde se encontró que los *T. dimidiata* machos presentaban tasas más altas de infección por *T. cruzi* que las hembras (Monroy *et al.* 2013). Por otra parte, consideramos que los *T. dimidiata* positivas a *T. cruzi* que se alimentaron de aves utilizaron otras fuentes no detectadas en el estudio, debido a que las aves son especies refractarias al parásito (Herrera 2010).

Los aspectos ecológicos en la toma de datos son importantes para mejorar el control y prevención de la enfermedad de Chagas en El Salvador. Nuestro estudio apoya una estrategia comprensiva que toma en cuenta: (1) *T. dimidiata* es un hematófago oportunista en ambientes domiciliares y sus fuentes alimenticias cambian por departamento, y (2) el control del vector *T. dimidiata* y la mitigación de reservorios domiciliares de *T. cruzi* cumplen con los mismos objetivos, ya que la infección por *T. cruzi* no cambia el comportamiento de *T. dimidiata*.

Una estrategia comprensiva para El Salvador de mitigar los reservorios en ambientes domiciliares necesita también incorporar un elemento cultural, como los programas de Casa Saludable existentes en Latinoamérica (Zeledón 2008). Los programas de Casa Saludable se enfocan en eliminar la acumulación de desechos en las viviendas y el hospedaje de animales domésticos dentro de éstas y su traslado a lugares asignados. Los animales que habitan en el interior de las viviendas representan un factor de riesgo en la infestación y transmisión de la enfermedad de Chagas (Bustamante *et al.* 2014). Un estudio hecho en México demostró que la densidad domiciliaria de *Triatoma infestans* estaba relacionada positivamente con la presencia de gallinas anidadas en el interior de las casas (Cecere *et al.* 1997). Por lo tanto, las

modificaciones ambientales de los ecotopos artificiales del peridomicilio de *T. dimidiata* es un método de control ecológico que elimina la anidación por animales salvajes o sinantrópicos, disminuyendo el acceso a fuentes de sangre y, por consiguiente, la sobrevivencia de *T. dimidiata*, dificultando así la evasión de enemigos naturales (Zeledón 2001).

Pellecer *et al.* (2013) han demostrado que la evaluación de las fuentes alimenticias de *T. dimidiata* puede usarse junto con los índices entomológicos para medir el riesgo de infección en las comunidades. Otros países latinoamericanos toman variables relacionadas con la ecología del vector dentro de los domicilios, como, infestación por roedores, tipos de vivienda, presencia de animales domésticos (perros, aves, etc.), condición del techo, paredes y piso, etc., esto en el marco del enfoque ecosalud (Gürtler y Yadon 2015). A pesar de que en El Salvador se hacen vigilancias entomológicas, muchas veces datos sobre los materiales de construcción de las casas, tipos de techo y otras características de la vivienda no poseen información suficiente para las investigaciones enfocadas en dicha área. Por lo tanto, uno de los principales retos para El Salvador en el estudio de la ecología de enfermedades vectorizadas es mejorar la riqueza y disponibilidad de datos que se producen en las encuestas entomológicas del país.

Debido a las diferencias encontradas en los patrones alimenticios de *T. dimidiata* con respecto a la DPA, sugerimos realizar futuros estudios de microclima de la zona (temperatura, humedad, precipitación, etc.) con relación a la distribución de *T. dimidiata* y el riesgo de infestación. Por ejemplo, Badel-Mogollón *et al.* (2017) evidenciaron que las temperaturas medidas en dos departamentos de Colombia a nivel de superficie y a dos metros del suelo fueron determinantes en la distribución espacio-temporal de una población de *T. dimidiata*, por lo tanto, los triatominos al responder a variaciones ambientales bien localizadas podrían favorecer la domiciliación. Dichos autores sugieren que las estrategias de control vectorial empleadas actualmente deben ser diseñadas y ejecutadas de manera local y ajustadas a las características biológicas de las especies y a las condiciones epidemiológicas en cada caso. También, es importante a futuro seguir evaluando la heterogeneidad de las poblaciones de *T. dimidiata* en El Salvador. Por ejemplo, estudios que integran la biología poblacional y la ecología de los vectores de Chagas con respecto a los paisajes agrícolas y la resultante fragmentación de hábitats naturales en el país.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecemos a LEV CENSALUD en la UES por el apoyo logístico, al Departamento de Vectores de la Región Oriental del Ministerio de Salud de El Salvador por proporcionar los especímenes, al proyecto *"Modeling disease transmission using spatial mapping of vector-parasite genetics and vector feeding patterns"* patrocinado por *"National Science Foundation"* por apoyo financiero y a la Universidad de Loyola Marymount (California, EEUU) por la donación de equipos de investigación. Víctor D. Carmona-Galindo agradece a la beca *"Core Fulbright U.S. Scholar Program"* por el apoyo financiero.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aiga H, Sasagawa E, Hashimoto K, Nakamura J, Zúniga C, Romero JE, Ramos HM, Nakagawa J, Tabaru Y. 2012. Chagas disease: assessing the existence of a threshold for bug infestation rate. Am J Trop Med Hyg. 86(6): 972-979.

Angulo V. 2005a. Ensayo de estrategias de

control y vigilancia de *Triatoma dimidiata* en Colombia. En: Guhl F, editor. Primer Taller Internacional sobre Control de la Enfermedad de Chagas; Curso de Diagnóstico. Bogotá D.C.: Ediciones Uniandes. p. 91-102.

Angulo V. 2005b. Comportamiento de *Triatoma dimidiata*: Un reto para su control. Biomédica 25(1): 80-82.

Badel-Mogollón J, Rodríguez-Figueroa L, Parra-Henao G. 2017. Spatio-temporal analysis of the biophysical and ecological conditions of *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in the northeast region of Colombia. Biomédica 37:106–123.

Belaunzarán, M.L. 2015 Enfermedad de Chagas: globalización y nuevas esperanza para su cura. Rev Argent Microbiol. 2015; 47(2): 85 - 87.

Bustamante DM, De Urioste-Stone SM, Juárez JG, Pennington PM. 2014. Ecological, Social and Biological Risk Factors for Continued *Trypanosoma cruzi* Transmission by *Triatoma dimidiata* in Guatemala. Lazzari CR, editor. PLoS ONE 9:e104599.

Bustamante D, Menes M, Torres N, Zúniga C, Sosa W, Abrego V, Monroy CM. 2015. Information to Act: Household characteristics are predictors of domestic infestation with the Chagas vector *Triatoma dimidiata* in Central America. Am J Trop Med Hyg. 93 (1): 97-107.

Bustamante D, Monroy C, Pineda S, Rodas A, Castro X, Ayala V, Quiñónes J, Moguel B Trampe R. 2009. Risk factors for intradomiciliary infestation by the Chagas disease vector *Triatoma dimidiata* in Jutiapa, Guatemala. Cad Saúde Pública. 25: S83-S92.

Briceño-León R. 2009. La enfermedad de Chagas en las Américas: una perspectiva de ecosalud. Cad. saúde pública. 25(1): 71-82.

Cecere MC, Gürtler RE, Chuit R, Cohen JE. 1997. Effects of chickens on the prevalence of infestation and population density of *Triatoma infestans* in rural houses of north-west Argentina. Medical and Veterinary Entomology 11(4): 383-388.

Calderón O, Chinchilla M, García F, Vargas M. 2001. Preferencias alimentarias de *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduvíidae) procedente de la meseta central de Costa Rica a finales del siglo XX. Parasitología al día 25: 3-4.

Cedillos R, Romero J, Ramos HM, Sasagawa E. 2011a. La enfermedad de Chagas en El Salvador, evolución histórica y desafíos para el control. Organización Panamericana de la Salud.

Cedillos RA, Francia H, Soundy-Call J, Ascencio G, Valcarcel-Novo M. 2011b. Estudio epidemiológico de la infección por *Trypanosoma cruzi* en El Salvador, Centro América. Revista Minerva en Línea, Universidad de El Salvador 2(2): 39-45.

Dorn P, Monroy C, Curtis A. 2007. *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811): A review of its diversity across its geographic range and the relationship among populations. Infect Genet Evol. 7(2): 343-352.

Dujardin JP, Schofield CJ, Panzera F. 2002. Los vectores de la enfermedad de Chagas. Koninklijke Academie Voor Overzeese Wetenschappen. Klasse voor Natuur- en Geneeskundige Wetenschappen. Verhandeling in-8, Nieuwereecks, boek 26, afl. 3, Brussel.

Dumonteil E, Tripet F, Ramírez-Sierra MJ, Payet V, Lanzaro G, Menu F. 2007. Assessment of *Triatoma dimidiata* dispersal in the Yucatan Peninsula of Mexico by morphometry and microsatellite markers. Am. J. Trop. Med. Hyg. 76(5):930–937.

Farfán-García AE, Angulo-Silva VM. 2011.

Triatoma dimidiata populations' (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) feeding behaviour in an endemic zone and related epidemiological implications. Rev. Salud Pública 13(1):163–172.

Gürtler RE, Yadon ZE. 2015. Eco-bio-social research on community-based approaches for Chagas disease vector control in Latin America. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 109:91–98.

Herrera L. 2010. Una revisión sobre reservorios de Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi (Chagas, 1909), agente etiológico de la Enfermedad de Chagas. Bol Mal Salud Amb. 50(1): 3-15.

Jurberg J, Galvão C. 2006. Biology, ecology, and systematics of Triatominae (Heteroptera, Reduviidae), vectors of Chagas disease and implications for human health. Denisia. 19: 1095-1116.

MARN. 2010. Cuarto informe al convenio sobre diversidad biológica El Salvador.

Menes Hernández M. 2007. Estudio genético y fenético de las poblaciones de *Triatoma dimidiata* (Latreille) de Centro América utilizando las técnicas de espaciadores internos transcritos del ADNribosomal y morfometría. Proyecto FODECYT No. 008-2006. Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

MINSAL. 2011. Norma técnica para la prevención y el control de la enfermedad de Chagas. Ministerio de Salud, Dirección de Regulación y Legislación en Salud, Unidad de Salud Ambiental. San Salvador, El Salvador.

Monroy C, Rodas A, Mejia M, Rosales R, Tabaru Y 2003. Epidemiology of Chagas disease in Guatemala: Infection rate of *Triatoma dimidiata*, Triatoma nitida and Rhodnius prolixus (Hemiptera, Reduviidae) with *Trypanosoma cruzi* and Trypanosoma rangeli (Kinetoplastida, Trypanosomatidae). Mem Inst Oswaldo Cruz 98: 305-310.

Moser DR., Kirchhoff LV, Donelson JE. 1989. Detection of *Trypanosoma cruzi* by DNA amplification using the polymerase chain reaction. Journal of clinical microbiology 27(7): 1477-1482.

Organización Mundial de la Salud (OMS). 2016. Enfermedad de Chagas (Triponosomiasis amaricana). Nota descriptiva N°340.

Organización Panamericana de la Salud. 2010. XII Reunión de la Comisión Intergubernamental de la Iniciativa de los Países de Centroamérica (IPCA) para la Interrupción de la Transmisión Vectorial, Transfusional y Atención Médica de la Enfermedad de Chagas. p. 9.

Organización Mundial de la Salud. 2005 (actualizado 2007). Reporte del grupo de trabajo científico sobre la enfermedad de Chagas. p. 5.

Pellecer M, Dorn P, Bustamante D, Rodas A, Monroy C. 2013. Vector blood meals are an early indicator of the effectiveness of the ecohealth approach in halting Chagas transmission in Guatemala. Am J Trop Med Hyg. 88(4): 638–644.

Pellecer ZM. 2011. Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia (Título de Bióloga). Recuperado de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_3219.pdf

Pizarro JC, Stevens L. 2008. A New Method for Forensic DNA Analysis of the Blood Meal in Chagas Disease Vectors Demonstrated Using *Triatoma infestans* from Chuquisaca Bolivia. PloS ONE 3: 10.

Ponce C. 2007. Current situation of Chagas disease in Central America. Mem Inst Oswaldo Cruz 102(1): 41-44.

Quintal RE, Polanco GG. 1977. Feeding preferences of *Triatoma dimidiata*

maculipennis in Yucatan, Mexico. Am. J. Trop. Med. Hyg. 26(1):176–178.

Rabinovich J, Kitron U, Obed Y, Yoshioka M, Gottdenker N, Chávez L. 2011. Ecological patterns of blood-feeding by kissing-bugs (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). Mem Inst Oswaldo Cruz 106(4): 479-494.

Rassi A, Marin J. 2010. Chagas disease. Lancet. 375(9723): 1388-1402.

Reyes E, Ruiz H, Escobedo J, Barrera M. 2011. Biología y ecología de *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811), algunos aspectos de estudio. Dugesiana 18(1): 11-16.

Reyes M, Angulo A. 2009. Ciclo de vida de *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) (Hemiptera, Reduviidae) en condiciones de laboratorio: producción de ninfas para ensayos biológicos. Biomédica 29(1): 119-126.

Sasagawa E, Aiga H, Corado E, Cuyuch B, Hernández M, Guevara A, Romero J, Ramos H, Cedillos R, *et al.* 2015a. Risk factors for Chagas disease among pregnant women in El Salvador. Trop Med Int Health. 20(3): 268-276.

Sasagawa E, Aiga H, Corado E, Cuyuch B, Hernández M, Guevara A, Romero J, Ramos H, Cedillos R, *et al.* 2015b. Mother-to-Child Transmission of Chagas Disease in El Salvador. Am J Trop Med Hyg, 93(2): 326-333.

Sasagawa E, Guevara A, Hernández M, Romero J, Nakagawa J, Cedillos R, & Kita K. 2014a. Acute Chagas disease in El Salvador 2000-2012-Need for surveillance and control. Mem Inst Oswaldo Cruz. 109(2): 256-258.

Sasagawa E, Guevara A, Hernández M, Romero J, Nakagawa J, Cedillos R, Misago C, Kita K. 2014b. Prevalence of *Trypanosoma cruzi* infection in blood donors in El Salvador between 2001 and 2011. J Infect Dev Ctries. 8(8): 1029-1036.

Sasaki H, Rosales R, Tabaru Y. 2003. Host feeding profiles of Rhodnius prolixus and *Triatoma dimidiata* in Guatemala (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). Med. Entomol. Zool. 54(3):283–289.

Sokal R, Rohlf F. 1969. Biometry: The principles and practice of statistics in biological research. New York (NY). WH Freeman and Company. 915p.

Torres-Montero J, López-Monteon A, Dumonteil E, Ramos-Ligonio A. 2012. House infestation dynamics and feeding sources of *Triatoma dimidiata* in Central Veracruz, Mexico. Am. J. Trop. Med. Hyg. 86(4):677–682.

Velis DL, Flores MA, Cedillos RA, Guevara OA. 2011. Transmisión de la Enfermedad de Chagas en tres municipios del Departamento de Usulután, El Salvador, Centro América. Revista Minerva en Línea, Universidad de El Salvador 2(2): 1-12.

Walker JA, Hughes DA, Hedges DJ, Anders BA, Laborde ME, Shewale J, Batzer MA. 2004. Quantitative PCR for DNA identification based on genome-specific interspersed repetitive elements. Genomics 83(3): 518-527.

Walker JA, Kilroy GE, Xing J, Shewale J, Sinha SK, Batzer MA. 2003. Human DNA quantitation using Alu element-based polymerase chain reaction. Analytical biochemistry 315(1): 122-128.

World Health Organization. 2003. Control de la enfermedad de Chagas: segundo informe del comité de expertos de la OMS.

Zeledón R, Rojas JC, Urbina A, Cordero M, Gamboa S, Lorosa E, Alfaro S. 2008. Ecological control of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811): five years after a Costa Rican pilot project. Mem Inst Oswaldo Cruz 103(6): 619-621.

Zeledón R, Calvo N, Montenegro V, Seixas-Lorosa E, Arévalo C. 2005. A survey on

Triatoma dimidiata in an urban area of the province of Heredia, Costa Rica. Mem Inst Oswaldo Cruz 100(6):507-512.

Zeledón R. 2001. *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811). Factores biológicos y ecológicos en la enfermedad de Chagas. El Salvador.

Zeledón R. 1983. Vectores de la enfermedad de Chagas y sus características ecofisiológicas. Interciencia: revista de ciencia y tecnología para el desarrollo 8(6): 95-348.

Zeledón R, Guardia V, Zúñiga A, Swartzwelder C. 1970. Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) II. Life span of adults and fecundity and fertility of females. Journal of Medical Entomology 7: 462-469.

Revista
MINERVA
Plataforma digital de la revista: https://minerva.sic.ues.edu.sv

Evaluación de medios de inducción in vitro a callo vegetal en explantes foliares de *Annona diversifolia* Safford (Magnoliales: Annonaceae)

Evaluation of in vitro induction means to plant callus in foliar explants of *Annona diversifolia* Safford (Magnoliales: Annonaceae)

Huilhuinic Ángel Orantes-Ramos[1], Yanira Elizabeth López-Ventura[2]

RESUMEN

Con el propósito de inducir la formación *in vitro* de callos vegetales en explantes foliares de *Annona diversifolia* (*A. diversifolia*) se evaluó el uso de seis tratamientos de inducción a callo vegetal en explantes de ejemplares adultos con tres años de edad provenientes de condiciones de vivero (CAPOSA S.A. de C.V.). La incubación fue en condiciones de oscuridad a una temperatura de 24-26°C. El diseño experimental fue totalmente al azar con tres repeticiones de diez unidades experimentales por tratamiento. No se indujo la formación de callos vegetales en ningún tratamiento. Los porcentajes de contaminación (PC), oxidación (PO) y sobrevivencia (PS), se midieron semanalmente durante un período de cinco semanas. Los PO y PS, muestran diferencias significativas al nivel del 1% (F>5.064). El tratamiento f (medio B5 al 100% (Gamborg et al. 1968) + 2,4-D (2 mg/ L) + Kin (1 mg/L)) basado en Gómez et al. (2006), obtuvo un PO de 53.33% y un PS de 46.66% durante la semana cinco. Los resultados indicaron que este tratamiento fue el más adecuado para prolongar la sobrevivencia en condiciones de laboratorio.

Palabras Clave: *Annona diversifolia*; callogénesis; contaminación; oxidación; sobrevivencia, *in vitro*.

ABSTRACT

In order to induce the formation of *in vitro* plant calluses in foliar explants of *Annona diversifolia* (*A. diversifolia*), the use of six plant callus induction treatments in explants of three-year-old adult specimens from nursery conditions was evaluated (CAPOSA SA. de C.V.). The incubation was in darkness conditions at a temperature of 24-26°C. The experimental design was completely randomized with three repetitions of ten experimental units per treatment. No callus formation was induced in any treatment. The percentages of contamination (PC), oxidation (PO) and survival (PS), were measured weekly during a period of five weeks. The PO and PS, show significant differences at

1 Programa Jóvenes Talento El Salvador, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Universidad de El Salvador.
2 Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Universidad de El Salvador.

Este es un artículo bajo la licencia CC BY NC (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

the level of 1% (F> 5.064). The treatment f (100% B5 medium (Gamborg et al., 1968) + 2,4-D (2 mg / L) + Kin (1 mg / L)) based on Gómez et al. (2006), obtained a PO of 53.33% and a PS of 46.66% during week five. The results indicate that the treatment was the most adequate to prolong survival in laboratory conditions.

Keywords: *Annona diversifolia*; callus induction; contamination; oxidation; survival, *in vitro*.

INTRODUCCIÓN

En El Salvador, algunas especies del género Annona, tales como *Annona cherimola, Annona squamosa* y *Annona glabra* se encuentran en peligro de extinción (Cruz y Deras 2000). *Annona diversifolia* es la especie de mayor interés comercial de su género en el país debido a sus frutos comestibles (Cruz 2002). A pesar de ello, su distribución ocurre mayoritariamente en estado silvestre y semicultivados (Cruz 2002; Irigoyen 2004; Orellana 2005).

La distribución de *A. diversifolia* es mayor en El Salvador debido al amplio intervalo altitudinal que resiste, volviendo su cultivo más viable que la mayoría de las especies de frutales de importancia comercial (Cruz y Deras 2000). Además, presenta resistencia a diferentes intervalos latitudinales, permitiendo su establecimiento en Estados Unidos y Canadá (Castro 2007). Asimismo, se ha demostrado su productividad y resistencia (Otero *et al.* 2006). A pesar de ello, los cultivos de esta especie no cuentan con un manejo técnico (Irigoyen 2004; Orellana 2005), y la exportación de sus frutos es baja debido a que se considera un cultivo nostálgico (CIEX 2018).

Existen múltiples dificultades en la reproducción de *A. diversifolia*, entre ellos está su variable tasa de germinación entre un 30% a 80% (Cruz & Deras 2000). Para solventar esta dificultad, se recomienda el almacenamiento de su germoplasma entre 7 a 12 meses con un 90% de germinación o su reproducción por material vegetativo vía injerto sobre *A. muricata* (Cruz 2002). El primer caso es común en El Salvador (Irigoyen 2004); sin embargo, no es recomendable porque las plantas obtenidas presentan variaciones fenotípicas que afectan su rendimiento y calidad de fruto, además de iniciar su producción tardíamente (Ramírez *et al.* 2002). El segundo caso es recomendado por Cruz (2002), debido a que proporciona plantas uniformes y con inicios de producción temprana; sin embargo, éste método no es el más fácil, debido al largo tiempo de desarrollo de los patrones (Ramírez *et al.* 2002). El método de inducción a callo vegetal sería de gran utilidad para la multiplicación de esta especie y su mejoramiento genético.

Existen registros sobre el establecimiento y regeneración *In vitro* de otras especies del género *Annona* (López *et al.* 2014), utilizando ejemplares jóvenes y adultos procedentes del campo. En el mismo contexto, se han documentado esfuerzos para el establecimiento de *A. diversifolia* procedentes de condiciones de vivero (Orantes y López 2018). No se han registrado estudios relacionados a la inducción a callo vegetal en explantes de esta especie.

El desarrollo de una técnica que permita inducir callogénesis a partir de material vegetativo de *A. diversifolia*, facilitaría el proceso de selección y multiplicación de plantas elitelicas. La callogénesis de los explantes, depende del tratamiento de inducción. El uso de diferentes reguladores de crecimiento ha permitido esta respuesta fisiológica en múltiples especies de plantas leñosas (Vacca *et al.* 2015; Rodríguez *et al.* 2014; Landaverde *et al.* 2002; Gómez *et al.* 2006).

La presente investigación describe un estudio

preliminar de la aplicación de tratamientos de inducción a callo vegetal en *A. diversifolia*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

La siembra se realizó en el laboratorio del Centro Nacional de Investigaciones Científicas de El Salvador (CICES) (13°43'04.9"N 89°12'06.7"O), y la incubación en el Laboratorio de Cultivo *In vitro* de Células y Tejidos Vegetales de la Escuela de Biología (13°43'12.0"N 89°12'17.8"O). Ambos laboratorios ubicados en el recinto de la Universidad de El Salvador, Sede Central.

Obtención de material vegetativo de *Annona diversifolia*

Se seleccionaron plantas de *A. diversifolia* de tres años de edad, cultivadas en el vivero CAPOSA S.A. de C.V., ubicado en San Salvador (13°42'37.9"N 89°12'12.6"O). Se seleccionaron y cortaron hojas jóvenes, las cuales se depositaron en una solución antioxidante que contenía ascorbato (100 mg/L) + citrato (150 mg/L) hasta el momento de la aplicación del pretratamiento de desinfección superficial.

Tipo de explante y condiciones de incubación

De acuerdo al protocolo descrito por Orantes y López (2018), el material vegetal utilizado consistió en segmentos de hojas de aproximadamente 1 cm2, sin nervadura central, extremos, porciones basales y apicales. Cada explante, se cultivó en frascos de vidrio con un diámetro de 4.5 cm y 6.7 cm de altura, sellados con papel aluminio. Dichos frascos contenían 30 mL de medio de medio de inducción a callo vegetal gelificado con phytagel (2.2 g/L). Los medios fueron esterilizados en un autoclave durante 20 min con 15 lb/pulg2 de presión, y a una temperatura de 121°C. La incubación fue en condiciones de oscuridad, al interior de una caja de plástico. La temperatura dentro de la caja, fue de 24-26°C. El período de incubación para toma de datos, fue de cinco semanas.

Desinfección superficial

Se aplicó el tratamiento de desinfección superficial descrito por Orantes y López (2018) para explantes foliares de *A. diversifolia*. Este consistió en un lavado con agua jabonosa durante 10 min, un enjuague con agua corriente durante 5 min, y una inmersión en alcohol etílico al 70% durante 10 seg. A continuación, las hojas fueron colocadas en una solución de citrato (0.5%), esterilizada hasta el momento de la aplicación del tratamiento de desinfección bajo condiciones asépticas al interior de una cámara de flujo laminar.

El tratamiento de desinfección aplicado consisitió en una inmersión en hipoclorito de sodio (5.25%) por 5 min; seguido de 3 enjuagues con agua destilada esterilizada; una inmersión en Ridomil (20 g/L) por 10 min; y una inmersión en Tetraciclina (0.6 g/L) por 10 min).

Evaluación de medios de inducción a callo vegetal

Se evaluaron seis medios de inducción a callo vegetal propuestos por diferentes autores (cuadro 1). Los medios a y b fueron implementados por Vacca *et al.* (2015) en *Pterogyne nitens* Tul. Los medios c y d , fueron los utilizados por Rodríguez *et al.* (2014), en *Ugni molinae*. El medio e fue el sugerido por Landaverde *et al.* (2002), en *Coffea arabica*. El medio f, fue el descrito por Gómez *et al.* (2006), para inducir callogénesis en *Eucalyptus globulus*.

DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS DE DATOS

Se utilizó un diseño completamente al azar. Se evaluaron seis tratamientos con tres repeticiones cada uno. La unidad experimental utilizada fue un explante sembrado en un

Cuadro 1. Composición de tratamientos de inducción al callo vegetal, aplicados a explantes foliares de *A. diversifolia*.

T	Medio base	Suplementos	pH
a	MS basal	Hidrocaseina (500 mg/L). Picloram (0.87 mg/L).	7.0
b	MS basal	Hidrocaseina (500 mg/L). Picloram (0.69 mg/L).	7.0
c	MS basal	2,4-D (1 mg/L). BAP (1 mg/L).	5.8
d	MS basal	ANA (0.5 mg/L).	5.8
e	MS basal (50%)	Tiamina-HCl (1 mg/L). Myo inositol (100 mg/L). Ácido nicotínico (1 mg/L). Pyridoxina (400 mg/L). Glicina (400 mg/L). Extracto de malta (100 mg/L). Hidrocaseina (0.5 mg/L). 2,4-D (1 mg/L). AIB (1 mg/L).	5.8
f	B5	2,4-D (2 mg/ L). Kin (1 mg/L).	7.0

Notas Cuadro 1. Los medios MS basal (Murashige y Skoog 1962) y B5 se utilizaron al 100% de su composición salina a excepción del tratamiento e.

frasco de vidrio con medio de cultivo. Cada repetición estuvo conformada de diez unidades experimentales por tratamiento.

Los resultados se analizaron con el programa "WPS Spreadsheets a21, Linux version", y consistió en un análisis de varianza (ANDEVA) con una sola causa conocida de variabilidad correspondiente al tratamiento de inducción a callo vegetal.

RESULTADOS

Tanto los medios de inducción a callo vegetal como las condiciones de incubación, no permitieron inducir la callogénesis en los explantes foliares. Debido a ello, los parámetros evaluados fueron los porcentajes correspondientes a la contaminación, oxidación, y sobrevivencia de explantes. La toma de datos se realizó semanalmente por un período de cinco semanas.

Contaminación de explantes

Los porcentajes de contaminación fueron diversos entre los tratamientos de inducción utilizados (Fig. 1). Sus máximos valores se obtuvieron a partir de la quinta semana. Los porcentajes de contaminación muestran diferencias significativas al nivel del 10% ($F>2.394$) únicamente durante la quinta semana.

En la figura 1 se observa que los tratamientos que presentaron el menor porcentaje de contaminación fueron el c y f (0.00%); sin embargo, los porcentajes de oxidación de c fueron más altos que los de f (Fig. 2). El porcentaje de contaminación más alto fue del d (26.66%), seguido por el a. La contaminación en d, se observó en el medio de cultivo a partir de las regiones periféricas del frasco.

Sobrevivencia de explantes

Los porcentajes de sobrevivencia de los

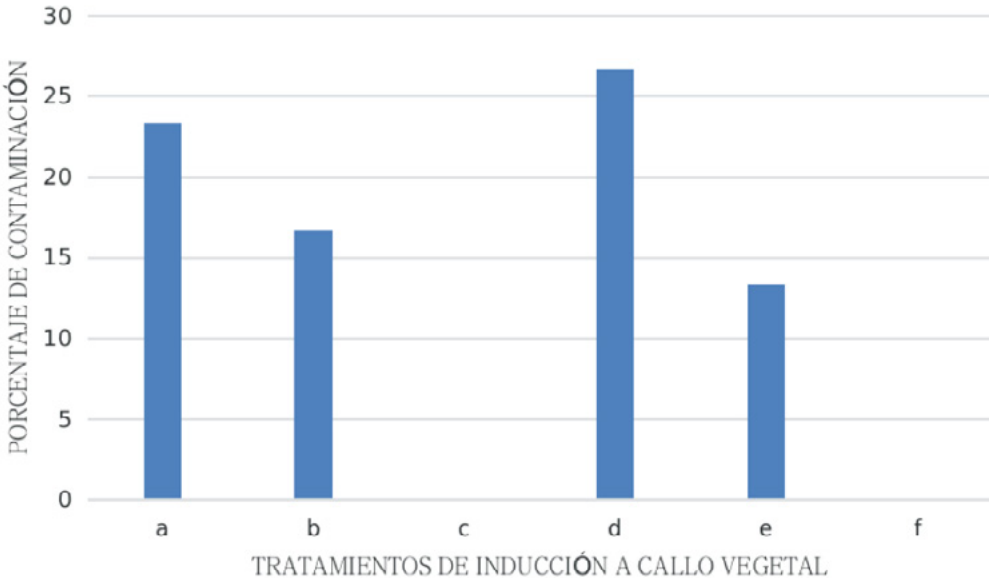


Figura 1. Efecto de los tratamientos de inducción a callo vegetal sobre el porcentaje de contaminación de explantes foliares de *A. diversifolia* después de cinco semanas.

explantes fueron diversos entre los tratamientos utilizados. Además, sus valores mostraron una tendencia a disminuir cada semana (Fig. 2) conforme incrementaron los porcentajes de oxidación. Los valores mínimos de explantes sobrevivientes se obtuvieron durante la semana cinco. Los porcentajes de sobrevivencia muestran diferencias significativas al nivel del 1% (F>5.064), durante las últimas cuatro semanas. Los porcentajes de explantes de oxidación muestran diferencias significativas al nivel del 1% (F>5.064), durante la semana dos, tres y cuatro, mientras que durante la quinta semana, presentan diferencias significativas al nivel del 5% (F>3.106).

En la figura 2 se observa que el tratamiento de inducción a callo vegetal que obtuvo mayor porcentaje de sobrevivencia durante las cinco semanas, fue f (46.66%). La mayoría de tratamientos mostraron un descenso considerable de explantes sobrevivientes a partir de la cuarta semana. Los tratamientos b y e (Fig. 2) presentaron los porcentajes más bajos de explantes sobrevivientes a partir de la tercera semana. Durante la quinta semana, únicamente los tratamientos d y f, mostraron explantes sobrevivientes.

DISCUSIÓN

Para el diseño experimental que sustenta la presente investigación, ninguno de los tratamientos de inducción a callo vegetal permitió la obtención de callos vegetales, a pesar que dichos medios y condiciones de incubación han sido descritas como aptas para inducir callogénesis en diferentes especies (Landaverde *et al.* 2002; Gómez *et al.* 2006; Rodríguez *et al.* 2014; Vacca *et al.* 2015). De acuerdo a Velásquez *et al.* (2004), esta respuesta negativa obedece a la imposibilidad de detener la oxidación ocasionada por la presencia de tirosinasas y polifenoxidasas que son comunes en el metabolismo. Estas actúan sobre los polifenoles y la tirosina, oxidándolos a quinonas que son fitotóxicas, sustancias que a su vez pueden polimerizarse y afectar proteínas vegetales, inhibiendo el crecimiento y viabilidad de los explantes. Dicho fenómeno se observa como un ennegrecimiento progresivo,

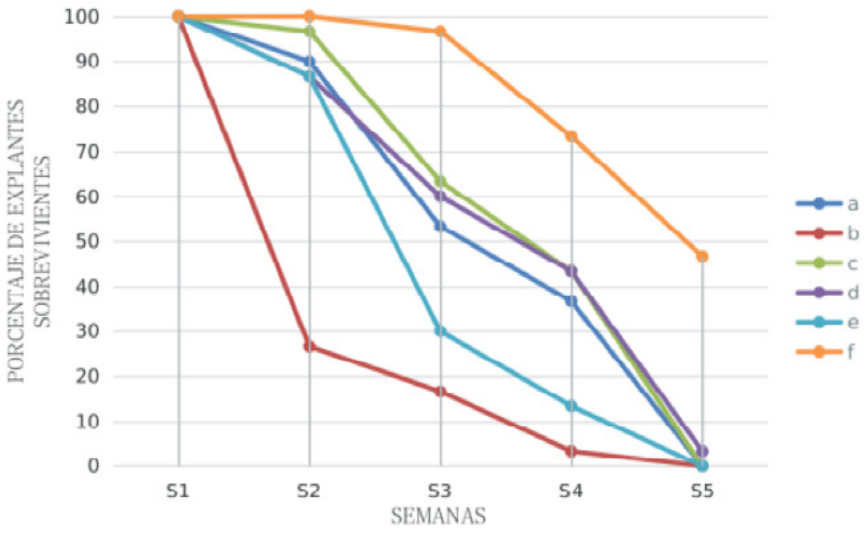


Figura 2. Efecto de los tratamientos de inducción a callo vegetal sobre el porcentaje de sobrevivencia de explantes foliares de *A. diversifolia.*

tal como ocurrió en los explantes sembrados.

De acuerdo a Marks y Simpson (1990), al colocar células y tejidos vegetales en condiciones de oscuridad, se reduce considerablemente la oxidación. Esto ocurre debido a que muchas de las enzimas responsables de ella, se inactivan. En virtud de ello, las condiciones de incubación aplicadas, implicaron oscuridad total. Además, se utilizaron las soluciones antioxidantes descritas por Landaverde *et al.* (2002), Dipré *et al.* (2012), Orantes y López (2018).

Contrario a lo ocurrido en otros estudios (Landaverde *et al.* 2002; Gómez *et al.* 2006; Rodríguez *et al.* 2014; Vacca *et al.* 2015); los antioxidantes, condiciones de incubación y medios, no detuvieron la oxidación de los explantes. Probablemente, como citan Lemos y Blake (1996), al suplementar los medios de cultivo con carbón activado y galactosa, la oxidación de explantes se detenga, tal y como ocurrió en A. muricata, puesto a que su fisiología es similar a la de *A. diversifolia*. Por otro lado, de acuerdo a Dipré *et al.* (2012), al utilizar explantes jóvenes de plantas germinadas *In vitro* bajo condiciones de oscuridad, es posible obtener callos vegetales en algunas especies del género *Annona*, sin ocurrir oxidación.

Contaminación de explantes

Los porcentajes de contaminación obtenidos son bajos (0.00-23.33% durante la cuarta semana). Estos a su vez son parecidos a los obtenidos en estudios de otras especies de *Annona* (Rincón *et al.* 1999). Las diferencias significativas en los promedios de contaminación durante la quinta semana, posiblemente se deben a contaminación externa en el área de incubación. Esto se evidencia debido a que el crecimiento de las colonias de hongos no inicia directamente del explante.

Sobrevivencia de explantes

Los porcentajes de explantes sobrevivientes y oxidados muestran diferencias significativas entre tratamientos de inducción. De acuerdo a Velásquez *et al.* (2004), Orantes y López (2018), los porcentajes de oxidación presentados por todos los tratamientos, a excepción del b, durante la segunda semana, son considerados bajos. Además, los porcentajes de explantes sobrevivientes en todos los tratamientos a excepción del b, son mayores que el reportado por Ramírez *et al.* (1999), Ramírez *et al.* (2002),

Landaverde *et al.* (2002), Rincón *et al.* (1999), y Velásquez *et al.* (2004). Esto confirma que el protocolo de desinfección utilizado, facilita obtener explantes foliares sobrevivientes de *A. diversifolia*, en medios de diferente composición, durante los primeros catorce días.

Los porcentajes de oxidación, se acrecentaron cada semana dependiendo del tratamiento de inducción utilizado. Los tratamientos con MS basal (tratamientos a-e), presentaron mayores porcentajes de oxidación que el tratamiento f (46.66% durante la quinta semana), en el cual se utilizó como base el medio B5. Según Azofeifa (2009), la composición del medio de cultivo es un factor que altera la oxidación de los explantes.

De forma general, los medios que implementan el MS basal al 100% de su composición salina, generan mayor oxidación; sin embargo, en tratamiento e se obtuvo un alto porcentaje de oxidación a pesar de usar MS basal al 50%.

De acuerdo a Azofeifa (2009), la diferencia en los porcentajes de oxidación obtenidos implementando MS basal al 50% (como en tratamiento e que obtuvi 0.00% de sobrevivencia durante la semana cinco), podría atribuirse a la composición de los suplementos adicionales, especialmente al extracto de malta, el cual contiene sacarosa.

Los carbohidratos tienden a hidrolizarse y formar 5-hidroximetil-2-furaldehído (HMF), durante el autoclavado, un factor inhibidor del desarrollo de los tejidos vegetales (Azofeifa 2009; Fernández *et al.* 2015). Ya que el tratamiento f contiene menor cantidad de sacarosa, probablemente este factor tendría menor efecto sobre el explante, lo cual podría explicar el bajo porcentaje de oxidación. Además la composición del tratamiento f, tiene como base el B5, el cual contiene en general, menor cantidad de sales que el MS basal.

CONCLUSIONES

Los tratamientos de inducción *in vitro* a callo vegetal evaluados, no indujeron la formación de callos a partir de explantes foliares procedentes de ejemplares adultos en *A. diversifolia*, debido a la imposibilidad de detener la oxidación de los mismos.

La composición de los medios de inducción tiene un efecto sobre los porcentajes de oxidación.

El tratamiento de inducción que utilizó como base el medio B5, redujo considerablemente los niveles de oxidación en explantes foliares procedentes de ejemplares adultos en *A. diversifolia*.

AGRADECIMIENTOS

Al personal del Centro Nacional de Investigaciones Científicas de El Salvador (CICES), quienes apoyaron activamente la etapa experimental de la investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Azofeifa A. (2009). Problemas de oxidación y oscurecimiento de explantes cultivados *in vitro*. *Agronomía mesoamericana*, 20(1): 153-175.

Castro J., (2007). Cultivo de la anona (*Annona cherimola*, Mill). *Ministerio de Agricultura y Ganadería*, Costa Rica.

Centro de Tramites de Importaciones y Exportaciones de El Salvador. (2018). Exportaciones anonas frescas registradas en CIEX El Salvador.

Cruz E. (2002). Cultivo de anona. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA). El Salvador.

Cruz E. y Deras H. (2000). Colecta y establecimiento de anonáceas en El

Salvador. *Agronomía Mesoamericana* 11(2), 91-95.

Dipré D., Chavarría Y., Mejía A., Castillo M., Vega B., Vega W. (2012). Multiple direct organogenesis in soursop (*Annona muricata* L.). *Electronic Journal of Biotechnology*.

Fernández C., Díaz M., González L. (2015). Enraizamiento *in vitro* de embriones cigóticos de Acrocomia aculeata (Jacq.) Lodd ex Mart. *Colombia forestal* 19(1), 67-78.

Gamborg, O., Miller, R., Ojima, K. (1968). Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. Exp. *Cell Res.* 50, 151-158.

Gómez C., Uribe m., Ríos D., Sánchez-Olate M. (2006). Inducción de callo embriogénico en *Eucalyptus globulus* Labill. *Interciencia* 31(10), 734-738.

Irigoyen J. (2004). *Guía técnica del cultivo de la anona. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura,* El Salvador: Ministerio de Agricultura y Ganadería.

Landaverde V., López A., Vásquez T. (2002). Estudio de inducción a callo embriogénico en variedades comerciales de café (*Coffea arabica*) de El Salvador (Tesis de pregrado). Universidad de El Salvador, El Salvador.

Lemos E. y Blake J. (1996). Micropropagation of juvenile and mature *Annona muricata L. Journal of Horticultural Science* 71, 395-403.

López C., Carmona E., Arana A., González I. (2014). Biotechnology applied to Annona species: A review. *Rev. Bras. Frutic.* 36 017-021.

Murashige T. & Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tabacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15, 473-497.

Marks T. y Simpson S. (1990). Reduced phenolic oxidation at culture initiation *in vitro* following the exposure of field-grown stock plants to darkness or low levels of irradiance. *J. of Hort. Sci.* 65, 103-111.

Orantes H. y López Y. (2018). Evaluación de métodos de desinfección para el establecimiento *in vitro* de explantes foliares de *Annona diversifolia* Safford (Magnoliales: Annonaceae). *Comunicaciones científicas y tecnológicas* 4(2), 396-404.

Ramírez M., León de Sierralta S., Urdaneta A. (1999). Evaluación de desinfectantes superficiales en el establecimiento *in vitro* de *Psidium guajava* L. y *Psidium friedrichsthalianum* (Berg) Nierdz. *Rev. Fac. Agron.* (LUZ) 16, 243-255.

Ramírez M., Urdaneta A., León de Sierralta S. (2002). Establecimiento *in vitro* de explantes adultos del guanábano (*Annona muricata* L.) tratados con hipoclorito de sodio. *Rev. Fac. Agron.* (LUZ) 19, 48-55.

Rincón A., Ortega R., Urdaneta J., León de Sierralta S., Bracho B., Ramírez M. (1999). Establecimiento aséptico de brotes laterales de *Annona spp. Rev. Fac. Agron.* (LUZ) 1,76-81.

Rodríguez M., Latsague M., Chacón M., Astorga P. (2014). Inducción *in vitro* de callogénesis y organogénesis indirecta a partir de explantes de cotiledón, hipocotilo y hoja de *Ugni molinae*. *Bosque* 35(1), 111-118.

Orellana M. (2005). Caracterización de materiales genéticos de Anona (*Annona diversifolia*) en los municipios de Berlin y Mercedes Umaña, Departamento de Usulután (Tesis de pregrado). Universidad de El Salvador, El Salvador.

Otero M., Becerril A., Castillo A., Michel A., Ariza R., Barrios A., Rebolledo A. (2006). Producción de ilama (*Annona diversifolia Saff.*) en el trópico seco de guerrero, México. *Chapingo Serie Horticultura* 12(2), 137-143.

Vacca M., Avilés Z., Bonomo M., Díaz L. (2015). Efecto del picloram en la inducción de embriogénesis somática de *Pterogyne nitens* Tul. "tipa colorada". *International Journal of Innovation and Applied Studies* 11(3), 771-777.

Velásquez M., González A., Mata F., León de Sierralta S., Esparza D., Ramírez M. (2004). Tipo de sombreamiento y tiempo de crecimiento de brotes laterales sobre la viabilidad de explantes de *Annona muricata* L. *Rev. Fac. Agron.* (LUZ) 21, 12-18.

Revista
MINERVA
Plataforma digital de la revista: https://minerva.sic.ues.edu.sv

Caracterización morfoagronómica de cacao criollo (*Theobroma cacao* L.) y su incidencia en la selección de germoplasma promisorio en áreas de presencia natural en El Salvador

Morphoagronomic characterization of Creole cocoa (*Theobroma cacao* L.) and its incidence in the selection of promising germplasm in areas of natural presence in El Salvador

José Alexander López-Hernández[1], Fredy Noe Ortiz-Mejía[1], Fidel Ángel Parada-Berríos[1], Francisco Lara-Ascencio[2], Elías Antonio Vásquez-Osegueda[1]

RESUMEN

En El Salvador el cultivo de cacao, se proyecta como un rubro nuevo de producción agrícola, tanto en el ámbito nacional como internacional, constituyendo una oportunidad para el desarrollo económico de productores interesados en este cultivo; por tal motivo se realizó un proceso de prospección de esta especie entre el período de octubre 2013 a junio 2014, iniciando colectas de frutos y material vegetativo de cacao en áreas de presencia natural de la especie. El objetivo fue identificar *in situ* árboles de cacao para la caracterización morfoagronómica, utilizando descriptores adaptados al catálogo de cultivares de cacao del Perú, CATIE y FEDECACAO; por medio del cual se identificaron zonas donde había presencia de la especie, en los municipios de Caluco, en Sonsonate; el Salitre, Ciudad Delgado y Planes de Renderos, San Salvador; Tenancingo, Cuscatlán; San Pedro Nonualco y Santa María Ostuma, La Paz; Ciudad Victoria, Cabañas y Jucuapa, Usulután. Se caracterizaron 21 árboles; cada uno con sus respectivos atributos cualitativos y cuantitativos como: altura del árbol, forma y tamaño de hojas, frutos, semillas y flores. Cada árbol muestreado, fue georeferenciado, con el fin de ubicarlo y generar el mapa de distribución de los mismos a nivel nacional. Asimismo, en el laboratorio de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas, se realizó análisis bromatológicos a muestras de frutos, determinando: grasa, proteína, ceniza, hierro, zinc, humedad total, humedad parcial y materia seca. Como resultados de esta investigación, se inició una colección de cacao con atributos sobresalientes, los mayores porcentajes de grasa lo obtuvieron los árboles codificados como: UES-PDP-19, con 56.4%; UES-SPN-7 con 50.67% y UES-SPN-8 con 50.29%; y los mayores porcentajes de proteína se identificaron para las accesiones, UES-SLT-16, con 27.38%; UES-TNG-18, con 23.36%;

1 Departamento de Fitotecnia, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.
2 Departamento de Protección Vegetal, Facultad de ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.

Este es un artículo bajo la licencia CC BY NC (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

y UES-SAL-3 con 21.31%; parámetros que son importantes al momento de hacer programas de producción, mejoramiento genético y en la preservación de este germoplasma.

Palabras Clave: cacao criollo, caracterización morfoagronómica, preservación, germoplasma.

ABSTRACT

In El Salvador, the cultivation of cocoa is projected as a new category of agricultural production both nationally and internationally. It constitutes an opportunity for the economic development of producers interested in this crop. For this reason, a process of prospecting of this species was carried out between the period of October 2013 to June 2014, starting collections of fruits and vegetative material of cocoa in areas of natural presence of the species. The objective was to identify cocoa trees *in situ* for morphoagronomic characterization, using descriptors adapted to the catalog of cocoa cultivars from Peru, CATIE and FEDECACAO. Areas where the species was present were identified, in the municipalities of Caluco, in Sonsonate; El Salitre, Ciudad Delgado and Renderos Plans, San Salvador; Tenancingo, Cuscatlán; San Pedro Nonualco and Santa María Ostuma, La Paz, Ciudad Victoria, Cabañas y Jucuapa, Usulután. 21 trees were characterized; each with their respective qualitative and quantitative attributes such as: tree height, shape and size of leaves, fruits, seeds and flowers. Each sampled tree was georeferenced, in order to locate it and generate the distribution map of them nationally. Also, in the Agricultural Chemistry laboratory of the Faculty of Agronomic Sciences, bromatological analyzes were carried out on fruit samples, determining: fat, protein, ash, iron, zinc, total humidity, partial humidity and dry matter. As a result of this investigation, a cocoa collection with outstanding attributes was initiated, the highest percentages of fat were obtained by trees coded as: UES-PDP-19, with 56.4%; UES-SPN-7 with 50.67% and UES-SPN-8 with 50.29%; and the highest percentages of protein were identified for accessions, UES-SLT-16, with 27.38%; UES-TNG-18, with 23.36%; and UES-SAL-3 with 21.31%; parameters that are important when making production programs, genetic improvement and in the preservation of this germplasm.

Keywords: creole cocoa, morphoagronomic characterization, preservation, germplasm.

INTRODUCCIÓN

El cultivo del cacao es una actividad que está nuevamente estimulando el interés de productores, advirtiendo su potencial a futuro, constituyéndose en una oportunidad de desarrollo de un nuevo rubro para la generación de trabajo, ingresos y promover otro cultivo de exportación en la agricultura salvadoreña. Esto se debe a que el mercado consumidor extiende su demanda y diversidad de consumo, promoviendo que los países productores y consumidores, inviertan en programas y estrategias de investigación, con la finalidad de incrementar la productividad y la calidad del cacao (Braudeav, 1970).

El mercado del cacao criollo de aroma fino y almendra blanca está consolidándose cada vez más, razón por la cual, muchos fitomejoradores dirigen sus esfuerzos en aumentar el cacao como producto, lo que requiere según Ramos Pérez (1994), la selección de árboles con características idóneas.

La prospección de germoplasma de cacao criollo es una actividad que debemos emprender como investigadores a fin de rescatar aquel germoplasma con las características deseadas en el mercado mundial, como es la demanda de cacao criollo de aroma fino, del cual internacionalmente solo se abastece un 5% de la producción, dominando el cacao forastero y trinitario con un 95%.

En El Salvador la producción de cacao prácticamente fue desplazada por otros rubros

como el café, algodón, caña de azúcar, entre otros, lo que generó durante más de 80 años el olvido del cacao y la erosión genética de las variedades criollas de almendra blanca, proliferando en mayor cantidad los cacaos trinitarios. Desafortunadamente, el cacao ya no se encuentra como cultivo comercial en las fincas, por haber sido sustituido por otros cultivos. Entre las causas que provocaron el desinterés por el cacao se menciona la erupción del volcán de Izalco, cuyas cenizas esparcidas dañaron la mayor parte de zonas cacaoteras en Sonsonate y zonas aledañas. Otro evento relevante fue el despojo de las últimas tierras ejidales y tierras comunales que se poseían entre 1881 y 1982, que por decreto de ley fueron arrebatadas para destinarse al añil en la zona plana y café en las lomas y para otras actividades agrícolas. En esa misma región, en 1932 se registró un evento sangriento que culminó con la muerte de aproximadamente 30,000 indígenas (Anderson, 2001).

Con relación al germoplasma de cacao, en la época de conquista y colonización se contaba con excelente material genético en cuanto a la productividad y calidad, por el impacto de la conquista y colonización se alteró la forma de vida de los pueblos originarios en todos los aspectos incluyendo la parte productiva como la tenencia de la tierra, cultivos, prácticas de manejo, comercio, entre otros, lo cual incidió en la disminución de las áreas de cacao, que en un principio era mayor a 10,000 ha y que a finales del siglo XX se redujeron a menos de 500 ha, influyendo en la disminución proporcional de la riqueza genética (Escalante Arce, 1992).

Por otra parte, debido a un proceso de endogamización en el área de domesticación como es conocido Mesoamérica, los cacaos criollos presentan baja capacidad de adaptación a condiciones variadas del clima, pues tienen como características que son, poco vigorosos y susceptibles a plagas y enfermedades; por ello se selecciona germoplasma, que proporcionen mejor adaptabilidad a las condiciones de las diferentes zonas de Centro América (Dubón y Sánchez 2011).

Con la investigación se reconoció, caracterizó y seleccionó germoplasma de cacao considerado criollo, encontrando germoplasma de tipos trinitarios y criollos de almendra blanca.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

La caracterización morfológica de cacao (*Theobroma cacao* L.), se realizó en el periodo comprendido de octubre 2013 a junio 2014, iniciando giras de colecta en el ámbito nacional considerando, aquellas áreas de presencia natural en El Salvador como: Panchimalco, Nejapa y Ciudad Delgado en el departamento de San Salvador; San Pedro Nonualco y Santa María Ostuma en el departamento de La Paz; Tenancingo en el departamento de Cuscatlán; Caluco departamento de Sonsonate y Jucuapa en el departamento de Usulután (Cuadro 1).

Material experimental

Se caracterizaron 21 árboles de cacao (Cuadro 1), obteniendo muestras de frutos, hojas y flores para su caracterización de gabinete y varetas para su respectiva clonación. Para la obtención de muestras, fue necesario utilizar herramientas como: bolsas plásticas, tijeras de podar, cosechadoras y navajas para injertar.

Herramientas para la caracterización

La caracterización se realizó utilizando una lista específica, tomando como referencia descriptores morfológicos y agronómicos para cacao de la Cocoa Research Unit-University of West Indians de Trinidad y Tobago, adaptados al catálogo de cultivares de cacao del Perú (García Carrión 2012); catálogo de clones de cacao, seleccionados por el CATIE para siembras comerciales y el documento características de

Cuadro 1. Localización y códigos asignados a los materiales de cacao.

Códigos	Lugar de colecta	Latitud Norte	Longitud Oeste	Altura SNM
UES-SAL-1	Hospital Nacional Dr. José Antonio Saldaña, San Salvador.	13.64689°	89.19563°	957
UES-SAL-2	Hospital Nacional Dr. José Antonio Saldaña, San Salvador	13.64683°	89.19548°	961
UES-SAL-3	Hospital Nacional Dr. José Antonio Saldaña, San Salvador	13.64585°	89.19551°	953
UES-SAL-4	Hospital Nacional Dr. José Antonio Saldaña, San Salvador	13.64709°	89.19547°	956
UES-SL-5	San Laureano, Ciudad Delgado, San Salvador.	13.76861°	89.15142°	500
UES-SL-6	San Laureano, Ciudad Delgado, San Salvador.	13.76617°	89.15208°	528
UES-SPN-7	San Pedro Nonualco, Departamento de La Paz.	13.60036°	88.93135°	662
UES-SPN-8	San Pedro Nonualco, Departamento de La Paz.	13.60018°	88.93122°	648
UES-SPN-9	San Pedro Nonualco, Departamento de La Paz.	13.60009°	88.93143°	642
UES-VCT-10	Ciudad Victoria, Municipio de Ilobasco, Cabañas.	13.95128°	88.63352°	896
UES-SMO-11	Santa María Ostuma, Departamento de La Paz.	13.72065°	89.20480°	554
UES-SMO12	Santa María Ostuma, Departamento de La Paz.	13.623872°	88.94567°	553
UES-CAL-13	Finca, Tecoma, Municipio de Caluco, Sonsonate.	13.71547°	89.67445°	323
UES-CAL-14	Finca, Tecoma, Municipio de Caluco, Sonsonate.	13.71547°	89.67451°	295
UES-CAL-15	Finca, Tecoma, Municipio de Caluco, Sonsonate.	13.69511°	89.65012°	363
UES-SLT-16	Municipio de Nejapa, Cantón el Salitre, San Salvador.	13.78720°	89.25519°	739
UES-SLT-17	Municipio de Nejapa, Cantón El Salitre, San Salvador.	13.78710°	89.25508°	737
UES-TNG-18	Corral Viejo, Caserío La Rincona, Tenancingo, Cuscatlán.	13.71955°	89.20290°	562
UES-PDP-19	Plan del pino, El Naranjito, Ciudad Delgado, San Salvador.	13.74370°	89.14978°	520
UES-TNG-20	Rosario Tablón, Tenancingo, Cuscatlán.	13.80104°	88.96557°	573
UES-JCP-21	Cantón Tepesquillo alto, Jucuapa, Usulután.	13.48110°	88.39176°	672

calidad del cacao de Colombia, catálogo de 26 cultivares (Villamil, *et al.* 2013).

Datos de pasaporte y codificación

Los datos de pasaporte, incluyeron nombre del propietario, nombre de la comunidad, municipio, departamento, coordenadas geográficas y altura sobre el nivel del mar. Para identificar adecuadamente cada árbol caracterizado, se asignó un código, el cual está estructurado como se cita a continuación: nombre de la institución (UES), nombre del lugar de colecta (fincas, comunidades o cantones) y el número con base al orden correlativo de encuentro y caracterización (Cuadro 1).

Variables en estudio

Se estudiaron variables cualitativas: forma del ápice de la hoja, forma de la base de la hoja,

color de los brotes en la hoja, color del fruto inmaduro, forma del fruto, ápice del fruto, constricción basal del fruto, cáscara del fruto, color de la semilla, color de los cotiledones, forma del corte longitudinal y transversal de la semilla, color de la estructura floral. Entre las variables cuantitativas: edad del árbol, diámetro del tronco a la altura del pecho (DAP), altura del árbol, número de ramas, longitud del pecíolo, longitud de lámina foliar, ancho de lámina foliar, área foliar, número de frutos por árbol, longitud y diámetro del fruto, peso del fruto, número de surcos por fruto, separación del surco, profundidad del lomo y surco, número de semillas por fruto, longitud y diámetro de la semilla, peso de la semilla, número de óvulos por ovario.

Análisis bromatológicos

Se realizaron los análisis bromatológicos respectivos a las semillas de cada uno de los frutos de cacao por árbol caracterizado, en el laboratorio de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas, determinando pH, proteína, grasa, humedad parcial y total, hierro, zinc y materia seca.

Análisis de datos

Para la interpretación de variables cualitativas, se hizo uso de estadística descriptiva; mientras que para las variables cuantitativas se aplicó estadística simple (media, desviación estándar y coeficiente de variación), y análisis multivariado, específicamente: análisis correlación, componentes principales y conglomerados, usando el programa IBM SPSS® Statics Software versión 20, el cual es un sistema global para el análisis de datos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Color del fruto inmaduro, forma del fruto y rugosidad del fruto

Al identificar el color de fruto inmaduro, encontramos cuatro coloraciones diferentes, los cuales son: verde, verde pigmentado, verde rojizo y rojo, de los 21 árboles seleccionados el 47.62% presentaron un color verde; mientras que el 38.10%, verde pigmentado; el 9.52% color rojo; y por último con un valor de 4.76%, verde rojizo. Al respecto García Carrión (2012), menciona que el color del fruto inmaduro puede encontrarse en tres colores: verde, verde pigmentado y rojo; sin embargo, en la investigación se reporta el color verde rojizo como una coloración adicional de frutos inmaduros con respecto al descriptor original.

Con respecto a la forma que presentaron los frutos se encontraron cuatro formas: oblongo, abovado, orbicular y ovado. Del total de frutos evaluados, se observó que el 47.62% son de características oblongos; el 28.57% abovados; el 14.29% ovados; y el 9.52% forma orbicular. García Carrión (2012) describe dos formas adicionales que puede encontrarse en los frutos de cacao, el elíptico y el oblado, no reportados en la presente investigación, posiblemente por el número de árboles muestreados.

La rugosidad del fruto está considerada en tres tipos: profunda, intermedia y superficial, reportando el 47.62%, con rugosidad profunda; el 28.57%, con rugosidad intermedia; mientras que 23.81% tienen rugosidad superficial. García Carrión (2012) reporta de igual forma lo tres tipos de rugosidad coincidiendo en este aspecto con el autor.

Sección longitudinal y transversal de la semilla, color del cotiledón de la semilla, color de la semilla y color de la semilla

Referente a la sección longitudinal de la semilla se encontraron cuatro tipologías: irregular, ovada, elíptica y oblonga, se encontró un 47.62% de los frutos con semillas irregulares; el 28.57% ovadas; el 14.29% elípticas; y 9.52% oblongas, coincidiendo con García Carrión (2012) y Mora (2012); quienes establecen que la sección

longitudinal de la semilla posee los mismos tipos oblonga, ovada, elíptica e irregular, a diferencia que el último autor agrega la forma ovalada.

Al describir la sección transversal de la semilla con base a los tipos: intermedia, redondeada y aplanada del descriptor, se reporta que el 66.66% de los frutos, presentaron sus semillas con sección intermedia; 23.81% redondeadas; y 9.52% aplanadas estos tipos encontrados coinciden igualmente con lo descrito por García Carrión (2012) y Mora (2012), quienes describen la sección transversal de la semilla con los mismos tipos: aplanada, intermedia y redondeada.

El color del cotiledón de la semilla, está considerada según los descriptores en cuatro colores: rosado, blanco, morado y violeta, encontrando que el 28.57% de los frutos, sus semillas fueron de color morado; el 23.81% de color rosado; 23.81% color blanco; y 19.04% color violeta. Espinoza (2011) en su estudio encontró granos de color morado a blanco, asimismo, Suárez (2010) establece que al hacerse un corte longitudinal de frutos con su semilla fresca se encuentran en muchos casos cotiledones blancos y violeta en diferentes proporciones. Sari y Susilo (2011), demostraron la presencia de granos de cacao con fuente de polen de otros árboles que influyen directamente en características como el color y tamaño de los granos, fenómeno conocido como “Xenia”, lo que explica la proporcionalidad en los colores de los granos en un fruto cuando hay fuentes de polen de árboles con almendras de diferentes colores.

Número de frutos por árbol, peso de frutos y número de semillas por fruto

Al analizar las variables cuantitativas, el número de frutos por árbol nos refleja en primer orden el rendimiento potencial de los mismos, en árbol codificado como UES-SLT-16 presentó el mayor número de frutos (200 frutos), y el UES-TNG-18, mostró el menor número de frutos (12 frutos) en el momento del muestreo, con un valor promedio de 57 frutos; asimismo, el 100% de los árboles muestreados se encontraron dentro del intervalo de 12-200 frutos. Según García Carrión (2012), para obtener el índice de mazorca o fruto en el germoplasma trinitario se requieren de 20-23 mazorcas; mientras que en las variedades forasteras de 25-31 frutos y en las variedades criollas de 23-28 frutos, por lo tanto, árboles arriba de 57 de frutos por árbol se consideran con buen índice de mazorca. Según Martínez Botello (2013), en las investigaciones realizadas para la Federación Nacional de Cacaoteros de Colombia (FEDECACAO), de los clones regionales y universales seleccionados en su investigación, se encontró árboles con un índice de fruto por árbol de 12-21, siendo un rango relativamente menor a los encontrados en la presente investigación (Figura 1).

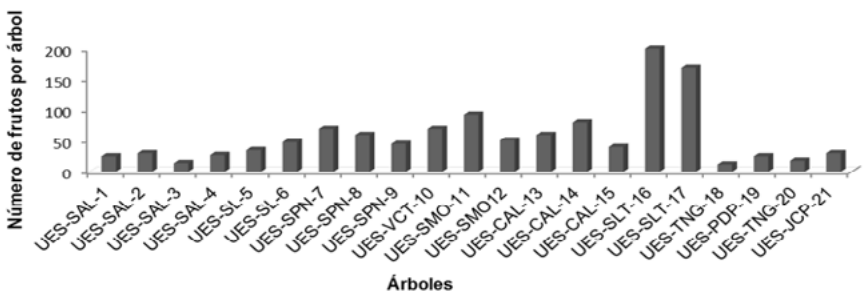


Figura 1. Frutos por árbol.

Los frutos del árbol que presentó mayor peso fue el UES-SL-5 con 1.25 kg, y el de menor valor, los frutos del árbol UES-SAL-1 con 0.173 kg, (Figura 2). El peso promedio de frutos de los 21 árboles fue de 0.53 kg; Asimismo, el 100% de los árboles se encontraron con valores entre 0.17-1.25 kg; Gutiérrez Hernández (2011), reportó en su estudio agronómico y fisicoquímico de los ecotipos, frutos con valores de peso entre 0.45-1.13 kg.

Al contar el número de semillas por fruto, el árbol codificado como UES-CAL-15 presentó el mayor valor con 75 semillas y el árbol UES-TNG-18, expresó el menor valor con 21 semillas (Figura 3), el valor promedio de 41 semillas. En el 100% de los árboles, surgió una variable en cuanto a que el número de semillas fluctuó en un intervalo de 21-75 semillas por fruto. Al respecto Mora (2012), en el catálogo de clones de cacao del CATIE, los resultados de sus investigaciones para esta variable, fueron de 27-37 semillas por fruto. García Carrión (2012), en su catálogo de clones de Perú, presenta un intervalo de 22-27 semillas por fruto, estos resultados son inferiores a los encontrados en la presente investigación.

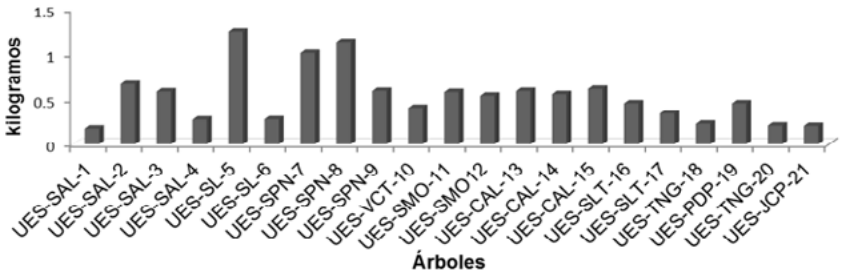


Figura 2. Peso del fruto.

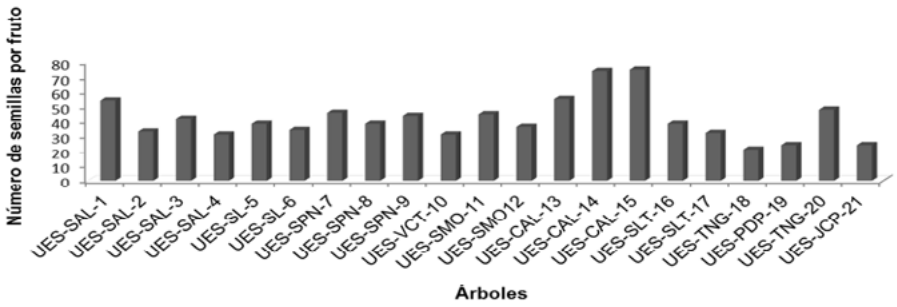


Figura 3. Número de semillas por fruto.

Longitud y diámetro del fruto

Otras variables cuantitativas de importancia, lo representan la longitud y diámetro de la mazorca o fruto. El árbol codificado como UES-SL-5, presentó los mayores valores de longitud de fruto con 27 cm y 10.52 cm de diámetro; registrando los menores valores el UES-TNG-20 de 11.3 cm de longitud de fruto y el UES-SAL-1, con 5.73 cm de diámetro, siendo la longitud promedio de 19.05 cm y el diámetro promedio de 8.0 cm. El 100% de los frutos se encuentra dentro del intervalo de 11.3-27 cm de longitud

del fruto y 5.73-10.52 cm diámetro del fruto. Mora (2012), encontró que en la longitud del fruto posee un nivel de 14.3-19.7 cm, mientras, el diámetro se considera un intervalo de 8.5-9.6 cm, estos resultados son congruentes con los encontrados por Ramírez Díaz (2011), quien obtuvo una longitud del fruto entre 14-15 cm y un diámetro entre 7.5-8.7 cm (Figura 4). Se reporta una alta correlación positiva entre la longitud del fruto/peso del fruto y diámetro del fruto/peso del fruto con valores (r= 0.74) y (r= 0.84) respectivamente, implicando dependencia entre las variables.

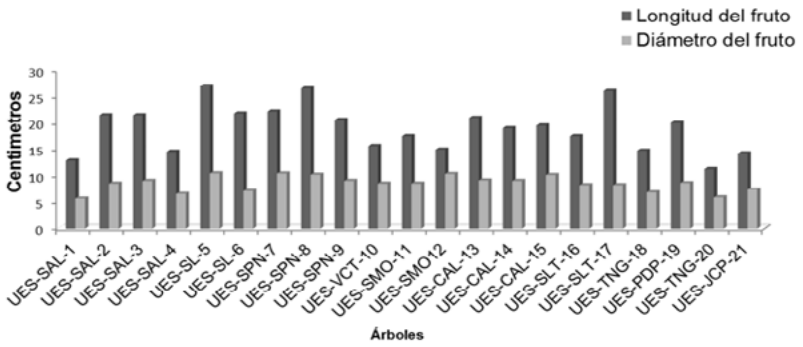


Figura 4. Longitud y diámetro del fruto.

Longitud, diámetro y peso de la semilla

Las variables relacionadas con la semilla, nos pueden apoyar en la definición de los mejores árboles para propagar, en este sentido las semillas del árbol codificado como UES-PDP-19, mostró los mayores valores de longitud con 2.95 cm y 1.86 cm de diámetro; los menores valores los mostró el UES-SLT-17 con 2.09 cm de longitud y el UES-SAL-4, con 1.11 cm de diámetro de la semilla. La longitud y diámetro promedio fue de 2.37 cm y 1.34 cm respectivamente, reportando además que el 100% de los árboles fluctúan entre 2.09-2.95 cm de longitud de semilla y 1.11-1.68 cm de diámetro. Al respecto Morán (2012), encontró que los valores para longitud de la semilla se encuentran en un intervalo de 2.1 a 2.6 cm y que el diámetro fluctúa de 0.80 a 1.1 cm para este descriptor; Gutiérrez Hernández (2011) reporta una longitud de la semilla de 2.14-2.50 cm y 1.15-1.26 de diámetro, estos valores son muy similares a los encontrados en la presente investigación (Figura 5). Al referirnos al peso

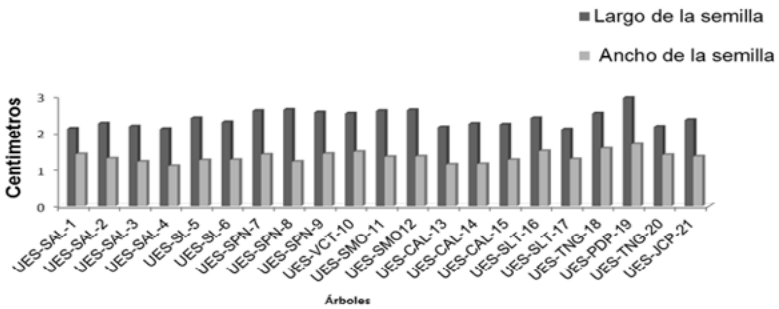


Figura 5. Largo y ancho de la semilla.

de la semilla los frutos del árbol UES-PDP-19, presentó el mayor valor con 3.18 g, mientras que el menor valor lo mostró el UES-SAL-4 con 0.95 g, el peso promedio de las semillas de los 21 frutos fue de 1.76 g. Por otra parte, el 100% de las semillas el peso fluctuó entre 0.95-3.18 g (Figura 6).

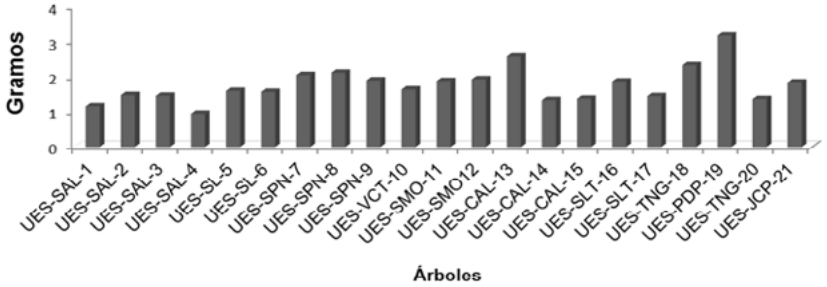


Figura 6. Peso de la semilla.

Contenido de grasa y proteína

En el cacao, el contenido de grasa es muy importante para la industria y conocer su contenido puede ayudar a definir al agricultor el germoplasma a propagar, siendo, una de las razones que motivó a realizar estas determinaciones, obteniendo como resultado que frutos del árbol codificado como UES-PDP-19, presentó el mayor valor con 56.4% de grasa, mientras que el menor valor lo mostró el árbol UES-SAL-3, con 21.8%; del 100% de las semillas provenientes de los 21 árboles, los valores de grasa fluctuaron entre 21.8-56.4%. Estos resultados coinciden con los encontrados por Ramírez Díaz (2011), quien obtuvo resultados entre 21.09-46.52% y García Carrión (2012), con valores entre 45 a 59% para el contenido de grasa, lo cual se ajusta con lo reportado para el análisis de esta variable (Figura 7). Se encuentra correlación positiva entre la longitud de la semilla y el contenido de grasa (r= 0.57), indicando una probable dependencia de ambas variables.

Con respecto a los valores de proteína, las semillas del árbol UES-SLT-17, exhibieron los mayores valores con un contenido de 27.38% y el UES-VCT-10, el menor valor, con 7.17%, mostrando la totalidad de las muestras un promedio de 17.04%, encontrando además en el 100% de los árboles fluctuaciones de 7.17 a 27.38% de proteína. Ramírez Díaz (2011), establecen que para el contenido de proteína se tiene valores entre 12.16-17.11% para esta variable (Figura 7).

Las semillas del árbol UES-VCT-10, presentaron el mayor valor de ceniza con 9.03% y el menor valor lo mostraron las semillas del árbol UES-CAL-15, con 3.1%, siendo el contenido promedio 4.54%, al respecto Gutiérrez Hernández (2011) y Martínez Botello (2013), reportan contenidos entre 3.19 a 4.42% y de 3.77-4.63%, respectivamente (Figura 7).

Contenido de hierro y zinc

Las semillas de los árboles UES-SAL-1 y UES-CAL-15, presentaron los mayores valores con 4.52 $mg.l^{-1}$ y 3.92 $mg.l^{-1}$ de hierro y zinc respectivamente, los menores lo registraron los árboles UES-CAL-13 y UES-SMO-11 con 3.12 $mg.l^{-1}$ y 2.12 $mg.l^{-1}$ para hierro y zinc respectivamente (Figura 8). El contenido promedio de hierro en las semillas fue de 3.88 $mg.l^{-1}$ y de zinc 3.02 $mg.l^{-1}$.

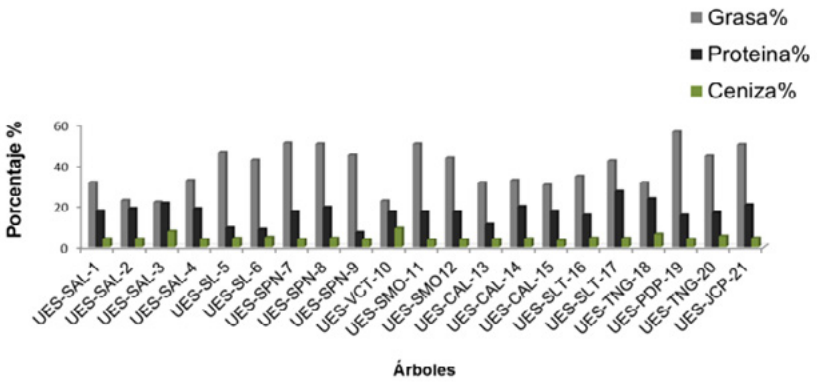


Figura 7. Contenido de grasa, proteína y ceniza de la semilla de cacao.

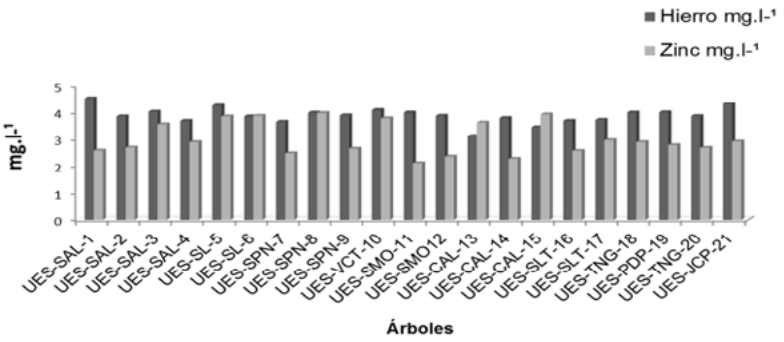


Figura 8. Contenido de hierro y zinc de la semilla de cacao.

Análisis de conglomerados

Al ejecutar el análisis multivariado en los 21 árboles de cacao caracterizados (Cuadro 2), se encontraron ocho grupos, los cuales mostraron homogeneidad y similitud dentro de ellos, y a su vez heterogeneidad y diferencias entre grupos (Figura 9).

El grupo uno, está formado por los árboles: UES-SAL-1, UES-SAL-2, UES-SAL-3, UES-SAL-4; estos materiales fueron influenciados por los descriptores, altura de árbol y edad, debido a similitud y homogeneidad existente entre las variables, correspondientes a estructura, simetría y arquitectura del árbol. En cuanto a los lugares de colecta, fueron encontrados en el Hospital Nacional Dr. José Antonio Saldaña, Municipio de Panchimalco, Departamento de San Salvador. Asimismo, este grupo mostró, las menores dimensiones de semilla (longitud y peso); en cuanto al coeficiente de variación promedio para el grupo fue de 21.16 %.

En el segundo grupo, se observa la formación de dos subgrupos, el primero está conformado por UES-SL-5 y UES-SL-6; asimismo, encontramos en el segundo subgrupo el árbol UES-PDP-19, estos fueron influenciados por los descriptores: número de frutos por árbol, grasa y zinc, de igual forma este grupo, se caracterizó por presentar los mayores valores en longitud del fruto, peso de la semilla y zinc con los mayores datos y el menor contenido fue para la proteína con 11.15%; además, el coeficiente de variación promedio para este grupo fue 24.84%.

En el tercer grupo, se observa la formación de dos subgrupos, en el primero encontramos los árboles UES-SPN-7, UES-SPN-8 y UES-SPN-9; además, en el segundo subgrupo el árbol UES-JCP-21. Estos fueron influenciados por los descriptores: peso del fruto, longitud del fruto, diámetro y peso de la semilla, grasa, por lo tanto, estos deben su agrupación a la similitud existente a dimensiones del fruto y semilla.

Por otra parte, este grupo se caracterizó por presentar el mayor peso del fruto y el mayor contenido de grasa; el coeficiente de variación promedio fue 23%.

El cuarto grupo está formado únicamente por un árbol, el UES-VCT-10 con los descriptores: longitud, diámetro y peso de la semilla, número de semilla por fruto, contenidos de ceniza y hierro. Por lo tanto, este debe su agrupación a la similitud existente a dimensiones de la semilla. De igual forma este grupo se caracterizó por presentar los valores más altos en las variables de edad de los árboles, diámetro de la semilla, contenidos de ceniza, hierro y zinc; asimismo, muestra los valores más bajos en cuanto a número de semilla por fruto, y contenido de grasa.

El grupo cinco, está formado por 2 árboles, UES-SMO-11, UES-SMO-12. Para la formación de este grupo, influyó el descriptor: edad de los árboles y número de frutos por árbol. Este grupo se caracterizó por presentar los mayores valores en las variables diámetro del fruto y longitud de la semilla; el resto de las variables muestran menores valores como el contenido de ceniza y zinc. El coeficiente de variación para el grupo fue de 7.69%.

El sexto grupo, está formado por los árboles UES-CAL-13, UES-14 y UES-CAL-15, influyendo los descriptores: contenido de hierro y zinc. Este grupo se caracterizó por mostrar los valores más altos en diámetro del fruto y los valores más bajos fueron del diámetro de la semilla y hierro. El coeficiente de variación para este grupo fue de 14.71%.

El séptimo grupo está formado únicamente por dos árboles, los cuales son: UES-SLT-16 y UES-SLT-17, mostró similitud en los siguientes descriptores: número de frutos por árbol, ceniza y zinc, caracterizándose por presentar los valores más altos en las variables de altura del árbol, número de frutos por árbol y contenido de proteína; asimismo, el coeficiente de variación promedio para este fue de 12.30%.

El grupo ocho, está formado por dos árboles UES-TNG-18 y UES-TNG-20, para su agrupación, influyó el contenido de proteína; caracterizándose además por presentar el mayor valor en diámetro de la semilla; el resto de las variables muestran menores valores como la edad de los árboles, longitud, diámetro y peso del fruto, diámetro de la semilla, mientras que el coeficiente de variación para el grupo fue de 17.89%.

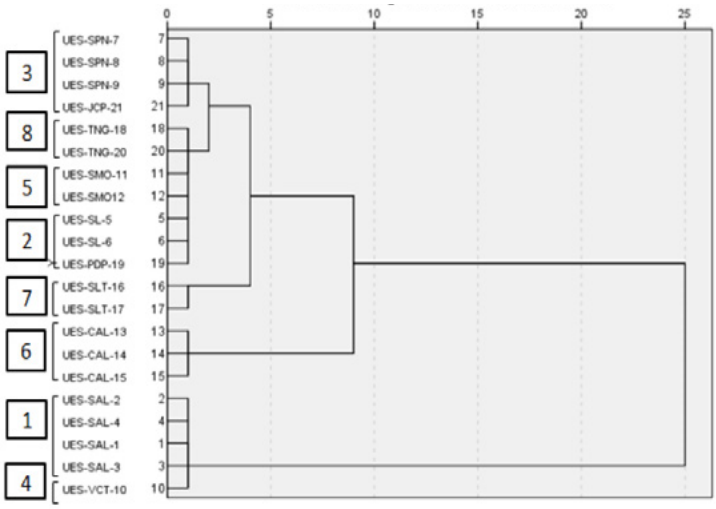


Figura 9. Dendograma de distancias entre 21 árboles de cacao.

Cuadro 2. Catálogo de selecciones de cacao criollo y trinitario.

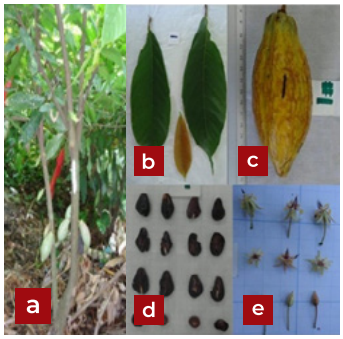


Figura 10. Árbol 1 (UES-SAL-1); a) árbol; b) hojas; c) fruto; d) semillas; e) flores.

ÁRBOL 1 (UES-SAL-1)

Localización: Encontrado en el Hospital Nacional Dr. José Antonio Saldaña, Panchimalco, San Salvador, 13°64'68.9" latitud norte, 89°19'56.3" longitud oeste, a una elevación de 957 msnm.

Descripción del árbol: Árbol de aproximadamente 20 años de edad (Figura 10), que posee un DAP de 6.15 cm, con una altura de 3 m, y dos ramas principales.

Descripción de fruto: El color del fruto inmaduro es verde, forma del fruto oblongo, forma del ápice apezonado, rugosidad ligera y constricción basal intermedia, con un número de 25 frutos al momento de levantar la información, número de semillas por frutos de 54, peso de fruto de 0.17 kg., longitud de fruto de 12.9 cm, diámetro de 5.73 cm, número de surcos de 5, separación de surco de 3.25 cm, altura de caballete 0.70 cm y una profundidad de surco de 0.55 cm.

Descripción de la semilla: Color violeta, sección longitudinal irregular, sección transversal intermedia, longitud de 2.11 cm, diámetro de1.42 cm, y un peso promedio de 1.16 g

Análisis bromatológico: pH muscilago 3.9, ceniza 4.02%, grasa 31.58%, proteína 17.65%, humedad parcial 38.26%, humedad total 3.94%, materia seca 57.80%, zinc 2.68 mg.l-1 y hierro 4.52 mg.l^{-1}.

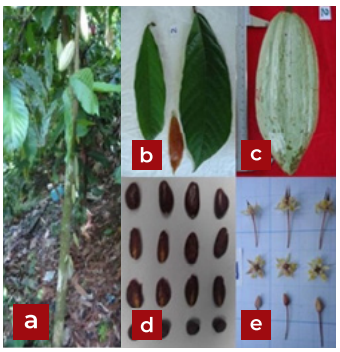


Figura 11. Árbol 2 (UES-SAL-2); a) árbol; b) hojas; c) fruto; d) semillas; e) flores.

ÁRBOL 2 (UES-SAL-2)

Localización: Encontrado en el Hospital Nacional Dr. José Antonio Saldaña, Panchimalco, San Salvador, 13°64'68.3" latitud norte, 89°19'548" longitud oeste, a una elevación de 961 msnm.

Descripción del árbol: Árbol de aproximadamente 20 años de edad (Figura 11), que posee un DAP de 7.5 cm, con una altura de 2.5 m, y con una rama principal.

Descripción de fruto: El color del fruto inmaduro es verde, forma del fruto oblongo, forma del ápice apezonado, rugosidad intermedia y constricción basal ausente, con un número de 14 frutos al momento de levantar la información, número de semillas por frutos de 42, peso de fruto de 0.58 kg., longitud de fruto de 21.5 cm, diámetro de 9.1 cm, número de surcos de 10, separación de surco de 3 cm, altura de caballete 1.65 cm y una profundidad de surco de 1.4 cm.

Descripción de la semilla: Color violeta, sección longitudinal irregular, sección transversal intermedia, longitud de 2.17 cm, diámetro de1.22 cm, y un peso promedio de 1.45 g.

Análisis bromatológico: pH muscilago 3.53, ceniza 7.62%, grasa 21.8%, proteína 21.31%, humedad parcial 66.17%, humedad total 4.21%, materia seca 29.62%, zinc 3.56 mg.l-1 y hierro 4.02 mg.l^{-1}.

Figura 12. Árbol 3 (UES-SAL-3); a) árbol; b) hojas; c) fruto; d) semillas; e) flores.

ÁRBOL 3 (UES-SAL-3)

Localización: Encontrado en el Hospital Nacional Dr. José Antonio Saldaña, Panchimalco, San Salvador, 13°64'68.3" latitud norte, 89°19'548" longitud oeste, a una elevación de 961 msnm.

Descripción del árbol: Árbol de aproximadamente 20 años de edad (Figura 12), que posee un DAP de 7.5 cm, con una altura de 2.5 m, y con una rama principal.

Descripción de fruto: El color del fruto inmaduro es verde, forma del fruto oblongo, forma del ápice apezonado, rugosidad intermedia y constricción basal ausente, con un número de 14 frutos al momento de levantar la información, número de semillas por frutos de 42, peso de fruto de 0.58 kg., longitud de fruto de 21.5 cm, diámetro de 9.1 cm, número de surcos de 10, separación de surco de 3 cm, altura de caballete 1.65 cm y una profundidad de surco de 1.4 cm.

Descripción de la semilla: Color violeta, sección longitudinal irregular, sección transversal intermedia, longitud de 2.17 cm, diámetro de1.22 cm, y un peso promedio de 1.45 g.

Análisis bromatológico: pH muscilago 3.53, ceniza 7.62%, grasa 21.8%, proteína 21.31%, humedad parcial 66.17%, humedad total 4.21%, materia seca 29.62%, zinc 3.56 mg.l-1 y hierro 4.02 mg.l^{-1}.

Figura 13. Árbol 4 (UES-SAL-4); a) árbol; b) hojas; c) fruto; d) semillas; e) flores.

ÁRBOL 4 (UES-SAL-4)

Localización: Encontrado en el Hospital Nacional Dr. José Antonio Saldaña, Panchimalco, San Salvador, 13°64'70.9" latitud norte, 89°19'54.7" longitud oeste, a una elevación de 956 msnm.

Descripción del árbol: Árbol de aproximadamente 20 años de edad (Figura 13), que posee un DAP de 5.25 cm, con una altura de 3.5 m, y con dos ramas principales.

Descripción de fruto: El color del fruto inmaduro es verde, forma del fruto oblongo, forma del ápice agudo, rugosidad intermedia y constricción basal intermedia, con un número de 27 frutos al momento de levantar la información, número de semillas por frutos de 31, peso de fruto de 0.27 kg., longitud de fruto de 14.6 cm, diámetro de 6.61 cm, número de surcos de 10, separación de surco de 2.05 cm, altura de caballete 1.12 cm y una profundidad de surco de 0.95 cm.

Descripción de la semilla: Color violeta, sección longitudinal irregular, sección transversal redondeada, longitud de 2.1 cm, diámetro de1.11 cm, y un peso promedio de 0.95 g.

Análisis bromatológico: pH muscilago 3.97, ceniza 3.67%, grasa 32.56%, proteína 18.77%, humedad parcial 45.89%, humedad total 3.85%, materia seca 50.26%, zinc 3.69 mg.l-1 y hierro 3.67 mg.l^{-1}.

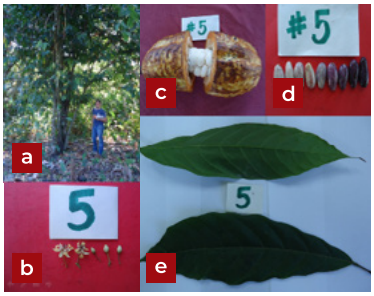


Figura 14. Árbol 5 (UES-SAL-5); a) árbol; b) flores; c) fruto; d) semillas; e) hojas.

ÁRBOL 5 (UES-SAL-5)

Localización: Encontrado en San Laureano, Ciudad Delgado, San Salvador, 13°76'86.1" latitud norte, 89°15'14.2" longitud oeste, a una elevación de 500 msnm.

Descripción del árbol: Árbol de aproximadamente 40 años de edad (Figura 14), que posee un DAP de 13.4 cm, con una altura de 6 m, y con siete ramas.

Descripción de fruto: El color del fruto inmaduro es verde, forma del fruto oblongo, forma del ápice atenuado, rugosidad ligera y constricción basal ausente, con un número de 35 frutos al momento de levantar la información, número de semillas/ frutos de 38, peso de fruto de 1.25 kg., longitud de fruto de 27 cm, diámetro de 10.52 cm, número de surcos de 5, separación de surco de 5.75 cm, altura de caballete 2.48 cm y una profundidad de surco de 2.31 cm.

Descripción de la semilla: Color violeta, sección longitudinal irregular, sección transversal intermedia, longitud de 2.39 cm, diámetro de 1.26 cm, y un peso promedio de 1.59 g.

Análisis bromatológico: pH muscilago 3.71, ceniza 4.28%, grasa 46.26%, proteína 9.29%, humedad parcial 48.97%, humedad total 3.41%, materia seca 47.62%, zinc 3.85 mg.l-1 y hierro 4.25 mg.l^{-1}.

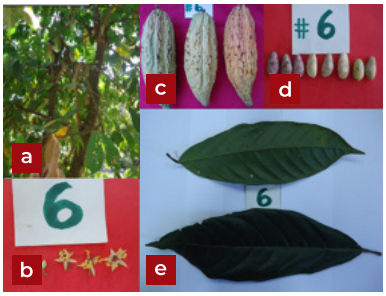


Figura 15. Árbol 6 (UES-SAL-6); a) árbol; b) flores; c) fruto; d) semillas; e) hojas.

ÁRBOL 6 (UES-SAL-6)

Localización: Encontrado en San Laureano, Ciudad Delgado, San Salvador, 13°76'61.7" latitud norte, 89°15'20.8" longitud oeste, a una elevación de 528 msnm.

Descripción del árbol: Árbol de aproximadamente 60 años de edad (Figura 15), que posee un DAP de 10.25 cm, con una altura de 3 m, y con una rama principal.

Descripción de fruto: El color del fruto inmaduro es verde pigmentado y surcos de color rojo pigmentado, forma del fruto oblongo, forma del ápice fuerte, rugosidad fuerte y constricción basal ligera, con un número de 48 frutos al momento de levantar la información, número de semillas por frutos de 34, peso de fruto de 0.28 kg., longitud de fruto de 21.83 cm, diámetro de 7.16 cm, número de surcos de 7, separación de surco de 2.33 cm, altura de caballete 1.26 cm y una profundidad de surco de 0.82 cm.

Descripción de la semilla: Color blanco, sección longitudinal ovada, sección transversal redondeada, longitud de 2.28 cm, diámetro de 1.27 cm, y un peso promedio de 1.56 g.

Análisis bromatológico: pH muscilago 3.42, ceniza 4.8%, grasa 42.40%, proteína 8.58%, humedad parcial 48.90%, humedad total 3.66%, materia seca 47.44%, zinc 3.87 mg.l-1 y hierro 3.85 mg.l^{-1}.

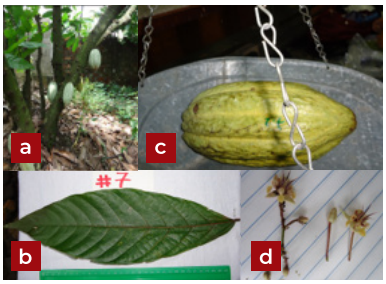


Figura 16. Árbol 7 (UES-SAL-7); a) árbol; b) hoja; c) fruto; d) flores.

ÁRBOL 7 (UES-SAL-7)

Localización: Encontrado en San Pedro Nonualco, La Paz, 13°60'03.6" latitud norte, 88°13'13.5" longitud oeste, a una elevación de 662 msnm.

Descripción del árbol: Árbol de aproximadamente 30 años de edad (Figura 16), que posee un DAP de 10.45 cm, con una altura de 6 m, y con una rama principal.

Descripción de fruto: El color del fruto inmaduro es verde rojizo, forma del fruto abovado, forma del ápice atenuado, rugosidad intermedio y constricción basal ausente, con un numero de 70 frutos al momento de levantar la información, número de semillas por frutos de 46, peso de fruto de 1.01 kg., longitud de fruto de 22.2 cm, diámetro de 10.50 cm, número de surcos de 10, separación de surco de 3.05 cm, altura de caballete 2.30 cm y una profundidad de surco de 1.26 cm.

Descripción de la semilla: Color violeta, sección longitudinal irregular, sección transversal intermedia, longitud de 2.58 cm, diámetro de1.41 cm y un peso promedio de 2.05 g.

Análisis bromatológico: pH muscilago 3.85, ceniza 3.74%, grasa 50.67%, proteína 17.35%, humedad parcial 65.89%, humedad total 4.02%, materia seca 30.09%, zinc 2.48 mg.l-1 y hierro 3.65 mg.l^{-1}.

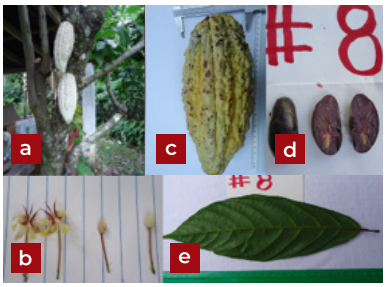


Figura 17. Árbol 8 (UES-SAL-8); a) árbol; b) flores; c) fruto; d) semillas; e) hoja.

ÁRBOL 8 (UES-SAL-8)

Localización: Encontrado en San Pedro Nonualco, La Paz, 13°60'01.8" latitud norte, 88°93'12.2" longitud oeste, a una elevación de 648 msnm.

Descripción del árbol: Árbol de aproximadamente 30 años de edad (Figura 17), que posee un DAP de 10.4 cm, con una altura de 3.5 m, y con cuatro de ramas.

Descripción de fruto: El color del fruto inmaduro es verde pigmentado, forma del fruto oblongo, forma del ápice atenuado, rugosidad fuerte y constricción basal intermedio, con un número de 60 frutos al momento de levantar la información, número de semillas por frutos de 38, peso de fruto de 1.14 kg., longitud de fruto de 26.5 cm, diámetro de 10.25 cm, número de surcos de 10, separación de surco de 2.90 cm, altura de caballete 1.85 cm y una profundidad de surco de 1.30 cm.

Descripción de la semilla: Color violeta, sección longitudinal ovada, sección transversal intermedia, longitud de 2.61 cm, diámetro de 1.22 cm, y un peso promedio de 2.12 g.

Análisis bromatológico: pH muscilago 3.56, ceniza 4.37%, grasa 50.29%, proteína 19.36%, humedad parcial 64.32%, humedad total 4.31%, materia seca 31.37%, zinc 3.97 mg.l-1 y hierro 3.98 mg.l^{-1}.

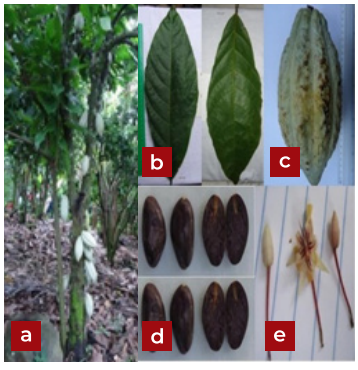


Figura 18. Árbol 9 (UES-SAL-9); a) árbol; b) hojas; c) fruto; d) semillas; e) flores.

ÁRBOL 9 (UES-SAL-9)

Localización: Encontrado en San Pedro Nonualco, La Paz, 13°60'00.9" latitud norte, 88°93'14.3" longitud oeste, a una elevación de 642 msnm.

Descripción del árbol: Árbol de aproximadamente 40 años de edad (Figura 18), que posee un DAP de 13.4 cm, con una altura de 6 m, y con siete ramas.

Descripción de fruto: El color del fruto inmaduro es verde, forma del fruto abovado, forma del ápice agudo, rugosidad fuerte y constricción basal fuerte, con un número de 45 frutos al momento de levantar la información, número de semillas por frutos de 44, peso de fruto de 0.59 kg., longitud de fruto de 20.6 cm, diámetro de 9.1 cm, número de surcos de 10, separación de surco de 2.60 cm, altura de caballete 1.85 cm y una profundidad de surco de 1.25 cm.

Descripción de la semilla: Color violeta, sección longitudinal irregular, sección transversal intermedia, longitud de 2.54 cm, diámetro de 1.43 cm, y un peso promedio de 1.90 g.

Análisis bromatológico: pH muscilago 3.46, ceniza 3.53%, grasa 48.78%, proteína 7.17%, humedad parcial 62.89%, humedad total 4.12%, materia seca 32.99%, zinc 2.65 mg.l-1 y hierro 3.89 mg.l^{-1}.

Figura 19. Árbol 10 (UES-SAL-10); a) árbol; b) flores; c) frutos; d) semillas; e) hoja.

ÁRBOL 10 (UES-SAL-10)

Localización: Encontrado en Villa Victoria, Ilobasco, Cabañas, 13°95'12.8" latitud norte, 88°63'35.2" longitud oeste, a una elevación de 896 msnm.

Descripción del árbol: Árbol de aproximadamente 80 años de edad (Figura 19), que posee un DAP de 16.5 cm, con una altura de 4 m, y con una rama principal.

Descripción de fruto: El color del fruto inmaduro es rojo, forma del fruto orbicular, forma del ápice agudo, rugosidad ligera y constricción basal ausente, con un número de 70 frutos al momento de levantar la información, número de semillas por frutos de 31, peso de fruto de 0.40 kg., longitud de fruto de 15.66 cm, diámetro de 8.60 cm, número de surcos de 10, separación de surco de 2.40 cm, altura de caballete 1.20 cm y una profundidad de surco de 0.90 cm.

Descripción de la semilla: Color blanco, sección longitudinal ovada, sección transversal redondeado, longitud de 2.51 cm, diámetro de 1.48 cm, y un peso promedio de 1.63 g.

Análisis bromatológico: pH muscilago 4.29, ceniza 9.03%, grasa 22.36%, proteína 17.22%, humedad parcial 78.30%, humedad total 5.17%, materia seca 16.53%, zinc 3.78 mg.l-1 y hierro 4.08 mg.l^{-1}.

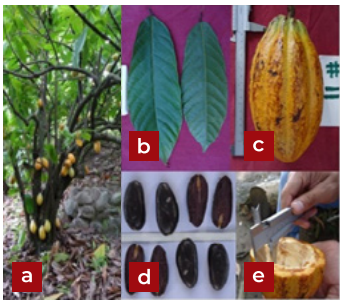


Figura 20. Árbol 11 (UES-SAL-11); a) árbol; b) hojas; c) fruto; d) semillas; e) toma de medidas.

ÁRBOL 11 (UES-SAL-11)

Localización: Encontrado en Santa María Ostuma, La Paz, 13°72'06.5" latitud norte, 89°20'48.0" longitud oeste, a una elevación de 554 msnm.

Descripción del árbol: Árbol de aproximadamente 35 años de edad (Figura 20), que posee un DAP de 7.6 cm, con una altura de 4 m, y con cinco ramas.

Descripción de fruto: El color del fruto inmaduro es verde pigmentado, forma del fruto ovado, forma del ápice obtuso, rugosidad ligera y constricción basal ligera, con un número de 92 frutos al momento de levantar la información, número de semillas por frutos de 45, peso de fruto de 0.58 kg., longitud de fruto de 17.5 cm, diámetro de 8.6 cm, número de surcos de 10, separación de surco de 2.5 cm, altura de caballete 1.45 cm y una profundidad de surco de 1.00 cm.

Descripción de la semilla: Color violeta, sección longitudinal irregular, sección transversal intermedia, longitud de 2.58 cm, diámetro de 1.38 cm, y un peso promedio de 1.88 g.

Análisis bromatológico: pH muscilago 3.53, ceniza 3.39%, grasa 50.30%, proteína 17.22%, humedad parcial 48.90%, humedad total 3.81%, materia seca 47.29%, zinc 2.12 mg.l-1 y hierro 3.99 mg.l^{-1}.

Figura 21. Árbol 12 (UES-SAL-12); a) árbol; b) hojas; c) fruto; d) semillas; e) toma de medidas.

ÁRBOL 12 (UES-SAL-12)

Localización: Encontrado Santa María Ostuma, La Paz, 13°62'38.72" latitud norte, 89°94'56.7" longitud oeste, a una elevación de 553 msnm.

Descripción del árbol: Árbol de aproximadamente 35 años de edad (Figura 21), que posee un DAP de 10.45 cm, con una altura de 3 m, y con cuatro ramas.

Descripción de fruto: El color del fruto inmaduro es verde pigmentado, forma del fruto orbicular, forma del ápice obtuso, rugosidad ausento (liso) y constricción basal intermedio, con un número de 51 frutos al momento de levantar la información, número de semillas por frutos de 36, peso de fruto de 0.54 kg., longitud de fruto de 15 cm, diámetro de 10.40 cm, número de surcos de 10, separación de surco de 2.85 cm, altura de caballete 1.60 cm y una profundidad de surco de 1.30 cm.

Descripción de la semilla: Color violeta, sección longitudinal elíptica, sección transversal aplanado, longitud de 2.60 cm, diámetro de1.36 cm, y un peso promedio de 1.93 g.

Análisis bromatológico: pH muscilago 3.61, ceniza 3.52%, grasa 43.38%, proteína 17.15%, humedad parcial 45.68%, humedad total 3.52%, materia seca 50.80%, zinc 2.36 mg.l-1 y hierro 3.87 mg.l^{-1}.

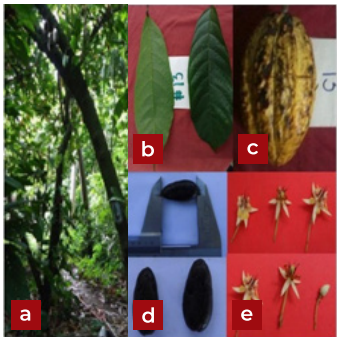


Figura 22. Árbol 13 (UES-SAL-13); a) árbol; b) hojas; c) fruto; d) semillas; e) flores.

ÁRBOL 13 (UES-SAL-13)

Localización: Encontrado en la Finca Tecoma, Caluco, Sonsonate, 13°71'54.7" latitud norte, 89°67'44.5" longitud oeste, a una elevación de 323 msnm.

Descripción del árbol: Árbol de aproximadamente 50 años de edad (Figura 22), que posee un DAP de 19 cm, con una altura de 7 m, y con cuatro ramas.

Descripción de fruto: El color del fruto inmaduro es verde, forma del fruto abovado, forma del ápice obtuso, rugosidad ligera y constricción basal intermedia, con un número de 60 frutos al momento de levantar la información, número de semillas por frutos de 55, peso de fruto de 0.59 kg., longitud de fruto de 21 cm, diámetro de 9.2 cm, número de surcos de 10, separación de surco de 2.7 cm, altura de caballete 1.60 cm y una profundidad de surco de 1.00 cm.

Descripción de la semilla: Color violeta, sección longitudinal irregular, sección transversal intermedia, longitud de 2.15 cm, diámetro de 1.15 cm, y un peso promedio de 2.57 g.

Análisis bromatológico: pH muscilago 3.79, ceniza 3.71%, grasa 31.50%, proteína 11.40%, humedad parcial 62.30%, humedad total 4.72%, materia seca 32.98%, zinc 3.62 mg.l-1 y hierro 3.12 mg.l^{-1}.

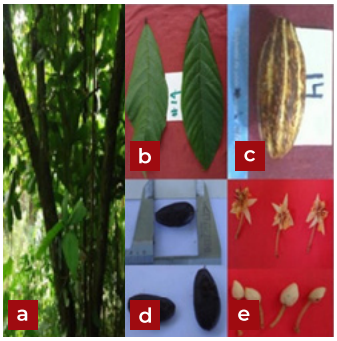


Figura 23. Árbol 14 (UES-SAL-14); a) árbol; b) hojas; c) fruto; d) semillas; e) flores.

ÁRBOL 14 (UES-SAL-14)

Localización: Encontrado en la Finca Tecoma, Caluco, Sonsonate, 13°71'54.7" latitud norte, 89°67'45.1" longitud oeste, a una elevación de 295 msnm.

Descripción del árbol: Árbol de aproximadamente 50 años de edad (Figura 23), que posee un DAP de 18 cm, con una altura de 6 m, y con dos ramas principales.

Descripción de fruto: El color del fruto inmaduro es verde pigmentado, forma del fruto abovado, forma del ápice obtuso, rugosidad ligera y constricción basal intermedio, con un número de 80 frutos al momento de levantar la información, número de semillas por frutos de 74, peso de fruto de 0.56 kg., longitud de fruto de 19 cm, diámetro de 9.1 cm, número de surcos de 10, separación de surco de 2.5 cm, altura de caballete 1.4 cm y una profundidad de surco de 1.00 cm.

Descripción de la semilla: Color violeta, sección longitudinal oblonga, sección transversal redondeada, longitud de 2.24 cm, diámetro de 1.16 cm, y un peso promedio de 1.33 g.

Análisis bromatológico: pH muscilago 3.75, ceniza 4.00%, grasa 32.57%, proteína 19.78%, humedad parcial 48.60%, humedad total 3.44%, materia seca 47.96%, zinc 2.28 mg.l-1 y hierro 3.79 mg.l^{-1}.

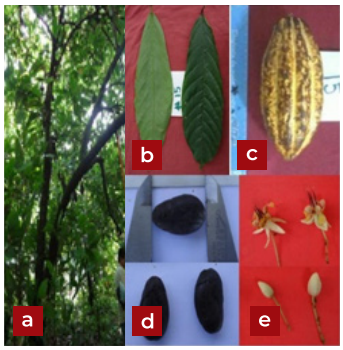


Figura 24. Árbol 15 (UES-SAL-15); a) árbol; b) hojas; c) fruto; d) semillas; e) flores.

ÁRBOL 15 (UES-SAL-15)

Localización: Encontrado en Finca Tecoma, Caluco, Sonsonate, 13°69'51.1" latitud norte, 89°65'01.2" longitud oeste, a una elevación de 363 msnm.

Descripción del árbol: Árbol de aproximadamente 50 años de edad (Figura 24), que posee un DAP de 22 cm, con una altura de 7 m, y con una rama principal.

Descripción de fruto: El color del fruto inmaduro es verde pigmentado, forma del fruto abovado, forma del ápice apezonado, rugosidad ligera y constricción basal ligera, con un número de 40 frutos al momento de levantar la información, número de semillas por frutos de 75, peso de fruto de 0.61 kg., longitud de fruto de 19.5 cm, diámetro de 10.2 cm, número de surcos de 10, separación de surco de 2.55 cm, altura de caballete 1.6 cm y profundidad de surco de 1.1 cm.

Descripción de la semilla: Color violeta, sección longitudinal ovada, sección transversal intermedia, longitud de 2.22 cm, diámetro de 1.27 cm, y un peso promedio de 1.37 g.

Análisis bromatológico: pH muscilago 3.50, ceniza 3.10%, grasa 30.30%, proteína 17.57%, humedad parcial 39.56%, humedad total 2.55%, materia seca 57.89%, zinc 3.92 mg.l-1 y hierro 3.45 mg.l^{-1}.

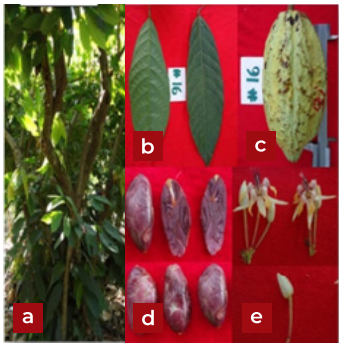


Figura 25. Árbol 16 (UES-SAL-16); a) árbol; b) hojas; c) fruto; d) semillas; e) flores.

ÁRBOL 16 (UES-SAL-16)

Localización: Encontrado en Salitre, Nejapa, San Salvador, 13°78'72.0" latitud norte, 89°25'51.9" longitud oeste, a una elevación de 739 msnm.

Descripción del árbol: Árbol de aproximadamente 70 años de edad (Figura 25), que posee un DAP de 22 cm, con una altura de 7 m, y con una rama principal.

Descripción de fruto: El color del fruto inmaduro es verde pigmentado, forma del fruto abovado, forma del ápice apezonado, rugosidad ligera y constricción basal ausente, con un número de 200 frutos al momento de levantar la información, número de semillas por frutos de 38, peso de fruto de 0.45 kg., longitud de fruto de 17.5 cm, diámetro de 8.3 cm, número de surcos de 9, separación de surco de 2.25 cm, altura de caballete 1.55 cm y una profundidad de surco de 1.05 cm.

Descripción de la semilla: Color de la semilla violeta, sección longitudinal elíptica, sección transversal intermedia, longitud de 2.39 cm, diámetro de1.5 cm, y un peso promedio de 1.87 g.

Análisis bromatológico: pH muscilago 3.65, ceniza 4.37%, grasa 34.48%, proteína 15.57%, humedad parcial 69.80%, humedad total 5.61%, materia seca 24.59%, zinc 2.57 mg.l-1 y hierro 3.69 mg.l^{-1}.

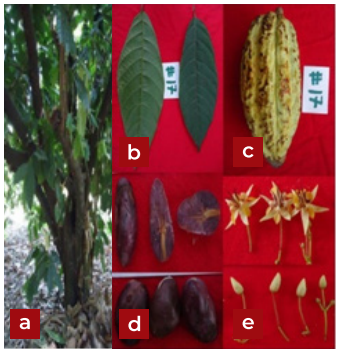


Figura 26. Árbol 17 (UES-SAL-17); a) árbol; b) hojas; c) fruto; d) semillas; e) flores.

ÁRBOL 17 (UES-SAL-17)

Localización: Encontrado en Salitre, Nejapa, San Salvador, 13°78'71.0" latitud norte, 89°25'50.8" longitud oeste, a una elevación de 737 msnm.

Descripción del árbol: Árbol de aproximadamente 70 años de edad (Figura 26), que posee un DAP de 15.5 cm, con una altura de 8 m, y con siete ramas.

Descripción de fruto: El color del fruto inmaduro es verde pigmentado, forma del fruto oblongo, forma del ápice apezonado, rugosidad intermedia y constricción basal ausente, con un número de 170 frutos al momento de levantar la información, número de semillas por frutos de 32, peso de fruto de 0.34 kg., longitud de fruto de 26 cm, diámetro de 8.3 cm, número de surcos de 10, separación de surco de 2.31 cm, altura de caballete 1.4 cm y una profundidad de surco de 0.95 cm.

Descripción de la semilla: Color de la semilla violeta, sección longitudinal irregular, sección transversal intermedia, longitud de 2.09 cm, diámetro de 1.29 cm, y un peso promedio de 1.44 g.

Análisis bromatológico: pH muscilago 4.46, ceniza 4.23%, grasa 42.06%, proteína 27.38%, humedad parcial 43.60%, humedad total 3.27%, materia seca 53.13%, zinc 2.96 mg.l-1 y hierro 3.72 mg.l^{-1}.

Figura 27. Árbol 18 (UES-SAL-18); a) árbol; b) hojas; c) fruto; d) semillas; e) flores.

ÁRBOL 18 (UES-SAL-18)

Localización: Encontrado en Corral Viejo, Caserío La Rincona, Tenancingo, Cuscatlán, 13°71'95.5" latitud norte, 89°28'29.0" longitud oeste, a una elevación de 562 msnm.

Descripción del árbol: Árbol de aproximadamente 10 años de edad (Figura 27), que posee un DAP de 10.5 cm, con una altura de 3.5 m, y con dos ramas principales.

Descripción de fruto: El color del fruto inmaduro es verde, forma del fruto ovada, forma del ápice agudo, rugosidad intermedio y constricción basal ausente, con un número de 12 frutos al momento de levantar la información, número de semillas por frutos de 21, peso de fruto de 0.28 kg., longitud de fruto de 14.8 cm, diámetro de 6.9 cm, número de surcos de 10, separación de surco de 1.93 cm, altura de caballete 0.95 cm y una profundidad de surco de 0.7 cm.

Descripción de la semilla: Color de la semilla blanco, sección longitudinal irregular, sección transversal intermedia, longitud de 2.51 cm, diámetro de 1.57 cm, y un peso promedio de 2.33 g.

Análisis bromatológico: pH muscilago 4.31, ceniza 6.31%, grasa 31.48%, proteína 23.36%, humedad parcial 46.12%, humedad total 3.88%, materia seca 50.00%, zinc 2.89 mg.l-1 y hierro 3.99 mg.l^{-1}.

Figura 28. Árbol 19 (UES-SAL-19); a) árbol; b) hojas; c) fruto; d) semillas; e) flores.

ÁRBOL 19 (UES-SAL-19)

Localización: Encontrado en Plan del Pino, el Naranjito, Ciudad Delgado, San Salvador, 13°74'37.0" latitud norte, 89°14'97.8" longitud oeste, a una elevación de 520 msnm.

Descripción del árbol: Árbol de aproximadamente 40 años de edad (Figura 28), que posee un DAP de 19 cm, con una altura de 10 m, y con una rama principal.

Descripción de fruto: El color del fruto inmaduro es verde, forma del fruto oblongo, forma del ápice agudo, rugosidad intermedio y constricción basal ligera, con un número de 25 frutos al momento de levantar la información, número de semillas por frutos de 24, peso de fruto de 0.45 kg., longitud de fruto de 20 cm, diámetro de 8.7 cm, número de surcos de 7, separación de surco de 3.8 cm, altura de caballete 1.45 cm y una profundidad de surco de 1.00 cm.

Descripción de la semilla: Color violeta, sección longitudinal oblonga, sección transversal intermedia, longitud de 2.95 cm, diámetro de 1.68 cm, peso promedio de 3.18 g.

Análisis bromatológico: pH muscilago 3.42, ceniza 3.86%, grasa 56.40%, proteína 15.57%, humedad parcial 29.88%, humedad total 2.85%, materia seca 67.27%, zinc 2.78 mg.l-1 y hierro 4.00 mg.l^{-1}.

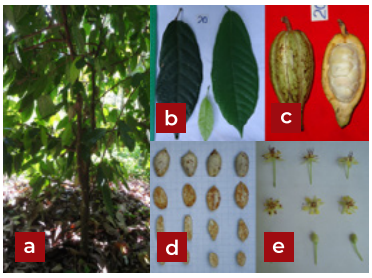


Figura 29. Árbol 20 (UES-SAL-20); a) árbol; b) hojas; c) fruto; d) semillas; e) flores.

ÁRBOL 20 (UES-SAL-20)

Localización: Encontrado en Rosario Tablón, Tenancingo, Cuscatlán, 13°80'10.4" latitud norte, 89°96'55.7" longitud oeste, a una elevación de 573 msnm.

Descripción del árbol: Árbol de aproximadamente 10 años de edad (Figura 29), que posee un DAP de 7 cm, con una altura de 2 m y con una rama principal.

Descripción de fruto: El color del fruto inmaduro es verde, forma del fruto ovado, forma del ápice agudo, rugosidad ligera y constricción basal ausente, con un número de 18 frutos al momento de levantar la información, número de semillas por frutos de 48, peso de fruto de 0.21 kg., longitud de fruto de 11.3 cm, diámetro de 5.95 cm, número de surcos de 10, separación de surco de 1.98 cm, altura de caballete 0.87 cm y una profundidad de surco de 0.60 cm.

Descripción de la semilla: Color blanco, sección longitudinal elíptica, sección transversal aplanada, longitud de 2.16 cm, diámetro de 1.4 cm, y un peso promedio de 1.36 g.

Análisis bromatológico: pH muscilago 4.2, ceniza 5.39%, grasa 44.36%, proteína 16.76%, humedad parcial 44.73%, humedad total 3.63%, materia seca 51.64%, zinc 2.68 mg.l-1 y hierro 3.86 mg.l^{-1}.

Figura 30. Árbol 21 (UES-SAL-21); a) árbol; b) hojas; c) fruto; d) semillas; e) flores.

ÁRBOL 21 (UES-SAL-21)

Localización: Encontrado en Sierra Tecapán, Chinameca, Cantón Tepesquillo Alto, Cerro el Tigre, Jucuapa, Usulután, 13°48'11.0" latitud norte, 89°39'17.6" longitud oeste, a una elevación de 672 msnm.

Descripción del árbol: Árbol de aproximadamente 15 años de edad (Figura 30), que posee un DAP de 7 cm, con una altura de 2.5 m, y con dos ramas principal.

Descripción de fruto: El color del fruto inmaduro es rojo, forma del fruto oblongo, forma del ápice atenuado, rugosidad fuerte y constricción basal intermedio, con un número de 30 frutos al momento de levantar la información, número de semillas por frutos de 24, peso de fruto de 0.20 kg., longitud de fruto de 14.3 cm, diámetro de 7.45 cm, número de surcos de 5, separación de surco de 3.7 cm, altura de caballete 1.3 cm y una profundidad de surco de 0.65 cm.

Descripción de la semilla: Color violeta, sección longitudinal ovada, sección transversal redondeada, longitud de 2.34 cm, diámetro de 1.36 cm, y un peso promedio de 1.84 g.

Análisis bromatológico: pH muscilago 3.76, ceniza 4.43%, grasa 50.00%, proteína 20.55%, humedad parcial 36.67%, humedad total 3.09%, materia seca 60.24%, zinc 2.91 mg.l-1 y hierro 4.32 mg.l^{-1}.

CONCLUSIONES

Se cuenta con los primeros 21 árboles de cacao caracterizados morfoagronómicamente, colectados en ocho municipios correspondientes a 6 departamentos de El Salvador, demostrando la presencia de alta variabilidad genética confirmada por la formación de 8 grupos conglomerados con alta heterogeneidad entre grupos y homogeneidad en los subgrupos basada en el ordenamiento de los descriptores.

Se encontraron cuatro árboles con almendras de color total y parcialmente blanca (UES-SL-6, UES-VCT-10, UES-TNG-18 y UES-TNG-20), clasificándolos preliminarmente como criollos; y el resto (17 árboles) con almendras en tonalidades de violeta a completamente morado, demostrando que su origen en su mayoría es trinitario.

Con relación al contenido de grasa, de los 21 materiales caracterizados, UES-JCP-21, UES-SPN-8, UES-SMO-11, UES-PDP-19 y el UES-SPN-7, presentaron los mayores valores para esta variable, lo cual indica que está arriba del 50% de grasa, considerado como germoplasma de interés para la agroindustria.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado con el apoyo financiero del proyecto de Educación Superior para el Crecimiento Económico, según acuerdo de cooperación número 0214405-G2018-003-00 entre el proyecto USAID y la Universidad de El Salvador, Centro América.

BIBLIOGRAFÍA.

Anderson, TR. 2001. El Salvador 1932., Trad. Juan Mario Castellanos 3ra ed. Dirección de Publicaciones e impresos. CONCULTURA. San Salvador, El Salvador.

Batista, L. 2009. Guía Técnica El Cultivo del Cacao. (En línea). Santo Domingo, DO. CEDAF. Consultado 29 de ago. 2012. Disponible en http://foroagroindustria.files.wordpress.com/2010/02/presentacion_cacao_ujmd_el-salvador.pdf

Braudeav, J. 1970. El Cacao: Técnicas Agrícolas y Producciones Tropicales. Barcelona, ES. Colección agricultura tropical. 297 p.

CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología). 2011. Caracterización Genética de los Tipos de Cacao establecidos en el cultivar “Cooperativa Hacienda la Carrera” Usulután, El Salvador. El Salvador Ciencia y Tecnología. 16 (21): 12-18.

Denys, H. 1962. El Cultivo de Cacao y algunos trabajos y observaciones llevados a cabo en El Salvador. Tesis. Ing Agr. San Salvador, SV. UES. 134p.

Dubón, A. 2011. Manual de Producción de Cacao. Lima, Cortez, HN. FHIA. 208 p.

Escalante Arce, P. 1992. Códice Sonsonate. Tomo I y II. 1ra Ed. Dirección de Publicaciones e Impresos. CONCULTURA. Ministerio de Educación. El Salvador.

Espinal, CF. 2005. Cadena de Cacao en Colombia. Bogota, EC. MADROAC. 51 p.

Espinosa, E. 2011. Cacao Blanco una Especialidad del Perú. FAIRTRADE; Ibérica. Piura, PE. (En línea). Consultado 5 mar. 2016. Disponible en: http://www.sellocomerciojusto.org/news/es_ES/2011/06/20/0001/cacao-blanco-una-especialidad-de-peru

Franco, L; Hidalgo, R. 2003. Análisis Estadístico de Datos de Caracterización de Recursos Fitogenéticos. Cali, col. IPGRI. 4 p.

Fuentes Fernández, S. 2011. Análisis de Componentes Principales. Madrid, ES. UNAM. p 3

García Carrión, LF. 2012. Catálogo de Cultivares del Cacao del Perú. (En linea). Lima, PE.

Consultada 8 sep. 2013. Disponible en: http://www.regionhuanuco.gob.pe/grde/.../cultivares_2012.pdf.

Gutiérrez Hernández, BE. 2011. "Estudio Agronómico y Fisicoquímico de los Eco Tipos de Cacao Cultivados en los Municipios de Izalco y Nahuilingo, en el Departamento de Sonsonate en El Salvador". Tesis. Ing. Alimento. Antiguo Cuscatlán, SV. UMD. 116 p.

Montecinos, EC. 2012. Caracterización de la Cadena de Valor de Cacao en El Salvador. CENTA-MAG. La Libertad, SV. 71 p.

Ramos Pérez, DM. 1994. Determinación de Materiales Promisorios de Cacao (*Theobroma cacao* L.) en la Hacienda Cooperativa "La Carrera" Usulután. Tesis. Ing. Agr. San Salvador, SV. UES. 65p.

Sari, AI; Susilo, AW. (2011). Indikasi Pengaruh Xenia Pada Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.). (en línea). Pelita Perkebunanis 27(3), 181-190. Consultado 24 jul.2016. Disponible en: https://www.ccrjournal.com/index.php/ccrj/article/download/155/pdf

Villamil, AP et al. 2013. Características de Calidad del Cacao de Colombia, Catálogo de 26 Cultivares, UIS, Bucaramanga, CO. 101 p.

Zambrano Pazmiño, LA. 2010. "Establecimiento, Manejo y Capacitación en Vivero de Cacao (*Theobroma cacao* L.) Utilizando Dos Tipos de Injertos en la Comunidad de Naranjal II del Cantón Quininde Provincia de Esmeraldas" (en linea). Tesis Ing. Agr. MANABI, EC. UTEMA. 92p. Consultado 6 sep. 2012. Disponible en: http://repositorio.utm.edu.ec/bitstream/123456789/238/1/TESIS%20CACAO%20LUIS%20ZAMBRANO.pdf

Zuñiga Cernades, L. 2012. Manual Práctico del Cultivo de Cacao en El Salvador, 1ª Edición. MAG-CENTA/ IICA. La libertad, SA. 86 p.

Revista
MINERVA
Plataforma digital de la revista: https://minerva.sic.ues.edu.sv

Producción de plantas de cacao criollo (*Theobroma cacao* L.), utilizando dos técnicas de injerto con modificaciones y su efecto en el éxito del prendimiento en fase de vivero

Production of Creole cocoa plants (*Theobroma cacao* L.), using two grafting techniques with modifications and their effect on the success of the nursery phase

Leticia Beatriz Villalta-Cartagena[1], Ana Teresa Rivas-García[1], Yeni Marcela Ramos[1], Fidel Angel Parada-Berríos[1], Marvin Orlando Molina-Escalante[2]

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar dos técnicas de injerto en cacao y modificaciones de los mismos, se desarrolló una investigación en el vivero de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, de julio a diciembre de 2013. Para la ejecución del experimento se utilizó un diseño estadístico completamente al azar, evaluando el injerto de enchapado lateral, púa terminal y modificaciones de ambos. Las modificaciones consistieron en el uso de Parafilm®, bolsa plástica y amarrado completo como momia generando un total de siete tratamientos y cuatro repeticiones; la unidad experimental se constituyó por 10 unidades, totalizando 280 plantas de cacao. Las variables evaluadas fueron: porcentaje de prendimiento, incremento de la altura de la planta, incremento de diámetro de tallo, número de hojas, número de brotes, área foliar, peso fresco de hojas, peso seco de hojas, peso específico de hojas (PEH), grados días de desarrollo (GDD) y relación beneficio costo de la producción de las plantas. Como resultado se encontró que el mayor éxito de prendimiento del injerto fue en el tratamiento de púa terminal con envoltura a la mitad más bolsa (T_4), seguido por enchapado lateral con envoltura a la mitad más bolsa (T_2), siendo el testigo enchapado lateral con envoltura a la mitad sin bolsa (T_1) con el menor éxito. Con respecto a los costos se demostró que enchapado lateral con envoltura a la mitad más bolsa de polietileno (T_2) y púa terminal envuelto a la mitad más bolsa de polietileno (T_4) son los presentaron menor costo. Finalmente se recomienda a los viveristas la utilización de estos últimos tratamientos.

Palabras Clave: Prendimiento, cacao, técnicas, anatomía injerto, afinidad, compatibilidad, *Theobroma cacao* L., vivero..

1 Departamento de Fitotecnia, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.
2 Estación Experimental y de Prácticas, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.

Este es un artículo bajo la licencia CC BY NC (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

ABSTRACT

Aiming to evaluate two grafting techniques in cocoa and their modifications, an investigation was carried out in the nursery of the Faculty of Agronomic Sciences of the University of El Salvador, from July to December 2013. For the execution of the experiment, He used a completely randomized statistical design, evaluating the lateral plating graft, terminal spike and modifications of both. The modifications consisted of the use of Parafilm®, plastic bag and complete mooring as a mummy, generating a total of seven treatments and four repetitions; The experimental unit was constituted by 10 units, totaling 280 cocoa plants. The variables evaluated were: percentage of yield, increase in plant height, increase in stem diameter, number of leaves, number of shoots, leaf area, fresh leaf weight, dry leaf weight, specific leaf weight (PEH), days of development (GDD) and cost benefit ratio of the production of the plants. As a result, it was found that the greatest success of graft seizure was in the treatment of terminal spike with half wrap plus bag (T_4), followed by side plating with half wrap plus bag (T_2), being the side veneered control with half wrap without bag (T_1) with the least success. With respect to the costs, it was shown that side plating with half wrap plus poly bag (T_2) and terminal barbed wrapped in half plus poly bag (T_4) are the ones that presented the lowest cost. Finally, nurserymen are recommended to use these latest treatments.

Keywords: Performance, cocoa, techniques, graft anatomy, affinity, compatibility, *Theobroma cacao* L., nursery.

INTRODUCCIÓN

En el último Censo Agropecuario 2007-2008, se reportó que la producción nacional de cacao fue de 2.64 toneladas y una superficie de siembra de 446.5 ha, clasificado en el rubro de cultivos agroindustriales. Actualmente El Salvador es un país caracterizado por tener una gran dinámica en el sector de transformación secundaria de cacao (CATIE, 2013), sin embargo, la mayor parte del cacao que se reporta son del tipo genético trinitario, el cual es una hibridación natural de los cacaos criollos nativos conocidos como “Finos de Aroma” y de los tipos forasteros amazónicos (Constanza, 2014).

El Ministerio del Medio Ambiente y Recursos Naturales (MARN) en su estrategia nacional de biodiversidad ha considerado el cacao como un cultivo propicio para asociarlo con especies forestales y frutales como una forma de recuperar los ecosistemas, además de producir otros rubros para la alimentación de la familia rural y el comercio de productos excedentes (MARN, 2013).

En la actualidad se están realizando esfuerzos e invirtiendo recursos en el establecimiento de siembras nuevas de cacao, siendo la meta 10,000 ha (CRS, 2014), principalmente con plantas procedentes de semillas y la posterior injertación en campo con clones de alto rendimiento procedentes de la Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA) y del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) quienes han avanzado en sus investigaciones sobre el mejoramiento genético y propagación de clones de alta calidad, 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 (Dubón y Sánchez, 2011).

Para lograr esas metas de cultivo a corto plazo se requiere la estandarización de la reproducción de plantas, siendo el principal problema que enfrentan en la actualidad los productores, viveristas e interesados cultivar cacao en El Salvador. Ya que no conocen qué variedades propagar y que tipo de técnica de propagación utilizar. Además, no existen estudios locales que ratifiquen la existencia de una técnica de injerto adaptada al cacao; aunque los viveristas aplican técnicas que utilizan en plantas frutales

con muchos inconvenientes que aún no llegan al 100% de éxito en el prendimiento.

Expertos injertadores de la FHIA se han traído a El Salvador, quienes han instruido a los injertadores salvadoreños principalmente con el injerto del parche, el cual es de muy fácil aplicación y exitoso principalmente en Honduras donde llueve nueve meses al año lo que facilita el establecimiento de las plantas en cualquier época. No obstante, El Salvador cuenta con solo seis meses de lluvia, lo que obliga una planificación precisa para contar con portainjertos listos para injerto en los meses de septiembre, octubre y noviembre, y las plantas injertadas listas para siembra en el mes de abril del siguiente año. Por tal motivo, se considera más práctico efectuar los injertos más utilizados en frutales en nuestro país, tratando de incorporar modificaciones a los mismos para eficientizar el prendimiento del injerto en cacao, ya que actualmente se consideran los porcentajes de prendimiento no superan el 30% de éxito, tratando con las modificaciones propuestas alcanzar el 100% de éxito en el prendimiento.

El propósito de esta investigación fue la evaluación de dos técnicas de injerto y modificaciones de las mismas a fin de estandarizar la injertación del cultivo de cacao en vivero y proponer a los productores y viveristas alternativas confiables de propagación de cacao.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El experimento se desarrolló en el vivero de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, ubicado en las coordenadas: 13°43'06" latitud norte y 89°12'11" longitud oeste con una elevación de 694 msnm.

Trabajo de campo

Se desarrollaron los portainjertos aproximadamente en tres meses brindándoles el manejo adecuado que incluyó control manual de malezas, fertilizaciones una vez al mes utilizando 6 g de fórmula 15-15-15. una vez al mes, control manual de malezas, para el control de enfermedades se aplicó Benomil en dosis de 3 $g.gln^{-1}$ (gramos por galón de agua), para control de hongos. Cuando los portainjertos tenían un diámetro de 0.7cm, se procedió a realizar el injerto de enchapado lateral y púa terminal con sus modificaciones. Cabe destacar que las varetas fueron preparadas ocho días antes, esta actividad consistió en remover las hojas de las varetas en los árboles, las cuales se cortaban el propio día de la injertación (Figura 1).

Trabajo de laboratorio

Se realizaron cortes histológicos a los 120 días después del injerto (DDI), haciendo heridas transversales en la región donde se formó la unión entre portainjerto e injerto. Esta actividad se realizó en cada uno de los tipos de injerto. Los cortes se hicieron con un bisturí, obteniéndose una delgada porción de material que luego se colocó en un portaobjeto y se aplicó agua destilada con el propósito de observar el xilema, floema y la formación de la soldadura, la muestra fue observada en un estereoscopio.

Análisis de datos

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar con cuatro repeticiones y siete tratamientos. Cada unidad experimental se conformó por 10 unidades totalizando 280 plantas. Estos datos se analizaron con el programa SAS 9.1 (Statistical Analisis System) para Windows y con su respectiva prueba de Tukey para la comparación de medias; de igual forma se usó el coeficiente de correlación de Pearson con un nivel de confianza del 5%. El factor en estudio es la evaluación de dos técnicas de injerto y sus modificaciones se

describen a continuación:

T_1: Enchapado lateral envuelto a la mitad, sin bolsa, T_2: Enchapado lateral envuelto a la mitad, con bolsa, T_3: Enchapado lateral con envoltura como momia, T_4: Púa Terminal envuelto a la mitad más bolsa, T_5: Púa Terminal envuelto como momia, T_6: Púa terminal envuelto a la mitad más Parafilm® y T_7: Enchapado Lateral envuelto a la mitad más Parafilm®.

Las variables evaluadas en la investigación fueron: porcentaje de prendimiento, incremento de la altura de la planta, Incremento en el diámetro de tallo, Incremento en el número de hojas del injerto, número de brotes, área foliar, peso seco de la hoja, área foliar, peso específico de la hoja, relación beneficio-costo de las plantas.

Para este análisis, se aplicó la metodología de presupuestos parciales (Rodríguez, 1996), el cual se basa en el análisis parcial, el análisis de dominancia y de la tasa de retorno marginal.

Figura 1. Diferentes etapas en el procedimiento de injertación: **a)** preparación de varetas en árboles de cacao criollo ocho días antes de injertar. **b)** desinfección de varetas de cacao en Benomil. **c)** Varetas listas para injertar. **d)** Vareta insertada en portainjerto. **e)** colocando injerto de púa terminal. **f)** Injerto de púa terminal más bolsa de polietileno. **g)** Colocando injerto de enchapado lateral. **h)** Injerto de enchapado lateral más bolsa de polietileno. **i)** Injerto de amarrado tipo momia. **j)** Injerto de púa terminal con Parafilm®.

RESULTADOS Y DISCUSION

Variable: porcentaje de prendimiento del injerto

Se realizó una primera injertación la cual mostró diferencias significativas teniendo un mayor prendimiento el tratamiento púa terminal más bolsa (T_4) con un porcentaje de 42.5% considerado muy bajo (Figura 3). Por tal motivo se realizaron cortes histológicos, a fin de descartar fallas anatómicas del cambium de cacao tal como lo precisa Hartmann y Kester (1997), quien menciona que siempre hay que estudiar la anatomía del cambium para conocer anticipadamente si la especie que propagamos presenta fallas, y si están presentes poder cambiar de estrategias o métodos de propagación.

Se procedió a la actividad en mención encontrando que no existieron fallas ni anomalías en el cambium que afecten el prendimiento del injerto (Figura 2). Sin embargo durante el desarrollo del experimento se encontraron daños por hongos los cuales también se analizaron identificando la presencia de *Botriodiplodia* sp. (Figura 2-g) considerando su aparición debido a la época que se efectuaron los injertos se tuvieron altas precipitaciones diarias que generaron humedad relativa del 100%.

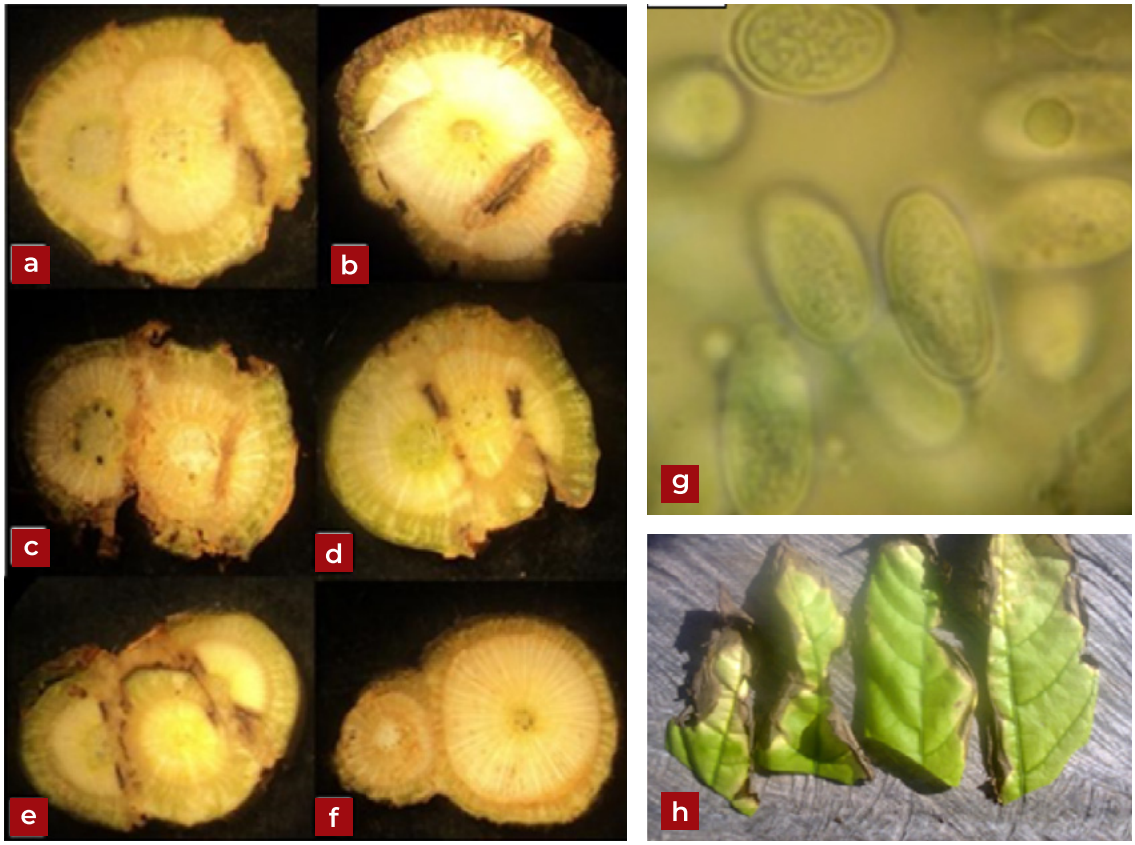


Figura 2. Cortes histológicos. **a)** Enchapado lateral con envoltura a la mitad, con bolsa; **b)** Enchapado lateral con envoltura como momia; **c)** Púa terminal con envoltura a la mitad más bolsa; **d)** Púa terminal envuelto como momia; **e)** Púa terminal con envoltura a la mitad más Parafilm®; **f)** Enchapado lateral envuelto a la mitad más Parafilm®; **g)** Identificación de hongo *Botriodiplodia* sp.; **h)** Daño ocasionado por *Botriodiplodia* sp. en plantas de cacao.

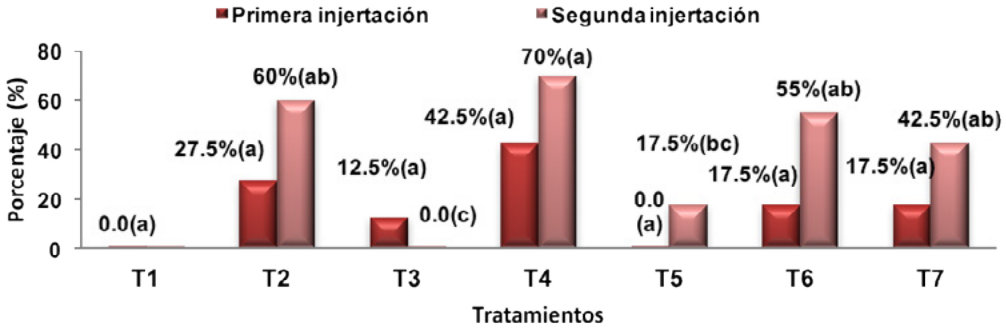


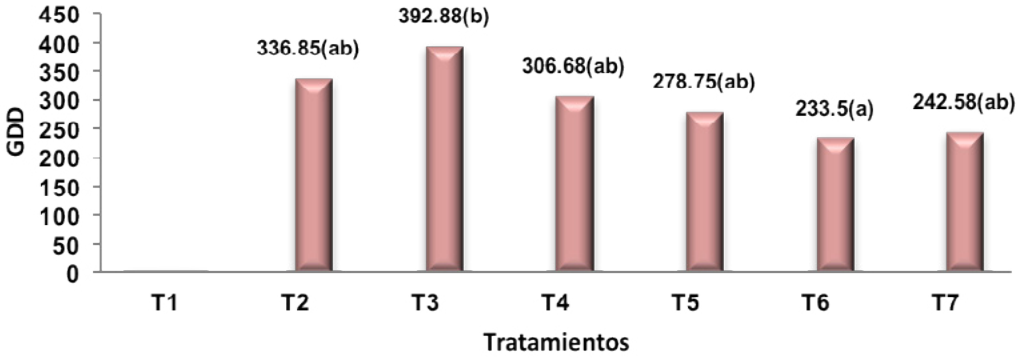
Figura 3. Evaluación de dos tipos de injerto y modificaciones en cacao (*Theobroma cacao* L.) y su efecto en la variable porcentaje de prendimiento

Otra posible explicación del éxito bajo del prendimiento del injerto es la alta tasa oxidativa de los tejidos tanto de los portainjertos como de las varetas de cacao, siendo más evidente en estas últimas, lo que provoca los bajos porcentajes de éxito y que muchas veces se puede creer que hay incompatibilidad entre clones de cacao, aunque si es probable que la tasa de oxidación sea diferente entre clones, principalmente los cacaos criollos de aroma fino. Vidal-Hernández (2002), reporta problemas de incompatibilidad en anonáceas, atribuidas a la presencia de catequinas en la unión del injerto asegurando ser la causa de la de la falta de éxito de los injertos en anonas. Las catequinas son un antioxidante polifenólico que procede de las plantas en las cuales aparece como un metabolito secundario, Mila y Scalbert citado por Vidal-Hernández (2002), indican que la corteza de los árboles es rica en extractos de polifenoles que contribuyen a la protección contra depredadores y patógenos, por otra parte, en muchas especies el principal polifenol encontrado en la corteza son las proantocianidinas como el ácido clorogénico. "Entre esos síntomas el floema está fuertemente afectado ya que contiene considerables cantidades de polifenoles que están fácilmente sujetos a la oxidación. Los flavonoides y ácidos clorogénicos, son compuestos fenólicos que se ubican mayormente en vacuola o pared celular pero también en cloroplastos" (Vidal-Hernández 2002, p. 37). Ellos ejercen un papel fisiológico por lo que están involucrados en la modificación del crecimiento de los árboles (Stonier et al. citado por Vidal-Hernández 2002).

En la segunda injertación se previno la presencia de hongos, utilizando Benomil para el tratamiento de las varetas, por tal razón, se alcanzaron mayores valores en el éxito del prendimiento de los injertos, encontrando diferencias altamente significativas en la variables porcentaje de prendimiento, siendo, el injerto enchapado lateral con envoltura a la mitad más bolsa de polietileno 60% (T_2), púa terminal más bolsa 70% (T_4) y púa terminal con envoltura a la mitad más Parafilm® 55% (T_6) los que mostraron mayor porcentaje de éxito como se observa en la figura 3. El éxito en el prendimiento en esta injertación fue mayor que en la primera. También se observa en la figura 3 que el tratamiento testigo correspondiente a los injertos amarrados a la mitad y sin envoltura (T_1), no presentó éxito en el prendimiento del injerto en los dos procesos de injertación, quedándonos claro la importancia de la protección de la vareta, ya que la modificación hecha de los tratamientos, les crea un ambiente adecuado alrededor de la unión del injerto para que conserve una elevada humedad, ya que, el nuevo tejido de callo que se originó en la región cambial, está formado por células de pared delgada y turgentes que con facilidad pueden secarse y morir (Hartman y Kester 1997). Hartmann y Kester (1997) también indican que las células de pared delgada, en condiciones de humedad y temperatura relativa elevadas proporcionan un medio favorable para el desarrollo de hongos y bacterias, que son bastante perjudiciales para la formación exitosa de la unión. La unión se forma por completo mediante células que se desarrollan después de que se ha efectuado la operación del injerto, además debe resaltarse que la unión del injerto se logra por medio de contenido celulares, conservando cada una de ellas (patrón y vareta) su propia identidad genética (Hartmann y Kester, 1997). "La producción de células en la región cambial de ambas partes produce nuevas células de parénquima, formando tejido de callo. Algunas células de parénquima se diferencian a células cambiales que después producen xilema secundario y floema secundario" (Ortega, 2011), consolidando la unión de dos partes vegetales en una sola planta.

Grados días desarrollo (GDD)

La variable GDD presentó diferencias significativas, reflejada en la prueba de Tukey en la segunda injertación (Figura 4), siendo el tratamiento púa terminal con envoltura a la mitad más Parafilm® (T_6), fue el tratamiento que necesito menos unidades calor para que el injerto brotara. Avilán citado por Romero y Moreno (2012), mencionan que los (GDD) son el método más aceptable para predecir el crecimiento y desarrollo vegetativo de las plantas, logrando de ésta manera determinar el período de tiempo y las condiciones climáticas necesarias para el desarrollo de un evento fenológico específico. Entendiendo esta situación como el tratamiento cuyo injerto necesitó entre 200-250 GDD la acumulación de calor para la brotación en 20-30 días. Pero en términos generales podemos afirmar que para cacao el intervalo de unidades calor necesarios para brotación de los injertos es entre 233-395 GDD.



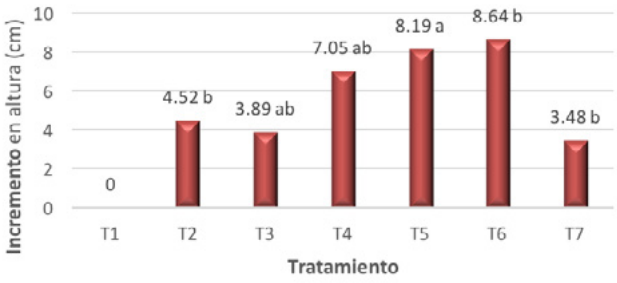
*Barras con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia

Figura 4. Determinación de los grados días de desarrollo (GDD) requeridos para la brotación de las plantas evaluando dos tipos de injerto en cacao (*Theobroma cacao* L).

Variables de crecimiento: Incremento de altura del injerto, Incremento en el diámetro, número de brotes, Incremento del número de hojas

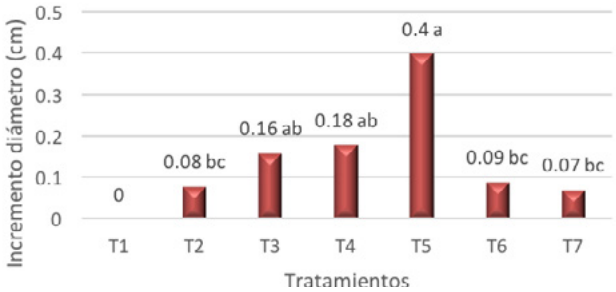
Al analizar estas variables, se puede observar, en las figuras 5, 6, 7 y 8 que hubieron diferencias estadísticas significativas y altamente significativas en los diferentes tratamientos, encontrando al injerto tipo púa terminal más Parafilm® (T_6) con los valores más altos en la ganancia o incremento de altura, número de hojas y número de brotes, con respecto a la variable de diámetro del tallo el tratamiento con púa terminal con amarre de momia (T_5) (Figura 6), presentó una ganancia de 0.4 cm. En términos generales al revisar la figura 3 los mayores valores en el éxito del prendimiento del injerto fueron con los tratamientos donde la vareta tuvo protección, con bolsa, amarre de momia y Parafilm®, al respecto Parada-Berríos *et al.* (2016) al evaluar los mismos tratamientos en ojushte (*Brossimun alicastrum*), especie con fallas anatómicas en el cambium reporta al Parafilm® y la bolsa plástica como los mejores tratamientos al generar un ambiente de alta humedad relativa en la vareta injertada creando un ambiente adecuado alrededor de la unión del injerto, para que conserve una elevada humedad, porque el nuevo tejido de callo originado en la región cambial está

formado por células de pared delgada y turgentes que con facilidad pueden secarse y morir (Hartman y Kester, 1997). Por otra parte el Parafilm® hecho con parafinas es utilizado en laboratorios químicos y biológicos para cerrar recipientes, usándose además para amarrar los injertos en soldaditos de café y la protección de vástagos en la jardinería, entre otros, y presenta las características de ser transparente, autoadherible, impermeable, flexible y resistente. La parafina es uno de los productos que se obtienen del refino del petróleo por sus propiedades aislantes, también se emplea para recubrir el papel con el que se envuelven los comestibles, asimismo, se utiliza para prolongar la vida útil de los alimentos perecederos como las frutas y hortalizas. Además, la parafina actúa como una sustancia bactericida, reduciendo o evitando el uso de fungicidas químicos (REPSOL, 2000). El coeficiente de correlación de Pearson demostró que existe una alta correlación positiva entre el número de hojas y el número de brotes (r= 0.87), entre el número de hojas y la altura de planta (r= 0.85), siendo evidente que por cada brote se genera un número determinado de hojas por lo que a mayor número de brotes mayor número de hojas y la influencia directa de la cantidad de hojas en la altura de planta.



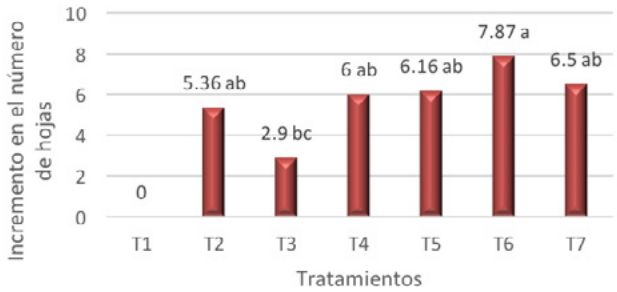
*Barras con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia

Figura 5. Efecto de dos tipos de injerto y modificaciones y su incidencia en la altura de la planta de cacao (*Theobroma cacao* L).



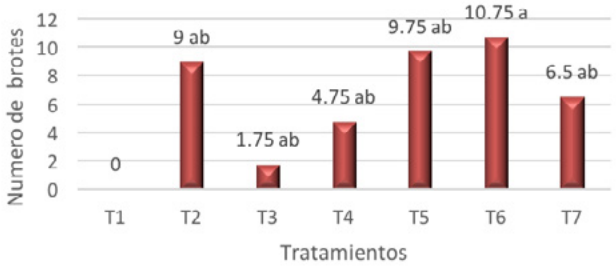
*Barras con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia

Figura 6. Efecto de dos tipos de injerto y modificaciones y su incidencia en el diámetro del injerto de la planta de cacao criollo (*Theobroma cacao* L).



*Barras con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia

Figura 7. Efecto de dos tipos de injerto y modificaciones y su incidencia en el incremento del número de hojas de la planta de cacao criollo (*Theobroma cacao* L).



*Barras con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia

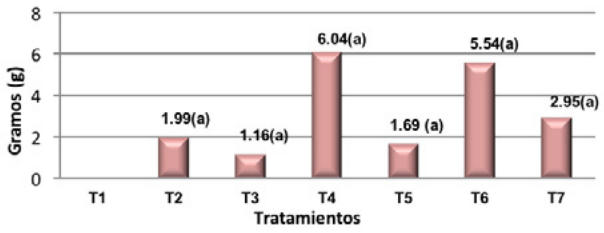
Figura 8. Efecto de dos tipos de injerto y modificaciones y su incidencia en el número de brotes en plantas de cacao criollo (*Theobroma cacao* L).

Variables fisiológicas: peso seco, área foliar y peso específico de hojas

Ninguna de estas variables presento diferencias estadísticas significativas, sin embargo en la figura 9, se observaron que los tratamientos: púa terminal con envoltura a la mitad más bolsas de polietileno (T_4) y púa terminal con envoltura a la mitad con Parafilm® (T_6) presentaron el mayor peso seco de hojas, en la figura 10, el tratamiento enchapado lateral con envoltura a la mitad más bolsa de polietileno(T2), púa terminal con envoltura a la mitad más bolsas de polietileno (T_4) y púa terminal con envoltura a la mitad con Parafilm® (T_6) presentaron los mayores valores de área foliar y en la figura 11, los tratamientos púa terminal con envoltura a la mitad más bolsas de polietileno (T_4) y púa terminal con envoltura como momia (T_5), mostraron superioridad al resto de tratamientos en peso específico de hojas (PEH). Azcón y Talón (2003) mencionan que la emergencia de hojas y su tamaño se asocia a un aumento en la producción de etileno, probablemente hay acumulación de esta hormona dentro de la bolsa y el Parafilm® como efecto de la liberación del mismo por las heridas y el proceso de cicatrización. Asimismo, en el tratamiento amarrado tipo momia no hay tanta acumulación de etileno, debido a los espacios sin cubrir, que muchas veces quedan durante el amarrado y por su escape en el traslape de la cinta durante el amarre (Parada-Berríos *et al.* 2016). Por otra parte, el coeficiente de correlación de Pearson muestra una correlación de r= 81 con el número de hojas y de r= 0.94 con el porcentaje de prendimiento, demostrando que la producción de fotosintatos, el cual siempre será mayor según el número de hojas influye directamente en el éxito del prendimiento del injerto, es importante mencionar también que la preparación de las varetas ocho días antes de la injertación favorece la acumulación de carbohidratos, porque, una vareta desfoliada incrementa inmediatamente el contenido de sucrosa en el floema de la vareta, lo cual incrementa la presión osmótica causando el movimiento de solutos hacia el ápice de la misma, aumentando la actividad meristemática que ayuda a la formación del callo, debido a la estimulación de la división cambial, lo que favorece el éxito del injerto (Parada-Berríos *et al.* 2016). Es importante analizar además que el tratamiento púa terminal con envoltura a la mitad más bolsa de polietileno (T_4), es el tratamiento que sobresale en la mayoría de variables, siendo la variable peso específico de hoja (PEH) y el porcentaje de prendimiento del injerto de mayor relevancia, ya que, presento 4.7 mg de materia seca acumulada por cm2 de hojas y 70% de éxito respectivamente, lo que implica una mayor eficiencia fotosintética de las hojas que generó ese efecto en el éxito del injerto demostrado además por el coeficiente de correlación de Pearson entre ambas variables (r=0.94). Garcidueñas citado por Puente Alarcón (2009) menciona además que el área foliar es el factor que determina la diferencia en el rendimiento y la asimilación neta de nutrientes. El peso específico de la hoja determina la cantidad relativa de tejido fotosintético tomando como base el peso de materia seca por unidad de área foliar, además de la ganancia de materia seca de la fotosíntesis el cual es afectado por la intensidad y duración de la luz, puede ser utilizada como una forma sencilla de medir fotosíntesis en plantas leñosas Marini y Sowers, citado por Miramontes *et al.* (2011).

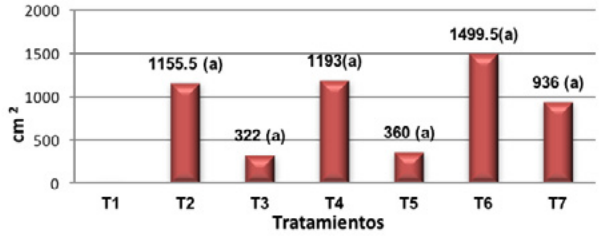
Análisis económico del ensayo

Para la elaboración del análisis se utilizó la metodología de presupuesto parcial. Indicando que T_4 y T_6 presentaron mayores beneficios netos. Esto debido a que la técnica utilizada en estos tratamientos se obtuvo mayor porcentaje de prendimiento y menores costos (Rodríguez, 1996).



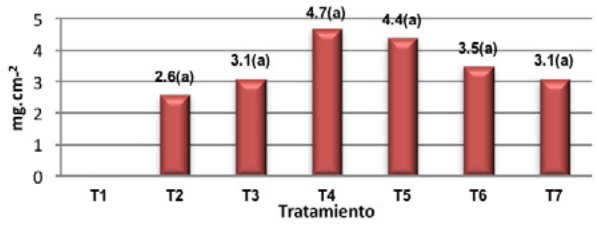
*Barras con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia

Figura 9. Efecto de dos tipos de injerto y modificaciones y su incidencia en el peso seco de hojas de la planta de cacao criollo (*Theobroma cacao* L).



*Barras con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia

Figura 10. Efecto de dos tipos de injerto y modificaciones y su incidencia en el área foliar de las plantas de cacao criollo (*Theobroma cacao* L).



*Barras con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia

Figura 11. Efecto de dos tipos de injerto y modificaciones y su incidencia en el peso específico de las hojas (PEH) en plantas de cacao criollo (*Theobroma cacao* L).

Cuando observamos la tabla de dominancia todos los tratamientos poseen diferentes costos variables (CV) siendo el injerto enchapado lateral con envoltura a la mitad más bolsa de polietileno (T_2) y Púa terminal con envoltura a la mitad más bolsa (T_4) los que presentaron menores costos; ya que en los otros tratamientos generan ingresos, pero tienen perdidas por el menor porcentaje de prendimiento por lo tanto los costos variables son más elevados.

Análisis marginal

Se tomó uno de los tratamientos con beneficio netos dominantes (T_4)

$$TRM = \frac{BN}{CV} \cdot 100$$

TRM indica que por cada dólar invertido se puede recuperar el valor un dólar más la tasa de retorno marginal obtenida (Tabla 1).

Tabla 1. Análisis económico.

Tratamiento	Costo Variable (CV)	BN	Tasa de retorno marginal (TRM)
T_1	$0.65	$ 0.82	1.25
T_2	$0.67	$ 0.82	1.27
T_3	$ 0.66	$ 0.84	1.24
T_4	$0.69	$ 0.86	1.30
T_5	$0.67	$ 0.83	1.24
T_6	$0.68	$ 0.85	1.25
T_7	$0.68	$ 0.85	1.25

CONCLUSIONES

La variable prendimiento del injerto en enchapado lateral con envoltura a la mitad más bolsa, púa terminal con envoltura a la mitad más bolsa y con envoltura a la mitad más Parafilm® presentaron diferencias significativas en comparación a los demás tratamientos en estudio.

El tratamiento de amarre a la mitad sin proteger toda la vareta (testigo), no presentó ninguna planta con éxito en el prendimiento del injerto.

El coeficiente de correlación de Pearson entre las variables peso específico de hojas (PEH) y el porcentaje de prendimiento del injerto fue

de r= 0.94 demostrando la influencia de las reservas de los productos de la fotosíntesis presentes en las varetas y su determinación en el éxito del injerto.

Con relación a los cortes histológicos se determinó que la planta de cacao no tiene fallas anatómicas en el cambium que limite el éxito en el prendimiento del injerto, además se puede estimar que se requieren en cacao de 233-395 GDD para completar la brotacion.

Los tratamientos que permiten mayores beneficios económicos son enchapado lateral y púa terminal con envoltura a la mitad más bolsa (T_2 y T_4), generando más plantas injertadas de cacao criollo a menor costo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado con el apoyo financiero del proyecto de Educación Superior para el Crecimiento Económico, según acuerdo de cooperación número 0214405-G2018-003-00 entre el proyecto USAID y la Universidad de El Salvador, Centro América.

BIBLIOGRAFÍA

Azcón, J; Talón, M. 2003. Fundamentos de Fisiología Vegetal. Madrid. ES. Mc Graw Hill. 522 p.

CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, El Salvador). 2013. Informe Nacional: Uso actual y Oferta de tecnologías sostenibles en la cadena de valor del cacao para mejorar la Seguridad Alimentaria en El Salvador. Unidad de desarrollo de Agronegocios. 40 p.

Constanza, JA. 2014. Inventario de Productores y Material genético criollo de cacao en El Salvador. CRS. 108 p.

CRS (CATHOLIC RELIEF SERVICES, El Salvador). 2014. Iniciativa nacional de cacao. CRS, SV. 25 p.

Dubón, A; Sánchez, J. 2011. Manual de Producción de Cacao. 1 ed. La Lima, Cortés: FHIA. 208 p.

Hartmann, H; Kester, D. 1997.Propagación de plantas principios y práctica. Sexta edición. Compañía editorial continental S.A de C.V México. p 760.

MARN (Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales, El Salvador). 2013. Estrategia Nacional de Biodiversidad. Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales. El Salvador. 24 p.

Miramontes, AL; Villega M A; Ruiz, LM; Gonzales H, VA; Mora. A. 2011. Crecimiento foliar y desarrollo de brotes en selecciones injertadas de zapote mamey. Revista Mexicana Ciencias Agrícolas. 2(6):911

Ortega, EZ. 2011. Anatomía de los órganos vegetativos: crecimiento segundario. Argentina, UNT. p 13.

Parada-Berríos, FA; Barrera-Santos, DA; Quintanilla,JR. 2016. Propagación vegetativa de ojushte (*Brosimum alicastrum* Swartz) utilizando modificaciones de dos técnicas de injerto y su incidencia en el éxito del prendimiento. Informes Técnicos: Rescate y desarrollo de germoplasma de ojushte con alto potencial genético de rendimiento, nutricional y comercial. Universidad de El Salvador. Financiado por PRESANCA II/ CSUCA. 126 p.

Puente Alarcón, JE. 2009. Efecto del injerto intermedio en la producción de plantas enanizadas de marañón (*Anacardium occidentale* L); fase de vivero. Tesis. Ing. Agr. San Salvador, SV. Universidad de El Salvador. p 57

REPSOL. 2000. (En línea). Envase activo para prolongar la vida de los alimentos. ES. Universidad de Zaragoza. Consultado 8 ene.2019. Disponible en https://www.repsol.com/es/sala-prensa/repsol-news/envase-

activo/index.cshtml

Rodríguez, R. 1996. Metodología de extensión agrícola comunitaria para el desarrollo sostenible. SV, IICA. p 121-140.

Romero Castellano, XG; Moreno Peraza; JA. 2012. Evaluación de chute (*Persea Shiedeana*) como portainjerto para la producción comercial de plantas de aguacate (*Persea americana mil*) en fase de vivero. Tesis. Ing. Agr. Universidad de El Salvador. San Salvador, SV. p 44-45.

Vidal Hernández, L. 2002. Aislamiento y cuantificación de Catequinas involucradas con la incompatibilidad en injertos de Guanábano (*Annona muricata* L.). Tesis para obtener el grado de Doctorado en Ciencias. Área: Biotecnología. 146 p

Revista
MINERVA
Plataforma digital de la revista: https://minerva.sic.ues.edu.sv

Nutrición de portainjertos de cacao (*Theobroma cacao* L.) utilizando diferentes dosis de fórmula 15-15-15 y su influencia en el prendimiento de cuatro tipos de injerto

Nutrition of cocoa rootstocks (*Theobroma Cacao* L.) using different doses of formula 15-15-15 and its influence on the grafting of four types of graft

Marvin Alfredo Meza-Calderón[1], Xiomara Milagro Moya-Menjívar[1], Fidel Angel Parada-Berríos[1], Elías Antonio Vásquez-Osegueda[1]

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la influencia de la nutrición del cacao con diferentes dosis de fórmula 15-15-15, en el desarrollo de portainjertos de cacao y el éxito en el prendimiento del injerto se ejecutó una investigación en el vivero de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador. La investigación se realizó en dos etapas, en la primera etapa se definieron cinco dosis de la fórmula 15-15-15: 5 g, 10 g, 15 g, 20 g, 30 g y un testigo al cual no se aplicó ningún fertilizante. El análisis estadístico se realizó utilizando un diseño completamente al azar con tres repeticiones y 40 plantas como unidad experimental totalizando 600 plantas. En la segunda etapa se realizó un arreglo factorial, donde se combinaron las dosis de NPK y el tipo de injerto (enchapado lateral, cuña terminal, yema y parche), generando 20 tratamientos (cuatro tratamientos por dosis), en un diseño completamente al azar con tres repeticiones y 10 plantas por unidad experimental, además para conocer la influencia entre las variables se utilizó la correlación de Pearson. Las variables evaluadas fueron: altura, diámetro, número de hojas, área foliar, peso específico de hoja (PEH), contenido de clorofila, peso fresco y seco de hoja, tallo y raíz de los portainjertos en la primera etapa. Además, se evaluaron las variables éxito del prendimiento del injerto, grados días de desarrollo (GDD), altura, diámetro y número de hojas del injerto en la segunda etapa. Como resultados, solo hubo diferencias estadísticas significativas en el diámetro de planta, área foliar y PEH, demostrando que las diferentes dosis de la fórmula mejoraron el desarrollo de los portainjertos con respecto al testigo. En la segunda etapa a nivel global del experimento se obtuvo un 72% de prendimiento del injerto, siendo el éxito segregado por tipo de injerto: de yema 19.83%, cuña terminal 18.33%, parche 17.33 y enchapado lateral 16.51%. Por otra parte, se reporta el hallazgo de requerimientos de GDD para los injertos de enchapado lateral y cuña terminal con un intervalo de 245-398 GDD (20-30 días), para la brotación y los injertos donde se usa yema se requiere 403-522 GDD (más de dos meses). Se concluye que el efecto del fertilizante fue más categórico en la fase de injerto, encontrando diferencias altamente significativas en las variables de crecimiento y una estrecha asociación de éstas con las variables fisiológicas de la etapa de portainjerto demostrado por la alta correlación positiva encontrada entre ellas e influenciadas todas con

1 Departamento de Fitotecnia, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.

Este es un artículo bajo la licencia CC BY NC (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

las dosis de la fórmula 15-15-15; considerando que la asimilación y acumulación de reservas por los portainjertos y su translocación a los injertos y sus variables de crecimiento fue efectiva.

Palabras Clave: Injerto de parche, injerto de yema, grados días de desarrollo, fertilizante, nutrición de plantas.

ABSTRACT

With the aim of evaluating the influence of cocoa nutrition with different doses of formula 15-15-15, in the development of cocoa rootstocks and the success in graft grafting. An investigation was carried out in the nursery of the Faculty of Agronomic Sciences of the University of El Salvador. The research was carried out in two stages, in the first stage five doses of the formula 15-15-15 were defined: 5 g, 10 g, 15 g, 20 g, 30 g and a control to which no fertilizer was applied. Statistical analysis was performed using a completely randomized design with three replications and 40 plants as an experimental unit totaling 600 plants. In the second stage a factorial arrangement was made, where the doses of NPK and the type of graft (lateral plating, terminal wedge, yolk and patch) were combined, generating 20 treatments (four treatments per dose), in a completely randomized design with three repetitions and 10 plants per experimental unit, in addition to knowing the influence between the variables Pearson's correlation was used. The variables evaluated were: height, diameter, number of leaves, leaf area, specific leaf weight (PEH), chlorophyll content, fresh and dry leaf weight, stem and root of rootstocks in the first stage. In addition, the variables graft success were evaluated, days of development (GDD), height, diameter and number of graft sheets in the second stage. As a result, there were only significant statistical differences in plant diameter, leaf area and PEH, demonstrating that the different doses of the formula improved the development of the rootstocks with respect to the control. In the second global stage of the experiment, a 72% graft yield was obtained, the success being segregated by graft type: yolk 19.83%, terminal wedge 18.33%, patch 17.33 and lateral plating 16.51%. On the other hand, the finding of GDD requirements for lateral plating and terminal wedge grafts with an interval of 245-398 GDD (20-30 days) is reported, for sprouting and grafts where yolk is used, 403-522 is required. GDD (more than two months). It is concluded that the effect of the fertilizer was more categorical in the grafting phase, finding highly significant differences in the growth variables and a close association of these with the physiological variables of the rootstock stage demonstrated by the high positive correlation found between them and all influenced with the doses of the formula 15-15-15; considering that the assimilation and accumulation of reserves by the rootstocks and their translocation to the grafts and their growth variables was effective.

Keywords: Patch graft, yolk graft, development days degrees, fertilizer, plant nutrition.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de cacao es considerado desde el punto de vista de su estructuración y funcionamiento como un agrosistema, el cual es integrado por diferentes elementos entre ello las plantas de cacao, árboles que sirven de sombra, arbustos y hierbas y una cantidad de especies animales entre ellos aves, reptiles, insectos y una inmensa riqueza de microflora y microfauna, los cuales funcionan en forma equilibrada proporcionando características de sostenibilidad al sistema generando beneficios ambientales lo que lo hace al cacao importante ante la variabilidad climática (Somarriba *et al.* 2008).

Cultivado a escala nacional el cacao tiene el potencial de aumentar la biodiversidad del país, restaurar ecosistemas degradados, mejorar la calidad de los recursos de suelo y agua, y fomentar el potencial de adaptación de cara a los fenómenos meteorológicos extremos actuales y futuros. Los sistemas agroforestales (SAF), con cacao presentan la oportunidad a

los agricultores aumentar las oportunidades de ingresos y de empleo a fin de mejorar la seguridad económica (Alianza Cacao 2016).

Programas como Alianza Cacao dirigida por un consorcio de ONG promueven variedades Trinitarias, provenientes de CATIE, FHIA e INIFAP, las cuales se propagan de manera clonal por injerto, a fin de garantizar su calidad genética (Alianza Cacao 2016). Por otra parte, la academia liderada por la Universidad de El Salvador a través del departamento de Fitotecnia ha comenzado un proceso de colecta de cacao criollo de aroma fino para establecer colecciones de campo o bancos de germoplasma con el objetivo de multiplicarlos y ponerlos a disposición de productores que lo demanden. En tal sentido y considerando que la propagación sexual genera una segregación genética por ser una especie alógama, se está tratando de generar tecnologías de propagación a través del injerto, considerando la falta de experiencia para la propagación de cacao, utilizando las técnicas de injerto más usadas en frutales como el injerto por enchape lateral y cuña terminal, asimismo, evaluar otros tipos de injerto que practican en instituciones como la Fundación Hondureña de Investigación Agrícola de Honduras (FHIA), para determinar la viabilidad de los mismos en nuestro país. Dubón y Sánchez (2011) recomiendan el injerto de parche o de lengüeta, en éste se injerta una sola yema adherida a una sección de corteza, el cual, indican poseer notables ventajas sobre otros métodos, como la rapidez de ejecución y la obtención de un mayor número de yemas por vareta, reduciendo costos en mano de obra y material de propagación por planta, no obstante, no hay experticia en su práctica por los injertadores y técnicos.

Por otra parte en El Salvador no se han desarrollado estudios sobre nutrición de cacao y sobre las dosis óptimas para el desarrollo del portainjerto y su influencia sobre el prendimiento del injerto, por tal motivo, se consideró de importancia el desarrollo de investigaciones a fin de conocer los requerimiento de NPK idóneos y su influencia en el éxito del prendimiento en diferentes tipos de injerto, con la finalidad de generar recomendaciones confiables hacia viveristas y productores de cacao.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

La investigación se realizó en el vivero de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, ubicada geográficamente, a 13°43'11'' latitud norte y 89°12'13'' longitud oeste y una elevación de 703 msnm. En el período de mayo de 2017 a mayo de 2018.

La temperatura promedio anual de la zona es superior a los 24°C, registrándose la más alta entre los meses de marzo y abril mayores a 33°C y las mínimas de 19°C entre los meses de noviembre a enero. Humedad relativa media del aire de 72% y precipitaciones acumuladas de 1797.6 mm al año (MARN 2013).

Trabajo de campo

La fase de campo se desarrolló en un periodo de 12 meses, la cual se dividió en dos etapas: La primera consistió en el desarrollo de los portainjertos de cacao donde se aplicaron las diferentes dosis de la fórmula 15-15-15 y la segunda fase se realizó la injertación de los portainjertos, en ambas etapas se tomaron datos de las variables de crecimiento.

Montaje del experimento en fase 1 desarrollo de portainjerto

Material vegetal utilizado: la siembra de las semillas de cacao se hicieron directamente en bolsas de 8 x 14" x 300 geish por lado, los frutos se compraron en la finca de Don Jaime Arévalo en el cantón Cangrejera, Izalco, Sonsonate,

comprando un total de 25 mazorcas a US$ 0.50 cada una con un promedio de 35 semillas por fruto, las bolsas se llenaron previamente con un sustrato compuesto por tierra negra y estiércol de ganado en proporción 1:1, se llenaron 600 bolsas en total. Las semillas se sembraron directamente en el centro de las bolsas, la germinación completa tardó aproximadamente 17-30 días.

Aplicación de tratamientos y toma de datos: los tratamientos con el fertilizante fórmula 15-15-15, se prepararon en bolsitas de 1 libra haciendo las pesas en una báscula semi analítica, preparando las dosis únicas y las que se fraccionaron para hacer varias aplicaciones, por contener mayor cantidad de fertilizante. La aplicación y la toma de datos se realizó cada 22, para observar la asimilación del fertilizante por las plantas. Se realizaron un total de 6 aplicaciones en un tiempo de 4 meses y medio. El suministro del fertilizante en cada planta se fraccionó en dosis de 5 g por aplicación, generando en la aplicación de la dosis mayor 30 g seis aplicaciones en total. También se realizaron control de malezas manualmente y riegos cada 2 días. El control de plagas y enfermedades se realizaba con aplicaciones de detergente diluido para eliminar los pulgones. Las plantas de cacao se desarrollaron hasta alcanzar el diámetro y altura optimas de injerto (Tabla 1). El total de plantas por cada dosis de fertilizante fue de 40 considerándose éstas, las unidades experimentales en la primera fase.

Montaje del experimento en fase 2 injertación

Selección y preparación de las varetas: Las varetas de cacao criollo se colectaron del banco de germoplasma que posee la Facultad de Ciencias Agronómicas, en el campus universitario, seleccionando y preparando 8 días antes de injertar las ramas terminales.

Proceso de injertación: La injertación se realizó en el mes de octubre, para lo cual fue necesario definir los tipos de injerto a utilizar con las diferentes dosis a fin de poder conocer si hay alguna influencia de la fertilización con el éxito en el prendimiento del injerto. Los diferentes tratamientos se distribuyeron como se muestra en la tabla 2.

Tabla 1. Distribución de tratamientos con diferentes dosis de NPK en fase desarrollo de portainjerto

Tratamientos	Dosis de fórmula 15-15-15
T_1	5 gramos
T_2	10 gramos
T_3	15 gramos
T_4	20 gramos
T_5	30 gramos
Testigo	Sin fertilizante

Diseño experimental

El diseño estadístico utilizado fue bloques completamente al azar con seis tratamientos y tres bloques, cada unidad experimental estuvo conformada por 40 plantas por cada dosis de fórmula 15-15-15. Posteriormente en la fase de injerto cada tratamiento fue conformado por la asociación de cada dosis de fertilizante con 4 tipos diferentes de injerto generando un total de 20 tratamientos totalizando 600 plantas distribuidos en tres bloques. Cada unidad experimental conformada por 10 plantas con un diseño experimental factorial con arreglo de bloques al azar (Tabla 2).

Análisis de datos

Para cada una de las variables se realizó el análisis de varianza en cada muestreo de manera individual. Estos análisis se realizaron con el programa para análisis estadístico *InfoStat*, para Windows y con su respectiva prueba de *Tukey* para comparación de medias, así como la determinación de la correlación entre variables calculando el coeficiente de correlación de *Pearson*.

Tabla 2. Distribución de tratamientos con diferentes dosis de NPK y los diferentes tipos de injerto.

Tratamiento	Dosis de fórmula 15-15-15	Tipo de injerto
T_1	5 gramos	Enchapado lateral
T_2	5 gramos	Yema
T_3	5 gramos	Parche
T_4	5 gramos	Cuña terminal
T_5	10 gramos	Enchapado lateral
T_6	10 gramos	Yema
T_7	10 gramos	Parche
T_8	10 gramos	Cuña terminal
T_9	15 gramos	Enchapado lateral
T_{10}	15 gramos	Yema
T_{11}	15 gramos	Parche
T_{12}	15 gramos	Cuña terminal
T_{13}	20 gramos	Enchapado lateral
T_{14}	20 gramos	Yema
T_{15}	20 gramos	Parche
T_{16}	20 gramos	Cuña terminal
T_{17}	30 gramos	Enchapado lateral
T_{18}	30 gramos	Yema
T_{19}	30 gramos	Parche
T_{20}	30 gramos	Cuña terminal

Variables evaluadas

Las variables que se analizaron estudiaron en la investigación fueron: a) incremento en altura de la planta (portainjerto e injerto) b) incremento de diámetro de tallo (portainjerto e injerto) c) incremento en el número de hojas (portainjerto e injerto) f) área foliar, g) peso fresco y seco de hoja, h) peso específico de hoja, i) peso fresco y seco de tallo, j) peso fresco y seco de raíz, k) porcentaje de prendimiento, l) contenido de clorofila medido con el SPAD 502 Minolta y m) grados día de desarrollo (GDD). Los valores utilizados para la obtención de los grados días de desarrollo están relacionados con el promedio de las temperaturas medias diarias desde el momento del injerto hasta el momento del éxito del mismo según la Ecuación 1.

$$GDD=\sum (T_i-T_b) \qquad (1.)$$

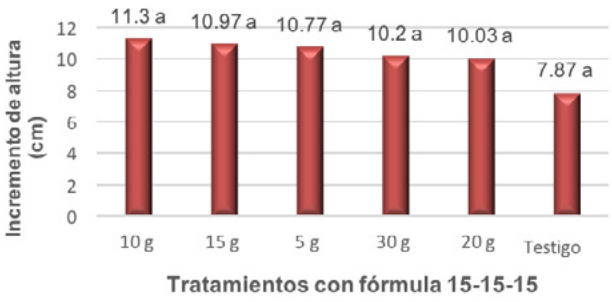
Donde GDD es la constante térmica en grados días de desarrollo, T_i la temperatura promedio y T_b la temperatura base del cultivo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variables de crecimiento en el portainjerto: altura de planta, diámetro de tallo y número de hojas

Tanto la altura, el diámetro y las hojas de las plantas representan variables que su desarrollo pueden ser influenciadas por factores externos, como la adición de fertilizantes. Éstos favorecen el buen desempeño de las mismas, se aplicaron diferentes dosis de fórmula 15-15-15, pero no hubo diferencias estadísticas significativas en la altura de plantas de los portainjertos de cacao (Figura 1), sin embargo al analizar las medias, los tratamientos de 10 y 15 g del triple 15, reflejaron la mayor ganancia de altura con valores de 10 cm y 15 cm, respectivamente, mientras que el tratamiento testigo solo incremento 7.87 cm de altura durante los cuatro meses y medio previos al injerto (Figura 2). El pobre desempeño del testigo se pudo explicar con los valores reportados para nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K), del análisis químico del sustrato 0.40%, 0.15% y 0.11%, respectivamente y que según la clasificación que utiliza Calderón Alcaraz (1998) para cultivos frutales, resultan ser sustratos muy pobres, pobres y muy pobres para los tres elementos respectivamente. Para esta variable ganancia de altura o altura absoluta de plantas se presentó una alta correlación positiva de r= 0.66 con las dosis de

Figura 1. Etapas en el desarrollo de portainjertos de cacao: **a)** bolsitas con las dosis de fertilizante (5, 10, 15, 20 y 30 gramos de fórmula 15-15-15). **b y c)** aplicación del fertilizante cada 22 días. **d, e, f, g, h)** portainjertos de cacao en desarrollo. **i)** injerto por enchape lateral. **j y k)** siembra de estacas en los propagadores. **j, k, l)** injerto de yema y parche **m)** injerto de cuña terminal. **n y o)** injerto de parche.



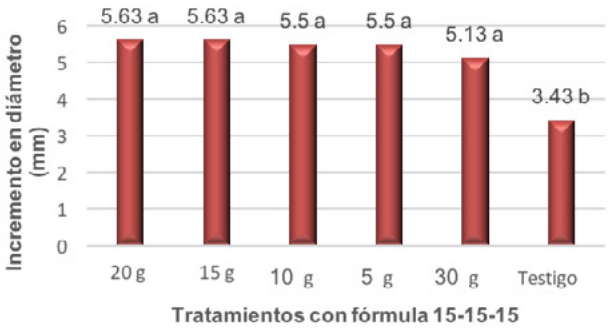
*Barras con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia

Figura 2. Efecto de diferentes dosis de fórmula 15-15-15 en el incremento de altura en el portainjerto de cacao criollo.

fertilizante por lo que se afirma que hubo una incidencia directa entre las dosis y esta variable ya que en todos los tratamientos con fórmula 15-15-15, las plantas de cacao respondieron de forma satisfactoria a su aplicación, lo que ayuda en el desarrollo de los portainjertos de cacao en un menor tiempo.

Con respecto a la ganancia de diámetro en los portainjertos se presentaron diferencias significativas, encontrando que los tratamientos con las diferentes dosis de fertilizante fueron superiores al testigo, considerando el comportamiento de esta variable muy similar al incremento de la altura, por tal motivo la explicación de este comportamiento es la

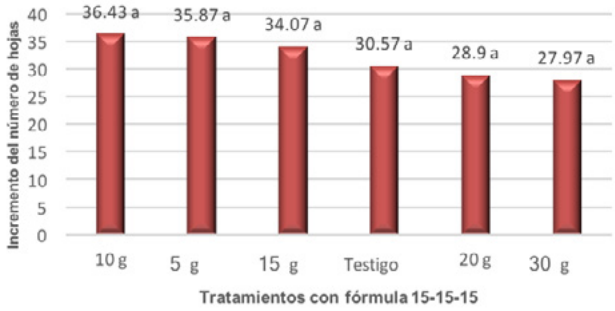
misma atribuyendo los resultados a la calidad del sustrato utilizado el cual reportó ser muy pobre en los elementos NPK (Figura 3). Jarstfer y Sylvia (1993) mencionan que la captación de NPK y otros minerales es más evidente en sustratos con niveles bajos de fósforo y de otros elementos mayores y esto ocurre frecuentemente en sustratos elaborados con suelos del trópico.



*Barras con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia

Figura 3. Efecto de diferentes dosis de fórmula 15-15-15 en el incremento del diámetro en el portainjertos de cacao criollo.

De igual forma al analizar el ANVA para el incremento en número de hojas, no se encontraron diferencias estadísticas significativas en ninguno de los tratamientos, pero podemos afirmar que los tratamientos con 5 g y 10 g de fórmula 15-15-15 mostraron los promedios más altos mientras que la dosis de 30 g, fue el tratamiento que produjo menos número de hojas, pero la diferencia entre el valor mayor y el menor no es categórica (Figura 4). Las tres variables de crecimiento analizadas muestran un comportamiento parecido cuya explicación nos regresa a revisar los resultados de los análisis de suelo que demostraron los bajos niveles de los elementos NPK, siendo el objetivo principal de estos análisis, identificar factores limitantes para corregirlos. Mientras mayor sea la cantidad de factores limitantes mayor será el incremento en el rendimiento, en este caso expresado por variables de crecimiento, siempre y cuando se corrijan todos los factores limitantes y esto responde a la famosa ley de mínimos de Liebig. No obstante, se puede analizar también la Ley del Máximo relacionado con los factores limitantes de Liebig a fin de obtener rendimientos máximos evitando excesos en el uso de insumos (Wallace, 1993). En un experimento similar Parada-Berríos, *et al.* (2016) desarrollando plantas de ojushte encontró que tratamientos con 60 g de fórmula 15-15-15 y 60 g de fórmula 16-20-0, fueron los que presentaron niveles de toxicidad al grado de que algunas plantas se quedaron pequeñas con requemo en las hojas, otras perdieron el follaje y en algunos casos la muerte, al respecto Rodríguez Suppo (1989), menciona que dosis altas de fertilizantes pueden llevar a la muerte las plantas por toxicidad, considerando que las dosis empleadas en esta investigación no llegaron a causar daños a las plantas de cacao durante el desarrollo de los portainjertos.



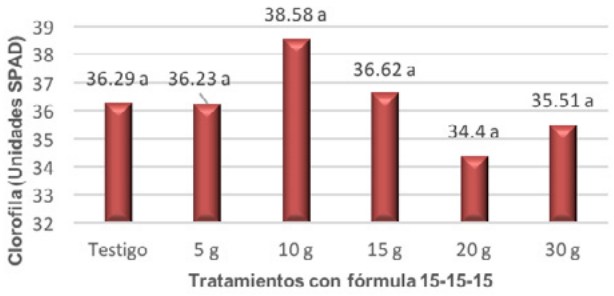
*Barras con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia

Figura 4. Efecto de diferentes dosis de fórmula 15-15-15 en el incremento de hojas en el portainjerto de cacao criollo.

Contenido de clorofila en el portainjerto

Asimismo, se examinó el contenido de clorofila en cada muestreo, analizando estadísticamente solo datos del último muestreo, no encontrando diferencias estadísticas significativas, sin embargo, los tratamiento con 10 y 15 gramos de fórmula 15-15-15 (equivalentes a 1.5-2.25 g de N), presentaron los promedios más altos en

las tonalidades de verde según las unidades SPAD, lo cual significa que el fertilizante a base de nitrógeno promovió mayores niveles de clorofila en las hojas (Figura 5), estos resultados coinciden con los encontrado por Parada-Berríos, *et al.* (2016) en plantas de ojushte, en las cuales la variable clorofila no presentó diferencias estadísticas, sin embargo, la dosis de 5 g de sulfato de amonio (equivalente a 1.05 g de N), generó la mayor intensidad del color verde, lo cual significa que este fertilizante a base de nitrógeno, promovió mayores niveles de clorofila en las hojas, captadas como longitudes de onda reflejadas de la luz solar y expresada en unidades SPAD, en esa tonalidad de verde intenso.



*Barras con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia

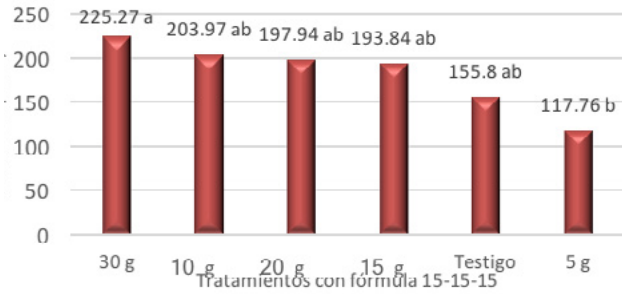
Figura 5. Efecto de diferentes dosis de fórmula 15-15-15 en los valores de clorofila en el desarrollo del portainjertos de cacao criollo.

Asimismo, el contenido de clorofila presentó una alta correlación positiva de r= 0.78 con el número de hojas. En este respecto Cameron y Compton citados por Smith (1989), mencionan que las hojas contienen más concentración de nitrógeno que cualquier otro órgano vegetativo y puede contener casi la mitad del nitrógeno total de la planta. Con respecto al uso del SPAD 502, Li, *et al.* (1998) mencionan que su utilización ofrece un potencial económico y ventajas medioambientales, ya que provee de información sobre el estatus de nitrógeno de las plantas sin necesidad de realizar muestreos destructivos, y es una técnica menos tediosa para evaluar la nutrición con nitrógeno principalmente en árboles, evitando el riesgo de bajos rendimientos en la cosecha en campo. Sin embargo, la presencia de deficiencias o excesos de otros elementos, enfermedades, entre otros, pueden modificar la relación entre las variables de crecimiento o el rendimiento de árboles y las lecturas del SPAD, por tanto, su uso no predice el estatus de nitrógeno de los árboles.

Variables fisiológicas en portainjertos: área foliar, peso específico de hoja (PEH); peso fresco y seco de hoja, tallo y raíz

Fisiológicamente en las hojas se propicia el medio indispensable y necesario para la obtención de frutos, considerándose, la fábrica de la materia orgánica y de azúcar en particular. La capacidad sintetizadora total de un árbol depende del total de la superficie foliar, que en el conjunto del mismo se expone a la luz (Calderón Alcaraz, 1998), por tal razón, se analizó la variable área foliar la que presentó diferencias estadísticamente significativas, demostrando la prueba de separación de medias de Tukey que el tratamiento con 30 g de fórmula 15-15-15 fue el mayor generador de superficie foliar, seguida por 10 g, 20 y 15 g del mismo fertilizante, mientras que el testigo y 5 g de triple 15, fueron los que mostraron su menor expresión en la variable (Figura 5). Calderón Alcaraz (1998) afirma que las hojas en presencia de abundancia de nitrógeno se hacen más grandes, y de mayor superficie expuesta a la luz y de color verde intenso. Estas mismas dosis mostraron valores de clorofila entre 35 y 38 unidades SPAD, mostrando esa intensidad del color verde que menciona el autor (Figura 4). El mismo autor señala que el nitrógeno tiene influencia en el contenido de proteínas de los productos vegetales, ya que es parte constituyente de ellas, al igual que de la clorofila. Amores *et al.* (2014) indica al respecto

que, en el máximo de capacidad fotosintética, las hojas de cacao de seis a ocho semanas de edad más expuestas al sol y que recién han alcanzado su madurez, utilizan del 20 a 25% de la irradiación lumínica interceptada por la parte superior de la planta, en un día soleado en ausencia de nubosidad. Más allá de este punto, la tasa fotosintética de las hojas totalmente expuestas ya no aumenta. Y a esto es lo que se conoce como punto de saturación lumínica del cacao. Solamente como ilustración comparativa el punto de saturación en las hojas de palma de coco se acerca al 80% de la luminosidad recibida a plena exposición.



*Barras con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia

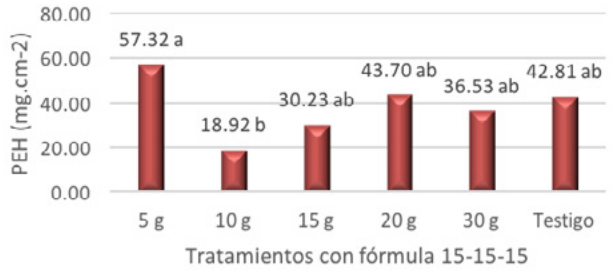
Figura 6. Efecto de diferentes dosis de fórmula 15-15-15 en los valores del área foliar del portainjerto de cacao criollo.

Tanto el peso fresco y seco de las hojas no presentaron diferencias estadísticas significativas (Figura 7), pero observando los promedios en las mismas, los tratamientos con las mayores dosis de la fórmula 15-15-15, manifestaron el mayor peso fresco y seco de las hojas.

Al analizar el peso específico de hojas (PEH) (Figura 8), se encontraron diferencias altamente significativas encontrando por medio de la prueba de separación de medias de Tukey a la dosis de 5 g, 20 g de triple 15 y al testigo, como las dosis o tratamientos que más valor mostraron en esta variable, Parada-Berríos, *et al.* (2016), explican, que el PEH,

*Barras con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia

Figura 7. Efecto de diferentes dosis de fórmula 15-15-15 en los valores de peso fresco y seco de hojas en el portainjerto de cacao criollo.



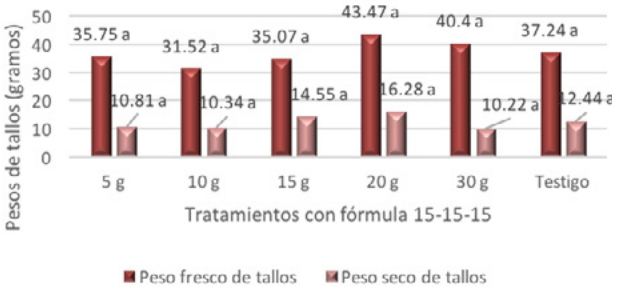
*Barras con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia

Figura 8. Efecto de diferentes dosis de fórmula 15-15-15 en los valores de peso fresco y seco de hojas en el portainjerto de cacao criollo.

no es más que el peso seco, en miligramos dividido entre el área foliar (cm^2), y estos valores expresan la eficiencia fotosintética de la hoja estimulada por los tratamientos de fertilización, es decir, la capacidad de generar tejido nuevo por cm2 de hoja. En el análisis químico del sustrato, los valores para nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K), reportaron 0.40%, 0.15% y 0.11% respectivamente, que según la clasificación que utiliza Calderón Alcaraz (1998) para cultivos frutales, como sustratos muy pobres, pobres y muy pobres para los tres elementos respectivamente, esto explica en parte el comportamiento de las plantas de cacao en respuesta a las diferentes dosis de fertilizante. El mismo autor señala que fósforo

es un constituyente fundamental de los ácidos nucleicos, por lo que es indispensable para la vida, teniendo influencia en los procesos de reproducción al estimular la inducción floral y a la formación de semillas en los frutos, mostrando su importancia no solo en fase de vivero, sino, que en todas las etapas de los árboles. En cuanto al potasio tiene una acción bien marcada en las condiciones hídricas del vegetal, tanto a nivel celular como de los tejidos, ayudando a la formación de las proteínas y en la transformación de azúcares en almidón.

Las variables del peso del tallo y raíces del portainjerto no presentaron diferencias estadísticas significativas, no obstante, el comportamiento de los promedios sigue la tendencia donde las dosis de la fórmula 15-15-15 muestran su efecto en proporcionar mayores valores en las variables (Figuras 9 y 10), las dosis de 20 y 30 g de fórmula 15-15-15, presentan los mayores pesos Calderón Alcaraz (1998), menciona que el fósforo determina la formación de un buen sistema radicular y que el potasio actúa además como propiciador de acciones enzimáticas, la formación de semilla de mayor tamaño y tiene decisiva influencia sobre la resistencia que las plantas presentan frente al ataque de enfermedades. Por otra parte, el peso fresco de raíz y seco de tallo presentaron una alta correlación positiva con las dosis de fórmula 15-15-15 de r= 0.65 y r= 0.84, respectivamente, al respecto en experimentos realizados en el Imperial College of Tropical Agriculture en Trinidad, demuestran que el efecto del potasio fue completamente claro, en tanto que en el caso del fósforo y nitrógeno fueron menores, manifestando, que a medida se incrementan las dosis de los mismos, aumentan tanto variables fisiológicas, de crecimiento de los árboles como el rendimiento de frutos de cacao (Jacob y Uexküll, 1973). Amores *et al.* (2009) menciona que los suelos minerales contienen entre el 90 y 99% de materia mineral y del 1 al 10% de materia orgánica, como fuentes primarias de nutrientes, en los resultados obtenidos el contenido de materia orgánica en el sustrato fue del 2.3%, el cual se considera bajo, pero aunque este se hubiese encontrado alto, el mismo autor señala que las fuentes se debilitan con el pasar del tiempo, por lo que surge la necesidad de agregar nutrimentos que se encuentren insuficientes. Las plantas absorben del suelo un número de elementos nutritivos en proporciones específicas y es importante que éstas se mantengan balanceadas para facilitar su absorción. Además, Amores *et al.* (2009) afirma que previo al desarrollo de un programa de fertilización, es necesario disponer de un diagnóstico del nivel de fertilidad natural del suelo y de los sustratos, si es a nivel de vivero, mediante análisis de suelo y foliares. El autor cita los requerimientos nutricionales del cacao en fase de vivero de una guía elaborada por el CATIE, de Costa Rica, quienes recomiendan 2.4 $kg.ha^{-1}$(2.16 $g.planta^{-1}$) de Nitrógeno; 0.6 $Kg.h^{-1}$ (0.54 $g.planta^{-1}$) de fósforo y 2.4 $kg.ha^{-1}$(2.16 $g.planta^{-1}$) de potasio. Otras correlaciones de importancia encontradas fueron el peso fresco de tallo: con peso seco, fresco y seco hoja (r= 0.89, r= 0.96, r= 0.96 respectivamente). Peso fresco de raíz con: peso fresco y seco de hoja (r= 0.96 y r= 0.89, respectivamente). Estas variables están influenciadas de manera directa y demuestran la conexión entre todos los órganos de las plantas, como lo indica Pérez García y Martínez-Laborde (1994), quienes explican que parte de los nutrimentos absorbidos pueden ser metabolizados en las células de la raíz, pero la mayor parte de ellos se dirigirán desde la superficie de la raíz hacia el xilema del cilindro central del tallo. Una vez alcanzado el xilema de la raíz, los nutrimentos se incorporan a la corriente ascendente de agua y son distribuidos a todas las partes de la planta.



*Barras con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia

Figura 9. Efecto de diferentes dosis de fórmula 15-15-15 en los valores de peso fresco y seco de tallos en el portainjerto de cacao criollo.

*Barras con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia

Figura 10. Efecto de diferentes dosis de fórmula 15-15-15 en los valores de peso fresco y seco de raíces en el portainjerto de cacao criollo.

Variables: éxito en el prendimiento del injerto y grados días de desarrollo (GDD)

Con respecto a esta variable se presentaron diferencias altamente significativas en el prendimiento del injerto, encontrando que un grupo de 10 tratamientos fueron superiores al resto, siendo las interacciones T_4 (5 g de triple 15 y cuña terminal) y T_6 (10 g de triple 15 más injerto de yema), los que presentaron el mayor éxito de injerto con 33%. Es importante explicar que, de 600 plantas injertadas, el éxito ocurrió en 432 plantas equivalente al 72% del total, mostrando la distribución del éxito del injerto por tipo de injertos en la figura 11, siendo el injerto de yema el que mayor éxito, seguido el injerto de cuña terminal, parche y enchapado lateral. Al revisar la correlación de Pearson se encontró una r= 0.50 ligeramente positiva entre las dosis de fórmula 15-15-15 y el éxito en el prendimiento del injerto, lo que implica que no existe una conexión directa entre ambas pero que a la vez si hubo una influencia ligera de los fertilizantes con las dosis entre 5 g y 20 g de la fórmula 15-15-15, pero sin respuesta con la dosis 30 g de la fórmula, reflejándose en la figura 12 con los valores más bajos las interacciones T_{17}, T_{18}, T_{19} y T_{20}, en interacción con sus respectivos tipos de injerto. Ramos, *et al.* (2015), evaluando diferentes tipos de injerto en cacao criollo, alcanzaron un 60 y 70% de éxito en el prendimiento en los injertos de enchapado lateral y cuña terminal respectivamente, por lo que los resultados globales de esta investigación coinciden con lo encontrado por los autores.

Se encontraron altas correlaciones positivas importantes entre el éxito del injerto: la altura, el diámetro y el peso seco de raíz de r= 0.93, r= 0.99 y r= 0.70, respectivamente; variables importantes y de influencia directa en el prendimiento del injerto. La altura y el diámetro del portainjerto fijan una etapa determinante en el prendimiento de los injertos, a mayor altura y diámetro las probabilidades de éxito incrementan, de igual forma las reservas acumuladas, en las diferentes estructuras de sostén del portainjerto son elementales, ya que proveen de alimento a la vareta injertada, la cual inicia su brotación con sus propias reservas, sin embargo, en esta investigación los tipos de injerto de mayor éxito fueron de yema: el de yema como tal y el de parche que no llevan madera como estructura de reserva.

Ambos tipos de injerto suman 37.16% (19.83% más 17.33%) y que corresponde a 223 plantas producidas (Figura 12). Hartman y Kester (1998) indican que en los injertos de yema influye determinantemente que la corteza “resbale”, lo que indica que las células del cambium están en división activa, produciendo células jóvenes

de pared delgada en ambos lados del cambium. Además, mencionan que los injertos de yema es importante que tengan una provisión de humedad del suelo y nutrición adecuada mucho antes de la operación del injerto. Si carecen de agua en ese período, el crecimiento activo se detiene, cesa la división celular en el cambium y se hace difícil despegar la corteza para insertar la yema.

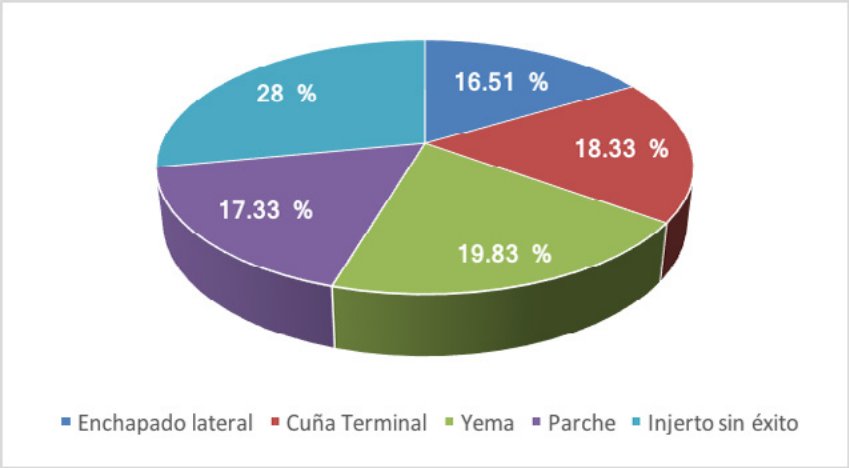
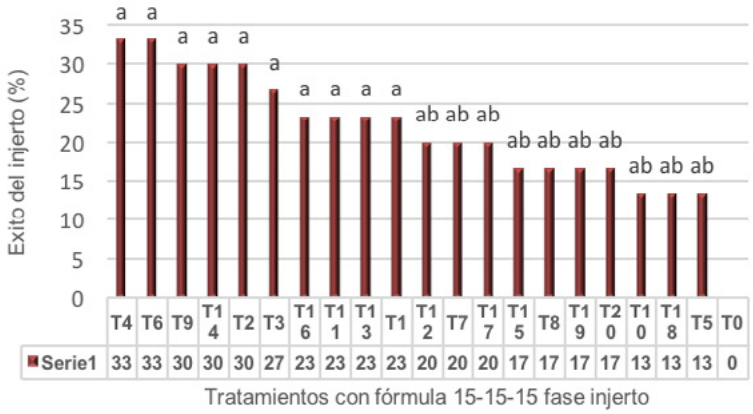


Figura 11. Porcentaje de prendimiento total por tipo de injerto.

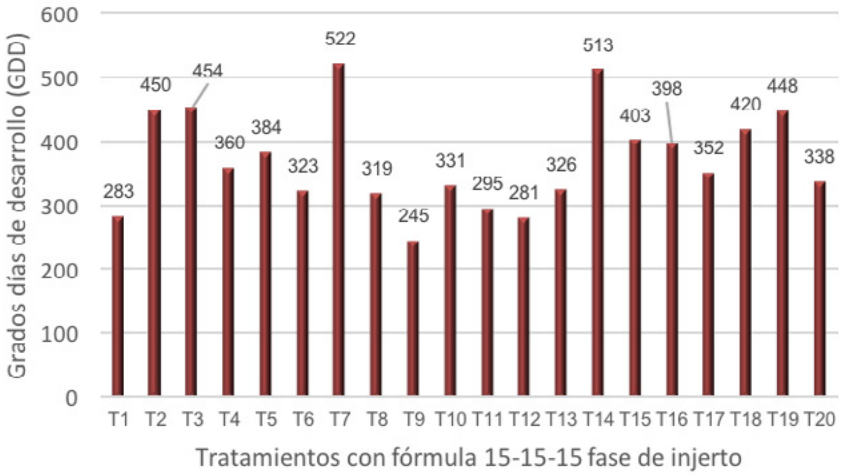


*Barras con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia

Figura 12. Efecto de diferentes dosis de fórmula 15-15-15 en el prendimiento de diferentes tipos de injerto en cacao criollo.

En cuanto a los grados días de desarrollo (GDD), que es la acumulación de requerimientos de calor para completar una etapa fenológica determinada, ya que, el crecimiento vegetativo de una planta o porción de ella, está influenciado por las temperaturas prevalecientes en el medio (Snyder, 1985), se registraron las temperaturas medias a partir de la injertación. En la figura 13 se muestra que el T_9 (15 g de fórmula 15-15-15 más injerto de enchapado lateral) presentó el menor valor 245 GDD, seguido del T_{12} (15 g de fórmula 15-15-15 más injerto de cuña terminal) con 283 GDD, lo que significa que estos tratamientos tardaron menos tiempo en

brotar, mientras que el T_7 (10 g de fórmula más injerto de parche) tardó 522 GDD. Ramos *et al.* (2015) encontró para cacao criollo un intervalo de brotación entre 233-395 GDD con los injertos de cuña terminal y enchapado lateral. En esta investigación se puede establecer un intervalo entre 245-522 GDD en términos generales para los injertos evaluados. Sin embargo, al segregar los tratamientos que se tardaron más en brotar en orden descendente: T_7, T_{14}, T_3, T_4, T_{19}, T_{18} y T_{15}, todos correspondieron a injertos de yema (yema propiamente y de parche). En conclusión los resultados de esta investigación coinciden totalmente en esta variable con lo que reporta Ramos *et al.* (2015), ya que el intervalo encontrado para los injertos de enchapado lateral y cuña terminal fue entre 245-398 GDD, mientras que para injertos de yema se puede establecer entre 403 y 522 GDD, lo que implica que tardan más en brotación pudiendo tomar en cuenta este hallazgo para una buena selección de los tipos de injertos a utilizar en diversas situaciones que el productor o viverista pueda tener en la producción de plantas de cacao a escala comercial o para autoabastecerse en su finca.



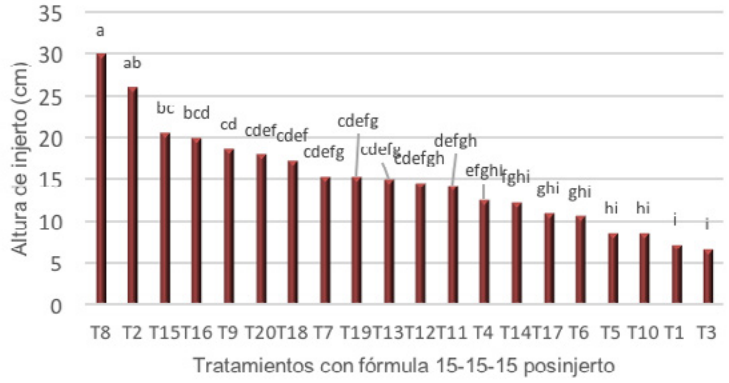
*Barras con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia

Figura 13. Efecto de diferentes dosis de fórmula 15-15-15 en la acumulación de unidades calor expresadas en GDD requeridas para la brotación y el éxito del prendimiento del injerto en cacao criollo.

Variables de crecimiento: altura, diámetro y número de hojas del injerto

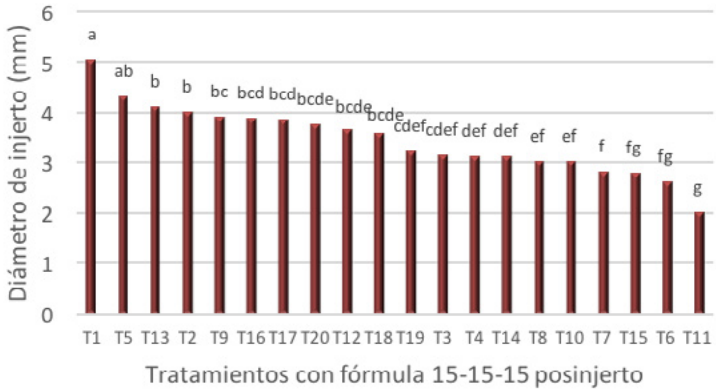
En las tres variables de crecimiento del injerto se presentaron diferencias estadísticas altamente significativas en las interacciones dosis de fertilizante e injertos, encontrando, para la variable altura y número de hojas el T_8 (10 g de fórmula 15-15-15 más injerto de cuña terminal) con los mejores resultados 30 cm de altura y más de 17 hojas respectivamente (Figuras 14 y 16). En cuanto a la variable diámetro de tallo del injerto el T_1 (5 g más injerto de enchapado lateral) con un valor superior a los 5 mm de diámetro, seguido del T_4 (5 g, más injerto de cuña terminal) (Figura 15). Estas variables reportan correlaciones altamente positivas, demostrando por ejemplo que la fertilización tuvo una influencia directa con la altura de la planta y número de hojas con r= 0.63 y r= 0.67 respectivamente. El peso seco de hoja, peso seco de tallo y peso seco de raíz presentaron alta correlación positiva con la altura del injerto de r= 0.90, r= 0.70 y r= 0.93 respectivamente.

Asimismo, el número de hojas del injerto presentó alta correlación positiva con las dosis de triple 15, con el área foliar con una r= 0.67 y r= 0.84, respectivamente. En cuanto al diámetro presentó alta correlación positiva con peso seco de hojas, peso específico de hojas (PEH) y peso seco de raíz con una r= 0.87, r= 0.81 y 0.73, respectivamente. Todas esas correlaciones nos indican claramente la influencia que ejercieron las diferentes dosis de la fórmula 15-15-15 en las variables de crecimiento altura, número de hojas y diámetro de injerto, pero estas a la vez, mostraron una conexión directa con área foliar, peso, seco de hojas, tallos y raíz, así como el PEH con el diámetro del tallo del injerto, todas estas estructuras de la planta de cacao (tallo y raíz) son de reserva y que también mostraron alta correlación positiva con las dosis de fertilizante, lo que indica que la aplicación del fertilizante influyó directamente en el desarrollo de las variables de crecimiento del injerto. Sandhu (1992) afirma que la aplicación de fertilizantes interactúan sinérgicamente favoreciendo en forma determinante en el éxito del prendimiento del injerto, logrando crear condiciones donde la proporción de células vivas requeridas para formar callo rápidamente en la unión del injerto están a un nivel adecuado, asimismo, cuando portainjerto y vareta son similares (diámetro), significa que no hay diferencia en la madurez de la madera de ambos, lo cual favorece a una unión exitosa, rápida, eficiente desarrollo del injerto y de la nueva planta.



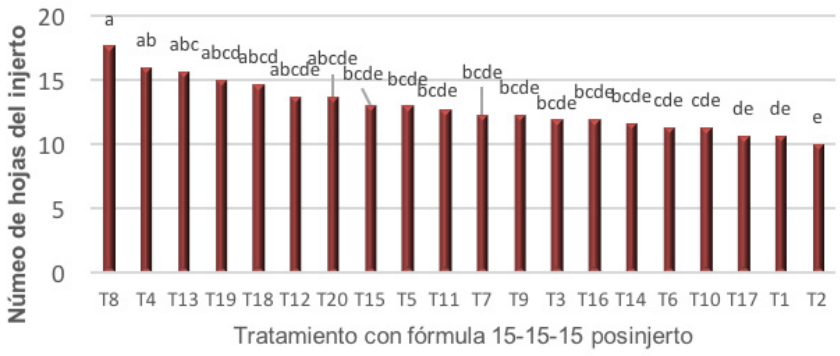
*Barras con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia

Figura 14. Efecto de diferentes dosis de fórmula 15-15-15 en el desarrollo de la altura del injerto en cacao criollo.



*Barras con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia

Figura 15. Efecto de diferentes dosis de fórmula 15-15-15 en el desarrollo del diámetro del injerto en cacao criollo.



*Barras con la misma letra son estadísticamente iguales al 5% de significancia

Figura 16. Efecto de diferentes dosis de fórmula 15-15-15 en el desarrollo del número de hojas del injerto en cacao criollo.

CONCLUSIONES

Las dosis de fórmula 15-15-15 evaluadas, en el desarrollo de los portainjertos de cacao criollo, aunque no presentaron diferencias estadísticas significativas en todas las variables de crecimiento y fisiológicas con las aplicaciones, las plantas presentaron un mejor desarrollo, alcanzando en cuatro meses condiciones óptimas para el injerto.

En cuanto al prendimiento del injerto se obtuvieron diferencias estadísticas altamente significativas, alcanzando un 72% de éxito total del experimento, separando por tipos de injerto: 19.83% para el injerto de yema, 18.33% cuña terminal, 17.33% injerto de parche y 16.51% el de enchapado lateral; encontrando además que para los injertos de vareta se requiere 245-398 GDD (20-30 días), para la brotación y los injertos donde se usa yema se requiere 403-522 GDD o más de dos meses.

El efecto del fertilizante fue más categórico en la fase de injerto encontrando diferencias altamente significativas en las variables: altura, diámetro y número de hojas, reportando asociación positiva entre las variables altamente correlacionadas con las variables fisiológicas del portainjerto influenciadas todas de manera positiva con las dosis de la fórmula 15-15-15; considerando que la asimilación y acumulación de reservas por los portainjertos y su translocación a los injertos y sus variables de crecimiento fue efectiva.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado con el apoyo financiero del proyecto de Educación Superior para el Crecimiento Económico, según acuerdo de cooperación número 0214405-G2018-003-00 entre el proyecto USAID y la Universidad de El Salvador, Centro América.

BIBLIOGRAFÍA

Amores, F; Saquicela, D; Sarabia, W; Tarqui, O; Sotomayor, I; Vasco, A. 2014. Buenas prácticas para la renovación de huertas improductivas de cacao tradicional. Manual técnico No. 97. Quevedo-Los Rios-Ecuador. 171 p.

Calderón Alcaraz, 1998. Fruticultura General. El Esfuerzo del Hombre. UTEHA. NORIEGA EDITORES. 763 p.

Hartmann, H; Kester, D 1998. Propagación de plantas principios y práctica. Sexta edición. Compañía editorial continental S.A de C.V México. p 760.

Jacob, A; Uexküll, H. 1973. Fertilización. Nutrición y abonado de los cultivos tropicales y subtropicales. Cuarta Edición. México. D.F. Pp 299-311.

Jarstfer, AG; Sylvia, DM. 1993. Inoculum production and inoculation strategies for vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Microbial Ecology. Aplications in agricultural and eviromental Managament. Ed. By F. Blane Metting Jr. Marcel Dekker, INC. New York. 646 p.

Li, YC; Alva, AK; Calvert, DV; Zhang, M. 1998. A rapid nondestructive technique to predict leaf Nitrogen status of Grapefruit Tree whith various nitrogen fertilization practices. Hortitechnology. January-march. 8(1):81-86

MARN, 2013. Información meterológica: Servicio Metereológico Nacional. San Salvador, El Salvador.

Parada-Berríos, FA; Barrera Santos, DA; Molina Escalante, MO; Quintanilla, JR. 2016. Evaluación de diferentes dosis y fuentes de NPK en ojushte, y su efecto en el éxito en el prendimiento del injerto. Informes técnicos: Rescate y desarrollo de germoplasma de ojushte (Brosimum alicastrum swartz) con alto potencial genético de rendimiento nutricional y comercial. Proyecto financiado por PRESANCA/CSUCA. Pp. 57-69.

Pérez García, F. y Martínez-Laborde, JB. 1994. Introducción a la Fisiología Vegetal. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 218 p.

Ramos, YM; Rivas, AT; Villalta, LB. 2015. Evaluación de diferentes técnicas de injerto en cacao (Theobroma cacao L.) y su incidencia en el prendimiento en fase de vivero. Tesis. Para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad de El Salvador. San Salvador, El Salvador. 79 p.

Rodríguez Suppo, F. 1982. Fertilizantes; Nutrición Vegetal. AGT. Editor S.A. México D.F.

Sandhu, MK. 1992. Standardization of grafting techniques in sapota (Achras zapota L). International Simposium on Tropical Frontier in tropical fruit Research. Acta Horticulturae. 321:610-615

Smith, PF. 1989. Nutrición de Cítricos. Research Plant Physiologist. USDA Agricultura Research Service, Orlando Florida. 90 p.

Snyder, RL. 1985. Hand Calculating degree days. Agricultural and Forest Meteorology. 35: 353-358.

Somarriba, E; Quezada, F; Villalobos, M. 2010. La captura de carbono: un servicio ambiental en fincas cacaoteras indígenas. 1 ed., da reimpr. Turrialba CATIE. Costa Rica. 28 p.

Wallace, A. 1993. The law of máximum. Better Crop. 77(2): 20-22.

Revista
MINERVA
Plataforma digital de la revista: https://minerva.sic.ues.edu.sv

Monitoreo de parásitos helmintos en peces del Embalse Cerrón Grande

Monitoring of helminth parasites in fish from the Cerrón Grande Reservoir

Juan Francisco Alvarado-Panameño[1]

RESUMEN

El estudio se realizó en el Embalse Cerrón Grande, sobre el Río Lempa, ubicado entre los departamentos de Cuscatlán, Chalatenango, Cabañas y San Salvador, El Salvador, Centro América, de mayo 2013 a noviembre de 2014, con el propósito de analizar la fauna parasitaria en peces de importancia comercial del cuerpo de agua. Se establecieron seis puntos de muestreos, en el perímetro del cuerpo de agua, realizando una colecta de 26 peces una vez por semana, para un total de 156, que incluyó las siguientes especies: Tilapia (*Oreochromis niloticus*), Mojarra negra (*Amphilophus macracanthus*), Guapote tigre (*Parachromis managuense*), Carpa china (*Ctenopharyngodon idellus*), Istatagua (*Cichlasoma trimaculatum*) y Guapote roncador (*Pomadasys grandis*), con tallas entre 6.5 y 34.5 cm. Los parámetros evaluados fueron: prevalencia, intensidad media, abundancia media; el análisis estadístico se realizó mediante la prueba de Chi cuadrado para establecer la independencia entre variables. Los parásitos encontrados fueron: *Gyrodactylus* sp. *Dactylogyrus* sp. *Diplostumum compactum*, *Clinostomum complanatum*, *Crassicutis cichlasomae*, *Valipora mutabilis*, *Contracaecum* sp. y *Neoechinorhynchus* sp.

Los resultados mostraron que las comunidades de peces tenían una Prevalencia General (PG) de 65%, y por especie de pez fueron los siguientes: Mojarra negra (*Amphilophus macracanthus*) 91%; Tilapia (*Oreochromis niloticus*) 68%; Istatagua (*Cichlasoma trimaculatum*) 67%; Guapote tigre (*Parachromis managuense*) 41% y Guapote roncador (*Pomadasys grandis*) 22%. La Intensidad media (IM) y Abundancia media (AM), los Trematodos monogeneos presentaron mayor nivel en Istatagua con (IM) 16.8 y (AM) 11.2, seguido de la Mojarra con (IM) 9.5 y (AM) 5.9, Tilapia (IM) 8.8. y (AM) 5.9, mientras que los parásitos digeneos se encontraron en la Mojarra con (IM) 7.5 y (AM) 6.0. Se concluyó que la prevalencia parasitaria de los peces muestreados es alta (65%), y aunque no se estimó el efecto sobre los mismos, se sabe que en este tipo de relación siempre existen daños que pueden ser sintomáticos o asintomáticos.

Palabras Clave: parásitos, helmintos, peces, prevalencia, monogeneos, digeneos, nematodos, céstodos.

ABSTRACT

The study was carried out in the Cerrón Grande Reservoir, on the Lempa River, located between the departments of Cuscatlán, Chalatenango, Cabañas and San Salvador, from May 2013 to November 2014, with the purpose

1 Departamento de Zootecnia, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.

Este es un artículo bajo la licencia CC BY NC (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

of analyzing the parasitic fauna in commercially important fish of the body of water. Six sampling points were established, on the perimeter of the body of water, making a collection of 26 fish once a week, for a total of 156, which included the following species: Tilapia (*Oreochromis niloticus*), Black Mojarra (*Amphilophus macracanthus*), Tiger Guapote (*Parachromis managuense*), Chinese carp (*Ctenopharyngodon idellus*), Istatagua (*Cichlasoma trimaculatum*) and Snoring Guapote (*Pomadasys grandis*), with sizes between 6.5 and 34.5 cm. The parameters evaluated were: prevalence, average intensity, average abundance; Statistical analysis was performed using the Chi-square test to establish the independence between variables. The parasites found were: *Gyrodactylus* sp. *Dactylogyrus* sp. *Diplostumum compactum*, *Clinostomum complanatum*, *Crassicutis cichlasomae*, *Valipora mutabilis*, *Contracaecum* sp. and *Neoechinorhynchus* sp.
The results showed that the fish communities had a General Prevalence (PG) of 65%, and by species of fish were the following: Black Mojarra (*Amphilophus macracanthus*) 91%; Tilapia (*Oreochromis niloticus*) 68%; Istatagua (*Cichlasoma trimaculatum*) 67%; Guapote tiger (*Parachromis managuense*) 41% and Guapote snoring (*Pomadasys grandis*) 22%. Average Intensity (IM) and Medium Abundance (AM), Monogeneous Trematodes showed a higher level in Istatagua with (IM) 16.8 and (AM) 11.2, followed by Mojarra with (IM) 9.5 and (AM) 5.9, Tilapia (IM) 8.8. and (AM) 5.9, while the parasitic parasites were found in the Mojarra with (IM) 7.5 and (AM) 6.0. It was concluded that the parasitic prevalence of the sampled fish is high (65%), and although the effect on them was not estimated, it is known that in this type of relationship there are always damages that can be symptomatic or asymptomatic.

Palabras Clave: parasites, helminths, fish, prevalence, monogeneous, digenea, nematodes, cestodes.

INTRODUCCIÓN

La acuicultura en la actualidad está tomando relevancia en la producción de alimento para satisfacer la creciente demanda mundial de proteínas, especialmente en los países en vías de desarrollo (Hepher y Pruginin 2001); en este rubro El Salvador tiene una producción anual cercana a 6,488,742 kg, equivalentes a 6,488.7 Tm (IICA 2013).

Según el BCR (2012) para el periodo julio-septiembre de 2012 la caza y la pesca aportaron al Producto Interno Bruto (PIB) 31.1 millones de dólares; y según FUSADES (2012) en el 2011, la pesca fue el único sub sector agrícola con crecimiento robusto.

En El Salvador, la producción de tilapia en sistemas artificiales ha tenido un crecimiento importante, el cual será sostenible si se proporcionan condiciones favorables para el desarrollo del rubro, pero poco se conoce el impacto de las comunidades acuáticas en ambiente natural por modificaciones de su nicho (creación de represas), y por la contaminación de los mismos.

Los peces en ambiente natural y cultivado están expuestos a parasitosis, pues las altas densidades, las condiciones ecológicas y otros factores, favorecen la transmisión de parásitos que infestan directamente al hospedador (Bakke y Harris 1998). Los helmintos constituyen el principal grupo que genera importantes parasitosis, lo que ocasiona un efecto negativo sobre los peces, al reducir su valor comercial, limitar sus poblaciones o generar altas tasas de mortalidad en masa, y en algunos casos, estos parásitos pueden ser zoonóticos (Sanmartín *et al.*. 1994, Akinsanya *et al.*. 2008).

El conocimiento de parásitos helmintos en peces de agua dulce ha sido motivo de estudio y preocupación desde hace mucho tiempo en varios países, principalmente por la importancia de los peces como fuente de alimentación para los humanos (Lamothe 1994).

Los estudios helmintológicos en poblaciones silvestres de peces, son importantes desde el punto de vista de la relación entre el parásito y el hospedero, pues esto podría las explotaciones comerciales de peces e incluso la salud pública en algunos casos, por tanto, requiere del estudio sobre las especies parasíticas, que permita plantear estrategias sobre el tema, tal como lo expone Salgado y Osorio (1987). En El Salvador, no se conoce el impacto de las comunidades acuáticas naturales, ya sea por la creación de represas en los ríos, y por la contaminación de los cuerpos de agua, razón por la cual, los estudios helmintológicos en estas poblaciones silvestres de peces, podrían ser determinantes en los sistemas artificiales de tilapias, ya que existe una relación biológica con otras especies del entorno como aves acuáticas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

La investigación se realizó de mayo 2013 a noviembre 2014 en el Embalse Cerrón Grande (Río Lempa), con un espejo de agua de 135 km2 y una altitud de 240 msnm. Se encuentra ubicado entre los departamentos de Cuscatlán, Chalatenango, Cabañas y San Salvador, con coordenadas en la parte céntrica del mismo de: 14°03' Latitud Norte y 89°04' Longitud Oeste.

Los sitios de muestreo se eligieron de acuerdo a la predilección de los pescadores de la zona en ese momento, y de técnicos de CENDEPESCA oficina El Paraíso, Chalatenango, tal como se describen a continuación: sitio I (Isla los Cabros, coordenadas X:-89.045368, Y: 14.05332); sitio II (Cantón Santa Bárbara, coordenadas X:-89.032654, Y:14.064933); sitio III (Isla los Soldados, coordenadas X:-89.075633, Y: 14.045909); sitio IV (Isla Tumbilla (coordenadas X:-89.043306, Y: 14.045301); sitio V (Nacimiento de agua, coordenadas X:-89.068825, Y: 14.077754); y sitio VI (Montaña Pluma Azul, coordenadas X:-89.068629, Y: 14.037207).

Colecta de peces

Se trabajó con una muestra total de 126 peces vivos, que incluyó: Tilapia (*Oreochromis niloticus*), Mojarra negra (*Amphilophus macracanthus*), Guapote tigre (*Parachromis managuense*), Carpa china (*Ctenopharyngodon idellus*), Istatagua (*Cichlasoma trimaculatum*) y Guapote roncador (*Pomadasys grandis*), en consideración de la importancia comercial en la zona.

La colecta se llevó a cabo en coordinación con los pescadores de la zona utilizando redes para pesca N°6, mediante el método de arrastre, con una duración de 45-90 minutos. La actividad se llevó a cabo una vez por semana, por un periodo de seis semanas. En cada sitio de muestreo se realizó una colecta de 26 ejemplares con tallas de 6.5-34.5 cm, procurando que todas las especies fueran representativas en la muestra.

Una vez capturados los peces, fueron separados por especie en depósitos plásticos sin tapadera, conteniendo agua del medio para su traslado al laboratorio. Los depósitos fueron rotulados con la siguiente información: fecha de captura, especie de pez y sitio de captura.

Recepción de las muestras

Los peces de cada muestreo fueron colocados en peceras de acrílico (4mm), 62 cm de largo, 47 cm de ancho y 46 cm de profundidad; con capacidad de 125 litros agua del medio, conectadas a un sistema de aireación artificial, el cual fue activado antes de depositar los peces. Los peces fueron liberados en un tiempo de 15 a 30 minutos para equilibrar la temperatura corporal con la del agua de las peceras, colocando seis peces por pecera, dejando en una sola pecera a la especie depredadora.

Se realizaron recambios de agua (50 % del volumen) cada tres días, a la cual previamente se le eliminó las concentraciones de cloro

mediante el reposo durante cuatro días. Los peces se mantuvieron vivos durante un periodo de cinco días, para lo cual las especies omnívoras se alimentaron con concentrado comercial, excepto el Guapote Tigre, que se utilizó carne fresca de Tilapia. Los peces en estudio fueron sexados e identificados mediante un numero correlativo, nombre común y nombre científico.

Diagnóstico de parásitos externos

Este se llevó a cabo según metodología detallada por Salgado (2009), que incluyó un examen visual de la superficie corporal del pez, así como ambas caras de las aletas y opérculos, utilizando pinzas de punta fina, microscopio estereoscopio y compuesto. Posteriormente fueron retiradas las branquias, aletas y muestra de escamas, consecutivamente depositadas en cajas de Petri con solución salina 0.7 %, para luego ser observadas al microscopio. Los parásitos encontrados se colocaron en cajas de Petri conteniendo solución salina al 0.7 %.

Diagnóstico de parásitos internos

Se inició con el corte de un filete de musculo de la línea lateral, inmediatamente se retiraron ambos ojos y se extrajo el cerebro del pez. Posteriormente se realizó una incisión en la cavidad abdominal del pez, desde la cloaca hasta la intersección branquial, utilizando una tijera de punta recta, luego se procedió a retirar el tracto digestivo completo, desde la región oral-branquial, hasta el recto, ubicándolo en una caja de Petri conteniendo solución salina al 0.7 %. Las demás estructuras internas como hígado, mesenterios, tejidos grasos, los ojos y la muestra de musculo fueron también colocados individualmente en cajas de Petri con solución salina al 0.7 % para examinarlos externa e internamente auxiliándose del microscopio estereoscopio y compuesto, según el caso. Cada órgano (excepto los ojos) fueron colocados entre dos placas de vidrio o dos portaobjetos (técnica de compresión) para facilitar la observación con el estereoscopio y determinar o descartar la presencia de parásitos.

Los helmintos (externos/internos) fueron aislados y posteriormente fotografiados. Los especímenes más grandes se lavaron con solución salina y colocados en viales con una solución de alcohol al 70 %, rotulados con la ubicación anatómica de procedencia, posteriormente identificados mediante claves taxonómicas y pictográficas propuestas por Vidal *et al.* (2002), por género y especie (Nombre Científico), solamente género, o únicamente la familia, y luego registrados en hoja de control parasitario.

Parámetros epidemiológicos

Para medir el comportamiento parasitario se evaluaron los siguientes parámetros: Prevalencia, que resulta de dividir el número de peces parasitados por una especie de parásito en particular, entre el total de peces examinados, mientras que la *Intensidad media*, resulta de dividir el total de parásitos de una especie particular de una muestra, entre el número de peces infestados con el parásito y *Abundancia media*, resulta de dividir el número de parásitos de una especie particular en una especie de pez, entre el total de peces examinados (infestados y no infestados).

Análisis de datos

Los datos individuales de cada pez, correspondiente a los parámetros: sexo, presencia de endoparásitos o ectoparásitos y ubicación geográfica (sitios de muestreo), fueron tomados y registrados en una base de datos en Excel (Microsoft), y posteriormente analizados mediante Chi cuadrado utilizando el programa SPSS v.19 con el objetivo de determinar el grado de relación que pudiera haber entre las variables y se expresa mediante la Ecuación 1.

$$X^2=\sum_{i=1}^{k}\frac{(O_i-E_i)^2}{E_i} \qquad (1.)$$

Donde O_i representa la frecuencia observada de realización de un acontecimiento determinado y E_i la frecuencia esperada teórica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Abundancia de peces por sitios de muestreo

La abundancia total encontradas en los seis sitios de muestreo se detallan en la Tabla 1, que incluye las siguientes especies: Tilapia (*Oreochromis niloticus*), Mojarra negra (*Amphilophus macracanthus*), Guapote tigre (*Parachromis managuense*), Guapote roncador (*Pomadasys grandis*), Carpa china (*Ctenopharyngodon idellus*) y Istatagua (*Cichlasoma trimaculatum*). De manera general, los resultados apuntan que, del total de peces muestreados, 65.38 % fueron hembras y 34.62 % fueron machos.

Este comportamiento en la mayoría de casos, a nivel de cuencas fluviales, están condicionados por factores fisicoquímicos y biológicos, entre los cuales están la temperatura, el flujo del agua, la corriente, la turbidez, la oxigenación, la disponibilidad de alimento y las interacciones entre las especies (Lacasa 1993). Probablemente, esta composición por sexo contribuya a mantener una densidad poblacional estable, a pesar de la presión ejercida por la pesca artesanal y las aves piscívoras sobre estos recursos en el embalse (MARN 2013). Cuando se compararon las especies de peces por sitios de muestreo, se pudo demostrar que cualquiera de las seis especies fue posible encontrar en los sitios señalados (46.961, P= 0.005); lo que sugiere, que todas las especies podrían estar influenciadas por las condiciones de los sitios establecidos, y sus efectos solo podrían ser notables en la reproducción, mostrando poblaciones más limitadas en algunas de las especies de peces estudiadas.

Tabla 1. Porcentaje de peces muestreados (Hembras y Machos) del Embalse Cerrón Grande.

Especie de pez	Peces muestreados	%	Hembras	%	Machos	%
Mojarra negra	56	35.90	39	38.24	16	29.63
Guapote tigre	46	29.48	30	29.41	17	31.48
Tilapia	38	24.36	22	21.57	16	29.63
Guapote roncador	9	5.77	6	5.88	3	5.56
Istatagua	6	3.85	5	4.90	1	1.85
Carpa china	1	0.64	0	0.00	1	1.85

Parásitos detectados

Los parásitos encontrados se agruparon taxonómicamente en las categorías: Filo, Clase, Subclase, Género y/ Nombre Científico. Los grupos más abundantes fueron de la Clase Trematoda (*Filo Platelmintos*), y más escasos los Nematodos y Eocantocáfalos (*Fila Nematelminto* y *Acantocéfalo*, respectivamente).

Dentro del Filo hylum Nematelmintos se encontraron parásitos de la clase nematoda, subclase secernentea; esta última es la única que bajo ciertas condiciones puede presentar zoonosis en su fase larvaria, concordando con Salgado (2009), quien afirma que los Platelmintos y Nematelmintos son frecuentes entre los animales silvestres, en particular entre los peces, pero solo un número relativamente reducido puede causar enfermedad al ser humano. Los órganos más parasitados fueron principalmente: las branquias, ojos, aletas, intestinos, bilis e hígado (Tabla 2).

Análisis de parásitos (internos/externos) por sitio de muestreo

Los resultados obtenidos sobre el recuento de ectoparásitos y endoparásitos por sitio de muestreo sin considerar en forma particular las especies de peces, el comportamiento fue relativamente similar en términos numéricos, excepto los sitios 3 y 6 (Figura 1), que mostraron mayor cantidad de parásitos en el mismo número de muestras de peces (con 160 y 159 parásitos respectivamente). Estos sitios compartían mayor nivel de vegetación circundante, lo que de alguna manera este microclima puede ser biológicamente favorable en la fauna parasitaria.

A pesar que los peces tienen mecanismos de defensa inmunitaria, según lo expresa Rubio (2010), la inmunidad innata les brinda defensas contra los parásitos, los que casi siempre en condiciones naturales están presentes en las poblaciones de peces (Lacasa 1993). Los parásitos, se encuentran en un complejo y dinámico equilibrio con sus hospedadores, sin embargo, este equilibrio puede ser alterado por numerosos factores ambientales de origen humano o natural; pues los humanos modifican continuamente los factores bióticos y abióticos de las masas de aguas, lo cual permite que las condiciones naturales en las que viven los peces no sean tan reales como se pretende.

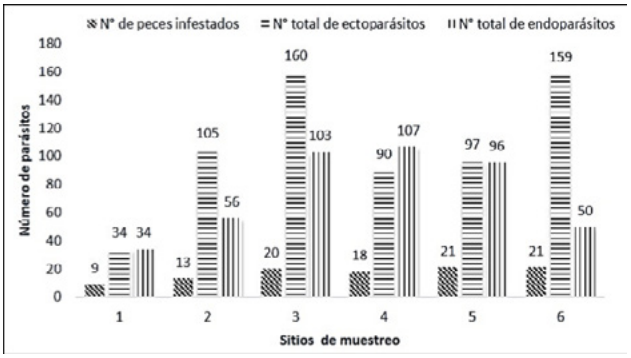


Figura 1. Recuento de endoparásitos y ectoparásitos de peces en sitios.

Tabla 2. Número de parásitos y órganos afectados de los peces del Embalse Cerrón Grande.

Filo	Clase	Subclase	Género/N.C.	N° de parásitos	Órganos	Zoonosis	Tipo de parásito
Platelmintos	Trematoda	Monogenea	Dactylogyrus sp	632	Branquias	No	Ectoparásito
	Trematoda	Monogenea	Gyrodactylus sp	13	Aletas	No	Ectoparásito
	Trematoda	Digenea	Diplostomun compactum	375	Ojos	No	Endoparásito
	Trematoda	Digenea	Clinostomum complanatum	6	Piel	Si	Ectoparásito
	Trematoda	Digenea	Crassicutis cichlasomae	1	Intestinos	No	Endoparásito
	Cestoda	------	Valipora mutabilis	60	Bilis	No	Endoparásito
Nematelmintos	Nematoda	Secernentea	Contracaecum sp.	2	Hígado	L3	Endoparásito
Acantocéfalo	Eoacantocéfalos	-------	Neoechinorhynchus sp.	2	Intestinos	N/D	Endoparásito

Prevalencia parasitaria por especie de pez

La prevalencia general de parásitos correspondiente a los 156 peces muestreados, fue 65.38 % (Tabla 3), la cual podría ser considerada alta con respecto a los reportados por Ulloa (2008), quien encontró una prevalencia de 14.06 % en tilapias.

La Tabla 3 muestra el comportamiento de la prevalencia parasitaria por especie de pez, observándose a su vez, que la mayor prevalencia fue para Mojarra negra, Tilapia e Istatagua, con valores de 91.07 %, 68.42 %, 66.67% respectivamente; y con menor índice, Guapote tigre y Guapote roncador, con valores de 41.30 % y 22.22 %, respectivamente. La Carpa China no fue representativa para este parámetro. Estos resultados probablemente se debieron a la respuesta particular por especie de pez (componente genético relacionado con la respuesta inmunitaria), ya que las condiciones ambientales fueron las mismas, con pequeñas variaciones microclimáticas, lo que a su vez podría estar influenciada por la relación biológica (parásito-hospedador) como el caso de las altas poblaciones de aves piscívoras, dentro de los cuales sobresalen los cormoranes (*Phalacrocorax brasilianus*), hospedador definitivo de algunas especies de parásitos de peces.

También debe considerarse los niveles de contaminación de dicho cuerpo de agua, que podría ser un factor de riesgo para modificar de alguna manera el sistema inmune de los peces; pues la mayoría de los contaminantes provenientes de la industria, y que según reportes del MARN (2013) en 1977 el agua del Embalse Cerrón Grande, mostró niveles de 0.27-0.78 mg/l de cromo (valor permisible 0.05 mg/l) y 1.77-6.28 mg/l de plomo (valor permisible 0.5 mg/l). Estos valores reportados sobrepasan 1,020 y 902 veces los valores permisibles respectivamente. De igual manera, los parámetros físico-químicos tales como: temperatura del agua, turbidez, salinidad, oxígeno disuelto y pH, pueden incidir grandemente en el incremento o disminución de la fauna parasitaria, disponibilidad o escasez de alimento (Lacasa 1993).

Tomando en cuenta todos los factores de riesgo antes descritos, a pesar de que no fueron medidos, estos podrían afectar el sistema inmunológico directa o indirectamente de los peces, modificando los niveles de prevalencia parasitaria.

Tabla 3. Prevalencia de parásitos por especie de peces.

Especie de pez	Peces muestreados	Positivos	Negativos	Prevalencia %
Mojarra negra	56	51	5	91.07
Tilapia	38	26	12	68.42
Istatagua	6	4	2	66.67
Guapote tigre	46	19	27	41.30
Guapote roncador	9	2	7	22.22
Carpa china	1	0	1	0.001
Total	156	102	54	65.38

Prevalencia general parasitaria por sitio de muestreo

En la Figura 2 se muestran los niveles de prevalencia parasitaria en cada sitio de muestreo, demostrándose que todos los peces del embalse están altamente parasitados, enfatizando que los peces de los sitios 3, 4, 5 y 6 tienen prevalencias arriba del 50%, y solamente los sitios 1 y 2 presentan valores más bajos con respecto a los demás sitios. Este comportamiento probablemente se deba a diferencias ambientales relacionadas con la vegetación circundante y efectos de la profundidad del agua, provocando cambios en la gradiente de temperatura y otros parámetros fisicoquímicos, que podrían de alguna manera provocar cambios de comportamiento tanto en los peces (incidencia negativa en la respuesta inmune), y el aumento potencial de la fauna parasitaria. Desde el punto de vista epidemiológico, los seis puntos muestreados tienen prevalencias parasitarias que podrian estar afectando la biología de los peces del cuerpo de agua estudiado, lo que a su vez podrían convertirse en un reservorio y fuente de diseminación de las especies de parasíticas, principalmente aquelas relacionadas con hospederos/vectores como es el caso de las aves cormorán, cuyo radio de vuelo incluye ubicación geografica de granjas comerciales de tilapias.

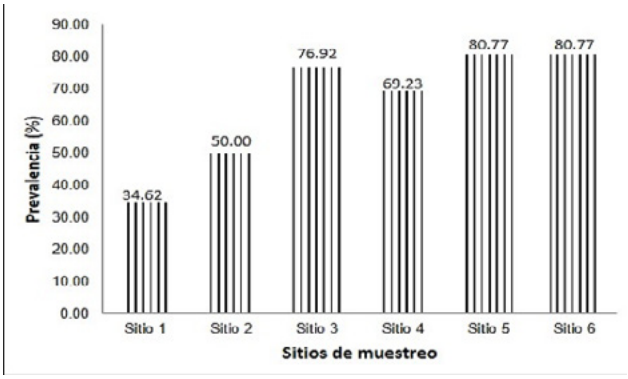


Figura 2. Prevalencia general parasitaria por sitio de muestreo.

Intensidad media (carga parasitaria) por especie de pez

La intensidad media general es aparentemente baja, con un valor de 3.84, lo que significa que cada pez de cualquiera de las especies del estudio, tuvo la posibilidad de albergar al menos 3.84 parásitos de cualquier taxón dentro del estudio.

Estos datos contrastan con los valores de prevalencia parasitaria general (65.38 %), que epidemiológicamente fue alta, sin embargo, la carga parasitaria no fue nada despreciable para la población analizada.

Cuando este mismo parámetro (intensidad media) se analiza para cada una de las especies de pez, para cada taxón parasitario (Figura 3), se observa que los Trematodos monogeneos (ubicados en aletas y branquias), representaron la mayor carga parasitaria en Istatagua, Mojarra, y Tilapia, con valores de 16.8, 9.5 y 8.8 respectivamente. Es importante señalar, que el hospedador, pudo haber estado influenciado por el tipo de alimentación requerida, la selección del hábitat, su posición en la jerarquía social y sus mecanismos de transmisión, factores asociados a diferentes tipos de fauna parasitaria (Hernández 2012).

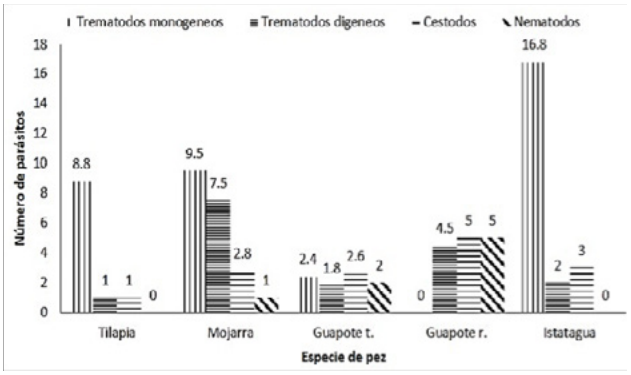


Figura 3. Intensidad parasitaria media por especie de pez.

Abundancia media de parásitos por especie de pez

La abundancia media general fue relativamente baja, lo que significa que en ese período cualquier especie de pez del embalse podría haber sido colonizado por al menos 1.78 parásitos de cualquier especie. Al analizar la abundancia media por especie de pez, enfatizando en cada taxón del parásito (Figura 4), se pudo constatar que los trematodos monogeneos procedente de aletas y branquias fueron más abundantes en Istatagua, seguida por tilapia y mojarra, con valores de 11.2, 6 y 5.9 respectivamente. Así mismo, se pudo establecer que los trematodos digeneos procedentes de ojos e intestinos fueron más abundantes en Mojarra, Guapote roncador, Istatagua, con valores de 6.0, 1.5 y 0.7 respectivamente.

Este comportamiento podría estar asociado a factores genéticos y ambientales de los peces, pues según hallazgos presentados por Hernández (2012) en un estudio realizado en granjas piscícolas en el Estado de Morelos, México, encontró que la abundancia de helmintos fue alta en época seca, posiblemente debido a la temperatura del agua, generando cambios importantes en la disponibilidad de oxigeno disuelto, generando mayores niveles de estrés, y una disminución en la inmunidad en los peces.

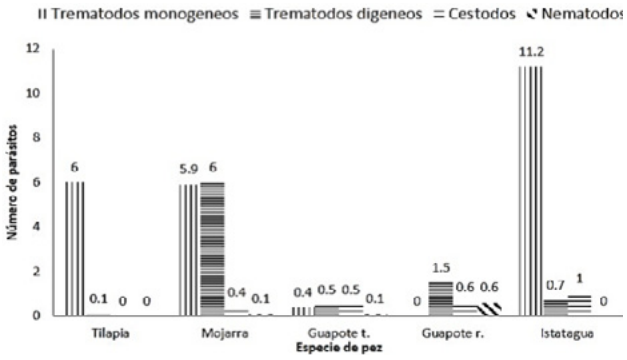


Figura 4. Abundancia media parasitaria por especie de pez.

Descripción de hallazgos (parásitos externos)

Gyrodactylus sp. y *Dactylogyrus* sp.

Ambos géneros son trematodos mongeneos, semitransparentes, y generalmente se encuentran en aletas, piel y branquias, cuyos tamaños alrededor de 0.5 mm de largo. Los hallazgos de este estudio permitieron demostrar que el género Gyrodactylus (Figura 5) se encontró parasitando únicamente a nivel de aletas (13 especímenes), descartándose en otras regiones del cuerpo; estos resultados coinciden con lo reportado por Osanz (2001), quien afirma que estos parásitos pueden encontrarse principalmente en la piel, aletas, espinas y branquias.

Generalmente, tienen forma alargada; la parte anterior (Prohaptor) dispone de ventosa oral, que rodea la boca, seguido por aparato digestivo y reproductivo, en la parte media tiene macro ganchos ubicados en la región ventral. La región posterior (Opistohaptor), dispone de estructuras de fijación, formada por un par de anclas, barras y un prominente escudo con ganchos marginales. Las especies de pez parasitadas con este organismo fueron: Mojarra, Istatagua, Tilapia y Guapote tigre. Según Scott y Anderson (1984), estos parásitos tienen muchos atributos biológicos favorables para persistir en vertebrados, tales como la capacidad de reproducirse vivíparamente sobre el hospedador en periodos cortos.

En contraste, el género Dactylogyrus sp (Figura 6) se pudo demostrar que las especies de pez con mayor nivel de parasitismo fueron: Mojarra, Tilapia, Istatagua y Guapote tigre, principalmente a nivel de branquias. Al igual que el género antes descrito, éste es semitransparente, pudiendo observarse algunas estructuras internas. Según estudio realizado en Turquía en cuatro tipos de agua dulce, lograron determinar que la variación

estacional y tamaño del hospedador estaban relacionadas entre sí.

Cuando se comparó la presencia de trematodos monogeneos con las especies de peces dentro del estudio, chi-cuadrado (34.500,P= 0.000), se pudo determinar que las especies de peces estudiadas están relacionada con este grupo de parásitos.

Figura 5. *Gyrodactylus* sp.

***Diplostomum compactum* (Lutz 1928)**

El parásito es un trematodo digeneo, y su estadio inmaduro (metacercaria) se encontró parasitando el globo ocular a nivel del cristalino (Figura 7) en todas las especies de peces del estudio. Este parásito tiene forma alargada en forma de lanza (Figura 8), dispone de una ventosa oral (región anterior), dos ciegos que recorren todo el cuerpo del espécimen. En la región posterior tienen un acetábulo de mayor tamaño que la ventosa oral.

El estado adulto de este género parasitario se desarrolla en intestino de las aves piscívoras, y para este caso particular se sospecha de garzas y cormoranes (*P. brasilianus*), pues son parte de la fauna del humedal; este último, se considera una especie invasora, según publicaciones del Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales (MARN 2013). En varios estudios realizados en América, se ha podido establecer presencia de este parásito en tilapias y otras especies de peces de interés comercial; de igual manera en México, (García, *et al.* 2009), descubrieron altas prevalencias de metacercarias en tilapias.

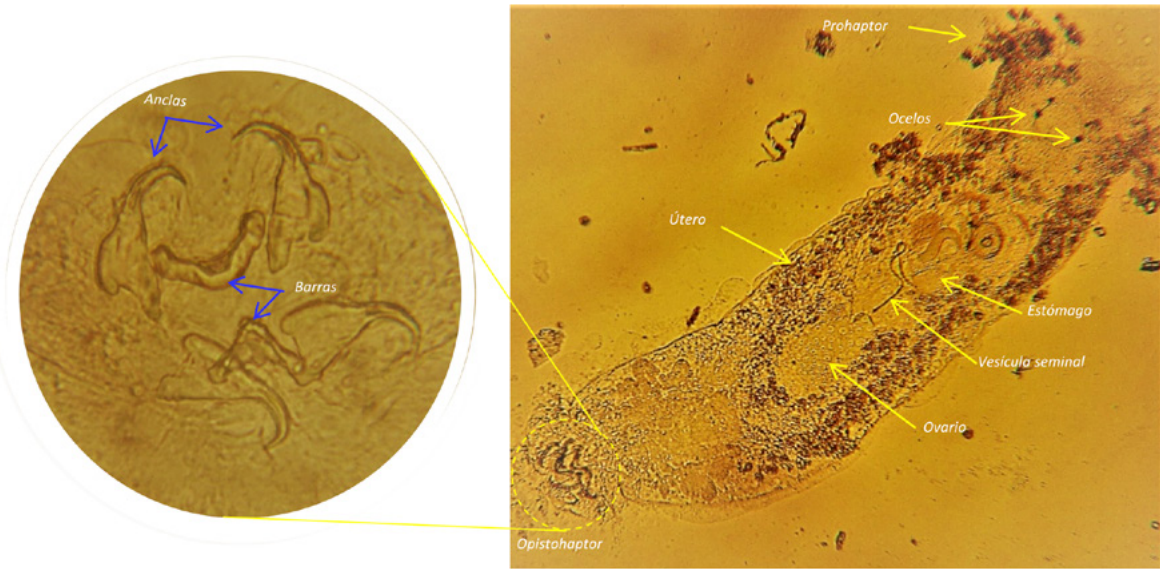


Figura 6. *Dactylogyus* sp.

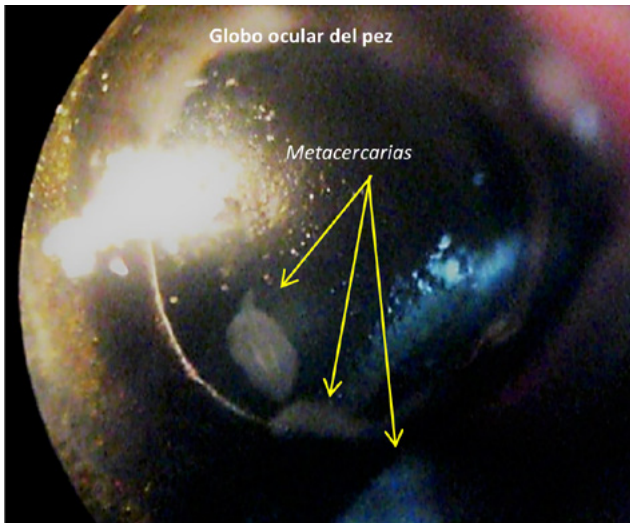


Figura 7. *Diplostomum compactum*

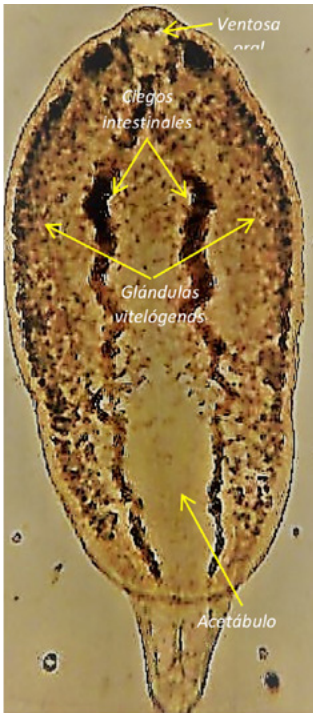


Figura 8. *Diplostomum*

Clinostomum complanatum (Rudolphi 1814)

Es un trematodo digeneo en estado larvario (metacercaria), el cual se encontró en el interior de un pequeño quiste de color amarillento sobre la piel de la región dorsal y aletas de mojarras.

Las larvas presentaron cuerpo aplanado dorso ventralmente (Figura 9), fue posible observarlo a simple vista, pues su tamaño ronda entre 3-4.5 mm y un ancho de 1- 1.3 mm, presenta una ventosa oral, un acetábulo, ciegos intestinales a lo largo del cuerpo, testículo anterior y posterior, y un ovario ubicado anatómicamente entre ambos testículos. Este parasito está reportado como zoonótico, ya que en Corea del Sur se tuvo un caso de faringitis en una persona causada por esta especie (Dong-Il, *et al.* 1995).

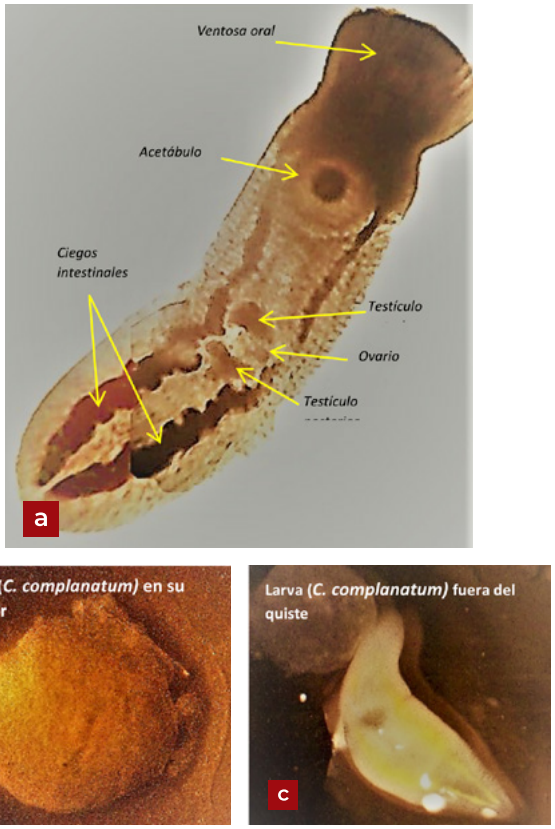


Figura 9. a) *Clinostomum complanatum complanatum*; b) quiste en su interior; c) larva fuera del quiste

Crassicutis cichlasomae (Manter, 1936)

Este es un parásito digeneo adulto (Figura 10), tiene un cuerpo oval con una ventosa oral, esófago corto, seguido por ciegos intestinales bifurcados en la misma dirección que los folículos vitelinos. Se encontraron a nivel de intestinos de todas las especies de peces

muestreadas.

El mismo género parasitario, fue reportado en Costa Rica por Bravo-Hollis y Arroyo (1936), en estudio realizado en Guanacaste. También Salgado (2006), reportó el mismo género en distintas cuencas hidrológicas de México en donde han registrado en 25 especies de peces cíclidos. Cuando se compara la presencia de este grupo parasitario (digeneos) con las especies de peces dentro del estudio, chi-cuadrado (61.045,P=0.000) se pudo establecer una relación entre los parásitos y las especies de peces.

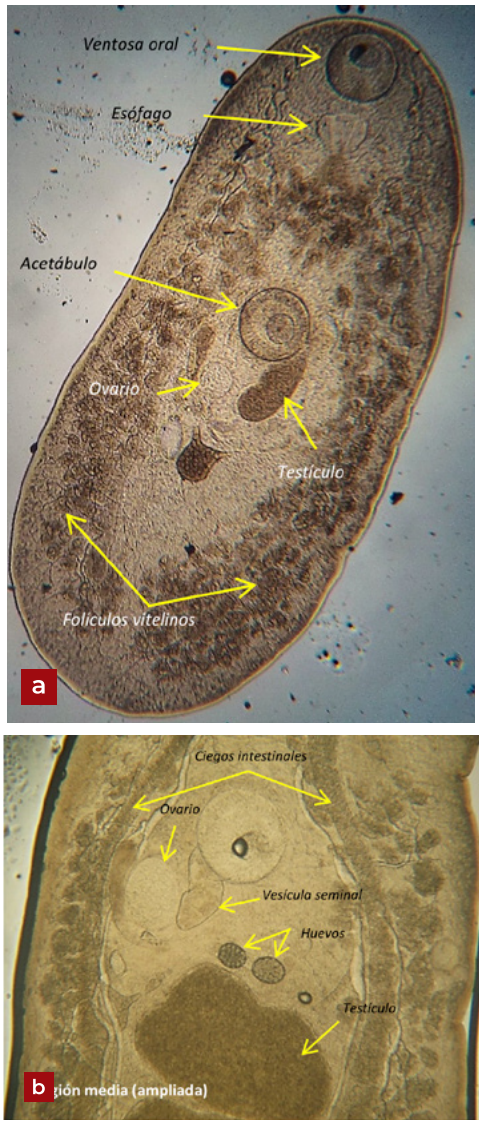


Figura 10. a) *Crassicutis cichlasomae*; b) región media ampliada.

Valipora mutabilis (Linton, 1927)

Es un metacéstodo (fase larvaria) que se encontraron en forma libre (Figura 11) dentro de la vesícula biliar de Mojarra negra y Guapote roncador, (60 especímenes en total); estas larvas (Figura 12) tenían una longitud que ronda los 500 µm de largo y 150 µm de diámetro. Este mismo parásito fue reportado por Pinto *et al.* (2004), en un estudio realizado a aves acuáticas en pantanos brasileños. De igual manera Scholz y Salgado (2001) en México, Guevara (1983) encontró el mismo espécimen parasitario. La fase adulta se desarrolla en el intestino delgado de aves piscívoras como garzas y cormoranes (hospedadores definitivos). La biología de este parasito no es tan conocida, aunque se cree que los peces se infestan cuando se alimentan de crustáceos que poseen plerocercoides. Mediante la prueba de chi-cuadrado (7.502, P=0.186) se pudo demostrar que la especie de pez no está influenciada por este parasito, es decir que todas las especies podrían ser parasitadas.

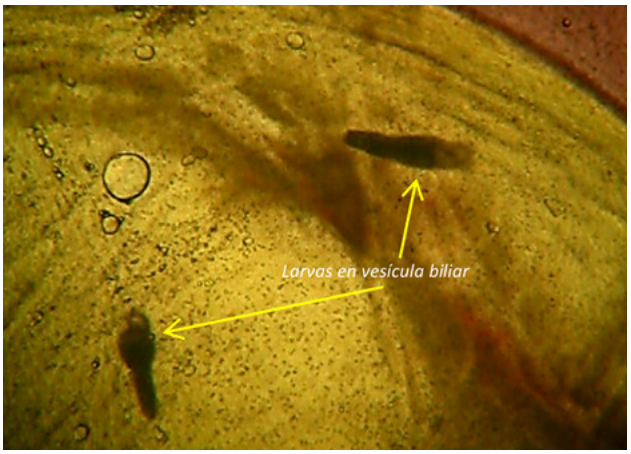


Figura 11. Larvas de *V. mutabilis* en vesícula biliar.

Figura 12. *Valipora mutabilis*

Neoechinorhynchus sp.

Estos son gusanos acantocéfalos (Figura 13) que se caracterizan por poseer una probóscide espinosa retráctil, la cual sirve para penetrar la pared intestinal de los peces; son de sexo separado, las hembras son de mayor tamaño que los machos. En este estudio se encontraron únicamente dos, a nivel de intestino de mojarras. Los machos tienen un tamaño que ronda entre 800-1105 µm de largo y 264-368 µm de ancho, mientras las hembras tienen 724-3,190 µm (Vidal *et al.* 2002); Brito-Porto. *et al.* (2017) descubrieron una nueva especie de *Neoechinorhynchus* en peces Siluriformes del lago Catalao en Brazil, mientras que Alava J.J. y Aguirre W.E. (2005) reportaron el mismo género en peces marinos *Micropogonias altipinnis*, mediante el uso de microscopía electrónica.

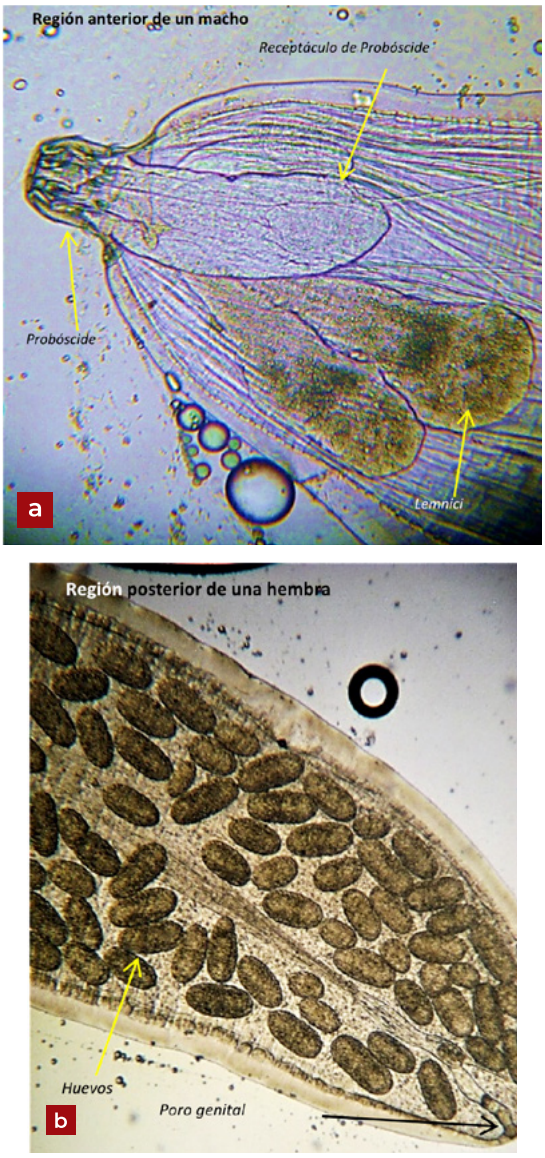


Figura 13. *Neoechinorhynchus* sp. a) región anterior de un macho; b) región posterior de una hembra.

Contracaecum sp.

De este género parasítico, se encontraron dos especímenes a nivel del hígado en Tilapia y Mojarra Negra. A pesar de tener una baja prevalencia, es uno de los pocos parásitos con capacidad zoonótica. Los hospedadores definitivos de los miembros de este género son aves piscívoras, y en este caso se sospecha principalmente del ave cormorán (*P. brasilianus*).

Según Anderson (1992), su tercer estadio larvario

se presenta generalmente encapsulado, siendo el humano un hospedador intermediario de manera accidental, por el consumo de carne de pescado crudo.

Cuando se comparó la presencia de este nematodo con las especies de peces capturadas, la prueba de chi-cuadrado (3.579, P= 0.612), por lo que se concluye que no existe relación entre estos parásitos y las especies de peces estudiadas, ya que comparten el mismo cuerpo de agua y las condiciones ambientales, incluyendo el posible hospedador definitivo.

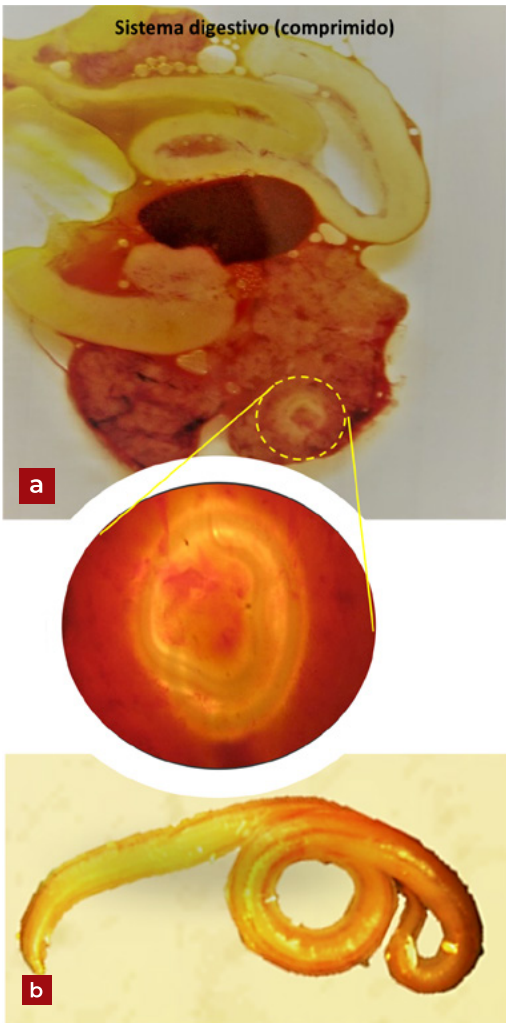


Figura 14. a) Sistema digestivo comprimido; b) *Contracaecum* sp. (L3)

CONCLUSIONES

Los resultados del estudio permitieron demostrar que la composición de los peces de importancia comercial del embalse Cerrón Grande, para el período analizado, fueron: Mojarra negra (*Amphilophus macracanthus*) 35.90 %, Guapote tigre (*Parachromis managuense*) 29.40 %, Tilapia (*Oreochromis niloticus*) 24.36 %, Guapote roncador (*Pomadasys grandis*) 5.77 %, Istatagua (*Cichlasoma trimaculatum*) 3.85 %, y Carpa china (*Ctenopharyngodon idellus*) 0.64 %, lo cual podría poner en evidencia la presión de estos recursos.

La prevalencia general (poliparasitismo) para todas las especies de peces, durante el periodo del estudio, fue de 65 %, epidemiológicamente es un valor elevado, que de alguna manera afecta la ictiofauna, principalmente aquellas especies con mayor nivel de prevalencia, como Mojarra negra, Tilapia e Istatagua (91.07 %, 68.42 % y 66.67 % respectivamente). Los grupos parasitarios más abundantes (intensidad) en orden descendente fueron Trematodos monogeneos, seguidos por Trematodos digeneos, cestodos, nematodos y acantocéfalos. En general, la fauna parasitaria encontrada es variada, agrupada en Trematodos monogeneos y digeneos; Cestodos y Nematodos, y dentro de éstos especial atención a aquellos parásitos de carácter zoonótico como *Clinostomum complanatum* y *Contracaecum* sp.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue realizada con el apoyo financiero de la Universidad de El Salvador, Centro América.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alava, JJ; Aguirre WE. 2005. Scanning electron microscopy of *Neoechinorhynchus* sp.

(Acanthocephala: Neoechinorhynchidae), a possible new species of intestinal parasite of the Tallfin croaker Micropogonias altipinnis. Parasitol Latinoam 60:48-53.

Anderson, R.C. 1992. Nematode Parasites of Vertebrates. Their Development and Transmission. 2nd Edition. CABI Publishing, Wallingford, Oxon (UK), 650 pp.

Akinsanya, B; Hassan, A y Adeogun AO. 2008. Gastrointestinal Helminth Parasites of the fish *Synodontis clarias* (Siluriformes: Mochokidae) from Lekki lagoon, Lagos, Nigeria. Rev. Biol. Trop. Vol. 56

Banco Central de Reserva (BCR). 2012. Revista trimestral (en línea). SV. Consultado_13_mar._2013._Disponible_en:_http://www.bcr.gob.sv/bcrsite/uploaded/content/category/1821540352.pdf.

Bravo-Hollis, M. y Guido A. 1962. Tremátodos de peces de Costa Rica. 1. Sobre dos especies del género *Crassicutis* Manter 1936, (Lepocreadiidae Nicoll, 1914) del intestino de *Cichlasoma* sp. Rev. Biol. Trop. 10 (2): 229-235.

Brito-Porto, D; Silva-de Souza, AK y Oliveira-Malta, JC. 2017. A new species of *Neoechinorhynchus* (Eoacanthocephala: Neoechinorhynchidae) from the freshwater fish *Ageneiosus inermis* (Siluriformes) in the Brazilian Amazon. Revista Mexicana de Biodiversidad Taxonomy and sistematics 798–800

Bakke TA & PD Harris. 1998. Diseases and parasites in wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) populations. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 55 (Suppl. 1): 247-266.

Dong-Il C.; Cgu-Hwan, M. y Hyun-Hee, K. 1995. The first human case of *Clinostomum complanatum* (Trematoda: Clinostomidae) infection in Korea. The Korean Journal of Parasitology. Vol. 33, N°. 3 219-223.

Scott, ME y Anderson RM. 1984. The population dynamics of *Gyrodactylus bullatarudis* (Monogenea) within laboratory populations of the fish host *Poecilia reticulata*. Parasitology:89, 159-194 159

FUSADES (Fundación Salvadoreña para el Desarrollo Económico y Social). 2012. Informe de Coyuntura Económica: primer trimestre de 2012 (en línea). Consultado el 12 mar. Disponible en: http://fusades.org/sites/default/files/investigaciones/informe_de_coyuntura_trimestre_i_2012_protegido.pdf

García, MI; Muñoz AB; Amaya, AI; Roldan PI; Moreno, AG. 2009. Manual de laboratorio de Parasitología, Cestodos (en línea). Revista Reduca (Biología). Serie Parasitología. 2(5):1-36. Consultado 05 ene 2013. Disponible en: http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/viewFile/805/819

Guevara, FE. 1983. Estudio limnológico preliminar del embalse artificial Cerrón Grande. Universidad de El Salvador. 118 p.

Hepher, B; Pruginin, Y. 2001. Cultivo de peces comerciales Trad. LF Canudas. 5a. ed. D.F. MX. Limusa. 316 p.

Hernández Ocampo, D. 2012. Diagnóstico y transmisión de Helmintos introducidos en peces exóticos del Estado de Morelos, Mexico Tesis Dr. MX. Universidad Autonoma de Queretaro. 50p.

IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura) /MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería). 2011. Caracterización de la cadena productiva de acuicultura (tilapia), (en línea). SV.Consultado14ene.2013.Disponible_en:_http://www.iica.int/Esp/regiones/central/salvador/Documents/Documentos%20PAF/caracterizacion_acuicola_tilapia.pdf

Lacasa Millan, MI. 1993. Introducción a la parasitofauna de peces ciprinidos de la

cuenca media del rio Llobregat. Tesis Dr. ES. Universidad autónoma de Barcelona. 393p.

Lamothe Argumedo, R. 1994. Importancia de la helmintología en el desarrollo de la acuacultura_(en_línea). MX._ Consultado_14_ene._2013. Disponible en: http://www.biblioteca.org.ar/libros/91627.pdf

MARN (Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2013. Pato Chancho invade Cerrón Grande (en línea). Consultado 12 feb. 2015. disponible en: http://www.marn.gob.sv/index.php?option=com_content&view=article&catid=1:noticias-ciudadano&id=1787:pato-chancho-invade-cerron-grande&Itemid=227

Osanz, A. 2001. Presencia de larvas de anisákidos (Nematoda: Ascaridoidea) en pescado de consumo capturado en la zona pesquera de Tarragona. (en línea) Tesis Dr. en Veterinaria. Barcelona. Universidad Autónoma de Barcelona. 223 p. Disponible en: http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5628/acom1de2.pdf?sequence=1

Rubio, MG. 2010. Inmunología de los peces óseos. Revisión (en línea). Revista. Mex. De cienc. pecuarias. 1(1):47-57. Consultado 22 dic. 2014. Disponible en: http://www.redalyc.org/pdf/2656/265620245004.pdf

Salgado Maldonado, G. 2006. Checklist of helminth parasites of freshwater fishes from_Mexico_(en_linea)._Consultado_30_dic_2014_disponible_en:_http://www.mapress.com/zootaxa/2006f/zt01324p357.pdf

Salgado Maldonado, G. 2009. Atlas de helmintos de peces de agua dulce de México las especies más comunes de helmintos. (en línea). Consultado 25 nov. 2013. Disponible_en:_http://www.ibiologia.unam.mx/pdf/directorio/s/salgado/manual/manual_prac_parasitol.pdf

Salgado Maldonado, G; Osorio Sarabia, D. 1987. Helmintos de algunos peces del Lago de Pátzcuaro, Michoacán. MX. Ciencia y Desarrollo CONACyT mayo - junio. no. 74:41 - 57.

Sanmartín. ML; Quintero. P; Santamaria. MT; Iglesias. R; Leiro. J; Ubeira; FM. 1994. Nematodos parásitos en peces de Costas Gallegas, Madrid, ES, Díaz de Santos, S.A. 80.p.

Scholz, T; Salgado-Maldonado, G. 2001. Metacestodes of the family Dilepididae (Cestoda: Cyclophyllidea) parasitising fishes in Mexico. Systematic Parasitology. 49: 23–40.

Scott, M., & Anderson, R. 1984. The population dynamics of Gyrodactylus bullatarudis (Monogenea) within laboratory populations of the fish host Poecilia reticulata. Parasitology, 89(1), 159-194. doi:10.1017/S0031182000001207

Ulloa-Ulloa, L.A. 2008. Determinación de parásitos en pescados más comercializados, en los mercados 10 de noviembre y 24 de mayo (bellavista), ubicado en el cantón Guaranda, provincia bolívar. Tesis Lic. EC. Universidad estatal de bolívar. 96 p.

Vidal Martínez, VM; Aguirre Macedo, LM; Sholz, T; Gonzales Solis, D; Mendoza Franco, EF. 2002. Atlas de los helmintos Parásitos de ciclidos de México. Instituto Politécnico Nacional (en línea).MX. Tresguerras. 184 p. consultado el 14 mar. 2013. Disponible en:http://www.ciclidos-Mexico.com/articulos/helmintos%20en%20los%20ciclidos.pdf

ESTUDIO DE CASOS

Revista
MINERVA
Plataforma digital de la revista: https://minerva.sic.ues.edu.sv

Desequilibrio oclusal y su influencia en la alineación vertebral: Un ensayo en ratones

Occlusal imbalance and its influence on vertebral alignment: An experiment in mice

Ana Alexandra Escobar-Majano[1], Ligia Elena Escobar-Rivas[1], Sandra Guadalupe Góngora-Renderos[1], Óscar Emerson Mártir-Ventura[1], Muriel Denisse Rivera-López[1], Carmen Cecilia Santeliz-Flores[1], Douglas Oswaldo Escobar-Osegueda[2], José Guillermo Mejía-Valencia[3]

RESUMEN

En ortopedia maxilofacial y ortodoncia se ha demostrado la relación de los desequilibrios oclusales del sistema estomatognático y su influencia sobre la ergonomía corporal, sobre todo en la columna vertebral en pacientes con problemas dento-maxilares; por lo tanto, el objetivo de este estudio fue comprobar si un desequilibrio oclusal inducido, afecta en la alineación de la columna vertebral en ratones de laboratorio. **Materiales y métodos:** La muestra consistió en 10 ratones (*Mus musculus*) de 14 semanas de edad, divididas en dos grupos. Se tomaron radiografías iniciales a ambos grupos (tratamiento y control), para este procedimiento se sedaron a los ratones, se fijaron a las varillas de una caja metálica utilizando líneas de referencia y se pusieron en ligera tracción. Después de obtenidas las radiografías iniciales se colocó al primer grupo (tratamiento) un botón de resina de color azul, el cuál utilizaron por una semana y al segundo grupo (control) no se colocó nada. Posteriormente se procedió a la toma de una radiografía a ambos grupos para verificar la presencia o ausencia de desviación en la columna vertebral. **Resultados:** Para la evaluación radiográfica se midió la línea vertical o plomada en relación con la línea centro-sacra. Los resultados del estudio revelaron que aquellos ratones en los que se colocó el botón oclusal, la columna vertebral presentó desviación significativa al paso de una semana. **Conclusiones:** Se ha demostrado que un desequilibrio oclusal puede influir en la alineación vertebral en ratones induciendo como resultado una escoliosis leve.

Palabras Clave: Oclusión dental, Postura corporal, Interferencia oclusal, Escoliosis, Sistema estomatognático.

1 Práctica disciplinar profundizada de ortodoncia, Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador.
2 Área de ortodoncia y ortopedia maxilofacial.
3 Laboratorio de Experimentación Animal del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador.

Este es un artículo bajo la licencia CC BY NC (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

ABSTRACT

In maxillofacial orthopedics and orthodontics has been demonstrated the relationship between the occlusal disharmonies of stomatognathic system and its influence of the body ergonomics (posture), overall in the spine in patients with dento-maxillary issues; therefore, the objective of this study was to verify if an occlusal imbalance induced, affects the alignment of the spine in laboratory mice. **Materials and methods:** The sample consisted of 10 mice (*Mus musculus*) 14 weeks old, which were divided into two groups. Previous radiographic shots were taken to both groups (treatment and control), the mice were sedated and fixed to the rods of a metal box using reference lines and they put in slight traction. After obtaining the initial radiographs it was placed at first group (treatment) a button of blue-colored resin which they used for one week and to the second group (control) nothing was placed. A control radiograph was then taken to both groups to verify the presence or absence of deviation in the spine. **Results:** For the radiographic evaluation the vertical or plumb line was measured in relation to the vertical center sacral line. The results of the study revealed that those mice in which the occlusal button was put in the molar of the left side the vertebral column presented significant deviation at the passage of one week. **Conclusions:** It has been demonstrated that an occlusal imbalance can influence the vertebral alignment in mice inducing as a result a mild scoliotic.

Keywords: Dental occlusion, Body posture, Occlusal interference, Scoliotic, Stomatognathic system.

INTRODUCCIÓN

Existe una atracción progresiva en el estudio de la relación que hay entre la oclusión y la postura, debido a una mayor incidencia de dolor en el cuello y el tronco en pacientes con disfunción oclusal. En odontología, el estudio de la relación entre los problemas dento-maxilares y la columna, es de creciente interés. Hay varias condiciones que impiden la alineación normal del tronco en el plano frontal, y podría ser interesante investigar si estas condiciones también afectan la oclusión dental y viceversa.[1]

Simões en 2010 menciona que existe relación entre la maloclusión y el aumento permanente de la curva cervical hacia la verticalización y la lordosis o cifosis cervical patológica.[2] Además, Bartolucci en el 2015, señala que la forma y posición de las vértebras cervicales pueden estar alteradas cuando existe una maloclusión dental.[3]

En décadas recientes se ha sugerido que las alteraciones en el sistema estomatognático como las mal oclusiones, pueden influenciar completamente la postura del cuerpo. Por este motivo, un número creciente de pacientes buscan un tratamiento concomitante para las maloclusiones dentales y las alteraciones posturales.[4-5]

En una maloclusión dental, como una mordida cruzada, la asimetría mandibular funcional es detectada y controlada según los modelos de regulación posturales, de modo que se modifica el patrón habitual y se genera otro configurado en el sistema nervioso central, provocando un tono diferente en los músculos masticatorios con compensaciones a diferentes niveles. Inicialmente, el cambio es funcional, pero de mantenerse, puede ser definitivo por el desarrollo óseo posterior.[6]

Pero, ¿por qué considerar este binomio entre postura corporal y maloclusión como una condición tan estrechamente relacionada? Fundamentalmente, se debe considerar que los músculos posturales mandibulares son parte de la cadena muscular que permite al individuo permanecer de pie con la cabeza erguida. Cuando se producen cambios posturales, las contracciones musculares a nivel del sistema estomatognático cambian

la posición mandibular, porque la mandíbula busca y adopta nuevas posiciones ante la necesidad de funcionar. La columna juega un papel muy importante en la postura corporal; al estar alterada, se puede caracterizar de tres formas: a) Tipo descendente, donde el origen puede ser un problema de maloclusión dental o de la articulación temporomandibular; b) Tipo ascendente, donde el origen puede estar relacionado con problemas de los miembros inferiores, en la columna o en el apoyo plantar y c) Tipo mixto, donde participan los dos anteriores. Una maloclusión dental no solo se puede relacionar con la posición de la mandíbula y del cráneo, sino también con la columna cervical, las estructuras supra e infrahioideas, los hombros, la columna torácica y lumbar,[7] que simultáneamente funcionan como una unidad que define la relación biomecánica que existe entre el sistema estomatognático y la columna cervical.8 El octógono de la prioridad funcional a la que hacen referencia involucra la interrelación del cuello, cabeza, columna vertebral, pasaje de aire, mandíbula, lengua, área infrahioidea y articulación temporomandibular (ATM).[2] Todas estas estructuras dan estabilidad ortostática al cráneo sobre la columna cervical que, si se ve comprometida, influye en la etiología de las disfunciones craneomandibulares y del dolor orofacial. Esto debido a que se determina la ubicación espacial de la mandíbula influenciada por estructuras anatómicas asociadas con la oclusión dental. Tal es el caso de los músculos masticadores que, al alterarse, pueden producir disfunciones del sistema craneomandibular.[7]

Como bien lo expone Frenck (2015), cuando existe una alteración del contacto oclusal anterior y falta de cierre labial (gap labial), el hioides se altera y el paciente tiende a levantar la cabeza para respirar y pierde el plano de visión, alterando la posición de la columna.[9]

De igual manera relaciona Rocabado (s.a) en su descripción de la posición ortostática de la cabeza con la posición de equilibrio maxilo-mandibular, en la que se produce una extensión de la cabeza asociada a la apertura bucal o descenso mandibular, y flexión de la cabeza asociada al cierre bucal o elevación mandibular, así mismo del equilibrio transversal necesario que debe existir entre la cabeza y cintura escapular del 50% del lado derecho con el 50% del lado izquierdo.[8]

Estudios realizados por Gribel (2002) en Brasil, quien habla de cómo las alteraciones oclusales como la mínima dimensión vertical del lado izquierdo, favorece la desviación mandibular hacia ese lado, debido a la actividad muscular llevando la mandíbula al cierre lo más cercano posible a la base craneal.[10]

Está demostrado por tanto que es imposible hablar de esta temática dejando de lado tantas estructuras anatómicas importantes y que sin duda alguna juegan un papel más que preponderante en el mecanismo de acción cráneo-vertebral normal.

Es por eso que el odontólogo no debe ignorar esto, debiendo integrar todos los conocimientos, para que junto a los demás elementos con que cuenta, pueda dilucidar de manera certera la procedencia de algunos síntomas relacionados a este complejo.[11]

Por tanto, el objetivo de este estudio fue comprobar de manera preliminar, sí un desequilibrio oclusal influencia la alineación de la columna vertebral en ratones de laboratorio, por medio de un modelo de maloclusión inducida en roedores, con lo que se estarían validando las diferentes aseveraciones de los autores y estudios realizados en relación al mal alineamiento de los dientes y su influencia en la postura corporal.

METODOLOGÍA

Descripción general

El estudio se realizó conforme a lo establecido en las guías del Manual sobre el Cuidado y Uso de los Animales de Experimentación del Consejo Canadiense de Protección de los Animales (CCAC, 1998).[12]

Animales

Se utilizaron 10 ratones (Mus musculus) de la cepa NIH (National Institute of Health) procedentes del Laboratorio de Experimentación Animal (LEA) del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador.

Los ratones utilizados se encontraban en estado adulto de 14 semanas de vida, nulíparas y no grávidas cuyo peso osciló entre 25 y 30 g. Todos los animales se mantuvieron a una temperatura y humedad relativa controlada de 22 ± 2 °C y entre 50 - 60% respectivamente, con un ciclo luz y oscuridad de 12 horas, marcados con ácido pícrico para su identificación individual. Todos fueron examinados clínicamente antes de cada ensayo para certificar su estado de salud. La alimentación consistió en dieta a base de concentrado para roedores y agua ad libitum. Estos se dividieron en un grupo tratamiento de 5 ratones, y los 5 restantes conformaron el grupo control.

Anestesia

Para la toma radiográfica y la colocación del botón de resina, se procedió a sedar a los ratones con Xilacina al 2% y Ketamina de 50 mg/ml; se pesó a cada ratón para poder dosificar de la forma correcta y se trabajó con un peso promedio de 26.7 g. La dosis administrada se mezcló en una jeringa de tuberculina de 1ml/cc con la proporción de 0.03 ml de Ketamina y 0.005 mg de Xilacina en 0.1ml que se obtuvo de la mezcla de 0.01 ml Xilacina diluida en 0.2 ml de agua destilada. La vía de administración fue por vía intraperitoneal a un volumen de 0.1 ml para cada ratón.

Colocación del botón de resina

Al grupo tratamiento, posterior a la radiografía inicial, se le creó una disfunción en la posición de mordida al colocarle un botón de resina de color azul en el primer molar superior izquierdo como un contacto prematuro, levantándolo aproximadamente 0.5 mm y se indujo así aun posible desequilibrio oclusal (Figuras 1 y 2). Al segundo grupo (control) no se le colocó nada.

Para esto el operador utilizó un adhesivo fotopolimerizable color azul (Transbond™ Plus de la casa comercial 3M); que ayudó a observar fácilmente el material al momento de la colocación, a través de una punta angulada, desechable, que permitió aplicarlo directamente sobre la superficie oclusal del primer molar superior izquierdo, lo que redujo la posibilidad de contaminación. Mientras que el otro utilizó una lámpara de luz LED y se fotopolimerizó por 20 segundos.

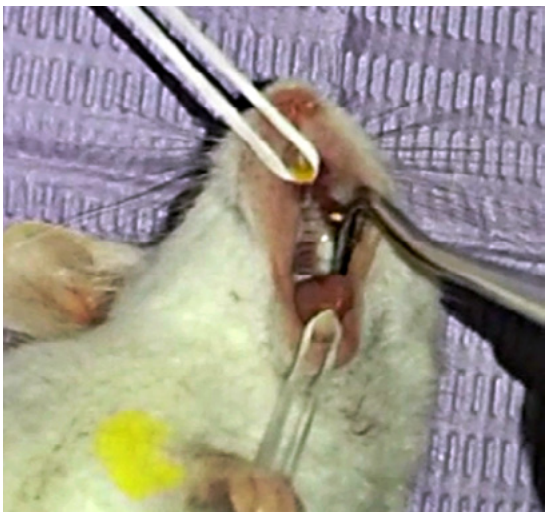


Figura 1. Fotografía intraoral del antes de la colocación del botón oclusal.

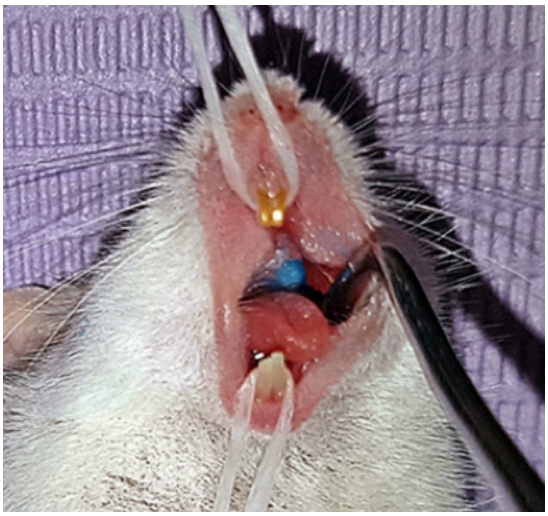


Figura 2. Fotografía intraoral con el botón oclusal azul colocado en el primer molar superior izquierdo

Toma de radiografías

Los ratones del grupo tratamiento, usaron el botón de resina de color azul por una semana y posteriormente se les realizó otra toma radiográfica de cuerpo completo para evaluar si hubo un cambio en la alineación de la columna vertebral como respuesta a este desequilibrio inducido. Ambos grupos fueron expuestos a una toma radiográfica en el plano frontal previo al inicio del experimento, y a otra de control después de transcurrida una semana, con un aparato de rayos X estacionario, cielítico quantum, modelo visión rad, con una técnica radiográfica de 46kv, 150mA y 0.004Mas. La distancia entre el foco y la mesa fue de 40 pulgadas sin Bucky. Fueron usadas películas radiográficas Carestream, base poliéster sensible al verde, tamaño (6 ½ x 8 ½ pulgadas), y se obtuvieron a través de una procesadora automática de revelado Marca Kodak Modelo RPX-OMAT PROCESOR.

Para que la toma de radiografías fuera lo más exacta posible en todos los animales, se utilizó una caja metálica sin tapa ni fondo de 24cm de largo x 15cm de ancho x 10cm de alto, con dos barras horizontales desplazables por unos rieles laterales, que se ajustaban con unas roscas para fijar a los animales apoyados sobre su espalda, y después ponerlos en tracción a través de cada una de sus extremidades delanteras y traseras, por medio de cuatro cordones de 3cm de largo sujetas a unos pilares verticales en las barras. Se dibujaron unas líneas de referencia en la mesa radiográfica para que la colocación de la caja metálica quedara en la misma posición durante todas las tomas radiográficas.[13]

Evaluación radiográfica

Para evaluar la presencia de la curvatura en la columna vertebral en los ratones estudiados, se recurrió a la medición de la línea vertical o plomada C7 (LPC7), para cuya obtención se traza en la radiografía frontal, desde el centro del cuerpo vertebral C7 hacia caudal, paralela al borde lateral de la radiografía; y la línea vertical centro-sacra (LVCS) atraviesa el punto medio del platillo superior de S1, en sentido vertical y paralela al borde lateral de la radiografía frontal. Su utilidad radica en permitir una mejor identificación del ápex de las curvas y es punto de referencia para la evaluación del balance coronal de la columna vertebral.[14]

Análisis estadístico

Se utilizó el programa Statistical Package for the Social Sciences/Paquete Estadístico para las Ciencias Sociales (SPSS), para analizar los datos. Las pruebas utilizadas en el estudio para contrastar la hipótesis de igualdad de varianzas, fue el estadístico de Levene y el Analysis of variance/Análisis de la varianza (ANOVA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del estudio revelaron que en las radiografías iniciales previas a la intervención se presentó una ligera desviación en la columna vertebral, lo cual corresponde a la escoliosis fisiológica que poseen los ratones (Figura 3) y desde el momento en que se trazó la primera

serie de radiografías midiendo la línea vertical o plomada en relación con la línea vertical centro-sacra.

Aquellos ratones en los que se colocó el botón oclusal en el molar del lado izquierdo -grupo tratamiento- la columna vertebral presentó curvatura significativa al paso de una semana, sin tendencia hacia un lado en específico (Figura 4).

Está investigación está basada en estudios anteriores, donde se ha demostrado que existe evidencia de prevalencia entre las maloclusiones asociadas a escoliosis,[15-16] dolor en los músculos del cuello, espalda, ATM,1,7 interacción con la postura corporal,[17] incluyendo asociación entre reducción del rango de movimiento lateral y escoliosis.[16]

Además, de provocar un desequilibrio oclusal en un grupo de ratones a través de la colocación de un botón de resina, para comprobar si generaba algún tipo de influencia en la alineación de la columna vertebral, por medio de un análisis radiográfico. El método empleado para tomar radiografías, fue principalmente concebido para asegurar la estandarización y reproductibilidad del procedimiento radiográfico. Los procedimientos descritos previamente en la toma de las radiografías permitieron emplear el mismo procedimiento de posicionamiento para todos los ratones.

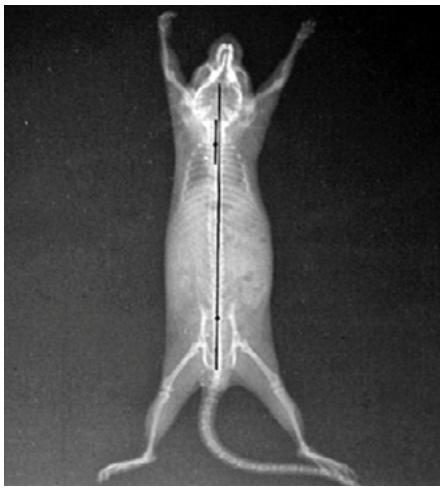


Figura 3. Radiografía inicial que muestra la escoliosis fisiológica de los ratones.

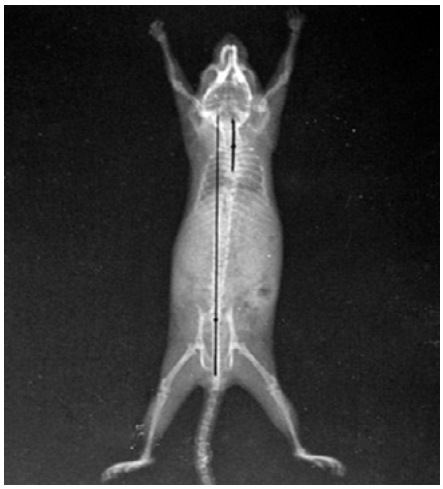


Figura 4. Radiografía después de una semana de uso del botón de resina oclusal.

Para el grupo control al que no se le colocó ningún botón de resina, una vez transcurrida la semana se tomó una radiografía de control y se trazó para verificar si había ocurrido cambio alguno, sin embargo, éste se mantuvo dentro del rango considerado como desviación fisiológica en su posición normal y sin presencia de desbalances. Para la elección del período de tiempo de la utilización del contacto prematuro (una semana), se consideró el promedio de esperanza de vida de un hombre de 70 años y el promedio de un ratón de dos años, junto con el promedio de tiempo necesario en humanos para la aparición de los primeros síntomas de las patologías de la articulación temporomandibular (ATM), después de una alteración de la oclusión, la cual se calculó que sería de seis meses.[1]

El estadístico de Levene arrojó un valor de 0.019 para el grupo tratamiento, lo que nos permite rechazar suposición de igualdad de varianzas, habiendo diferencias significativas en este grupo (Tabla 1).

Tabla 1. Prueba de homogeneidad de varianzas.

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Distancia Desviación 1 (antes del tratamiento)	0.019	1	8	0.893
Distancia Desviación 2 (después del tratamiento)	26.025	1	8	0.001*

Notas Cuadro 1. Los valores de las diferencias significativas (*) se expresan cuando P<0.05

En esta investigación, el descubrimiento más importante fue que el desequilibrio inducido por el botón de resina unilateral, el cual, causó un cambio revelador en la alineación de la vértebra C7. Además, que en el análisis del grupo tratamiento se encontraron valor de P en la alineación del segmento de vértebras considerado. Ésta evidencia permite postular que un desequilibrio oclusal puede contribuir a experimentar una escoliosis en ratones de laboratorio.

El análisis de la varianza mostró un nivel de significancia intra-clase, con un resultado de 0.003 por lo que se demuestra que existen diferencias significativas en las desviaciones entre ambos grupos después de administrado el tratamiento (Tabla 2).

Tabla 2. ANOVA.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Distancia Desviación 1 (antes del tratamiento)	Inter-grupos	1.806	1	1.806	1.592	0.243
	Intra-grupos	9.075	8	1.134		
	Total	10.881	9			
Distancia Desviación 2 (después del tratamiento)	Inter-grupos	7.656	1	7.656	17.376	0.003*
	Intra-grupos	3.525	8	0.441		
	Total	11.181	9			

Notas Cuadro 2. Los valores de las diferencias significativas (*) se expresan cuando P<0.05

Por lo anteriormente planteado, se puede aseverar que hay una diferencia estadísticamente significativa entre las columnas vertebrales de los ratones tratados antes y después de haber aplicado el botón de resina, donde se demostró nuevamente que al producir un desequilibrio oclusal, se puede inducir a una escoliosis. Al obtener la medición de la línea vertical o plomada en relación a la línea vertical centro-sacra. También se comprobó la influencia en la alineación de la columna vertebral en las radiografías del grupo tratamiento.

Por medio del análisis radiográfico que se realizó a través de la medición de la línea vertical o plomada C7, en relación a la línea vertical centro-sacra S1, una semana después; se pudo observar una evidente curvatura escoliótica en la columna vertebral de los ratones tratados, concordando así con otros resultados de investigaciones realizadas en ratas.[1,18]

Entre los resultados también se pudieron evaluar:

La media de las desviaciones de las columnas de los ratones en las radiografías iniciales del grupo tratamiento fue de 1.25mm, mientras que en grupo control fue de 2.1mm. La desviación típica en los del grupo tratamiento fue de 1.0, y la del grupo control fue de 1.126 (Tabla 3).

Tabla 3. Desviación en Radiografías iniciales.

Grupos	Media	N	Desv. Típ.
Grupo Tratamiento	1.2500	5	1.00000
Grupo Control	2.1000	5	1.12639
Total	1.6750	10	1.09956

En un estudio realizado anteriormente en ratas, en donde se indujo una mordida cruzada por medio de la colocación de una almohadilla de resina en el primer molar superior izquierdo durante una semana, el análisis radiográfico mostró que hubo un cambio significativo en la alineación de la vértebra T6 ($p<0.01$) y la vértebra T10 ($p<0.05$) en el grupo de ratas tratadas en relación con las no tratadas y las radiografías iniciales antes de la colocación de la almohadilla de resina.[1] La curvatura escoliótica observada en las ratas tratadas involucraron la región cervical y las deformidades vertebrales teniendo similitud a la escoliosis observada en este estudio, después de las lesiones inducidas en una semana por un desequilibrio oclusal.

La media de las desviaciones de las columnas de los ratones en las radiografías posteriores a la colocación del botón de resina del grupo de estudio fue de 3.6mm, mientras que en el grupo control fue de 1.85mm. La desviación típica fue de 0.89 en el grupo control, mientras que en el grupo de estudio el resultado fue de 0.28, siendo este menor, por lo tanto, con una concentración de los datos obtenidos más cercanos a la media (Tabla 4).

Tabla 4. Desviación después de la colocación del botón de resina.

Grupos	Media	N	Desv. Típ.
Grupo Tratamiento	3.6000	5	0.28504
Grupo Control	1.8500	5	0.89443
Total	2.7250	10	1.11461

En un estudio realizado en México donde utilizaron 36 ratas, al grupo tratamiento se le tomaron las radiografías previas a la colocación de un tope oclusal en el primer molar superior derecho, una vez transcurridas dos semanas, se le tomó una segunda serie de radiografías, en las cuales se apreciaron cambios en las columnas vertebrales de estas, sin algún patrón a seguir.[18] Coincidiendo con nuestro estudio en el cual no se apreció ninguna tendencia hacia un lado en específico en los ratones del grupo tratamiento, con la única diferencia que se lograron apreciar los cambios en la curvatura de la columna en el período de una semana.

En ocho de las diez radiografías iniciales se presenta una desviación hacia la izquierda, y dos hacia la derecha (Tabla 5).

Tabla 5. Dirección Desviación 1.

Grupos	Derecha	Izquierda	Total
Grupo Tratamiento	2	3	5
Grupo Control	0	5	5
Total	2	8	10

La asociación de la postura con las clases de Angle y los tipos faciales, plantea que normalmente se observa la anteriorización de la cabeza y el aumento de la cifosis torácica en los individuos con Clase II.[19]

En las radiografías posteriores a la colocación del botón de resina, se mostraron 7 ratones con desviación a la derecha y tres con desviación a la izquierda (Tabla 6), por lo que no se puede predecir la dirección de la inclinación vertebral.

Tabla 6. Dirección Desviación 1.

Grupos	Derecha	Izquierda	Total
Grupo Tratamiento	3	2	5
Grupo Control	4	1	5
Total	7	3	10

En otra investigación realizada en pacientes humanos, se estudiaron los diversos tipos de oclusión en sujetos con escoliosis,[16] los pacientes con escoliosis idiopática tienen características asimétricas de maloclusión en comparación con una población aleatoria, lo que lleva a aseverar que existe una relación directa entre los problemas dento-maxilares con alteraciones en la columna vertebral como la escoliosis.[20]

CONCLUSIONES

En conclusión, al ser un estudio demasiado corto se debe considerar más como un pequeño ensayo, y aun así podría influenciar en la alineación de la columna vertebral, debido al desequilibrio que se produce en la musculatura masticatoria y su relación con los músculos adyacentes, teniendo como un resultado que las interferencias oclusales observadas generan escoliosis leve en ratones de laboratorio.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Licda. Teresa de los Ángeles Reyes Paredes y a todo el personal de la Clínica de Radiología y Ultrasonografía de la Facultad de Medicina de la Universidad de El Salvador, quienes prestaron sus instalaciones para la realización de una parte de esta investigación. Al Dr. Gustavo Antonio Figueroa, Coordinador de la Clínica de Veterinaria de la Facultad de Agronomía de la Universidad de El Salvador por el apoyo en cuanto a instructoría, capacitación y acopio de medicamentos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. D'Attilio M, Filippi MR, Femminella B, Festa F, Tecco S. The influence of an experimentally-induced malocclusion on vertebral alignment in rats: a controlled pilot study. cranio. 2005; 23 (2): 119-129.

2. Simões W. Ortopedia Funcional de los Maxilares: a través de la Rehabilitación Neuro-oclusal. Tomo 1. 4ta ed.2010.

3. Bartolucci E. Curso de posturometría y fisioterapia en Odontología y Ortopedia Funcional Universidad Autónoma de San Luis Potosí, 2015.

4. Michelotti A, Buonocore G, Manzo P, Pellegrino G, Farella M. Dental occlusion and posture: an overview. Prog Orthod. 2011;12(1):53-8. doi: 10.1186/1748-7161-6-15.

5. D'Attilio M, Caputi S, Epifania E, Festa F, Tecco S. Evaluation of cervical posture of children in skeletal class i, ii, and iii. Cranio. 2005; 23:219-228.

6. Barata-Caballero D, Mencía-Marrón A, Durán-Porto A. Relación entre oclusión y postura (ii). Fisiopatología de la mordida cruzada. Gaceta Dental 2011; 187:124-139. Disponible en: http://www.gacetadental.com/wp-content/uploads/OLD/

7. Visscher CM, Lobbezoo F, de Boer W, van der Zaag J, Naeije M. Prevalence of cervical spinal pain in craniomandibular pain patients. Eur J Oral Science. 2001; 109 (2): 76-80.

8. Rocabado M. Relación biomecánica entre el sistema estomatognático y la columna cervical. CEDIME. Chile.

9. Frenck J. Filosofía SWING, Córdoba Argentina. 2015.

10. Gribel, MN, Planas Direct Tracks in the Early Treatment of Unilateral Crossbite with Mandibular Postural Deviation. Why Worry So Soon?, WJO. 2002, Vol. 3 Issue 3, p239-249. 11p.

22.

11. Latyn K, Collante de Benítez C. Interrelación de las estructuras cráneo-cérvico-mandibulares e hioideas. (s.a.)

12. Ernest D, Olfert DMV, Brenda M, Cross DMV, McWillia AA. Manual sobre el cuidado y uso de los animales de experimentación, Consejo Canadiense de Protección de los animales, Vol. 1, Año 1998.

13. Díaz JJ, Schroter GC, Schulz LR. Actualización de la evaluación radiológica de la escoliosis, Revista Chilena de Radiología, Vol.15 N° 3, año 2009; 141-151

14. Kuklo T. Radiographic evaluation of spinal deformity. Neurosurg Clin N Am. 2007; 18: 215-222.

15. Hitchcock HP. Treatment of malocclusion associated with scoliosis. Angle Orthod. 1969; 39 (1): 64-68.

16. Ben-Bassat Y, Yitschaky M, Kaplan L, Brind I. Occlusal patterns in patients with idiopathic scoliosis. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2006; 130:629-33.

17. Montero Parrilla JM, Morais Chipombela LC, Semykin O. La oclusión dentaria en interacción con la postura corporal, Revista Cubana de Estomatología 2014;51(1):15-23.

18. Madrid V, Morales F, Ondarza R, et al. Influencia de un desequilibrio oclusal en la desviación y alineación de la columna vertebral en ratas: un estudio controlado. Revista Mexicana de Ortodoncia. 2016; 4(1):24-30.

19. Bricot B. Posturología. São Paulo: Ícone Editora; 1999.

20. Saccucci M, Tettamanti L, Mummolo S, Polimeni A, Festa F, Tecco S. Scoliosis and dental occlusion: a review of the literature. Scoliosis. 2011; 6:15. doi:10.1186/1748-7161-6-15.

NOTAS TÉCNICAS

Revista
MINERVA
Plataforma digital de la revista: https://minerva.sic.ues.edu.sv

Rescate de patashte (*Theobroma bicolor* Humb & Bonpl.) y cushta (*Theobroma angustifolium*) dos especies promisorias en peligro de extinción en El Salvador

Rescue of patashte (*Theobroma bicolor* Humb & Bonpl.) and cushta (*Theobroma angustifolium*) two promising species in danger of extinction in El Salvador

Fidel Ángel Parada-Berríos[1], Elías Antonio Vásquez-Osegueda[1], Luis Miguel Lovo-Lara[2], Ada Yanira Arias-de-Linares[3], Marvin Orlando Molina-Escalante[4]

RESUMEN

En El Salvador existen especies vegetales como el patashte (*Theobroma bicolor*) y la cushta (*Theobroma angustifolium*) parientes silvestres del cacao, con alto potencial nutritivo para la alimentación y como materia prima para la agroindustria y el desarrollo de productos como chocolate, atoles, bocadillos, entre otros; no obstante, estas especies están en peligro de extinción, por lo que no se cuenta con mucha información técnica. Por tal motivo se realizaron giras de colecta de estas especies, en municipios, con tradición en la producción de cacao a fin de incluir ambas especies en los bancos de germoplasma de cacao que se establecieron como parte del proyecto de rescate de recursos genéticos de cacao. Sin embargo, la situación de ambas especies es crítica por el alto grado de erosión genética, ya que, solamente se lograron obtener muestras de frutos en el cantón Cangrejera, Izalco, Sonsonate. Estas muestras se llevaron al Laboratorio de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas de La Universidad de El Salvador (UES), a fin de realizar análisis bromatológicos y conocer de manera preliminar su composición química. Asimismo, desarrollar viveros con ambas especies para siembra en las colecciones de la UES. Como resultado se encontraron concentraciones para patashte y cushta de 16.04 y 4.48% de proteína; de 33.81 y 23.93% de grasa; 35.02 y 44.75% de carbohidratos respectivamente. Por otra parte, se establecieron plantas de patashte y cushta en el banco de germoplasma del campus universitario, Estación Experimental y de Prácticas (EEP), San Pedro Nonualco y La cooperativa Hacienda Santa Clara, procurando contribuir al rescate de las mismas. Se concluye que ambas especies tienen potencial para consumo directo con preparaciones artesanales y materia prima para elaboración de muchos productos alimenticios nutritivos, e incluirlos en programas de Seguridad Alimentaria y Nutricional (SAN), por lo que es importante y urgente, proponer y ejecutar estrategias de conservación *in situ* y *ex situ*.

Palabras Clave: cacao, patashte, cushta, potencial nutritivo, conservación.

1 Departamento de Fitotecnia, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.
2 Tesista, Facultad de ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.
3 Departamento de Química Agrícola, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.
4 Estación Experimental y de Prácticas, Universidad de El Salvador.

Este es un artículo bajo la licencia CC BY NC (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

ABSTRACT

In El Salvador there are plant species such as patashte (*Theobroma bicolor*) and cushta (*Theobroma angustifolium*) wild relatives of cocoa, with high nutritional potential for food and as raw material for agribusiness and the development of products such as chocolate, atoles, snacks, among others, however, these species are in danger of extinction, so there is not much technical information. For this reason, collection tours of these species were carried out in municipalities, with tradition in cocoa production in order to include both species in cocoa germplasm banks that were established as part of the cocoa genetic resources rescue project. However, the situation of both species is critical due to the high degree of genetic erosion, since only fruit samples were obtained in the Cangrejera, Izalco, Sonsonate canton. These samples were taken to the Agricultural Chemistry Laboratory of the Faculty of Agronomic Sciences of the University of El Salvador (UES), in order to perform bromatological analyzes and to know their chemical composition in a preliminary way. Also, develop nurseries with both species for planting in the UES collections. As a result, concentrations were found for patashte and cushta of 16.04 and 4.48% protein; of 33.81 and 23.93% fat; 35.02 and 44.75% carbohydrates respectively. On the other hand, patashte and cushta plants were established in the germplasm bank of the university campus, Experimental and Practical Station (EEP), San Pedro Nonualco and the Hacienda Santa Clara cooperative, trying to contribute to their rescue. It is concluded that both species have potential for direct consumption with artisanal preparations and raw material for the elaboration of many nutritious food products, and include them in Food and Nutritional Security (SAN) programs, so it is important and urgent, to propose and execute strategies for *in situ* and *ex situ* conservation.

Keywords: cocoa, patashte, cushta, nutritional potential, conservation.

INTRODUCCIÓN

El Salvador se encuentra ubicada en una franja tropical donde la diversidad genética es abundante, por lo que las fuentes de alimento son variadas, sin embargo muchas de estas especies son subutilizadas o simplemente desconocidas en riesgo de erosión y peor aún en peligro de extinción, no obstante Martínez Alfaro (2007) afirma que en los trópicos los frutales tienen una diversidad genética y que están en continuo manejo por la gente, entre estas, muchas especies nativas como las del género *Theobroma* presentan poblaciones silvestres o cultivadas lo cual permite que una especie pueda estar en un matorral, bosque, reserva natural, huerto familiar, cafetal, cacaotal, potreros o en las orillas de campos y cultivos. Generalmente, de las especies que se investigan siempre tienen su contraparte silvestre, muchas veces generando cruzas entre poblaciones y que resultan en una amplia diversidad infra e intraespecífica.

Las principales causas de la extinción de plantas, inducidas por el hombre son la sobre explotación, la fragmentación, la pérdida del hábitat y la pérdida de la elásticidad de los sistemas, producto de la desaparición de especíes claves. Frente a las amenazas que sufren las especíes en el mundo, la conservación *ex situ*, constituye una opción cada vez más importante como medida de respaldo de la biodiversidad. En general, es importante tomar en consideración las estrategias complementarias de conservación que combinen la dinámica in situ de los ambientes naturales con la estática de las alternativas *ex situ*, las cuales posiblemente constituyen una opción más segura de conservación (CATIE, 2007).

En el caso específico del género *Theobroma*, éstas son originarias de regiones de Centro y Sur América, dentro de las 22 especíes conocidas el *T. cacao* es la única que se cultiva

comercialmente, sin embargo, existen otras con alto potencial que se encuentran en proceso de domesticación, entre ellas el *Theobroma bicolor* y *Theobroma angustifolium*, conocidas en algunas regiones como patashte y cushta, respectivamente. El patashte en México, incluye los estados de Chiapas, Oaxaca y Tabasco; y a nivel mundial, reportando su presencia en Colombia, Venezuela y Brasil (Gálvez-Marroquín, *et al.* 2016). En El salvador, tanto el patashte como la cushta, se reportan principalmente en los municipios de Izalco y Nahuilingo, Sonsonate, aunque no se descarta su presencia en otros lugares que se puedan considerar de prevalencia natural de la especíe asociada a poblaciones de origen en nuestro país, como San Pedro Nonualco en La Paz, Cacaopera, Morazán, Cerro Tecapa, Usulután, entre otros (Gutiérrez-Hernández, 2011). Gálvez-Marroquín, *et al.* (2016) mencionan que el patashte en México se encuentra asociado a cacaotales o en traspatio, ya que no existen plantaciones comerciales. Los Frutos de *T. bicolor* son los más grandes del género *Theobroma* entre 25 a 35 cm de largo por 12 a 15 de ancho, llegando a pesar entre 0.5 a 3.0 kg. La cáscara es leñosa y dura, el árbol produce aproximadamente de 14 a 40 frutos por cosecha (Bressani y Furlan, 1997, citado por Gálvez-Marroquín, *et al.* 2016). En algunas regiones de México, ésta especíe tiene importancia por sus usos en bebidas tradicionales y como ingrediente del chocolate. El *Theobroma angustifolium* es nativo de Mesoamérica, el árbol es de tamaño medio entre 8 y 26 m de altura, las hojas son simples y alternadas; oblongo-lanceoladas de 14 a 21 cm de largo y de 5-6.5 de ancho; los frutos son de 10-18 cm de largo y de 6-9 cm de diámetro, este fruto contiene de 20 a 25 semillas (Brunner, s.f.). Reflexionando que ambas especíes son consideradas subutilizadas y en peligro de extinción en El Salvador, se propuso como objetivo contribuir al rescate y conservación *ex situ*, y a la generación de conocimiento básico, iniciando con caracterización bromatológica y el establecimiento de pequeñas áreas de cultivo que nos conduzcan a futuro a una caracterización completa de ambas especíes y por ende a su rescate y multiplicación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Giras de colecta

Estas iniciaron entre el 15 de octubre de 2017 hasta el mes de julio de 2018, realizando recorridos en los municipios de Tenancingo, Cuscatlán; Ciudad Delgado, San Salvador; San Pedro Nonualco, y Cooperativa Santa Clara No 2, La Paz; Caluco, San Isidro e Izalco en Sonsonate; Arcatao, Chalatenango y Tecapán, Usulután. De todos los lugares recorridos en este período, el *Theobroma bicolor* y *Theobroma angustifolium* solamente se encontró en el municipio de Izalco, en la propiedad del Señor Jaime Alonso Arévalo, productor en pequeño de cacao, pero que además se ha encargado de conservar y propagar ambas especies (Figura 1).

Características del sitio de colecta

El Cantón Cangrejera pertenece al municipio de Izalco, Sonsonate, a 65 km al suroeste de San Salvador, a 418 mts. sobre el nivel del mar y con coordenadas geográficas de 13°44'20'' latitud norte y 89°40'52'' longitud oeste. Don Jaime Arévalo, propietario de la finca donde se colectaron los frutos de patashte y cushta, se ha encargado desde hace más de 10 años de reproducir ambas especies y comercializarlas entre los clientes de sus productos a base de cacao (bombones, tablilla, semillas confitadas, entre otros) y patashte (semillas tostadas y en mezcla con chocolate), al parecer de la cushta aún no ha desarrollado productos. El suelo de la parcela donde se colectaron los frutos, es franco limoso, y dispone de riego por gravedad durante todo el año, de fuentes provenientes de los desagües del Lago de Coatepeque, Santa Ana.

Figura 1. a) Árbol de patashte de un año en banco de germoplasma de cacao en UES. **b y c)** Frutos de patashte. **d)** Extracción de semillas de patashte. **e)** Semillas de patashte tostadas listas para consumo. **f)** Árbol de cushta en Izalco. **g)** Flores de cushta. **h)** Comparación de una flor de cushta y una de cacao. **i, j y k)** Frutos de cushta. **l)** Fruto de cushta y semillas (Tomada de B.R. Brunner. www.botogardens.com) y **m)** fruto abierto de patashte.

Colecta de frutos

Debido a que se cuenta con el sistema de riego por gravedad en la estación seca, tanto el patashte como la cushta presentan producciones de frutos durante todo el año, sin embargo, presenta algunos picos de producción durante los meses de junio a agosto y de enero a marzo; en el caso del patashte solo cuenta con un árbol productivo y su altura es de más de 15 metros, por lo que se dificulta una caracterización profunda de todas las partes del árbol. El resto de árboles aún no han comenzado a producir. Con respecto a la cushta cuenta con cinco árboles que han comenzado producción. De ambas especies se colectaron 10 frutos de los cuales se tomaron variables como el peso de frutos, número de semillas, longitud y ancho de frutos, entre otras variables simples.

Análisis bromatológico

Se realizaron algunos análisis en el laboratorio de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, de las semillas de patashte y de cushta sin fermentar con la finalidad de determinar: humedad parcial y total, porcentaje de proteína, grasa, fibra cruda, calcio, fósforo y potasio.

Los métodos usados para cada análisis fueron los propuestos por la Association of Official Analytical Chemists (AOAC 1990).

Humedad parcial

Se pesó la porción de muestra de las semillas frescas, en una bolsa de papel perforada, se colocó en una estufa de aire forzado, a una temperatura de 70° C, durante 24 horas, luego se llevó a un desecador para enfriar la muestra seca y posteriormente se pesó para calcular el porcentaje de humedad parcial.

Humedad total

Se pesaron 10 g de muestra molida y seca en una caja de aluminio, se colocó en una estufa de vacío a temperatura de 105° C por seis horas, transfiriéndola a un desecador por un tiempo de 20 minutos y posteriormente se pesó para calcular el porcentaje de humedad total.

Determinación de grasa

El proceso para determinación de grasa fue realizado por medio del método de Soxhlet, utilizando como solvente éter de petróleo; éste consistió en colocar en papel filtro dos gramos de muestra de semilla de cacao molida y se colocó en un dedal de extracción limpio y seco. El dedal con la muestra se colocó en el condensador del aparato de extracción, donde se realizó una solubilización de los materiales solubles de la muestra, el éter se evaporó y se condensó continuamente, y al pasar a la muestra extrajo materiales solubles. El extracto se recogió en un balón y cuando el proceso se completó, por un período de seis horas, el éter se destiló y se recolectó en otro recipiente y la grasa cruda que quedó en el balón se secó y se pesó.

Determinación de proteína cruda

El proceso para la determinanción de proteína cruda, se realizó siguiendo el método de Kjeldahl, el cual consiste en tres procesos: digestión, destilación y titulación. Se pesó 0.1 g de muestra, la cual se llevó a la destrucción oxidativa de los componentes por calentamiento con ácido sulfúrico concentrado y formación de anhídrido carbónico (CO_2) y anhídrido sulfuroso (SO_2), mientras que el nitrógeno que quedó retenido como sulfato de amonio [$(NH_4)_2SO_4$], posteriormente se transformó en amoníaco y se destiló sobre un ácido estándar débil para formar la respectiva sal amoníaca, que al final se tituló con una solución ácida estandarizada. Finalmente fue calculado el porcentaje de nitrógeno empleando la siguiente fórmula:

$$\%Nitrógeno = \frac{(mL_{HCl\ muestra} - mL_{HCl\ testigo}) \cdot N_{HCl} \cdot 0.014 \cdot 100}{Peso\ muestra\ (g)}$$

$$\%Proteina\ cruda = \%Nitrógeno \cdot 6.25$$

El factor 6.25 se utiliza para calcular la cantidad de proteína en una muestra cuando se ha determinado el contenido de nitrógeno de la misma. El valor de este factor es tomado de la Norma Codex de Alimentos (Codex Stan 172 de 1989)

Determinación de ceniza

Este proceso, se llevó a cabo a través de la incineración o calcinación de la muestra, en un horno de mufla a temperatura de 550° C, por un período de dos horas, para quemar el material orgánico, quedando solo el inorgánico llamado ceniza que no se destruye a esta temperatura y donde quedan los minerales presentes en la muestra (Ca, P, K).

Determinación de calcio, fósforo y potasio

Se trató la ceniza con ácido clorhídrico y agua

bidestilada, se llevó a ebullición y luego se filtró a través de un papel filtro número 42 para separar los minerales, para su posterior cuantificación por el método de fotometría de llama.

Determinación de fibra cruda

Se realizó utilizando el método gravimétrico, que la pérdida de masa que corresponde a la incineración del residuo orgánico que queda después de la digestión con solución de ácido sulfúrico e hidróxido de sodio en condiciones específicas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Giras de colecta y características generales del sitio

Se realizaron 30 giras de colecta a diferentes localidades de El Salvador, donde existe prevalencia natural de árboles de cacao, no obstante, solamente en el Cantón Cangrejera, Izalco, Sonsonate, a 60 km de San Salvador, se encontró germoplasma relacionado a patashte (*Theobroma bicolor*) y cushta (*Theobroma angustifolium*), en la propiedad del productor de cacao, Jaime Arévalo, quien originalmente cuenta con un árbol en producción de cada una de las especies en mención, con una edad aproximada de 10 a 12 años cada uno y que son los árboles de los que nos proporcionó sus frutos para realizar los respectivos análisis. El resto de árboles se encuentran en crecimiento y no están en su etapa de producción.

Al considerar que ambas especies fueron encontradas solamente en la propiedad del Señor Arévalo, se podría suponer que se encuentra en peligro de extinción, y que es urgente su multiplicación; que además es necesario realizar investigaciones orientadas a conocer, en primer lugar la variabilidad genética, además de caracterizar el germoplasma que se identifique o se genere a partir de segregantes de árboles provenientes de estos encontrados originalmente, ya que con el poco producto se hace difícil una caracterización profunda.

Por otra parte, las condiciones edafoclimáticas de la propiedad como la abundancia de agua, topografía plana, suelo franco limoso, altura sobre el nivel del mar, generan las condiciones apropiadas para ambas especies, las cuales están vinculadas muy estrechamente con el *Theobroma cacao*, cuyas exigencias ecofisiológicas y las recomendaciones, prácticamente son las mismas que para el cacao, según Dubón y Sánchez, (2011). Con respecto a temperatura media anual de 25°C, directamente relacionada con alturas máximas de 700 msnm, la propiedad donde se realizó la colecta, su altura es de 418 msnm y la precipitación recomendada para cacao oscila entre los 1800-2500 mm de lluvia distribuidas a lo largo del año. En Izalco, no sobrepasa los 1800 mm, pero cuenta con agua de riego en la estación seca, del agua procedente de los desagües del lago de Coatepeque. Por otra parte, la plantación de cacao donde se encuentran estos árboles cuenta con una sombra adecuada para el buen desarrollo de ambas especies, aunque aparentemente el patashte por ser más alto (10 metros) logre superar los estratos de sombra y recibir mayor cantidad lumínica hasta incluso servir de sombra del cacao y cushta.

Análisis de los frutos.

Para las dos especies se colectaron 10 frutos de cada uno, lográndose determinar el peso de la pulpa, de la cáscara y del fruto completo, tal como se muestra en las figuras 2 y 3, observándose en los frutos de patashte una variación en sus pesos entre los 400 - 1000 gramos por frutos (Figura 2). Gálvez-Marroquín, *et al.* (2016) reportan que *T. bicolor* son los más grandes del género *Theobroma*, llegando a pesar entre 500-3000 gramos.

El caso de la cushta, sus frutos son más pequeños entre los 200 – 350 gramos (Figura 3), es importante mencionar que el porcentaje promedio de pulpa presente en ambas especies es del 32.51% y 29.07% respectivamente (Cuadro 1). Con respecto al patashte, Gonzáles y Torres (2010) reportan valores entre los 110 – 661 gramos de peso, e indican además que la cáscara es leñosa y dura, de 12 mm de espesor, con cinco o muchas fisuras, de color amarillo cuando madura. Asimismo, indica que el porcentaje de pulpa es en promedio de 26.76%. Bressani y Furlan (1997) citado por Gálvez-Marroquín, *et al.* (2016) mencionan que el patashte está compuesto por 23.76% de pulpa, 62.54% de cáscara y 13.70% lo constituye el peso de la semilla, además mencionan, que en México se reconoce como centro de domesticación del cacao y asociado a esta especie se encuentra el patashte con una amplia diversidad de formas y sabores del fruto. Al comparar con los pesos de algunos clones de *Theobroma cacao*, el patashte presenta valores similares, mientras que la cushta siempre reporta valores inferiores que el cacao (FEDECACAO, 2010). Gálvez-Marroquín, *et al.* (2016) menciona que, en algunas regiones de México, esta especie tiene gran importancia por sus usos en bebidas tradicionales y como ingrediente del chocolate. A pesar de esta importancia, son pocos los estudios sobre diversidad, conservación y utilización.

Cuadro 1. Porcentaje de pulpa en los frutos de dos especies de *Theobroma*.

Número de fruto	Porcentaje de pulpa por especie (%)	
	Patashte	Cushta
1	33.94	26.83
2	33.67	27.43
3	30.00	28.03
4	35.87	27.35
5	33.67	29.09
6	30.00	29.56
7	33.94	30.09
8	30.00	30.57
9	38.49	30.79
10	25.50	30.99
Promedio	**32.51**	**29.07**

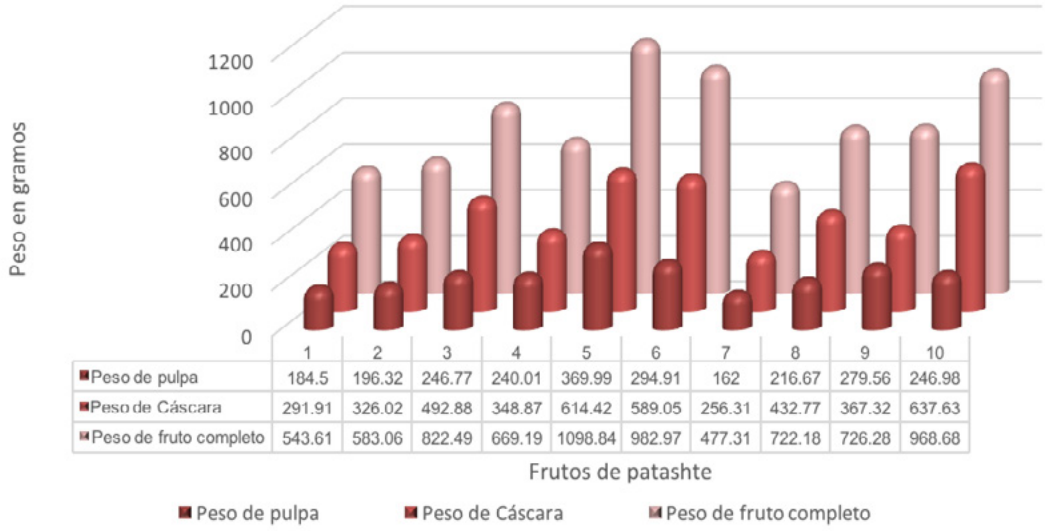


Figura 2. Características del peso de la pulpa, cáscara y fruto completo de patashte.

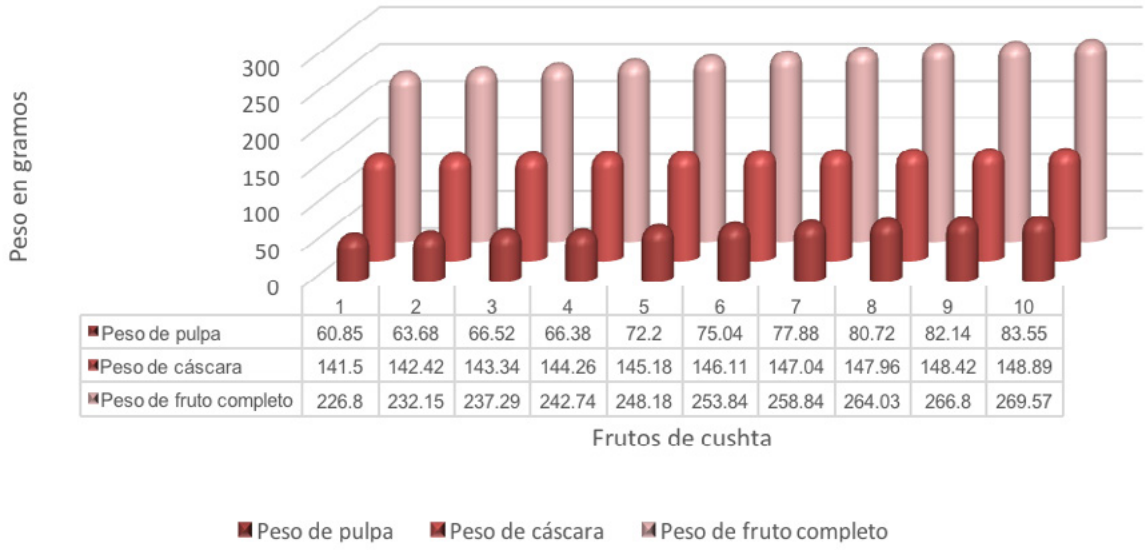


Figura 3. Características del peso de la pulpa, cáscara y fruto completo de cushta.

Con respecto a las dimensiones de los frutos de patashte (Figura 4), se registraron valores de 13.94 - 19.08 cm de largo y de 7.97 - 13.79 cm de ancho; mientras que de cushta 10.56 - 12 cm de largo y 5.6 – 7.04 cm de ancho (Figura 5), al respecto Gálvez-Marroquín, *et al.* (2016) reafirma, que el patashte presenta los frutos más grandes del género *Theobroma*, con dimensiones entre 25 a 35 cm de largo por 12 a 15 cm de ancho, además reportan para México cuatro ecotipos de patashte, con valores desde 14.3 - 21.7 cm de largo, González y Torres (2010), reportan una longitud promedio de 15 cm. FEDECACAO (2010), cuando se refiere a las dimensiones del *Theobroma cacao*, registra valores desde los 17 – 24 cm de largo y 9.7- 11 cm de ancho, valorando a ambas especies en cuanto a sus dimensiones, las cuales son muy similares, no obstante el cacao y patashte presentan los frutos más grandes entre los tres géneros de *Theobroma*.

Baudillo y Cumana (2005) citados por Gálvez-Marroquín, *et al.* (2016), indican que el fruto de patashte, es una baya de 14-25 cm de longitud, subglobosa-elipsoidal con costillas pronunciadas, reticuladas y tomentosa. Mendoza et al. (2012) menciona que existen cuatro tipos de *T. bicolor* en países como Perú, Colombia y Brasil, cuya diferencia se determina por la textura externa del fruto (rugoso y liso) y dureza del pericarpio (blando o duro). Asimismo, mencionan que en México se encuentran tres tipos, y con mayor frecuencia el tipo rugoso con pericarpio duro, seguido del liso y pericarpio duro, y finalmente el rugoso de cáscara suave. En el caso de los frutos del patashte salvadoreño, podemos asegurar que los utilizados en nuestra investigación son los frutos rugosos con pericarpio duro. Se desconoce aún la presencia de los otros ecotipos mencionados por los autores.

En la figura 5, se observa que los frutos de cushta, sus dimensiones fueron entre 10 y 12 cm de largo y entre 5.6 y 7.06 cm de diámetro, con la presencia de un polvillo sobre la superficie de los frutos, el cual se puede retirar frotando los frutos y que probablemente pueda ser índice de cosecha de los mismos, tal como ocurre con

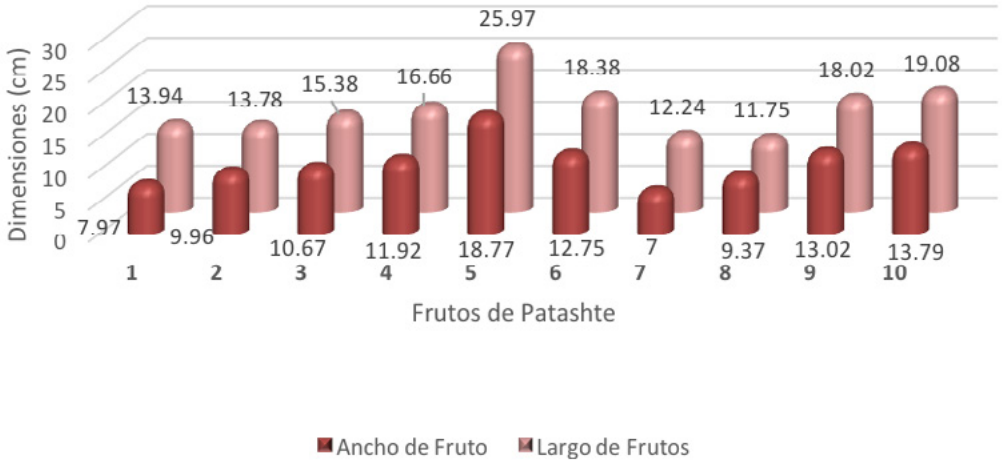


Figura 4. Dimensiones longitud y ancho de frutos de patashte.

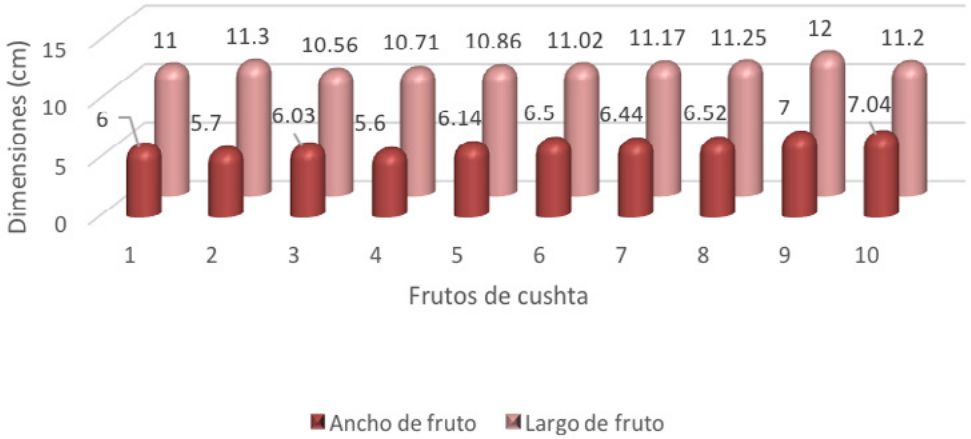


Figura 5. Dimensiones longitud y ancho de frutos de cushta.

algunas especies sapotáceas como níspero (*Manilkara zapota*). Al respecto Brunner (s.f.) reporta que los frutos de cushta miden entre 10 y 18 cm de largo y entre 6 y 9 cm de diámetro. La fruta alargada tiene una cáscara semidura irregular, con cinco costados o costillas de color verde, con un recubrimiento marrón tipo óxido que se elimina fácilmente frotando los frutos con los dedos.

Al realizar el conteo de semillas en cada fruto de ambas especies de *Theobroma* (Figura 6), estas pueden variar entre 26-49 semillas para el patashte, mientras que se encontraron 10-16 semillas para la cushta, sin embargo, al determinar los pesos promedio de las semillas frescas, se registran valores muy similares para ambos frutos, variando entre 1.54-2.34 g de semillas por fruto (Figura 7). Burlan y

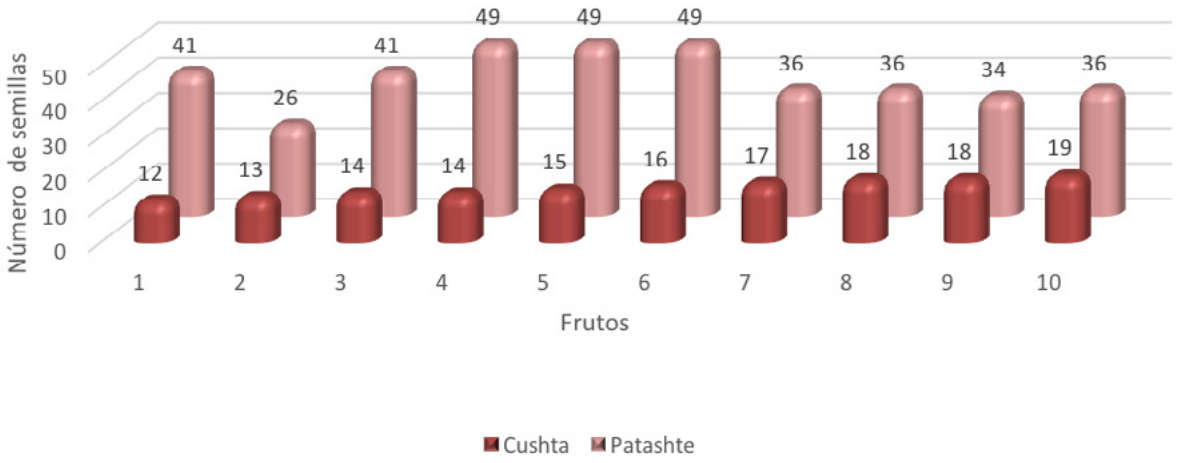


Figura 6. Número de semillas por fruto de cushta y patashte.

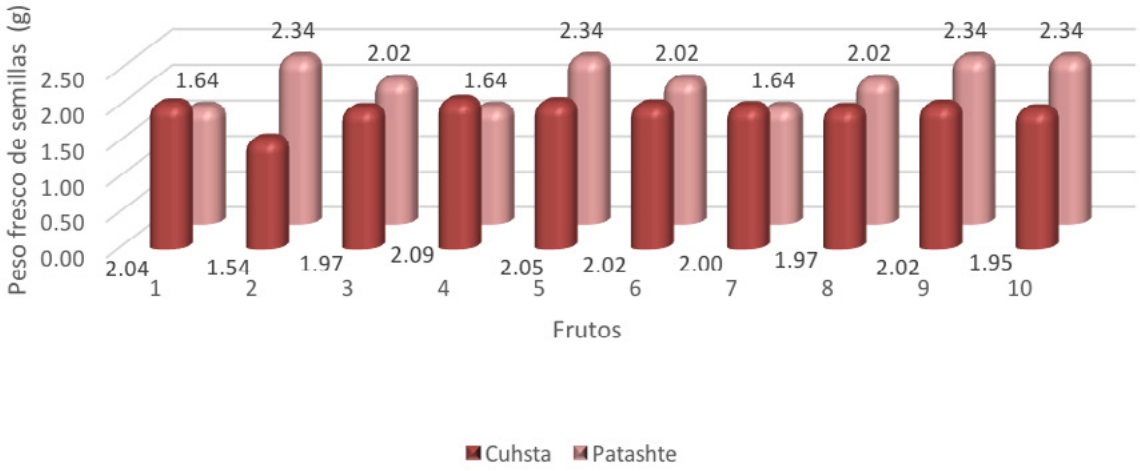


Figura 7. Peso fresco promedio de semillas por fruto de cushta y patashte.

Bressani (1999) citado por Gonzáles y Torres (2010) reportan un promedio de 38 semillas en los frutos de patashte, mientras que Brunner (s.f.) indica que la cushta contiene entre 20 y 25 semillas, rodeadas por una pulpa aromática amarga de color crema.

Análisis Bromatológicos

Al analizar la humedad, se registró un valor de 4.33% para patashte y 0.74% para la cushta, al referirnos al patashte, el parámetro fue un poco inferior al reportado por Bressani y Furlan (1997) citado por Gálvez-Marroquín, *et al.* (2016), sin embargo, esta cualidad nos permite que los granos o almendras sean almacenadas por un mayor lapso de tiempo, considerando el caso de la cushta, aún con mayores ventajas, por presentar valores inferiores a la unidad (Cuadro 2). Con respecto al contenido de grasa, de acuerdo a los resultados obtenidos para las muestras en estudio de patashte y cushta se reportan 33.81% y 23.93% respectivamente,

Cuadro 2. Composición fisicoquímica de las semillas de Patashte (Theobroma bicolor) y Cushta (Theobroma angustifolium).

Parámetro	Valor	
	Patashte	Cushta
Humedad total (%)	4.33	0.74
Grasa Total (%)	33.81	23.93
Fibra cruda (%)	11.64	18.1
Proteína Total (%)	16.04	4.48
Cenizas (%)	3.49	8.74
Calcio (mg.100g-1)	0.20	0.40
Fósforo (mg)	0.26	0.30
Potasio (mg)	9.3	29.35
Carbohidratos (%)	35.02	44.75

Nota de cuadro. Análisis realizados laboratorio de química agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la UES.

siendo estos valores muy inferiores al comparar con el estudio realizado por Gálvez-Marroquín, *et al.* (2016). Guardado y López (2018), reportan para germoplasma de cacao de almendra oscura valores superiores a 50% de grasa; mientras que los de almendra blanca el contenido de grasa casi siempre reporta valores inferiores a 50%, en cacao estas variaciones se asocian al origen genético de la especie, no obstante, es importante mencionar, que tanto los granos de patashte como los de cushta también presentan coloración blanca de la almendra. Tannenbaum (2004), menciona que el contenido de grasa presentes en las semillas de cacao y sus especies afines depende principalmente de la variedad y de las condiciones ambientales como clima y suelo. Brunner (s.f.), reporta para cushta un intervalo muy amplio de contenido de grasa entre 17.5 y 46%.

Otzey Rosales (2012), desarrolló el perfil de ácidos grasos, encontrando, que el ácido esteárico en la muestra de semillas de patashte duplica el valor de 24.95 g.,100 g^{-1} de grasa, respecto a la muestra de semillas de cushta, considerado como valores altos, pero a pesar de ser un ácido saturado, el ácido esteárico, tiene un efecto menor sobre los lípidos y las lipoproteínas plasmáticas (molécula de proteína unida con un lípido cuya función es el transporte de lípidos a los tejidos del organismo), sobre todo en contraste con el resto de grasas saturadas. Esto explica que el consumo de chocolate con alto contenido de manteca de cacao, rica en este ácido, no influya tanto en el colesterol plasmático. Este hecho podría explicar el efecto neutro que ejerce la ingesta del ácido esteárico sobre los triglicéridos, el colesterol total, el colesterol LDL y el colesterol HDL (colesterol "beneficioso"). La concentración de ácido oleico por su parte fue mayor (43.28 g.,100 g^{-1} de grasa) en cushta que en patashte (34.37 g., 100 g^{-1} de grasa). Los expertos señalan que el ácido oleico ejerce una acción beneficiosa para los vasos sanguíneos y el corazón, ya que aumenta el colesterol denominado bueno (HDL), contribuyendo a reducir las enfermedades cardiovasculares.

También Otzey Rosales (2012), reporta la concentración del ácido araquídico, el cual determinó valores de 12.52 g., 100 g^{-1} de grasa, en cushta y de 2.12 g.,100 g^{-1} de grasa en patashte. En síntesis, la cushta presentó mayores concentraciones de ácidos grasos insaturados (oleico y araquídico), benéficos para la salud.

En cuanto al contenido de proteína en patashte, se reporta en este estudio un valor de 16.04% y para la cushta de 4.48%, siendo el primero superior a los contenidos del cacao; FEDECACAO (2010), reporta valores en la mayoría de clones, inferior al 13%. Al respecto Gutiérrez-Hernández, et al. (2011), reportan 21.30% y Gonzáles y Torres (2011) reportó 24.42% de proteína para el patashte. Para el caso de la cushta, Brunner (s.f.), reporta valores que oscilan entre 5.6 y 10.5%.

Arriaga (2007), citado por Otzoy Rosales

(2012), reporta concentraciones de proteínas en patashte de 20.38%, no obstante, en la investigación realizada por Otzoy Rosales (2012), reporta un valor ligeramente más bajo de 18.1% y para cushta 9.91%, concluyendo que las semillas de *Theobroma bicolor* presentaron mayores contenidos de proteína que el de *Theobroma angustifolium*, e incluso mayor que el cacao.

En cuanto a las concentraciones de ceniza, Otzoy Rosales (2012), reporta en el patashte un 3.4% y para la cushta un 3.2%, en la presente investigación de 3.49% muy similar a lo reportado, sin embargo, para cushta reportamos 8.74%.

Usos del Patashte y Cushta

Al realizar una comunicación personal con el productor, Don Jaime Alonso Arévalo, del cantón Cangrejera, Izalco, relata que desde sus ancestros se usa el patashte para evitar que la semilla de cacao se contamine por hongos, para ello, utilizaban un 25% de semilla patashte y el resto de cacao, ya que lo consideraban como un preservante natural de la pasta de cacao para chocolate, considerando importante evaluar esta especie por sus propiedades, ya sea fungistáticas o fungicidas. Además, menciona que los abuelos lo utilizaban medicinalmente en los niños, para tratar las hernias de ombligo, con una masa elaborada con la semilla fresca; y para el adulto, se recomendaba para evitar la inflamación de la próstata. Otra información de importancia, es que, en la actualidad el mucilago fresco de patashte y cushta lo usa para elaborar vino, y que el chocolate elaborado de cacao, se puede enriquecer de proteína, agregando ambas especies, considerando que esta aseveración es muy congruente por los contenidos encontrados en los análisis bromatológicos realizados en este estudio, reportando valores superiores al del cacao y cushta (Cuadro 2).

Con respecto al patashte, menciona que produce todo el año, pero tarda más en dar su primera cosecha (de tres a cinco años), y se conoce que están maduros cuando ellos solos caen, esta aseveración coincide con lo expresado por Gonzáles y Torres (2010), quienes mencionan que el fruto cae al suelo cuando está maduro. Cabe aclarar que por ser árboles que pueden llegar hasta 30 metros de altura, ellos inician su producción en los lugares con exceso de sombra hasta que domina el dosel y se expone a la luz completamente, por esta razón es difícil tener un control de la cosecha del mismo, y hasta que caen al suelo se sabe que están maduros.

Por otra parte, el Sr. Arévalo explica que el 80% de los frutos de patashte y cushta los usa para procesamiento y que un árbol puede producir bajo las condiciones de su parcela hasta 300 y 400 frutos por año respectivamente, en el caso de la cushta presenta dos cosechas en el año entre febrero y marzo, la primera, y en noviembre, la segunda cosecha; el índice de madurez de la cushta se detecta por el aroma, el cual se esparce en la parcela indicando el momento de cosecha, característica señalada por Brunner (s.f.). El 20% restante de semillas las utiliza para producir plantas de vivero, las cuales vende a productores interesados en sembrar en sus terrenos, considerando que esta actividad desarrollada por el Sr. Arévalo es muy importante para el rescate de ambas especies.

Al revisar el uso de ambas especies en la región, Gutiérrez-Hernández, *et al.* (2011), mencionan que la pulpa y los granos de patashte se utilizan principalmente para la elaboración de golosinas (mazapán, turrón y melcocha), chocolate (mezcla de semillas de patashte y cacao), bebidas como atole, pozol, polvillo y popo, y en menor medida se consumen como fruta fresca. En Oaxaca, México, una de las bebidas tradicionales es el “popo”, también

conocida por extranjeros como “capuchino oaxaqueño”.

Otzoy Rosales (2012) en Guatemala, en un sondeo de opinión realizado con pobladores de la región suroccidental, muestran resultados, respecto a los usos que la población le da a la cushta, encontrando que únicamente conocen la existencia de dichos árboles, y solamente consumen el fruto como alimento, y las semillas para la elaboración de una bebida llamada “panecito”. Para el caso del patashte, las personas consultadas no le dan ningún uso a las plantas de esta especie, mencionando que únicamente utilizan los frutos como madurante de frutas de temporada como mango, aguacate, banano, plátano, entre otros; además otros ingieren el fruto como fruta de temporada, utilizando las semillas para la elaboración de bebidas como pinol, panecito y chocolate. Por último, el autor concluye que existió una buena cantidad de personas que no dan uso alguno a las plantas de parientes silvestres de cacao, lo que viene a aumentar la pérdida de conocimiento del uso de estas especies y con ello el aumento del riesgo a la pérdida de la biodiversidad, siendo más el impacto en la cushta ya que ésta especie es más escaza.

Considerando la importancia de ambas especies y de sus atributos potenciales en la alimentación, basados en los reportes de los análisis bromatológicos, hemos iniciado un proceso de rescate y propagación de ambas especies, estableciéndolos en bancos de germoplasma en el campus de la Universidad de El Salvador, en la Estación Experimental y de Prácticas (EEP), en la cooperativa Santa Clara y en San Pedro Nonualco, lugares donde se han sembrado ejemplares de ambas especies.

CONCLUSIONES

Tanto el patashte como la cushta, son dos especies en estado silvestre, encontrando en sus análisis bromatológicos respectivos, cualidades alimenticias que las pueden posicionar con un buen potencial agroindustrial, como alimentos de alto valor nutritivo que pueden responder a programas de Seguridad Alimentaria y Nutricional por su alto contenido de grasas, carbohidratos y proteínas.

Ambas especies se encuentran en peligro de extinción, ya que, en las giras de colecta a escala nacional, solamente se encontró un productor en Izalco, Sonsonate, quien se encarga de realizar conservación *in situ*, produciendo viveros y contribuyendo de manera modesta a la preservación y multiplicación de las mismas.

Se ha logrado incluir ambas especies en los bancos de germoplasma de cacao de la Universidad de El Salvador, de la Estación Experimental y de Prácticas, La Hacienda Santa Clara y en San Pedro Nonualco.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado con el apoyo financiero del proyecto de Educación Superior para el Crecimiento Económico, según acuerdo de cooperación número 0214405-G2018-003-00 entre el proyecto USAID y la Universidad de El Salvador, Centro América.

BIBLIOGRAFÍA

AOAC (Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural, United States). 1990. 13° Edition published by the association of Official Analytical, Chemists, Washington, D.C. 125 p.

Brunner, BR. s.f. Montoso Gardens, Hwy 120 Km 18.9, Box 692, Maricao, Puerto Rico 00606 USA http://www.montosogardens.com/theobroma_angustifolium.htm.

CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza). 2007.

Asegurando Nuestro Futuro. Colecciones de germoplasma del CATIE. Turrialba, Costa Rica. 204 p.

Dubón, A; Sánchez, J. 2011. Manual de Producción de Cacao. 1 ed. La Lima, Cortés: FHIA. 208 p.

FEDECACAO (Federación Nacional de Cacaoteros). 2013. Características de calidad del Cacao de Colombia. Buacaramanga, Colombia. 107 p.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (1995). Norma del Codex para el Sorgo en Grano. Recuperado el 26 de marzo de 2016 de: http://www.codexalimentarius.org/input/download/standards/CXS _172.pdf

Gálvez-Marroquín, LA; Reyes-Reyes, AL; Avendaño-Arrazate, C.H; Hernández-Gómez, E; Méndoza-López; Díaz-Fuentes, VH. 2016. Pataxte (Theobroma bicolor Humb & Bonpl.) especie subutilizada en México. Revista Agroproductividad. 9: 41-42.

Gonzáles, AG; Torres, GM. 2010. Manual cultivo de Mocambo. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana-IIAP. Av. Abelardo Quiñónes km 2.5. Iquitos, Perú. 46 p.

Guardado Deras, EC; López, M. 2017. Caracterización morfoagronómica in situ de cacao criollo (Theobroma cacao L.) en lugares de prevalencia natural y su incidencia en la selección de germoplasma promisorio en El Salvador. Tesis de grado para obtener el título de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador. San Salvador, El Salvador. 180 p.

Gutiérrez Hernández, BE. 2011. Estudio agromorfológico y fisicoquímico de los ecotipos de cacao cultivados en los municipios de Izalco y Nahulingo, en el Departamento de Sonsonate en El Salvador. Seminario de especialización para obtener el grado de Ingeniería en Alimentos. La Libertad, El Salvador. Universidad Dr. José Matías Delgado. 116 p.

Martínez Alfaro, MA. 2007. Los Frutales de la Sierra norte de Puebla. Frutales Nativos. Un recurso fitogénetico de México. Universidad Autónoma de Chapingo. Km 38.5, Carretera México-Texcoco. 270 p.

Mendoza L, A; Avendaño Arrazate CH; Hernández Sandoval, L; Sandoval Esquivez, A. 2012. Pataxte (Theobroma bicolor) especie subutilizada en México. INIFAP. CIRPAS. Campo Experimental Rosaria Izapa. Folleto productores No. 23. 32 p.

Otzoy Rosales, MR. 2012. Evaluación de la variabilidad y preservación de parientes silvestres de cacao (Theobroma bicolor) y (Theobroma angustifolium) provenientes de la región suroccidental de Guatemala. Informe final proyecto FODECYT. Guatemala. 57p.

Tannenbaum G. 2004. Chocolate: A Marvellous Natural Product of chemistry, Journal of Education 81 (1): 1131-1135.

SIC-UES

Secretaría de Investigaciones Científicas
de la Universidad de El Salvador

ISSN 2521-8794

9 772521 879403