

**INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS**  
**ESTACIÓN EXPERIMENTAL SANTA CATALINA**  
**PROTOCOLO DE VALIDACIÓN Y ADAPTABILIDAD**

<b>TÍTULO DE LA ACTIVIDAD:</b>	Protocolo base de validación y adaptabilidad para ensayos de variedades de cáñamo ( <i>Cannabis sativa</i> ) con fines industriales (fibra o producción de semilla).
<b>LOCALIZACIÓN DE LA ACTIVIDAD:</b>	Estación Experimental Santa Catalina
<b>RESPONSABLES DE LA ACTIVIDAD:</b>	Dr. Jorge Merino
<b>EQUIPO MULTIDISCIPLINARIO:</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Ing. Duthier López (Dirección de Investigaciones)</li><li>• MSc. Paúl Mejía (Programa de Fruticultura)</li><li>• Técnicos del proyecto FIASA cáñamo</li><li>• Técnicos de Programas y Dptos. de la EESC</li><li>• Técnicos de la Dirección de Producción y Servicios</li></ul>
<b>COLABORADORES EXTERNOS</b>	Técnicos de empresas privadas con las que se firmen contratos de servicios especializados

## 1. TÍTULO DE LA ACTIVIDAD

Protocolo base de validación y adaptabilidad para ensayos de variedades de cáñamo (*Cannabis sativa*) con fines industriales (fibra o producción de semilla).

## 2. ANTECEDENTES

El cáñamo (*Cannabis sativa* L.) es una planta herbácea de la familia Cannabaceae, originaria de la cordillera de los Himalayas en Asia, esta especie tiene varias propiedades medicinales, recreativas e industriales. Estas últimas corresponden al cáñamo de fibra el cual es un cultivo industrial sostenible y con altos rendimientos que podría satisfacer la creciente demanda mundial de fibras (Fundación Daya, 2020)

El cáñamo es cultivado para la producción de fibra, semillas o doble propósito en una amplia gama de zonas geográficas y climas. Actualmente las principales zonas productoras de cáñamo en el mundo se ubican en China, Europa y Canadá. En 2011 se cultivaron 61.318 ha de cáñamo en todo el mundo, de las cuales 11.400 ha se ubican en China, 14.344 ha en la Unión Europea y 15.720 ha en Canadá (FAOSTAT, 2022). El número de nuevas variedades desarrolladas para cada una de estas regiones ha aumentado gradualmente, y cada región produce sus propias variedades para diferentes propósitos.

Las estadísticas de producción de cáñamo industrial para Canadá indican que el rendimiento promedio de semillas es de aproximadamente 0,78 t ha<sup>-1</sup> y un promedio de 5,9 t ha<sup>-1</sup> para materia seca, que se puede transformar en aproximadamente 1,45 t ha<sup>-1</sup> de fibra (Johnson, 2013). En Europa, norte de Italia, el rendimiento total de materia seca (cv. Futura 77) osciló entre 18,7 y 8,3 t ha<sup>-1</sup> (Amaducci et al., 2000), dichas variaciones de rendimientos son ocasionadas principalmente por factores edafoclimáticos.

La fibra de cáñamo se extrae de sus tallos, en ellos existen dos tipos de fibras, una en la sección de corteza correspondiente al tejido ubicado en la parte exterior del tallo fuera del cambium vascular, y la segunda en el 'núcleo leñoso' que se encuentra dentro del anillo del cambium vascular, que consiste de tejido de xilema rico en lignina. Las fibras primarias de corteza miden entre 20 mm a 50 mm de largo y están compuestas de celulosa (~55%), hemicelulosa (~16%), pectina (~18%) y lignina (~4%) (García-Jaldón et al., 1998). Las fibras secundarias de la corteza de los tallos miden alrededor de 2 mm de largo y se derivan de los haces vasculares, mientras que, las fibras centrales del núcleo leñoso miden de 0,5–0,6 mm de largo (Mediavilla et al., 2001).

Tradicionalmente, la fibra de cáñamo se usa en textiles, pulpa de papel y materiales para la construcción y aislamiento. Los tejidos centrales leñosos y lignificados de los tallos, se utilizan como camas para caballos, pulpa de papel y mezcla de hormigón (Elfordy et al., 2008). Además de los usos tradicionales, se están desarrollando nuevas aplicaciones para esta fibra (fibras/biomasa). El alto contenido de celulosa de las paredes celulares de esta planta (Amaducci et al., 2000) junto con la productividad relativamente alta hacen de la biomasa de cáñamo una materia prima renovable interesante para la producción de fibras (Prade et al., 2011, Ragit et al., 2012). En este sentido, una mejor comprensión de los factores clave que determinan la calidad de la fibra y cómo estos pueden regularse es de importancia para este cultivo en el Ecuador, ya que es una variedad que se encuentra en pruebas de adaptación a las distintas zonas agroecológicas del país.

### **3. JUSTIFICACION**

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

Es así que, toda empresa privada, nacional o extranjera, interesada en ingresar al mercado nacional para comercializar material de propagación de cáñamo, debe contar con un Informe Técnico de Adaptación y Eficiencia emitido por el INIAP, sobre el comportamiento agronómico de sus variedades, en determinada (s) zona (s) de interés de la empresa. Para tal efecto, la empresa solicita al INIAP la evaluación de sus cultivares, la que se realiza mediante la firma de un contrato de servicios. Por lo tanto, un equipo técnico de especialistas, instalan los ensayos en campo y dichas pruebas indicarán que la variedad a ser registrada cumple con los requisitos para emitir un informe técnico

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo General**

Validar el comportamiento agronómico y adaptabilidad de variedades de cáñamo con fines industriales.

### **4.2 Específicos**

- Determinar el rendimiento de semillas  $m^{-2}$  y contenido de fibra total (%) de las distintas variedades de cáñamo.
- Cuantificar las cantidades de tetrahidrocannabinol (THC) producidas por las distintas variedades de cáñamo.
- Validar las características de la ficha técnica del varietal en comparación con las expresadas en los ensayos.

## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1. Materiales**

A continuación, se describen los principales materiales para la implementación de los ensayos, mismos que serán definidos de manera específica en el contrato de validación, siendo el solicitante el proveedor de los materiales.

#### **5.1.1. Material vegetal**

Descripción de la semilla de las nuevas variedades de cáñamo a evaluarse.

#### **5.1.2. Insumos agropecuarios**

Descripción de los insumos requeridos para la implementación y manejo del experimento, incluyendo herbicidas, fertilizantes, insecticidas, fungicidas y otros.

#### **5.1.3. Materiales y equipos**

Descripción de materiales y equipos necesarios para el manejo, evaluación y reporte de los resultados de la caracterización agronómica y evaluación de la adaptación de variedades de cáñamo.

### **5.2. Metodología**

La información de las variables y el manejo de los datos serán definidos de manera específica en el contrato de validación, siendo el solicitante el proveedor de la información.

## **5.2.1 Características del sitio experimental**

### **5.2.1.1 Ubicación y número de ciclos**

La duración mínima de los ensayos deberá ser normalmente de dos ciclos de cultivo independientes, para corroborar y comparar resultados. Cualquier variación en el número de ciclos se definirá en el protocolo específico.

Para la ubicación se indicarán las características del sitio experimental donde se realice el experimento (Anexo 1).

### **5.2.1.2 Características climáticas**

Se registrarán las condiciones climáticas del sitio experimental (Anexo 2).

### **5.2.1.3 Características edáficas**

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

### **5.2.1.4 Variedades**

Se indicará el número de variedades con su respectiva identificación (Anexo 3).

### **5.2.1.5. Diseño de los ensayos**

El ensayo deberá concebirse por triplicado (tres repeticiones) de tal manera que se permita la extracción de plantas o partes de plantas para efectuar medidas y conteos, sin perjudicar las observaciones que deberán efectuarse hasta el final del ciclo de cultivo. Cada repetición estará conformada por 15 m<sup>2</sup> (total 45 m<sup>2</sup> con su respectiva separación entre repeticiones), la densidad de plantación dependerá de la sugerida por la empresa interesada, se evaluarán variables agronómicas en cada repetición, a las mismas que se le aplicará estadística descriptiva.

## **5.3. Métodos de evaluación**

La adaptabilidad de la variedad se evaluará comparando las características fisiológicas del cultivo expresadas en el ensayo, con la información proporcionada en la ficha técnica de la variedad.

### **5.3.1 Variables agronómicas y morfológicas.**

#### **5.3.1.1 Germinación**

Se realizará una prueba de germinación por triplicado, evaluando 150 semillas. Las semillas ingresarán a la cámara de germinación con las siguientes condiciones: humedad relativa 80%, temperatura 25°C (INIAP, 2020).

#### **5.3.1.2 Altura de planta**

Se seleccionarán plantas al azar para medir la altura (cm) a los 30, 60 días después de la emergencia (DDE) y al momento de la cosecha (INIAP, 2020).

#### **5.3.1.3 Enfermedad y/o plaga prevalente**

Se muestrearán y registrarán las enfermedades y/o plagas que prevalezcan en el ensayo, para su respectivo análisis en el Departamento de Protección Vegetal (INIAP, 2020).

#### **5.3.1.4 Días a la cosecha para fibra**

Se registrarán los DDE hasta la cosecha. Para determinar el momento ideal de la cosecha para fibra, es necesario tomar como referencia la fase de floración femenina, es decir, las plantas se cosecharán 20 días después de la floración de las plantas hembras y antes de que las semillas se desarrollen, para precautelar la calidad e integridad de las fibras producidas debido a la competencia con el desarrollo y maduración de semillas (Labiser, 2022).

#### **5.3.1.5 Días a la cosecha para semilla**

Se registrarán los DDE hasta la maduración del 50% de las semillas, lo que permitirá la recolección de las mismas (Labiser, 2022).

#### **5.3.1.6 Rendimiento de fibra Total**

En campo, se tomará una muestra compuesta por cada repetición, dicha muestra se conformará por 5 submuestras tomadas en zig zag en toda el área de cada repetición, evitándose los bordes, además las plantas serán cortadas desde la base del tallo. En total se ingresarán 3 muestras compuestas, una por cada repetición. En laboratorio, para la determinación de fibra total se seguirá el método AOAC 978.10. Para lo cual se pesará 1 g de muestra en crisoles porosos (100 µm) de vidrio y se colocarán en el equipo FOSS Fibertec 8000 (Dinamarca, Hillerod), una vez que el calentador llegue a los 120 °C se someterá a digestión ácida (solución de ácido sulfúrico 1,25% v/v) y digestión alcalina (solución de NaOH 1,25% p/v) por 1 hora respectivamente.



Transcurrido este tiempo las muestras se someterán a un proceso de lavado con agua destilada. Posteriormente los crisoles con las muestras digeridas serán retiradas del equipo y colocados en un horno de convección Lab-Line Imperial V (USA, Illinois) a 105 °C durante 1 hora y se someterá a un proceso de calcinación a 500 °C por 8 horas. Finalmente se colocará en un desecador, luego se enfriará y se tomarán los pesos de la muestra seca y muestra calcinada. Los resultados se expresarán en gramos de fibra por cada 100 gramos de muestra seca.

#### **5.3.1.7 Rendimiento de semillas (hojas, tallos y flores)**

Se cosechará 1 m<sup>2</sup> de cada repetición, las semillas se trillarán y pesarán, el resultado se expresará en g m<sup>-2</sup>. Las semillas se corregirán hasta el 13 % de humedad (UPOV, 2012). La corrección de humedad se realizará por descuento de humedad aplicando la siguiente igualdad (Velásquez et al, 2008).

$$\text{Peso inicial (100-humedad inicial)} = \text{peso final (100- humedad final)}$$

#### **5.3.1.8 Contenido de THC (% en flores)**

En campo, se tomará una muestra compuesta por cada repetición, dicha muestra se conformará por 5 submuestras tomadas en zic zac en toda el área de cada repetición, evitándose los bordes. Se cortarán los 30 cm superiores del tallo principal, en el que aparezca la inflorescencia femenina. En total se ingresarán 3 muestras compuestas, una por cada repetición. El muestreo se realizará el día de la cosecha. En total se ingresarán tres muestras compuestas al laboratorio (una por cada repetición). Las muestras deberán secarse inmediatamente (en un plazo de 48 horas) a una temperatura inferior a 60 °C. Las muestras se secarán hasta adquirir un peso constante y una humedad comprendida entre el 8 y el 13 %. Tras el secado, las muestras se someterán a un proceso de molienda hasta obtener un tamaño de partícula < 1mm, posteriormente se colocarán en frascos plásticos en un lugar oscuro a una temperatura < 25 °C. El análisis se realizará utilizando el método AOAC 2018.11, para lo cual se extraerá el THC en etanol y se cuantificará por cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) acoplada a detector de arreglo de Diodos (DAD) a una longitud de onda de 240 nm (UNODC, 2010).

### **5.4 Manejo específico del experimento**

El manejo específico del experimento (siembra, fertilización, labores agrícolas) dependerán directamente del paquete tecnológico que entregará el contratante del servicio de validación.

## **6. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES**

En el anexo 4, se detallarán las actividades a realizarse durante los dos ciclos del cultivo.

## **7. PRESUPUESTO**

Se deberá elaborar un presupuesto en base a los insumos requeridos para la implementación y manejo del experimento.

## **8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Amaducci S., Michele C., Gianni B., Salvatore Luciano C., Katri P., Tjeerd Jan S., Wim W., Alessandro Z., Gianpietro V. (2012). Evaluation of a phenological model for strategic decisions for hemp (*Cannabis Sativa* L.) biomass production across European sites, *Industrial Crops and Products*, 37 (1): 100-110. ISSN 0926-6690.

Elfordy S. Elfordy, F. Lucas, F. Tancret, Y. Scudeller, L. Goudet, (2008). Mechanical and thermal properties of lime and hemp concrete (“hemcrete”) manufactured by a projection process, *Construction and Building Materials*, 22 (10):2116-2123. ISSN 0950-0618.

FAOSTAT. (2022) Estadísticas de producción, rubro Cáñamo. Disponible en: <https://www.fao.org/faostat/es/#search/CÁÑAMO>

Fundación Daya. (2020). Cannabis medicinal: una breve guía sobre usos y efectos. Consultado el: 24 de septiembre de 2020. Disponible en: <http://www.fundaciondaya.org/cannbis-medicnal-usos-efectos-tipos-de-cannabis/>

Garcia-Jaldon, C., Dupeyre, D., Vignon, M.R. (1998). Fibers from semi-retted hemp bundles by steam explosion treatment. *Biomass Bioenergy* 14, 251–260.

INIAP. (2020). Protocolo base de validación y adaptabilidad para ensayos de cultivos de cáñamo (*Cannabis sativa*) con fines medicinales. 12pp.

Johnson, R., (2013). Hemp as an Agricultural Commodity. CRS Report for Congress. Congressional Research Service  
<https://www.fas.org/sgp/crs/misc/RL32725.pdf>

Labiser, (2022). Como cultivar cáñamo. Disponible en: <https://labiser.es/como-cultivar-canamo/>



- Mediavilla V., V Mediavilla, M Leupin, A Keller, (2001). Influence of the growth stage of industrial hemp on the yield formation in relation to certain fiber quality traits, *Industrial Crops and Products*, 13(1): 49-56. ISSN 0926-6690.
- Prade T., Michael F., Sven-Erik S., Jan Erik M. (2012). Effect of harvest date on combustion related fuel properties of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.), *Fuel*, 102: 592-604. ISSN 0016-2361.
- Ragit, S.K, Mohapatra, Prashant Gill, K. Kundu, (2012). Brown hemp methyl ester: Transesterification process and evaluation of fuel properties, *Biomass and Bioenergy*, 41:14-20. ISSN 0961-9534
- UNODC, 2010. Métodos recomendados para la identificación y el análisis del cannabis y los productos del cannabis, manual para uso de los laboratorios nacionales de estupefacientes. New York. 64 pp. ISBN 978-92-1-348147-9.
- UPOV (Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales). 2002. Introducción General al examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad y a la elaboración de descripciones armonizadas de las obtenciones vegetales. TG/1/3. Ginebra, Suiza. 28 p
- Velásquez, J., Monteros, A., y Tapia B., C. (2008). Semillas, tecnología de producción y conservación. Quito, Ecuador: INIAP, Estación Experimental Santa Catalina, Departamento de Producción de Semillas.

## 9. ANEXOS

Anexo 1. Ubicación del experimento.

Localidad	Parroquia	Cantón	Coordenadas geográficas	
			Latitud	Longitud
1				
2				
3				
.				
.				
n				

Anexo 2. Condiciones climáticas del sitio experimental.

Localidad	Altitud	Zona Climática	Temperatura Promedio	Precipitación media anual	Humedad relativa promedio	Heliofanía
1						
2						
.						
.						
n						

Anexo 3. Descripción de las variedades del ensayo de validación y adaptabilidad.

Variedad	Descripción
1	
2	
3	
.	
.	
n	

Anexo 4. Cronograma de actividades por ciclo de producción

ACTIVIDADES	MESES				
	1	2	3	4	5
Elaboración de protocolo y presentación a comité técnico					
Preparación de invernadero					
Preparación terreno					
Siembra					
Labores culturales					
Cosecha					
Pos cosecha					
Registro de datos					
Análisis de datos					
Elaboración de informe técnico					