

DESEMPEÑO FISIOLÓGICO DE TRES GENOTIPOS DE *Theobroma cacao* L.
(Malvaceae) BAJO DIFERENTES REGÍMENES HÍDRICOS EN ETAPA DE
VIVERO

ORLANDO ANDRÉS FUENTES ZAMBRANO

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA
BUCARAMANGA

2011

DESEMPEÑO FISIOLÓGICO DE TRES GENOTIPOS DE *Theobroma cacao* L.
(Malvaceae) BAJO DIFERENTES REGÍMENES HÍDRICOS EN ETAPA DE
VIVERO

ORLANDO ANDRÉS FUENTES ZAMBRANO

Proyecto de grado modalidad investigación como requisito para optar el título
de “BIÓLOGO”

Director

RAUL GÓMEZ SANTOS

Codirector

CAROLINA JARAMILLO GIRALDO

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA
BUCARAMANGA

2011

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la cofinanciación de este proyecto a COLCIENCIAS, ASOMUCARI Y CORPOICA. Especialmente a la Estación Experimental La Suiza por brindar apoyo y logística para el desarrollo del estudio. A mi director Raúl Gómez Santos, a la codirección de Carolina Jaramillo Giraldo y a la Universidad Industrial de Santander.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	11
1. MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
1.1 METODOLOGÍA DE CAMPO.....	14
1.2 TRATAMIENTO HÍDRICO	15
1.3 PARÁMETROS DE CRECIMIENTO	15
1.4 CONTENIDO RELATIVO DE AGUA	16
1.5 FOTOSÍNTESIS.....	16
1.6 DETERMINACIÓN ISOTÓPICA DE CARBONO.....	17
1.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	17
2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
CONCLUSIONES.....	28
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

LISTA DE TABLAS

TABLA 1. ANOVA factorial para la evaluación de variables de crecimiento en T. cacao respecto a clones (IMC67, PA46 y PA121), tratamientos hídricos (100%, 50% y 25% de la CC) y edad (38, 53, 68, 83 y 98 DDE). *p<0,05; ** p<0,001; NS: No Significativo.....	22
TABLA 2. ANOVA de dos vías para la evaluación de las variables A, E, EUA, CRA, $\delta^{13}C$ y AFE en T. cacao respecto a clones (IMC67, PA46 y PA121) y tratamientos hídricos (100%, 50% y 25% de la CC) a los 98 DDE. *p<0,05; ** p<0,001; NS: No Significativo.	23

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.** Efecto del tratamiento hídrico evaluado con las variables de crecimiento: (a) Tasa relativa de crecimiento para peso seco de parte aérea (TRC_PA); (b) Tasa relativa de crecimiento para diámetro del tallo (TRC_DT) y (c) Tasa relativa de crecimiento de peso total seco (TRC_PT); expresadas en $g \cdot g^{-1} \cdot d^{-1}$. Letras diferentes indican diferencias significativas según prueba de Tukey a una $p < 0,05$24
- FIGURA 2.** Efecto de la edad, expresada en DDE, evaluado con las variables de crecimiento: (a) Tasa relativa de crecimiento para peso seco de parte aérea (TRC_PA); (b) Tasa relativa de crecimiento para diámetro del tallo (TRC_DT) y (c) Tasa relativa de crecimiento de peso total seco (TRC_PT); expresado en $g \cdot g^{-1} \cdot d^{-1}$. Letras diferentes indican diferencias significativas según prueba de Tukey a una $p < 0,05$25
- FIGURA 3.** Efecto de la interacción total, clon (IMC67, PA46 y PA121) x tratamiento hídrico (100%, 50% y 25% de la CC) x edad (38, 53, 68, 83 y 98 DDE), evaluado con las variables de crecimiento: (a) Tasa relativa de crecimiento para peso seco de parte aérea (TRC_PA) y (b) Tasa relativa de crecimiento de peso total seco (TRC_PT) expresado en $g \cdot g^{-1} \cdot d^{-1}$25
- FIGURA 4.** Efecto del tratamiento hídrico sobre: (a) Tasa Fotosintética (A), expresado en $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$, (b) Tasa de Transpiración (E), expresado en $mmol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ y (c) Eficiencia del uso del agua (EUA) a los 98 DDE. Letras diferentes indican diferencias significativas según prueba de Tukey a una $p < 0,05$26
- FIGURA 5.** Efecto del tratamiento hídrico sobre el contenido relativo de agua (CRA) a los 98 DDE, expresado en %. Letras diferentes indican diferencias significativas según prueba de Tukey a una $p < 0,05$26
- FIGURA 6.** Efecto de: (a) Clon y (b) Tratamiento, en la discriminación isotópica de Carbono ($\delta^{13}C$) a los 98 DDE, expresado en ‰. Letras diferentes indican diferencias significativas según prueba de Tukey a una $p < 0,05$27
- FIGURA 7.** Efecto de los clones sobre el área foliar específica (AFE) a los 98 DDE, expresado en $cm^2 \cdot g^{-1}$. Letras diferentes indican diferencias significativas según prueba de Tukey a una $p < 0,05$27

RESUMEN

TITULO

DESEMPEÑO FISIOLÓGICO DE TRES GENOTIPOS DE *Theobroma cacao* L. (Malvaceae) BAJO DIFERENTES REGÍMENES HÍDRICOS EN ETAPA DE VIVERO*

AUTORES

FUENTES ZAMBRANO Orlando Andrés **

PALABRAS CLAVES

Theobroma cacao, estrés hídrico, crecimiento, uso eficiente del agua

DESCRIPCIÓN O CONTENIDO

El objetivo de este estudio fue el de evaluar la respuesta fisiológica de tres genotipos de cacao bajo diferentes regímenes hídricos durante la etapa de vivero. Para ello se evaluó tasa relativa de crecimiento, área foliar específica, eficiencia del uso del agua, contenido relativo de agua e isótopos estables de carbono en tres genotipos de *Theobroma cacao* (IMC67, PA46 y PA121). Fueron aplicados los regímenes hídricos 100%, 50% y 25% de la capacidad de campo del sustrato durante 98 días después de la emergencia. Las variables de crecimiento medidas fueron: peso seco de la parte aérea, peso total seco, diámetro del tallo, área foliar y peso seco de la hoja. Para evaluar eficiencia del uso del agua se midió tasa de fotosíntesis y transpiración. El contenido relativo de agua se calculó mediante peso fresco, peso en turgencia y peso seco de discos foliares. Además se midió la discriminación isotópica de carbono. Se encontró que la restricción hídrica de 50% no fue suficiente para provocar estrés y no se diferenció del 100%. No se observó diferencia de crecimiento entre los genotipos evaluados. El genotipo IMC67 tuvo un mejor uso eficiente del agua según la discriminación isotópica de carbono, mientras los genotipos PA121 y PA46 no presentaron este mismo comportamiento. Según el área foliar específica, la mayor capacidad de crecimiento de la hoja se dio en el genotipo PA46, contrario a lo hallado para el IMC67. Teniendo en cuenta la edad, los días 53 y 68 fueron las etapas de mayor crecimiento, lo cual no ocurrió para los días 38, 83 y 98.

* Proyecto de grado

** Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Biología. Director: I.A. GÓMEZ SANTOS Raúl Codirector: M.Sc. JARAMILLO GIRALDO Carolina

ABSTRACT

TÍTULO:

PHYSIOLOGICAL PERFORMANCE OF THREE GENOTYPES OF *Theobroma cacao* L. (Malvaceae) UNDER DIFFERENT WATER REGIMES IN THE NURSERY STAGE*

AUTHORS

FUENTES ZAMBRANO Orlando Andrés **

Keywords:

Theobroma cacao, water stress, growth, water use efficiency

DESCRIPTION / CONTENT

The aim of this study was to evaluate the physiological response of cacao genotypes under different water regimes during the nursery stage. We evaluated relative growth rate, specific leaf area, water use efficiency, relative water content and stable carbon isotopes in three genotypes of *Theobroma cacao* (IMC67, PA46 and PA121). Water regimes of 100%, 50% and 25% of the substrate field capacity were applied during 98 days after emergence. The growth variables measured were: dry weight of shoot, total dry weight, stem diameter, leaf area and leaf dry weight. To evaluate water use efficiency was measured rate of photosynthesis and transpiration. Relative water content was calculated using fresh weight, turgid weight and dry weight of leaf discs. Also, it was measured the isotopic discrimination carbon. We found that 50% water restriction was not enough to cause stress and did not differ from 100%. There was no difference in growth between genotypes. IMC67 genotype had a better efficient use of water according to carbon isotope discrimination, whereas PA121 and PA46 genotypes did not show the same behavior. As show by specific leaf area, the greater capacity of leaf growth occurred in the genotype PA46, contrary to what was found for IMC67. Given the age, 53 and 68 were the periods of high growth, which did not occur for days 38, 83 and 98.

* Project level

** Universidad Industrial de Santander. Faculty of Sciences. School of Biology. Director: I.A. SANTOS GOMEZ Raul Co: M.Sc. Carolina Giraldo Jaramillo

INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es una planta leñosa, perenne tropical, originaria del sotobosque de los bosques húmedos de Suramérica (Lauchenaud *et al.*, 2007); clasificada en la familia Malvaceae (Alverson *et al.*, 1999). Es considerado una planta perenne muy importante en el planeta (Almeida & Valle, 2007; ICCO, 2007), ya que presenta una producción mundial de 3,5 millones de toneladas en el 2006 (ICCO, 2007). Además, exhibe una considerable variabilidad genética en características morfológicas y fisiológicas (Daymond *et al.*, 2002). Estos procesos fisiológicos reducen la productividad debido, especialmente, a largos períodos de sequía (Balasimha *et al.*, 1991).

El agua juega un papel fundamental en la producción de alimento en todo el mundo, cerca del 80% de las tierras agrícolas necesitan agua lluvia para regar sus cultivos. Por lo tanto, la productividad en estas regiones va depender del nivel de precipitación de agua para satisfacer la demanda de evaporación del ambiente y distribución de la humedad en el suelo (FAO, 2003). Durante este siglo, el cambio climático modificará fuertemente el recurso hídrico para la producción de alimento en el mundo, esto fue corroborado por las proyecciones hechas a los regímenes de temperatura y precipitación. Como también a las proyecciones realizadas cuando ocurren eventos extremos, tales como sequía e inundaciones prolongadas (IPCC, 2008). La evaluación de los efectos del cambio climático sobre el régimen hidrológico en Colombia estima cambios para diferentes regiones (aumento para algunas, disminución para otras) que estarían entre $\pm 15\%$ (IDEAM, 2008).

Varios proyectos latinoamericanos en Cacao evidencian la falta de planes de mejoramiento basados en estudios ecofisiológicos de los cultivares (Tezara *et al.*, 2008). La investigación ecofisiológica de las plantas se basa en la interacción entre la planta y el ambiente, comúnmente enfocada en recursos particulares como luz, agua, intercambio gaseoso o nutrientes, y cómo esta

interacción es influenciada o mediada por dichos recursos (Dawson *et al.*, 2002). La influencia del recurso agua, en caso de déficit, disminuye la productividad y reduce los procesos vitales de la planta, ante todo el fotosintético (Boyer, 1982; Munns, 2002). La fotosíntesis es afectada por el déficit hídrico, debido posiblemente a un efecto directo caracterizado por la deshidratación del aparato fotosintético, o por el efecto indirecto del cierre estomático (DaMatta, 2003). Los estomas modifican la abertura bajo condiciones de deficiencia hídrica para regular la pérdida del agua por la transpiración (Larcher, 2004); aunque algunos genotipos presentan una regulación de la transpiración bajo condiciones de deficiencia hídrica, siendo esta una importante estrategia de aclimatación a condiciones de sequía (Balasimha *et al.*, 1991). Estudios reportan que, la tasa de fotosíntesis líquida (A) en hojas de *T. cacao* oscila entre los 1 a 6.5 CO₂ μmol m⁻² s⁻¹ y se satura a una densidad de flujo fotónico (DFF) de 400 μmol m⁻² s⁻¹ (Joly & Hahn, 1989; Schramm *et al.*, 2005; Baligar *et al.*, 2008). En general, estudios realizados a plantas jóvenes bajo déficit hídrico mostraron que la tasa de fotosíntesis disminuyó en cuanto se intensificó el estrés (Balasimha *et al.*, 1991).

El análisis de crecimiento permite evaluar la distribución de biomasa y calcular índices de eficiencia del crecimiento, como la tasa de crecimiento relativo (TRC) y tasa absoluta de crecimiento (TAC) (Hunt, 1978). Su ventaja radica en la facilidad de obtención de los datos en los cuales se basa, como son el peso seco de plantas completas o de sus partes (hojas, tallos vástagos) y las dimensiones del aparato asimilatorio (área foliar, contenido de clorofila, etc.) (Marín, 1989).

El estudio de isótopos de carbono aporta información sobre multitud de procesos fisiológicos y es especialmente útil como medida integradora de la respuesta de las plantas a las condiciones ambientales. Bajo este escenario, no se dan valores tan extremos de δ¹³C para plantas C₃, ya que puede oscilar entre -22,5‰ y -34,5‰ (Reigosa *et al.*, 2004). Ortega *et al.*, (2004) encontraron que los valores de δ¹³C variaron de acuerdo a la disponibilidad de agua en pinos, y Enquist *et al.*, (1998) hallaron una fuerte correlación entre la eficiencia

del uso de agua en las plantas y su producción de biomasa aérea. Flanagan y Ehleringer (1998) observaron que existe dependencia entre la discriminación isotópica de carbono y el intercambio de gases fotosintéticos ya que el análisis foliar suministra una estimación de la δ producida durante el período de vida de la hoja.

La estación experimental “La Suiza” ha trabajado durante más de 10 años en la obtención de genotipos de cacao con alta productividad, rendimiento y calidad. Los genotipos recomendados como patrones para injertación son IMC67, PA46, PA121, PA150 y P7 (Palencia y Mejía, 2000), y su injertación se aconseja pasados 60 días de edad (Palencia *et al.*, 2007).

El objetivo de este estudio fue el de evaluar la respuesta fisiológica de tres genotipos de cacao bajo diferentes regímenes hídricos durante la etapa de vivero.

1. MATERIALES Y MÉTODOS

1.1 METODOLOGÍA DE CAMPO

El experimento fue realizado en la biofábrica de la Estación Experimental “La Suiza”, suscrito a la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria “Corpoica”, ubicada en el municipio de Rionegro – Santander (Colombia), vereda Altobello a 550m sobre el nivel del mar, con temperatura promedio 32°C y humedad relativa mayor al 80%; cuyas coordenadas geográficas son 7° 22’ 11,14” N, 73° 10’ 37,92” O. Se adecuó una infraestructura en madera con techo y cubierta de plástico transparente bajo cubierta de polisombra en un área de 4x12m, dentro del cual se ubicaron mesas de soporte. El Banco Nacional de Germoplasma de Cacao suministró el material vegetal utilizado en este estudio y fueron seleccionados tres genotipos de *Theobroma cacao*: IMC67, PA46 y PA121.

Las semillas de cada genotipo fueron lavadas con aserrín y agua para eliminar el mucílago y posteriormente colocadas en bandejas con arena de río desinfectada para su germinación y se realizaron las respectivas labores y correctivos de manejo de portainjertos mencionados por Corpoica (Palencia & Mejía, 2000, 2004; Palencia *et al.*, 2004). Fue preparado el sustrato en proporción 1:1:2 (arena, lombricompost y suelo respectivamente), y se sometió al método de solarización para la eliminación de patógenos a partir de su exposición a altas temperaturas (Katan, 1981). Posteriormente fue recogida una muestra de 500g y fue sometida a análisis químico en el Laboratorio Químico de Suelos de la Universidad Industrial de Santander, el cual mostró un porcentaje de arena de 74%, limo 22% y arcilla 4%, lo que lo ubica con una textura franco-arenosa; pH ligeramente ácido (6,3), niveles altos en elementos menores y un nivel medio de materia orgánica.

Cada plántula germinada fue sembrada en vasijas con una capacidad de 10L y fueron distribuidos dentro de la estructura de madera en un esquema experimental completamente al azar con arreglo factorial en nueve tratamientos, correspondientes a la interacción de tres genotipos de cacao y tres regímenes hídricos: 100%, 50% y 25% de capacidad de campo del sustrato (CC).

1.2 TRATAMIENTO HÍDRICO

Para determinar los mililitros de agua a aplicar, se determinó la capacidad de campo del sustrato (CC). El análisis físico-químico, complementado con los métodos gravimétricos y método de tubo, expuestos por Saraiva *et al.*, 1997, fueron la base para este análisis. El cual dio como resultado 800mL aproximadamente para el 100%, 400mL aproximadamente para el 50% y 200mL para el 25%. Este tratamiento hídrico implicó la capacidad del sustrato para mantener cierto porcentaje de humedad y se dispuso cuando las plántulas de cacao presentaron el primer par de hojas completamente expandidas que fue a los 8 días después de emergencia (DDE). A partir de la primera aplicación hídrica se tomó el peso de las vasijas y a continuación se controló diariamente el peso perdido recuperándolo con agua. Con el fin de mantener un control estricto, se restó el peso acumulado de las plantas al peso de las vasijas y se realizó la toma de datos antes de la aplicación hídrica diaria (entre 8h y 11h), de modo que las plantas mantuvieran la capacidad de campo constante según cada tratamiento.

1.3 PARÁMETROS DE CRECIMIENTO

Fue realizado muestreo destructivo a los 38 días después de la emergencia de la planta (DDE) y continuamente, cada 15 días durante tres meses, teniendo un total de cinco colectas de material vegetal durante 90 días. En cada colecta, tres plántulas por tratamiento fueron separadas por partes de raíz, tallo y hojas; a las hojas fue calculada la área foliar mediante el software AEQUITAS IA

versión 1.32., y el diámetro de los tallos fue medido utilizando un calibrador vernier. Posteriormente, cada muestra fue depositada en bolsas de papel previamente identificadas para ser secadas en horno durante 48 horas a 45 C. Cada muestra seca, fue pesada con balanza analítica y fue calculada el área foliar específica (AFE) y la tasa relativa de crecimiento (TRC) de el peso seco de la parte aérea (PA), diámetro del tallo (DT) y peso seco total (PT) mediante la siguiente fórmula: $TRC = (\ln P_2 - \ln P_1) / (t_2 - t_1)$, expresada en $g^{-1} \cdot d^{-1}$ (Hunt, 1978).

1.4 CONTENIDO RELATIVO DE AGUA

Se tomaron discos foliares de 3,3cm de diámetro de diferentes hojas de los tratamientos a los 98 DDE. A continuación se obtuvo su peso fresco (Pf) con balanza analítica y en seguida se rehidrataron en agua destilada durante 1h en oscuridad. Se pesaron nuevamente con el fin de adquirir su peso turgente (Pt), luego se deshidrataron en horno durante 48h a 60°C. Posteriormente se tomó su peso en seco (Ps) para calcular el contenido relativo de agua con la fórmula $\%CRA = Pf - Ps / Pt - Ps$ según Hall *et al.*, 1993.

1.5 FOTOSÍNTESIS

A los 98 DDE se estimó la capacidad fotosintética de los tratamientos y sus respectivas repeticiones con un analizador de gases en el infrarrojo portátil LCpro+ IRGA de la casa ADC BioScientific Ltd. Las mediciones se realizaron en un día claro en el período entre las 8:00 y las 11:00 horas, con una temperatura promedio de 34,5°C y presión atmosférica de 957mBar; utilizando una pinza que soporta la hoja (Broad Leaf Chamber) ajustada para emitir una radiación de $400 \mu mol m^{-2} s^{-1}$ (Joly & Hahn, 1989; Schramm *et al.*, 2005; Baligar *et al.*, 2008). En cada planta se seleccionaron hojas maduras y completamente expandidas de la parte media sin señales de herbivoría ni ataque de patógenos o senescencia. Se registró la tasa de fotosíntesis (A) y la

tasa de transpiración (E) con el fin de estimar la eficiencia en el uso del agua (EUA), expresada como A/E.

1.6 DETERMINACIÓN ISOTÓPICA DE CARBONO

La preparación de las muestras, a los 98 DDE, consistió en tomar hojas al azar de cada tratamiento; fue retirada la nervadura principal y se realizó macerado en seco hasta quedar polvo. Finalmente, fueron colocadas en bolsas plásticas debidamente identificadas. Estas muestras fueron analizadas en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) con sede en Palmira (Valle del Cauca).

1.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La naturaleza de los datos tomados sugirió dos análisis. El primero, realizado a los datos registrados en cinco muestreos durante 90 días, comprendió una ANOVA factorial donde se evaluó como variables independientes los genotipos de cacao (IMC67, PA46 y PA121), tratamientos hídricos (100%, 50% y 25% de la CC) y edad (38, 53, 68, 83 y 98 DDE); como factores de variación o variables dependientes se evaluó TRC_PA, TRC_DT y TRC_PT. Este análisis permitió indagar el efecto de los genotipos, el tratamiento hídrico y la edad DDE, además de evaluar un diagnóstico integrado de los mismos. El segundo análisis, realizado a los datos registrados sólo al final del estudio (98 DDE), condujo a la obtención de una ANOVA de dos vías donde las variables independientes fueron los genotipos de cacao y los tratamientos hídricos. Como variables dependientes se evaluó A, E, EUA, CRA, AFE y $\delta^{13}\text{C}$.

En ambos análisis estadísticos se realizó una prueba de comparaciones *a posteriori* de Tukey para aquellas variables con diferencias significativas en las ANOVA ($p < 0,05$) con el fin de discriminar entre genotipos, tratamientos, edad y

su interacción (genotipos x tratamiento hídrico, genotipos x edad, tratamiento hídrico x edad y genotipos x tratamiento hídrico x edad).

Previo a los análisis de varianza y con el fin de lograr que todas las variables cumplieran con las asunciones de normalidad y homogeneidad de varianzas, se realizaron pruebas de Kolmogorov Smirnov y de Levene respectivamente (Zar, 1999). Las transformaciones efectuadas para cumplir dichas asunciones fueron: TRC_PA: $(\sqrt{X} + \sqrt{X+1})$; TAC_PT: LN (X); TRC_DT: LN (X), TRC_PT: $(\sqrt{X} + \sqrt{X+1})$; $\delta^{13}\text{C}$: (Cos X), AFE: LN (X). Se empleó el software estadístico SAS v.9 (System Analyze Statistics, 2002).

2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tratamiento hídrico (100, 50 y 25 % CC) y la edad presentaron diferencias altamente significativas para todas las variables de crecimiento: Tasa relativa de crecimiento en relación con el peso seco de la parte aérea (TRC_PA), con el crecimiento del diámetro del tallo (TRC_DT) y con el peso seco total de la planta (TRC_PT), de acuerdo con el análisis de variancia realizado, registrado en la Tabla 1.

Según la prueba de Tukey, se encontró que al evaluar el efecto del tratamiento hídrico para todas las variables (TRC_PA, TRC_DT y TRC_PT), la aplicación de agua de 50% fue la más efectiva al presentar los valores más significativos para Tukey, mientras el 25% presentó los menores (Figura 1), lo cual demostró que esta última fue suficiente para infligir un estrés en las plantas. Por otro lado, en la evaluación efectuada al efecto de la edad con todas las variables se obtuvo que para a los 68 DDE, las variables TRC_PA y TRC_PT consiguieron su valor máximo, etapa en la cual se puede hablar de una fase de resistencia o aclimatación de la planta al estrés hídrico (Lichtenthaler, 1996), (Figuras 2a, 2c); la misma aclimatación se consiguió a los 53 días DDE para TRC_DT, lo que demuestra como el crecimiento de estructuras secundarias en el tallo fue de tendencia ascendente en la primera fase del estudio (Figura 2b). La menor magnitud se dio a los 38 DDE, acorde con lo esperado para una planta que inicia su crecimiento.

Cuando se observó el efecto de la interacción total: clon (IMC67, PA46 y PA121) x tratamiento hídrico (100%, 50% y 25% de la CC) x edad (38, 53, 68, 83 y 98 DDE), para la variable TRC_PA se encontró que el valor más bajo de Tukey lo obtuvo la combinación genotipo PA46 con tratamiento hídrico de 100% a los 83 DDE, y el más alto presentado por el genotipo PA121 con 100% de la CC en el día 68 DDE (Figura 3a). La TRC_PT reveló que la más alta interacción se dio en el genotipo PA121, con 100% a los 68 DDE y la más baja

expuso el mismo genotipo con 25% de deficiencia hídrica a los 98 DDE (Figura 3b).

Los diferentes genotipos de cacao evaluados en este estudio no presentaron diferencias significativas en la tasa de fotosíntesis (A), respiratoria (E), eficiencia de uso de agua (EUA) y contenido relativo de agua (CRA), contrario al efecto altamente significativo del tratamiento hídrico (Tabla 2).

En la tasa de fotosíntesis (A) los valores más altos fueron obtenidos en los tratamientos hídricos de 50 y 100% y el menor al 25% según el análisis de Tukey (Figura 4a). Estos resultados concuerdan con lo encontrado por Balasimha (1991) para plantas jóvenes en ambientes controlados, y con lo hallado por Ennajeh *et al.* en 2008 en cuanto a que la tasa de fotosíntesis en plantas de *Olea europaea* fue alta cuando el estrés hídrico es moderado pero decrece cuando se intensifica, debido a un cierre estomático que impidió la pérdida de agua y así el mantenimiento de la capacidad hídrica. La tasa de transpiración (E) presentó una tendencia inversa a la fotosíntesis encontrando su valor más alto al 25% y el más bajo al 100% (Figura 4b), reflejo de la eficiencia foliar instantánea al mostrar el agua que perdió la planta por transpiración para la fotosíntesis (Calcerrada, 2007) en el tratamiento hídrico más severo. La eficiencia del uso del agua encontró su máximo valor con 100% y su valor mínimo al 25%, al igual que la fotosíntesis, lo que se ajusta a lo descubierto por Rodrigo en el 2007, cuando afirmó que para caucho (*Hevea brasiliensis*) el bajo contenido de agua no favoreció la eficiencia de producción de materia seca, resultando en bajos niveles de EUA (Figura 4c).

En el caso de la medida de contenido relativo de agua (CRA), se obtuvo un valor óptimo con deficiencia hídrica del 50% de la CC y la estimación más baja se halló con aplicación de agua del 25% (Figura 5). Reafirmando los resultados de crecimiento hallados para estos tratamientos.

La discriminación isotópica de Carbono ($\delta^{13}\text{C}$) presentó un efecto significativo en los factores genotipo y tratamiento hídrico. Fue observado un valor alto para

el genotipo IMC67, respondiendo con un cierre estomático que impidió la pérdida de agua y demostrando una mayor eficiencia del uso de agua (Martinelli *et al.*, 2009); a diferencia del PA121, que se caracterizó por su valor más bajo (Figura 6a), y para el efecto del tratamiento, se halló el máximo valor al 100%. La mínima magnitud se observó al 25% (Figura 6b), acorde a lo hallado por Calcerrada en el 2007, quien afirmó que la discriminación isotópica de carbono se reduce cuando la concentración intercelular de CO₂ disminuye debido al cierre temporal de los estomas ante situaciones de estrés hídrico. Esto demostró que existe la posibilidad de una relación entre el genotipo y el tratamiento hídrico para la determinación isotópica de carbono.

En los genotipos evaluados el área foliar específica (AFE) presentó diferencias significativas, donde el genotipo IMC67 presentó la menor magnitud y el PA121 la mayor (Figura 7). Lo que señala que las diferencias en el AFE son inherentes a la genética y características fisiológicas de cada genotipo. Según esto, el genotipo IMC67 presentó una respuesta al estrés hídrico disminuyendo el AFE, según Lambers *et al.*, (1998), que afirmaron que las plantas reducen la tasa de crecimiento foliar como manifestación de una respuesta inmediata al déficit hídrico temporal. Debido a la acumulación de ácido abscísico (ABA) en los tejidos (Medrano y Flexas, 2003). Una AFE elevada incrementa la fragilidad de las hojas, al tiempo que incrementa el riesgo de pérdidas prematuras de tejido (Lusk, 2002); mientras que una menor AFE tiene correlación con una mayor lignificación, menor tamaño celular y bajo contenido de humedad (Castro *et al.*, 2000).

TABLA 1. ANOVA factorial para la evaluación de variables de crecimiento en T. cacao respecto a clones (IMC67, PA46 y PA121), tratamientos hídricos (100%, 50% y 25% de la CC) y edad (38, 53, 68, 83 y 98 DDE). *p<0,05; ** p<0,001; NS: No Significativo.

<i>Variable</i>	<i>Fuentes de Variación</i>	<i>GL</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
TRC_PA	Clon	2	1,00	NS
	Tratamiento	2	19,80	**
	Edad	4	30,44	**
	C x T	4	0,20	NS
	C x E	8	2,55	*
	T x E	8	6,70	**
	C x T x E	16	2,26	*
	TRC_DT	Clon	2	0,857
Tratamiento		2	3,124	*
Edad		4	5,175	**
C x T		4	0,371	NS
C x E		8	0,269	NS
T x E		8	1,268	NS
C x T x E		16	0,837	NS
TRC_PT		Clon	2	1,96
	Tratamiento	2	20,78	**
	Edad	4	39,36	**
	C x T	4	0,64	NS
	C x E	8	2,58	*
	T x E	8	7,98	**
	C x T x E	16	2,24	*

TABLA 2. ANOVA de dos vías para la evaluación de las variables A, E, EUA, CRA, $\delta^{13}\text{C}$ y AFE en T. cacao respecto a clones (IMC67, PA46 y PA121) y tratamientos hídricos (100%, 50% y 25% de la CC) a los 98 DDE. * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$; NS: No Significativo.

<i>Variable</i>	<i>Fuentes de Variación</i>	<i>GL</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
A	Clon	2	1,2414	NS
	Tratamientos	2	9,1901	*
E	Clon	2	0,3509	NS
	Tratamientos	2	4,4449	*
EUA	Clon	2	2,31241	NS
	Tratamientos	2	12,16546	**
CRA	Clon	2	0,6453	NS
	Tratamientos	2	35,6515	**
$\delta^{13}\text{C}$	Clon	2	4,695151	*
	Tratamientos	2	4,867597	*
AFE	Clon	2	3,85	*
	Tratamientos	2	0,08	NS

FIGURA 1. Efecto del tratamiento hídrico evaluado con las variables de crecimiento: (a) Tasa relativa de crecimiento para peso seco de parte aérea (TRC_PA); (b) Tasa relativa de crecimiento para diámetro del tallo (TRC_DT) y (c) Tasa relativa de crecimiento de peso total seco (TRC_PT); expresadas en $g^{-1} \cdot d^{-1}$. Letras diferentes indican diferencias significativas según prueba de Tukey a una $p < 0,05$.

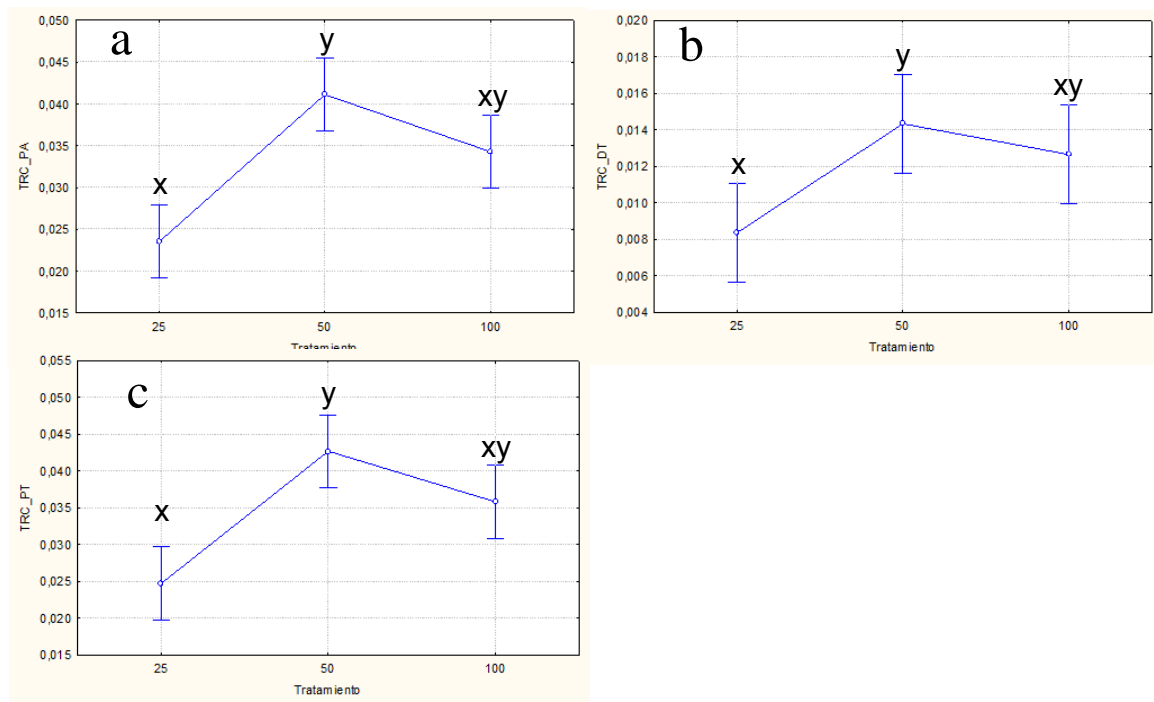


FIGURA 2. Efecto de la edad, expresada en DDE, evaluado con las variables de crecimiento: (a) Tasa relativa de crecimiento para peso seco de parte aérea (TRC_PA); (b) Tasa relativa de crecimiento para diámetro del tallo (TRC_DT) y (c) Tasa relativa de crecimiento de peso total seco (TRC_PT); expresado en $g^{-1} \cdot d^{-1}$. Letras diferentes indican diferencias significativas según prueba de Tukey a una $p < 0,05$.

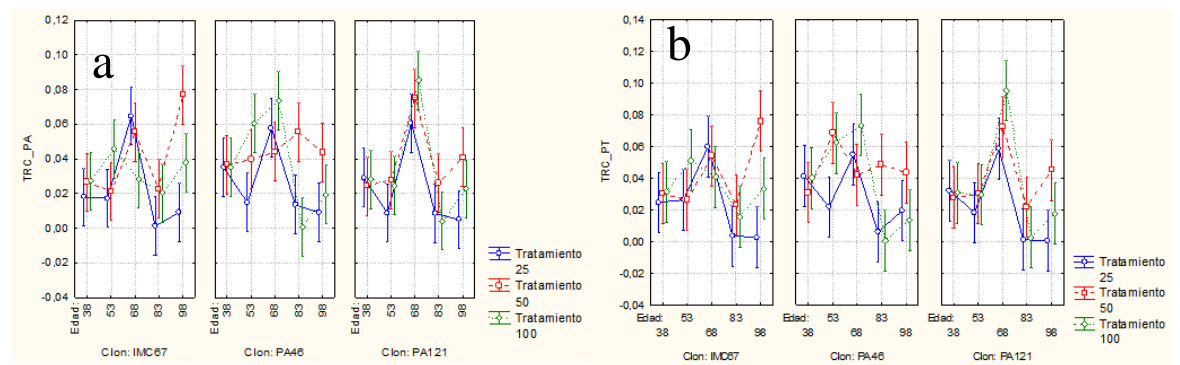
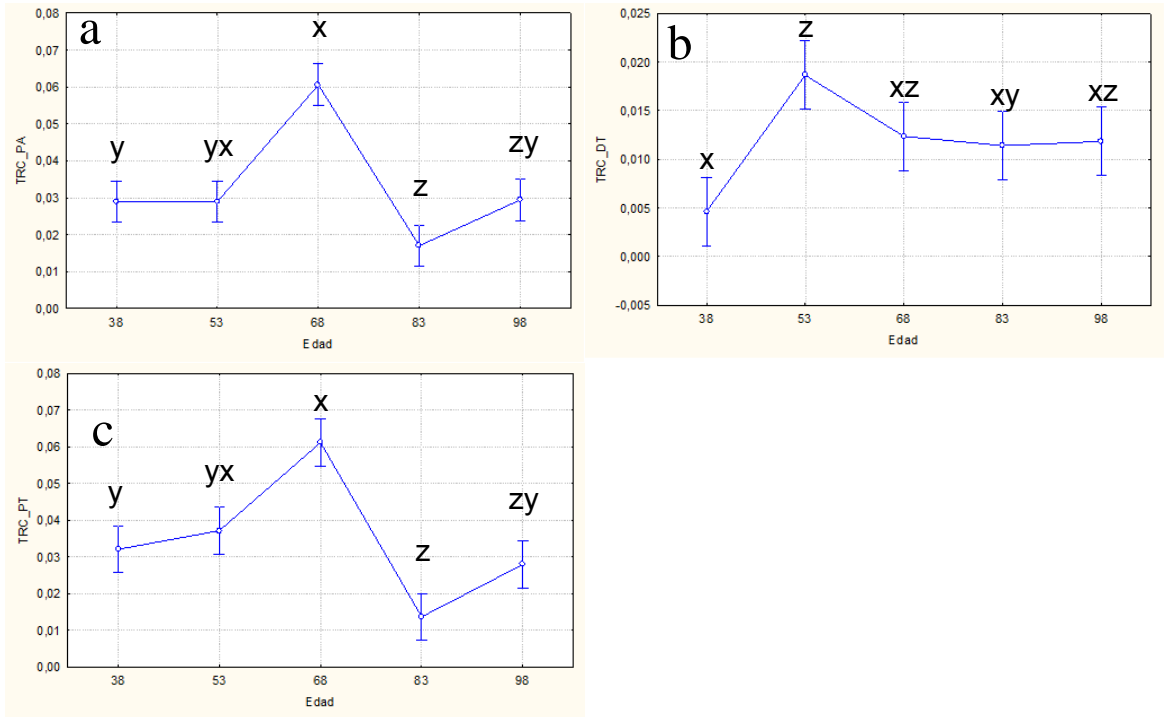


FIGURA 4. Efecto del tratamiento hídrico sobre: (a) Tasa Fotosintética (A), expresado en $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, (b) Tasa de Transpiración (E), expresado en $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y (c) Eficiencia del uso del agua (EUA) a los 98 DDE. Letras diferentes indican diferencias significativas según prueba de Tukey a una $p < 0,05$.

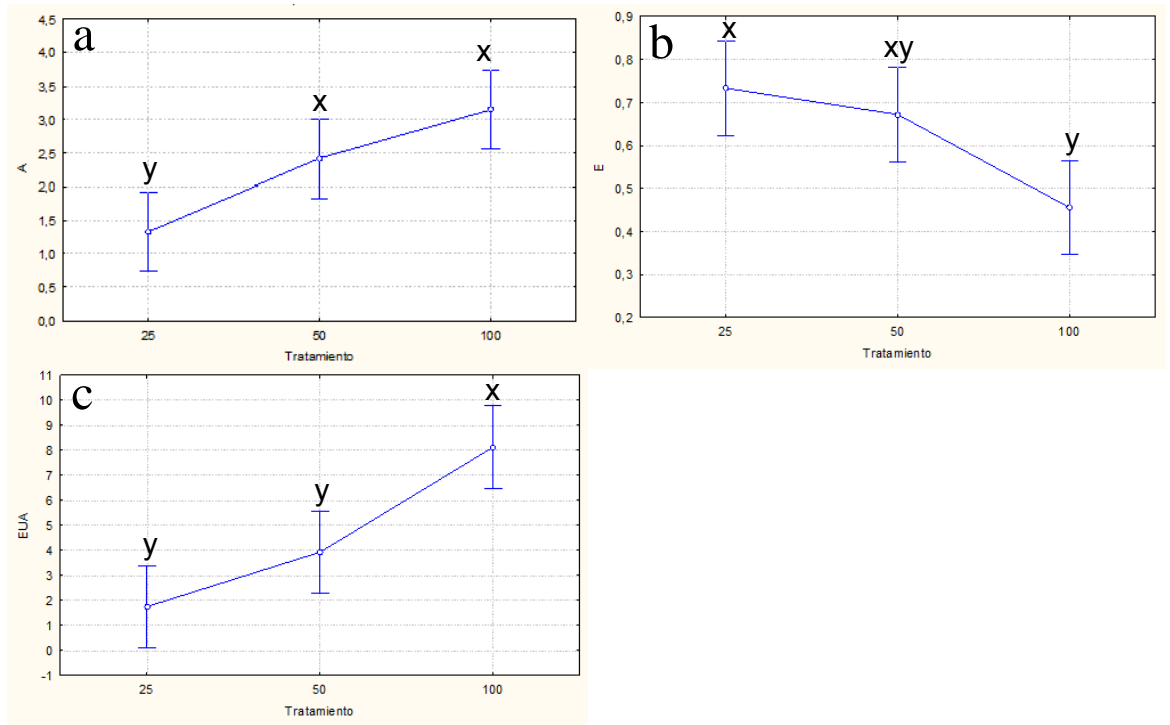


FIGURA 5. Efecto del tratamiento hídrico sobre el contenido relativo de agua (CRA) a los 98 DDE, expresado en %. Letras diferentes indican diferencias significativas según prueba de Tukey a una $p < 0,05$.

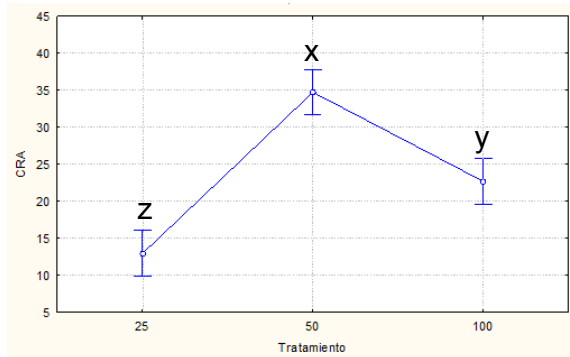


FIGURA 6. Efecto de: (a) Clon y (b) Tratamiento, en la discriminación isotópica de Carbono ($\delta^{13}\text{C}$) a los 98 DDE, expresado en ‰. Letras diferentes indican diferencias significativas según prueba de Tukey a una $p < 0,05$.

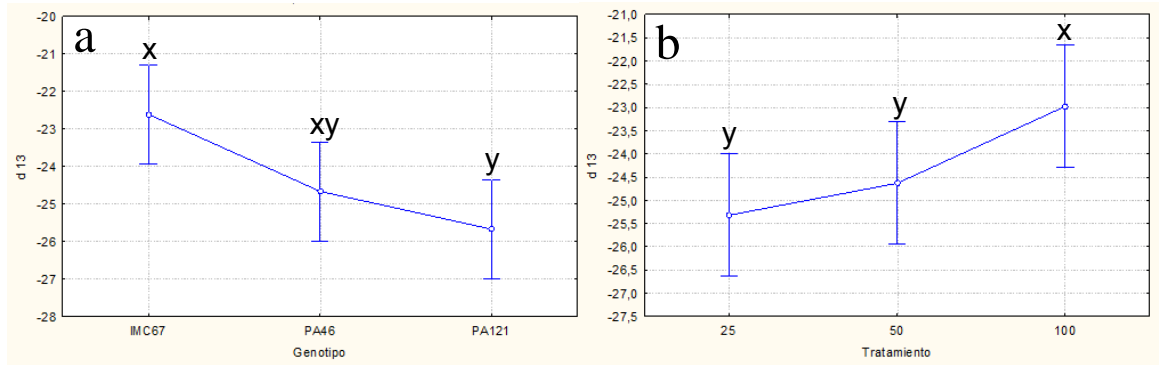
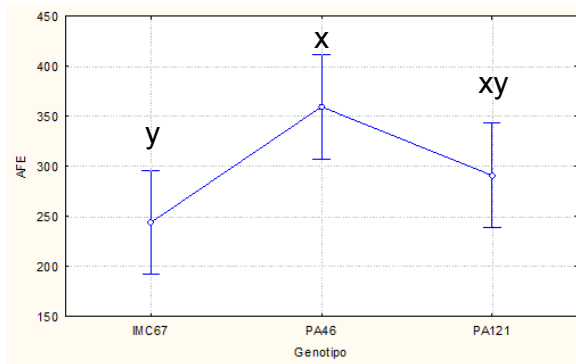


FIGURA 7. Efecto de los clones sobre el área foliar específica (AFE) a los 98 DDE, expresado en $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$. Letras diferentes indican diferencias significativas según prueba de Tukey a una $p < 0,05$.



CONCLUSIONES

El tratamiento de restricción hídrica de 50% de la CC no fue suficiente para provocar un estrés notorio en los genotipos de cacao evaluados, por el contrario se relacionó positivamente con el crecimiento de las plantas y no se diferenció de lo obtenido con 100%. El tratamiento de 25% encontró los valores menos efectivos de crecimiento y uso del agua, confirmando así que esta restricción hídrica es muy baja para genotipos portainjerto de Theobroma cacao.

En los genotipos evaluados no se encontró diferencia para las condiciones hídricas aplicadas según el crecimiento. Aunque se destaca la respuesta del genotipo PA121 bajo condiciones extremas de agua, 25% y 100%.

Para la discriminación isotópica, el genotipo IMC67 se comportó mejor, lo que reveló un eficiente uso del agua, y el genotipo PA121 lo hizo de manera menos óptima.

Según el AFE, el genotipo PA121 presentó una mejor capacidad de crecimiento estructural de la hoja, contrario a lo encontrado para el clon IMC67.

Los días 53 y 68 influyeron positivamente en el crecimiento de la planta, lo cual no sucedió para los días 38, 83 y 98.

Conocer el mecanismo de respuesta al estrés hídrico de diferentes clones de cacao para injertación resulta necesario, ya que la sequía es un factor limitante de la producción. Para ello es preciso mejorar la capacidad de producción en condiciones de sequía, mediante la maximización de la eficiencia del uso del agua.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aequitas IA v.1.32. 1998. Dynamic Data Links Ltd. Avebury House 36a Union Lane, Cambridge, UK.
- Almeida A.F, Valle R.R. 2007. Ecophysiology of the cacao tree. *Braz. J. Plant Physiol* 19(4):425-448.
- Alverson W.S, Whitlock B.A, Nyffeler R, Bayer C, Baum D.A. 1999. Phylogeny of the core Malvales: evidence from *ndhF* sequence data. *Am. J. Bot* 86:1474-1486.
- Balasimha, D., Daniel, E.V. & Bhat, P.G. 1991. Influence of environmental factors on photosynthesis in cocoa trees. *Agriculture, Forest Meteorology* 55:15.21.
- Baligar, V.C., Bunce, J.A., Machado R.C.R. & Elson M.K. 2008. Photosynthetic photon flux density, carbon dioxide concentration, and vapor pressure deficit effects on photosynthesis in cacao seedling. *Photosynthetica* 46(2):216-221.
- Boyer, J.S. 1982. Plant productivity and environment. *Science* 218:443-448.
- Calcerrada, J. R. 2007. Influencia de la luz y la sequía estival en la respuesta funcional de brinzales de *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. y *Quercus pyrenaica* Willd.: Implicaciones para la regeneración. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. Madrid, España. 243p.
- Castro, D. P., Puyravaud, J. P. y Cornelissen, J. H. C. 2000. Leaf structure and anatomy as related to leaf mass per area variation in seedlings of a wide range of woody plant species and types. *Oecol.* 124: 476-486.
- Cuatrecasas J. 1964. Cacao and its allies a taxonomic revision of genus *Theobroma*. *Contrib. USA National Herbarium* 35(6):379-614.
- DaMatta F.M. 2003. Drought as a multidimensional stress affecting photosynthesis in tropical tree crops. In 'Advances in plant physiology. Vol. V'. (Ed, E Hemantaranjan) pp. 227-265. (Scientific Publisher: Jodhpur).
- Daymond, A.J., Hadley, P., Machados R.C. & NG, D. 2002. Canopy characteristic of contrasting clones of cacao (*Theobroma cacao*). *Experimental agricultural* 38:359-367.
- Dawson, T.E., Mambelli, S., Plamboeck, A.H. & Templer, P.H. 2002. Stable isotopes in plant ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics* 33: 507-59.
- Ennajeh, M., Tounekti, T., Vadel, A. M., Khemira, H. y Cochard, H. 2008. Water relations and drought-induced embolism in olive (*Olea europaea*) varieties "Meski" and "Chemlali" during severe drought. *Tree Physiology* 28: 971-976.
- Enquist, B.J., Brown, J.H. & West, G.B. 1998. Allometric scaling of plants energetics and population density. *Nature* 395: 163-165.
- Flanagan, L.B. & Ehleringer, J.R. 1998. Ecosystem atmosphere CO₂ exchange: interpreting signals of change using stable isotope ratios. *Trends Ecol. Evol.* 13: 10-14.
- Food and Agriculture Organization (FAO). 2003. World Agriculture Towards. Disponible en: http://www.fao.org/documents/show_cdr.

- Hall, D.O., Scurlock, J.M.O., Bolhar-Nordenkamp, H.R., Leegood, R.C. & Long, S.P. 1993. Photosynthesis and production in a changing environment, a field and laboratory manual. Ed. Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London, pp.58-60.
- Hunt, R. 1978. Plant Growth Analysis. Studies in Biology No. 96. Edward Arnold. The Camelot Press Ltd. Southampton, UK. 167 p.
- Instituto de hidrología, meteorología y estudios ambientales (IDEAM). 2008. Atlas climatológico de Colombia. Disponible en: <http://www.ideam.gov.co/files/atlas/contenido.htm>.
- International Cocoa Corporation (ICCO). 2007. Annual report. p. 43. Disponible en: <http://www.icco.org>
- Intergovernmental panel on climate change (IPCC). 2007. Disponible en: <http://www.ipcc.ch>
- Joly R.B. & Hahn, D.T. 1989. Net assimilation of cacao seedlings during periods of plant water deficit. *Photosynthesis research* 21:151-159
- Katan J. 1981. Solar heating (Solarization) of Soil for Control of Soil Borne Pests- *Ann. Review Phytopathology* 19:211-36.
- Lachenaud, P.H., Paulin, D., Ducamp, M. & Thevenin, J.M. 2007. Twenty years of agronomic evaluation of wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) from French Guiana. *Scientia Horticulturae* 113: 313-321.
- Lambers, H., Chapin III FS, Pons TL (1998). *Plant Physiological Ecology*, Springer, Nueva York. 585 p.
- Larcher, W. 2004. *Ecofisiología vegetal*. Traducción Carlos Enrique B.A. Prado. Ed RiMa pp. 402-410.
- Lichtenthaler, H. K. 1996. Vegetation stress: An introduction to the stress concept in plants. *J. Plant. Physiol.* 148: 4-14.
- Lusk, C.H. 2002. Leaf area accumulation helps juvenile evergreen trees tolerate shade in a temperate rain forest. *Oecol.* 132: 188-196.
- Marín, D. 1989. Análisis de crecimiento en *Canavalia ensiformis* (L.) DC bajo diferentes bajo condiciones de campo. *Rev. Fac. Agron.* 15: 1-16.
- Martinelli, L. A., Ometto, J. P., Ferraz, E., De Camargo, P. B. y Moreira, M. Z. 2009. Desvendando questões ambientais com isótopos estáveis. *Oficina de textos*. São Paulo, Brasil, 144 p.
- Medrano, H. y Flexas, J. 2003. Respuesta de las plantas al estrés hídrico. En: Reigosa, M.J., Pedrol, N. & Sánchez, A. (eds.). 2004. *La Ecofisiología Vegetal: Una ciencia de síntesis*. Paraninfo. Madrid, España, 253-286.
- Motamayor J.C, Risterucci A.M, Lopez P.A, Ortiz C.F, Moreno A, Lanaud C. 2002. Cacao domestication. I. The origin of the cacao cultivated by the Mayas. *Heredity* 89:380-386.
- Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell and Environment* 25:239-250.
- Palencia, G. E. & Mejía, L. A. 2000. Métodos de injertación en cacao. Publicación: CORPOICA, Bucaramanga, 24 p.
- Palencia, G. E. & Mejía, L. A. 2004. Injertación temprana en la producción masiva de clones de cacao. Publicación: CORPOICA, Bucaramanga, 39 p.
- Palencia, G. E., Gómez, R. & Mejía, L. A. 2007. Patrones para cacao. Publicación: CORPOICA, Bucaramanga, 24 p.
- Ortega, U., Duñabeitia, M., Sanchez-Sabala, J., Gonzalez-Murua, C. & Majada, J. 2004. Utilización de isótopos estables como indicadores de estrés en

repoblaciones forestales de *Pinus radiata* micorrizada. Cuad. Soc. Esp. Cienc. For. 20: 67-72.

Reigosa, M.J., Pedrol, N. & Sánchez, A. 2004. La Ecofisiología Vegetal: Una ciencia de síntesis. Paraninfo. Madrid, España. 1192 p.

Rodrigo, V. H. L. 2007. Ecophysiological factors underpinning productivity of *Hevea brasiliensis*. Braz. Plant. Physiol 19(4): 254-255.

Saraiva, A.C., Nanni, M.R. & Jeske, E. 1997. Determinação da umidade na capacidade de campo e ponto de murchamento permanente por diferentes metodologías. Revista UNIMAR 19(3):827-844.

SAS Institute. 2002. SAS, Version 9. Cary, NC: SAS Institute Inc.

Schramm, M. M., Furtado, A. & Pinto, G. F. 2005. Photosynthetic traits of five neotropical rainforest tree species: Interaction between light response curves and leaf-to-air vapor pressure deficit. Brazilian archives of Biology and technology 48(5):815-824.

Tezara, W., Pereira, G., Marín, O., Villalobos, V., Irazábal, S., Gonzalez, A., Colombio, R., Urich, R., Coronel, I. & Herrera, A.N. 2008. Variación interespecífica en la respuesta fotosintética en diferentes formas de vida en zonas áridas y eficiencia de uso de agua en 32 accesiones de Cacao. Memorias del Instituto de Biología Experimental. 5:148-152.

Valladares, F. (ed.) 2004. Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante. Ministerio del Medio Ambiente, Madrid. Disponible en: <http://www.globimed.net/publicaciones/Libros.htm>

Zar, J.H. 1999. Biostatistical analysis. Prentice-Hall. New Jersey. 663 p.