

2022-12-14

## Respuesta fisiológica de plantas de cacao al déficit hídrico cuando son inoculadas con HFMA

John Cristhian Fernández Lizarazo  
Universidad de La Salle, Bogotá, johfernandez@lasalle.edu.co

Follow this and additional works at: [https://ciencia.lasalle.edu.co/utopia\\_working\\_papers](https://ciencia.lasalle.edu.co/utopia_working_papers)



Part of the [Agriculture Commons](#)

---

### Recommended Citation

Fernández Lizarazo, John Cristhian, "Respuesta fisiológica de plantas de cacao al déficit hídrico cuando son inoculadas con HFMA" (2022). *Utopía - Working papers*. 11.  
[https://ciencia.lasalle.edu.co/utopia\\_working\\_papers/11](https://ciencia.lasalle.edu.co/utopia_working_papers/11)

This Documento de trabajo is brought to you for free and open access by the Utopía at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Utopía - Working papers by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact [ciencia@lasalle.edu.co](mailto:ciencia@lasalle.edu.co).

Working Papers  
2022

---

## Respuesta fisiológica de plantas de cacao al déficit hídrico cuando son inoculadas con HFMA

John Cristhian Fernández Lizarazo<sup>1</sup>

---

### RESUMEN

El cacao (*Teobroma cacao* L.), es una especie hidromegaterma. El cambio climático puede acelerar los episodios de déficit hídrico en la agricultura. Adicionalmente para el cacao, la baja disponibilidad de zonas boscosas para el establecimiento inicial del cacao y la demanda mundial por este producto llevan a los cultivadores a sembrarlo en zonas marginales y de poca disponibilidad hídrica. Los hongos FMA permiten a las plantas hospederas establecerse y crecer más eficientemente aún en condiciones de diferentes estreses bióticos y abióticos, incluyendo el déficit hídrico. Por lo tanto la pregunta que pretendió resolver esta investigación es ¿Cuál es la respuesta fisiológica de plantas de cacao inoculadas con HFMA, cuando son sometidas a déficit hídrico?. Para esto se estudió el efecto del estrés hídrico en plantas de cacao, a lo largo del periodo de vivero, se determinaron las diferencias en la sensibilidad de los parámetros asociados con la determinación del estrés hídrico en plantas de cacao asociadas con HFMA en vivero a lo largo del día y se identificaron los parámetros más sensibles para estudiar el efecto del estrés hídrico en plantas de cacao inoculadas con hongos MA en vivero. Los resultados muestran que bajo déficit hídrico se indujo un proceso de limitación estomática y no estomática de la fotosíntesis, la variación de múltiples parámetros fisiológicos, que incluyen el estatus hídrico y nutricional.

**Palabras clave:** Conductancia estomática, fotosíntesis, potencial hídrico, nutrientes.

### INTRODUCCIÓN

El cacao (*Teobroma cacao* L.), es una especie vegetal de sotobosque que ha evolucionado en la Amazonía desde hace millones de años (CacaoNet, 2012; Lim, 2012; Motamayor et al., 2008). Esta planta

---

<sup>1</sup> Director Programa Ingeniería Agronómica. Universidad de La Salle



## Working Papers 2022

hidromegaterma, (CEPLAC, 2012; Fedecacao, 2009) se puede establecer bajo sombra plantada, en bosques raleados o en remanentes de bosque con poca inversión de capital durante las fases de establecimiento y mantenimiento (Gockowski & Sonwa, 2008; Sonwa & Weise, 2008). También puede ser establecido en monocultivo (Carr & Lockwood, 2011) lo que se asocia generalmente con mayores rendimientos a corto plazo pero también con una reducción en los beneficios ecológicos y con un aumento en los costos que hace que este sistema no sea viable para los pequeños productores (Clough et al., 2009).

Actualmente, la escases de agua es predominante en el mundo y se espera que el cambio climático acelere la severidad de los episodios de déficit hídrico en la agricultura (Omirou *et al.* 2013), que actualmente causa pérdidas importantes en los cultivos, reduciendo los rendimientos promedio en más de un 50% (Maggio *et al.* 2000; Wang *et al.* 2003; Zlatev y Yordanov 2005). Este efecto en la agricultura se debe a que el déficit hídrico es el estrés abiótico que más afecta el crecimiento y desarrollo de las plantas (Yang *et al.* 2008).

La producción del cacao en el mundo se ha caracterizado por rendimientos bajos e inestables (Clough et al., 2009; FAOSTAT, 2018). La limitación en la disponibilidad de zonas boscosas para el establecimiento inicial del cacao, la falta de establecimiento de cultivos comerciales que puedan proveer sombra a las plantas de cacao durante su establecimiento inicial y el aumento mundial en la demanda de cacao (Anga, 2012), hacen que los productores siembren en zonas marginales a libre exposición sometiendo a las plantas a déficit hídrico (Läderach et al., 2013). Consecuentemente, se espera que en los próximos años, a causa del cambio climático, se presente una disminución en los rendimientos del grano de hasta un 40% (Lau et al., 2013).

Debido a la existencia en Colombia de amplias zonas aptas para el cultivo de cacao que pueden tener o no cobertura de bosque (García Lozano et al., 2005) y a que el cacao tiene mayores rendimientos potenciales cuando es sembrado a libre exposición, es posible encontrar este cultivo no solo en sistema agroforestal y en sotobosque sino también a libre exposición con rendimientos bajos, y en el caso particular de Colombia porque los productores de cacao normalmente carecen de recursos económicos para establecer sistemas de riego que permitan superar las carencias hídricas de las plantaciones de



## Working Papers 2022

cacao sembradas a libre exposición o incluso bajo sombrero en épocas secas (Gobernación de Casanare, 2008).

Según García, (2014), la información sobre los requerimientos hídricos, los mecanismos de tolerancia, aclimatación o adaptación a condiciones críticas de sequía temporal de clones de cacao en Colombia, es limitada a experiencias no documentadas en plantaciones comerciales. El mismo autor resalta la importancia de realizar trabajos de investigación que contribuyan a su entendimiento.

Los hongos FMA son simbioses obligados que necesitan de la planta hospedera para completar su ciclo de vida (Borde et al., 2011), colonizan aproximadamente el 90% de las especies vegetales de la Tierra (Gadkar et al., 2001) y la mayoría de especies cultivables (S. Smith & Read, 2008). Pertenecen al phylum Glomeromycota cuyo origen se presume fue hace al menos 460 millones de años (Gadkar et al., 2001; Redecker, 2002; Schüßler et al., 2001) por lo que son considerados como el grupo más antiguo de organismos que viven en simbiosis con las plantas terrestres (Redecker, 2002).

Las micorrizas se definen como las asociaciones entre los hongos FMA y las raíces de las plantas (Wu & Xia, 2006) y son conocidas por ser una de las estrategias de la planta, más antigua y extendida, para aumentar la absorción de nutrientes y enfrentar los estreses ambientales (Brachmann & Parniske, 2006; Caravaca et al., 2005). La interacción se basa principalmente en el intercambio de carbono suministrado por la planta hospedera y de nutrientes suministrados por el hongo (Atul-Nayyar et al., 2009; Bago et al., 2000; Brundrett, 2002; Deressa & Schenk, 2008; Wu & Xia, 2006) . Recientemente se ha reportado que los HFMA dependen de la planta para el suministro de lípidos (Bravo et al., 2017; Jiang et al., 2017; Keymer et al., 2017) dado que no los pueden sintetizar.

Los hongos FMA permiten a las plantas hospederas establecerse y crecer más eficientemente aún en condiciones de diferentes estreses bióticos y abióticos, incluyendo el déficit hídrico (Augé, 2001; Cho et al., 2006; Gholamhoseini et al., 2013; Navarro García et al., 2011; Porcel & Ruiz-Lozano, 2004; Yang et al., 2008) debido a que aumentan la tolerancia a estas condiciones y así minimizan sus efectos adversos en el crecimiento vegetal (Asensio et al., 2012; Barea et al., 2011; Mardukhi et al., 2011).



## Working Papers 2022

La pregunta de investigación que se abordó en este capítulo es ¿Cuál es la respuesta fisiológica de plantas de cacao inoculadas con HFMA, cuando son sometidas a déficit hídrico? No obstante, para responder a esta pregunta es necesario resolver tres preguntas parciales cuya respuesta contribuirá a dar una respuesta sólida a la pregunta inicial. Estas preguntas son: i) ¿Cómo varía el efecto del estrés hídrico en plantas de cacao, a lo largo del periodo de vivero?; ii) ¿Existen diferencias en la sensibilidad de los parámetros asociados con la determinación del estrés hídrico en plantas de cacao asociadas con HFMA en vivero a lo largo del día?; iii) ¿Cuáles son los parámetros más sensibles para estudiar el efecto del estrés hídrico en plantas de cacao inoculadas con hongos MA en vivero?. La respuesta a esta última pregunta es especialmente importante porque adicionalmente ofrece información para facilitar la posterior evaluación del estrés hídrico en plantas de cacao inoculadas con diferentes líneas monospóricas de HFMA.

### METODOLOGÍA

Se desarrollaron tres ensayos dirigidos a responder las tres preguntas mencionadas previamente. A continuación, se describen los aspectos comunes a los tres ensayos y posteriormente las particularidades de cada uno. El lugar de realización de los ensayos fue un vivero del Campus Utopía de la Universidad de La Salle, sede Yopal, ubicado en la Hacienda San José de Mate'pantano con coordenadas 5° 19' 31,5" de latitud norte y 72° 17' 47,6" de longitud oeste. Este lugar cuenta con una temperatura promedio de 25,47 °C, humedad relativa promedio de 84%, punto de rocío promedio de 22,36 °C y una radiación promedio de 4,5 kWh.m<sup>-2</sup> (COLOMBIA. Ministerio de Minas y Energía -Unidad de Planeación Minero Energética (UPME) y Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial - Instituto de Hidrología, 2005). Los valores en tiempo real se presentan en: <http://www.weatherlink.com/user/utopia/index.php?view=main&headers=1>

Se utilizó semilla de cacao del genotipo IMC67 como fuente de material vegetal debido a que en Colombia solo se permiten semillas obtenidas de plantaciones híbridas de este material según acuerdo 003 del Consejo Nacional Cacaotero en 2010.



## Working Papers 2022

Las plantas de cacao se sembraron en bolsas de 15 x 35 cm con sustrato compuesto por una proporción de 1:1 de compost y arena con base en ensayos previos e imitando el manejo de productores de la zona. Se realizó una fertilización foliar con fertilizante comercial Nutrifoliar® y una edáfica a los 30 días después de siembra (DDS) con base en el análisis de suelo (Tabla S 4.1) y utilizando la dosis sugerida por Fernández et al. (2016) (Anexo A). Las plagas, enfermedades y malezas se manejaron de forma manual o química según presencia, incidencia y severidad y homogéneamente para todas las plantas del ensayo.

La especie de hongo FMA utilizado fue *Rhizophagus irregularis*, previamente descrito como *Glomus intraradices* (Stockinger et al., 2009). Se utilizó específicamente una línea del hongo contenida en el producto comercial llamado Glomygel® con gel estéril como vehículo de inoculación. La inoculación se realizó 15 días después de la siembra. A cada plántula, se le adicionó una solución de 10 ml de agua destilada que contenía 250 propágulos.

A continuación, se describen las particularidades de cada uno de los tres ensayos que componen el presente capítulo.

### **Ensayo 1: ¿Cómo varía el efecto del estrés hídrico en plantas de cacao, a lo largo del periodo de vivero?**

#### **Establecimiento del ensayo:**

Se estableció un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 2x2. El primer factor incluyó la edad de las plantas evaluadas (2 meses y 7 meses) y el segundo factor incluyó el manejo del riego (con y sin riego) (Tabla 4.1). Cada tratamiento tuvo 20 unidades experimentales. Todas las plantas fueron sometidas a dos riegos consecutivos hasta capacidad de campo y luego, solamente a las del tratamiento *sin riego* se les restringió el suministro de agua de forma progresiva hasta llegar a un valor mínimo constante de humedad volumétrica previo a la muerte de las plantas. La humedad volumétrica se midió con una sonda tipo HH2 Delta T (Devices Ltd®). Simultáneamente se determinó el punto de marchitez permanente (PMP) a través de la realización de una curva que relacionó la tensión del suelo con su humedad volumétrica (Figura S 4.1). La medición de los parámetros fisiológicos se realizó



## Working Papers 2022

semanalmente entre las 11 AM y la 1 PM desde la primera semana y durante tres semanas, de acuerdo a la curva de tensión previamente mencionada.

**Tabla** ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..1. **Tratamientos utilizados para la determinación del efecto de la restricción de riego y de la edad de la planta de cacao en vivero.**

Tratamiento	Edad	Manejo
1	7 meses	Con riego
2	7 meses	Sin riego
3	2 meses	Con riego
4	2 meses	Sin riego

### **Ensayo 2: ¿Existen diferencias en la sensibilidad de los parámetros relacionados con el estrés hídrico en plantas de cacao asociadas con HFMA en vivero a lo largo del día?**

Se estableció un diseño en bloques completamente aleatorizados con cuatro tratamientos en un arreglo factorial 2 x 2 (Tabla 4.2). El primer factor es la inoculación con hongos FMA (con inoculación y sin inoculación) y el segundo factor es el déficit hídrico (con déficit y sin déficit). El déficit hídrico correspondió a una humedad volumétrica de 6% (potencial mátrico del sustrato -1,5 MPa) en tanto que la ausencia de déficit hídrico correspondió a una humedad volumétrica de 12% (potencial mátrico del sustrato -0,033 MPa) o superior sin llegar a saturación con base en la curva de retención de humedad realizada previamente (Figura S 4.1). La restricción de riego comenzó a los 30 días después de siembra (DDS). Cada tratamiento tuvo 84 unidades experimentales distribuidos en cuatro bloques. Se realizaron mediciones independientes a los 43, 64 y 98 DDS y realizando registros cada tres horas durante el día (7:00 am, 10:00 am, 1:00 pm, 4:00 pm; 7:00 pm) con el propósito de evitar solapamiento entre los muestreos y así observar los contrastes potenciales durante el día.

**Tabla** ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..2. **Tratamientos utilizados para la determinación del efecto de la restricción de riego y de la inoculación con hongos MA.**

Tratamiento	Inoculación	Potencial mátrico del sustrato (MPa)
-------------	-------------	--------------------------------------



## Working Papers 2022

1	Con inoculación	-0,033 MPa
2		-1,5 MPa
3	Sin inoculación	-0,033 MPa
4		-1,5 MPa

### **Ensayo 3: ¿Cuáles son los parámetros descriptores de estrés, más sensibles para estudiar el efecto del estrés hídrico en plantas de cacao inoculadas con HFMA en vivero?**

El planteamiento del ensayo fue el mismo del ensayo 2. No obstante varió en cuanto a que se utilizaron 20 unidades experimentales por tratamiento y a que las mediciones se realizaron semanalmente desde los 37 DDS por seis semanas siempre a las 10 AM (con base en los resultados obtenidos en el ensayo 2 de este capítulo). La restricción de riego comenzó a los 44 DDS.

Los parámetros fisiológicos evaluados fueron los siguientes:

**Potencial hídrico foliar** (Ensayos 1, 3): Para su medición se utilizó una cámara de presión Scholander (PMS Instrument comp®). Cada medición se efectuó en hojas saludables completamente expandidas en la parte central de la planta. Se realizó una lectura (por hoja) a una hoja por planta en cuatro plantas por tratamiento de acuerdo con Scholander, et al. (1965)).

**Conductividad estomática** (Ensayos 1, 2 y 3): Para su medición se utilizó un porómetro marca CS-1 Decagon Devices®. Cada medición se efectuó en hojas saludables completamente expandidas en la parte central de la planta. Se realizó una lectura (por hoja) a una hoja por planta en cuatro plantas por tratamiento de acuerdo a protocolo del fabricante (Decagon device, 2016).





## Working Papers 2022

**Índice de contenido de clorofilas (ICC)** (Ensayo 1): Para su medición se utilizó un clorofilómetro CM-1000 Spectrum, USA®. Cada medición se efectuó en hojas saludables completamente expandida en la parte central de la planta. Se realizaron 2 lecturas por hoja a 2 hojas por planta en ocho plantas por tratamiento y la lectura se hizo en el centro de la lámina foliar evitando la nervadura central de acuerdo a Parry et al (2014).

**Fluorescencia de la clorofila** (Ensayos 1, 2 y 3): Para la determinación del rendimiento cuántico del PSII con base en la fluorescencia máxima ( $F_v/F_m$ ) se utilizó un fluorómetro no modulado Handy PEA Hansatech® a  $3000 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Las mediciones se realizaron en dos hojas por plantas y en 4 plantas por tratamiento. Con el propósito de determinar parámetros con mayor sensibilidad, en el tercer ensayo se calcularon también rendimiento cuántico del PSII con base en la fluorescencia mínima ( $F_v/F_o$ ), el índice de vitalidad con base en la absorción de energía ( $P_{\text{abs}}$ ) y el índice de vitalidad total ( $PI_{\text{total}}$ ).

**Crecimiento:** Se midió altura de planta, número de hojas (Ensayos 1) y biomasa seca total y por órganos (Ensayos 2). Para su determinación las muestras vegetales fueron sometidas a  $70 \text{ }^\circ\text{C}$  por 24 horas o hasta peso constante. También se determinó el área foliar (Ensayos 1, 2 y 3) utilizando un medidor de área foliar Li-Cor LI 3100®. Dado el carácter destructivo se realizó la medición de este parámetro en el último muestreo de cada ensayo en 12 plantas por tratamiento.

**Nutrición** (Ensayo 3): Se tomaron muestras foliares en cuatro plantas por tratamiento en el último muestreo del ensayo 3. Su análisis se hizo en el laboratorio de aguas y suelos de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. El N se analizó con el método Kjeldahl, el P por calcinación a  $600^\circ\text{C}$  y valoración colorimétrica con molibdato y vanadato de amonio, el B por el método de Azometina (colorimétrico) y el Ca, Mg, K, Cu, Fe, Mn, Zn por calcinación a  $600^\circ\text{C}$ , digestión ácida y valoración por absorción atómica y el S por análisis turbidimétrico de acuerdo a Fernández et al (2016).



## Working Papers 2022

**Vigor** (Ensayo 3): Se realizó una evaluación visual con base en la escala (Davies et al., 2001): 1) planta muerta; 2) todas las hojas marchitas con contenido de clorofila, hojas no totalmente necróticas; 3) al menos 50% de las hojas marchitas o senescentes; 4) marchitamiento inicial y/ clorosis; 5) planta saludable y hojas verdes. Solamente se presentan los datos a partir 65 DDS debido a que los muestreos previos todas las plantas tuvieron el mismo valor de escala (valor 5).

**Colonización radical** (Ensayos 1, 2 y 3): Su determinación se realizó en el último muestreo de cada ensayo en 8 plantas por tratamiento. Se seleccionaron raíces de menos de 2 cm de diámetro y se lavaron con abundante agua. Posteriormente, se realizó una tinción del micelio de los hongos en estas raíces con tinta Sheaffer según el protocolo modificado de Vierheilig *et al.*, (1998). Luego de la tinción de las raíces se evaluó el porcentaje de colonización utilizando el método de intersección de la grilla (Giovannetti & Mosse, 1980).

**Potencial hídrico atmosférico ( $\psi_{atm}$ ) y déficit de presión de vapor (DVP):** La determinación de  $\psi_{atm}$  se realizó con base en Melgarejo (2010) y de DVP de acuerdo con Allen et al. (2006).

Se estimó el potencial de succión mátrica del sustrato a partir de su relación con el contenido de humedad volumétrica  $\theta$  ( $m^3 \cdot m^{-3}$ ) con base en una curva de retención de humedad. Para el cálculo se utilizó la ecuación de van Genuchten (1980).

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se analizaron utilizando el software estadístico JMP® (Statistical Analysis Systems Institute, versión 11). Previo al análisis de varianza (ANOVA), se verificaron todos los datos por normalidad y homoceasticidad. Cuando fue necesario, las variables se transformaron usando funciones logarítmicas o trigonométricas. Los efectos principales (factores) y su interacción se analizaron con un ANOVA de dos vías; luego se realizaron comparaciones *post hoc* utilizando una prueba de Tukey HSD. Se utilizó un ANOVA de Kruskal-Wallis no paramétrico seguido de una prueba de valor  $Z$  *post-hoc*, para analizar variables que no cumplieran con los supuestos de ANOVA incluso después de la transformación (Doubková et al. 2013). Para la evaluación de las categorías de vigor se realizó un análisis de regresión logística con una prueba Ji-cuadrado de razón de verosimilitud (Hosmer et al. 1988; Chan, 2004).



## Working Papers 2022

### RESULTADOS

En el primer ensayo se determinó que el potencial hídrico atmosférico fue en promedio de -94,18 MPa en tanto que el promedio del déficit de presión de vapor se estimó en 1,81 Kpa. A partir de la estimación de los parámetros de la curva de retención de humedad (van Genuchten, 1980), se estimó que para el sustrato utilizado, el punto de marchitez permanente (PMP) fue 5,5%, la capacidad de campo (CC) fue de 12,12% y la humedad de saturación fue de 35,40% (Figura S 1.1).

La humedad volumétrica del sustrato varió significativamente a lo largo del periodo evaluado (figura 4.1, tabla S 4.2). El valor de esta humedad en los tratamientos con restricción de riego disminuyó progresivamente hasta el día 12 con un valor constante promedio de 5,4% en tanto que se mantuvo en un valor promedio de 19,47% en los tratamientos sin restricción de riego. Las plantas sometidas al déficit hídrico comenzaron a morir desde el día 21 cuando la humedad volumétrica del sustrato se ubicó por debajo del 5%, especialmente aquellas de siete meses de edad.

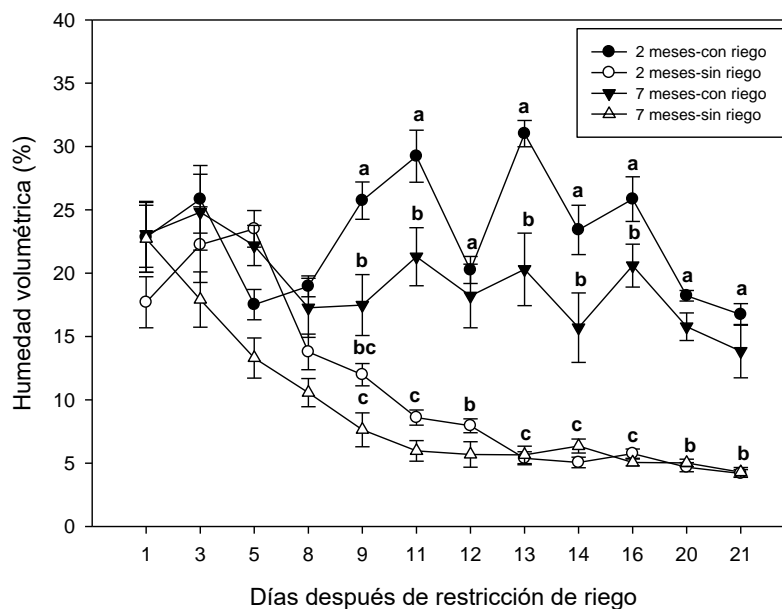


Figura ¡Error! No hay texto

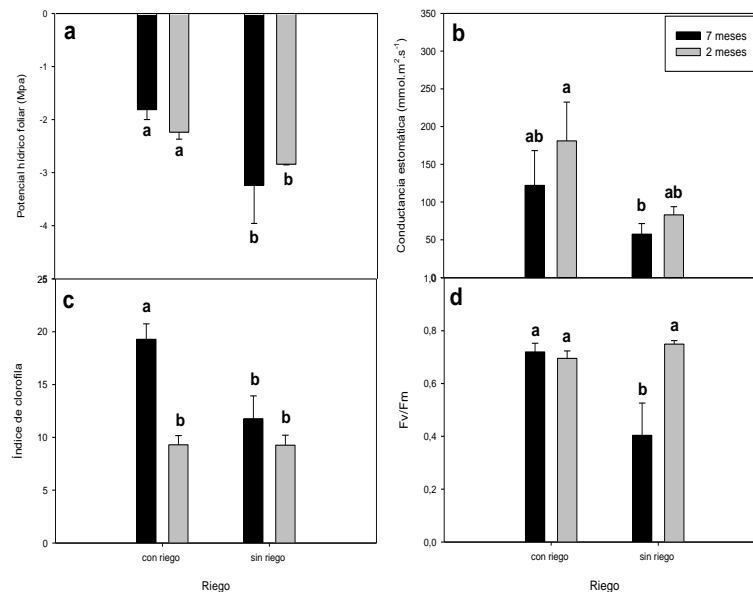
sustrato después de la restricción de riego en ensayo tres.



## Working Papers 2022

La variación en la humedad volumétrica del sustrato obedeció a un efecto significativo de la edad de la planta, del manejo del riego y de la interacción de estos con el tiempo (tabla S 4.2). La humedad del sustrato de las plantas de dos meses de edad con riego fue mayor que la del sustrato de plantas de siete meses de edad (con y sin riego), particularmente después de la primera semana luego de la restricción del riego (figura 4.1).

El potencial hídrico foliar y la conductancia estomática disminuyeron con la restricción de riego independientemente de la edad de las plantas (figuras 4.2a-b, tablas S 4.3 y 4.4). De forma interesante, el potencial hídrico mostró diferencias significativas desde el primer día después de la restricción de riego, sin embargo, el efecto fue más agudo cuando se incrementó el tiempo con esta restricción (Tabla S 4.4).



**Figura 4.2. Efecto de la edad de la planta y de la restricción de riego. a) Potencial hídrico foliar; b) Conductancia estomática; c) Índice de clorofila; d) Fv/Fm.**

El índice de clorofila fue diferente en plantas de cacao de edades distintas durante el periodo evaluado (Tabla S 4.5). Este índice en plantas de siete meses de edad fue un 46% mayor que el de plantas de dos meses de edad (Figura 4.2c). Por su parte, el efecto de la restricción de riego indujo una disminución en

## Working Papers 2022

este índice en plantas de siete meses de edad a los 16 días después de la restricción de riego (DDRR) (Tabla S 4.5).

La edad de la planta y la restricción de riego tuvieron efectos ligeramente significativos y de forma esporádica sobre el Fv/Fm. No obstante, hubo una tendencia constante a que los valores de este parámetro fueran mayores en plantas de dos meses y en plantas sin restricción de riego (Tabla S 4.6). De hecho, en el día 12 DDRR se observaron valores bajos en plantas de siete meses de edad y sometidas a restricción de riego con respecto a las plantas de los otros tratamientos (Figura 4.2d).

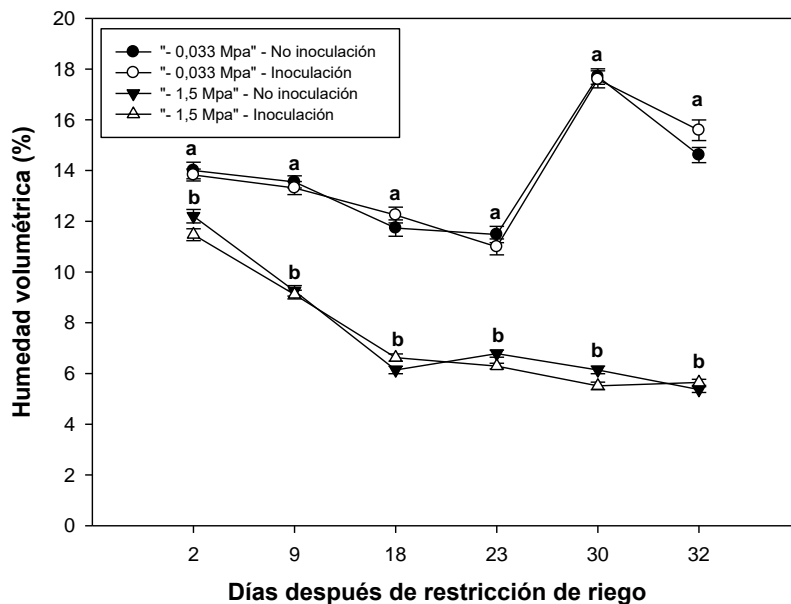
No se observó efecto de la restricción del riego en el área foliar ni en el número de hojas. En el caso del área foliar solamente se observaron diferencias significativas debido a la edad de las plantas (Tabla S 4.7) y en el caso del número de hojas solamente hubo efecto del tiempo (Tabla S 4.8).

### SEGUNDO ENSAYO

En el segundo ensayo se determinó que el potencial hídrico atmosférico fue en promedio de -22,66 MPa (Figura S 4.3) en tanto que el promedio del déficit de presión de vapor se estimó en 0,48 KPa. Durante la deshidratación progresiva, se observaron claras diferencias debidas al manejo del riego pero no a la inoculación con hongos FMA (Figura 4.3).



## Working Papers 2022

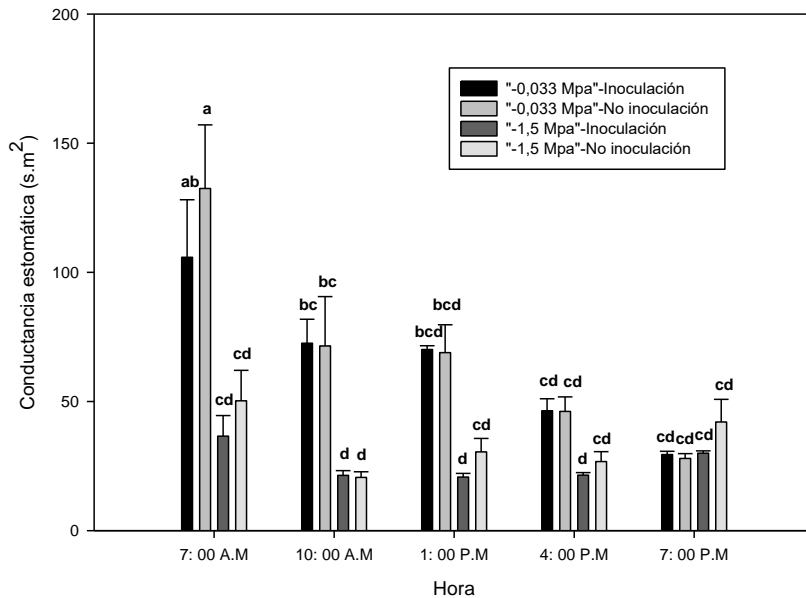


**Figura 3. Humedad volumétrica del sustrato después de la restricción de riego en ensayos.**

La conductancia estomática disminuyó progresivamente a lo largo del día en respuesta al potencial mátrico del suelo (Figura 4.4). Este parámetro no varió en respuesta a la interacción de la inoculación con el tiempo. Solamente se observó mayor conductancia estomática de plantas no inoculadas a las 7 p.m. a los 43 y 98 días después de siembra (DDS) (Tablas S 4.9, 4.10 y 4.11). De forma consistente, en los tres muestreos, la conductancia fue máxima al inicio del día, pero disminuyó progresivamente a lo largo del mismo. Igualmente, las plantas con menor humedad volumétrica en el sustrato presentaron menor conductividad estomática independientemente de la hora del día (Figura 4.4, Tablas S 4.9, 4.10 y 4.11).



Working Papers  
2022

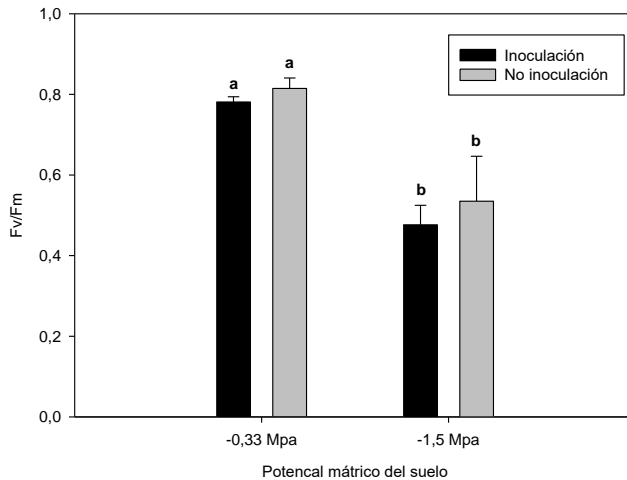


**Figura 4. Efecto de la inoculación con hongos MA y de la restricción de riego sobre la conductancia estomática a lo largo del día (24 DRRR – 64 DDS).**

La Fv/Fm varió principalmente en respuesta al potencial mátrico del sustrato (Figura 4.5). En términos generales, no se detectó un efecto generalizado de la inoculación sobre la Fv/Fm (Tablas S 4.12, 4.13 y 4.14), a excepción del segundo muestreo (64 DDS) a las 4 p.m. en el que las plantas no inoculadas tuvieron mayor Fv/Fm que las no inoculadas. Por su parte, la disminución del potencial mátrico del sustrato indujo una disminución altamente significativa de la Fv/Fm, especialmente a los 64 y 98 DDS. De forma particular, en el último muestreo este efecto se observó de forma más consistente a lo largo del día.



## Working Papers 2022



**Figura 5. Efecto de la inoculación con hongos MA y de la restricción de riego sobre la Fv/Fm.**

En los dos últimos muestreos se evaluó el área foliar y la biomasa. Las plantas con déficit hídrico disminuyeron de forma significativa estos dos parámetros. De forma particular para la biomasa, el efecto fue significativo en cada uno de sus órganos. A los 64 DDS la relación raíz/parte aérea se incrementó en las plantas sometidas a déficit hídrico (Tablas S 4.16 y 4.17).

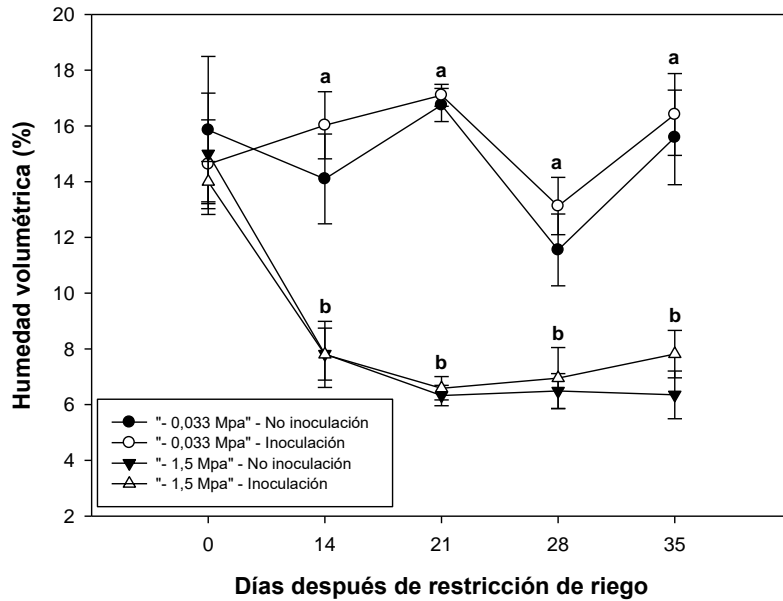
### TERCER ENSAYO

En el tercer ensayo se determinó que el potencial hídrico atmosférico fue en promedio de -47,58 MPa en tanto que el promedio del déficit de presión de vapor se estimó en 0,99 KPa. De igual forma a como se realizó el ensayo anterior, en este ensayo se mantuvo un potencial mátrico del sustrato de 0,033 MPa en las plantas con riego y de -1,5 MPa en el de las plantas con restricción de riego (Figura 4.6). Se registró la deshidratación progresiva del sustrato logrando un patrón similar al de los ensayos previos con lo que se obtuvo diferencias en la humedad del suelo debidas a la restricción de riego, al tiempo y a su interacción (Tabla S 4.17). De acuerdo a los resultados de los experimentos previos, las mediciones fisiológicas se realizaron entre 10 a.m. y 11 a.m.





## Working Papers 2022



**Figura 6. Humedad volumétrica del sustrato después de la restricción de riego en ensayo tres.**

El potencial hídrico de las plantas de cacao sometidas a restricción de riego disminuyó a través del tiempo de forma independiente a la inoculación con hongos FMA. A pesar de que solo se encontraron diferencias estadísticamente significativas debidas a la restricción de riego solamente a los 72 DDS, hubo un efecto significativo del tiempo y de la interacción de este con dicha restricción lo que corresponde a la disminución progresiva del potencial hídrico foliar en plantas con restricción de riego (Tabla S 4.18). La inoculación no tuvo efecto sobre este parámetro.

La conductancia estomática fue menor desde la primera semana después de que las plantas de cacao fueran sometidas a restricción de riego. El efecto del riego se mantuvo a lo largo del resto del experimento. De igual forma, hubo un efecto significativo del tiempo y de su interacción con el riego (Tabla S 4.19). No se detectaron efectos significativos de la inoculación con HFMA.



## Working Papers 2022

En este ensayo, la  $F_v/F_m$  y la  $F_v/F_o$  solamente variaron con respecto al tiempo, pero no como resultado del efecto de la inoculación o de la restricción de riego. Considerando el periodo de evaluación, el  $P_{i_{abs}}$  fue mayor en plantas con riego constante, en tanto que el  $P_{i_{total}}$  fue significativamente mayor en plantas con riego constante de forma particular a los 72 DDS (Tabla 4.3).

**Tabla 4.3. Efecto de la inoculación con hongos MA y de la restricción de riego sobre parámetros de fluorescencia.**

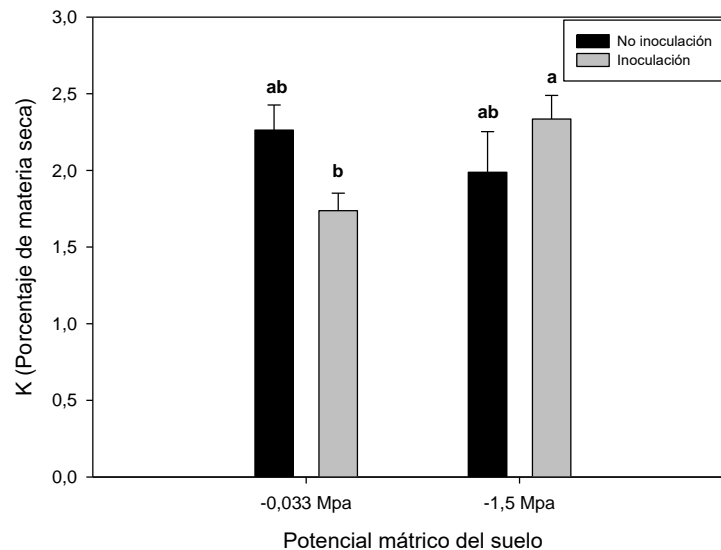
	DDS	Inoculación	Pot. Hidric. Suelo	Inoculación x pot. Hidr. Suelo
<b>F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub></b>	58	1,55ns	0,27ns	1,47ns
	72	0,28ns	0,01ns	2,85ns
	<b>Todo el periodo</b>	2,66ns	0,29ns	2,47ns
	<b>Interacción con el tiempo</b>	0,93ns	0,03ns	0,92ns
	<b>Efecto del tiempo</b>			<b>15,15**</b>
<b>F<sub>v</sub>/F<sub>o</sub></b>	58	1,11ns	0,46ns	2,54ns
	72	0,32ns	0,01ns	2,69ns
	<b>Todo el periodo</b>	2,46ns	0,50ns	4,08ns
	<b>Interacción con el tiempo</b>	0,36ns	0,03ns	1,25ns
	<b>Efecto del tiempo</b>			<b>24,20***</b>
<b>P<sub>i<sub>abs</sub></sub></b>	58	0,01ns	1,46ns	0,03ns
	72	0,18ns	2,56ns	0,04ns
	<b>Todo el periodo</b>	0,72ns	<b>5,67*</b>	0,01ns
	<b>Interacción con el tiempo</b>	0,20ns	0,61ns	0,15ns
	<b>Efecto del tiempo</b>			<b>5,43*</b>
<b>P<sub>i<sub>total</sub></sub></b>	58	0,26ns	0,10ns	0,03ns
	72	0,23ns	<b>5,65*</b>	0,42ns
	<b>Todo el periodo</b>	0,10ns	4,15ns	0,26ns
	<b>Interacción con el tiempo</b>	0,06ns	2,75ns	0,01ns
	<b>Efecto del tiempo</b>			2,86ns

La evaluación nutricional, que se realizó a los 79 DDS, permitió determinar que las concentraciones de P, K y S variaron como resultado de la aplicación de los tratamientos (Tabla S 4.20). La concentración de P fue mayor en plantas con riego constante y no fue afectada por la inoculación. La concentración de K en plantas inoculadas y sometidas a restricción de riego fue mayor que en plantas inoculadas y sin restricción de riego, en tanto que sin inoculación no hubo diferencias entre las plantas que estuvieron o



## Working Papers 2022

no, sometidas a restricción de riego (Figura 4.7). La concentración de S fue mayor en plantas no inoculadas que en las inoculadas (Tabla S 4.20).



**Figura 7. Efecto de la inoculación con hongos MA y de la restricción de riego sobre la concentración foliar de K.**

El área foliar y el vigor disminuyeron debido a la restricción del riego, pero no variaron por la inoculación. En el primer caso, las plantas con riego constante presentaron un área foliar mayor que las que no lo tuvieron, lo cual se detectó solamente a los 65 DDS (Tabla S 4.21). Sin embargo, a los 72 DDS la tendencia fue similar a la observada a los 65 DDS con un  $\alpha = 0,0592$ . En el segundo caso, las plantas con riego constante también presentaron un vigor mayor a partir de los 65 DDS, que se mantuvo así hasta los 79 DDS (Tabla S 4.22). A los 65 DDS, se observó una interacción entre la inoculación y el riego debida a la disminución del vigor en plantas inoculadas solamente cuando estaban con restricción de riego.

## DISCUSIÓN



## Working Papers 2022

### **El efecto del estrés hídrico en plantas de cacao es similar en diferentes etapas de su desarrollo en vivero, pero está modulado por el área foliar.**

En el primer ensayo, los valores de humedad volumétrica en el sustrato indican que las plantas efectivamente estuvieron sometidas a estrés por déficit hídrico. Tanto la curva de humedad volumétrica obtenida por la restricción de riego, como la curva de retención de humedad del sustrato, de forma consistente, arrojaron un valor de PMP que oscila alrededor de 5% de humedad volumétrica y corresponde a un potencial mátrico de -1,5 MPa. Este último valor ha sido considerado de forma generalizada como el indicativo de PMP en los cultivos (Cadahia, 2005; Saxton & Rawls, 2006) y que se comprueba en este caso como indicativo en condiciones de campo.

La disminución del potencial hídrico y de la conductancia estomática en plantas sometidas a deshidratación obedece a la alta sensibilidad del cacao a condiciones variables de humedad y particularmente a la falta de agua (Araque et al., 2012; Lozano & Fonseca, 2016). La disminución en el potencial hídrico foliar, se explica por la disminución en la disponibilidad de agua en el sustrato, lo que sumado al bajo potencial hídrico atmosférico, indujo a que el xilema estuviera sometido a mayores tensiones para la extracción de agua (Brodribb & Hill, 2000; Johnson & Ferrell, 1983). Una de las respuestas más comunes al déficit hídrico en plantas (Martínez-vilalta & Garcia-forner, 2017; Simonneau & Urban, 2010) y particularmente en cacao (García Lozano, 2014; Rada, Jaimez, García Núñez, Azócar, & Ramírez, 2005) es el cierre de los estomas, lo que causa disminución en la transpiración estomática. Para este ensayo se evidenció esta disminución en la conductancia estomática, no obstante, esta medición sólo se realizó 21 días después de la restricción de riego (DDRR) lo que deja abierta la pregunta acerca de la rapidez de esta respuesta a la restricción de riego, en condiciones de campo.

Los valores mayores de índice de clorofilas en plantas de siete meses de edad indican un estado de desarrollo foliar diferente (Baker & Hardwick, 1973) con respecto a las plantas de dos meses de edad. Sin embargo, este índice disminuye en plantas de siete meses de edad sometidas a estrés por falta de agua probablemente como resultado de la disminución en la síntesis de clorofila (Murtaza et al., 2016; Sayed, 2003) o del aumento en su degradación (Smirnoff, 1995) por cuenta de la producción de especies



## Working Papers 2022

reactivas de oxígeno (ERO) en los tilacoides (Niyogi, 1999; Reddy et al., 2004). El aumento de ERO pudo deberse a una mayor tasa de pérdida de agua de la planta debida a una mayor superficie transpiratoria en comparación con plantas de dos meses de edad. El Fv/Fm, tradicionalmente utilizado como indicador de estrés en plantas (Baker et al., 1975; Baker & Hardwick, 1973), disminuyó solamente en plantas de siete meses de edad sometidas a déficit hídrico, lo cual confirma esta posibilidad en condiciones de campo.

La humedad volumétrica del sustrato de plantas de siete meses de edad y sin restricción de riego fue menor, sugiriendo una mayor evapotranspiración. Dado que el volumen del sustrato y las características de los contenedores del sustrato fueron iguales, el área foliar de las plantas de siete meses de edad causó este efecto. Esta mayor evapotranspiración es consistente con los resultados observados en las plantas sometidas a déficit hídrico.

### **Algunos parámetros son sensibles al estrés hídrico en plantas de cacao a lo largo del día pero no es claro el efecto de la inoculación con HFMA en vivero**

El nivel de humedad volumétrica correspondiente al PMP se obtuvo aproximadamente dos semanas después de la restricción de riego. El riego deficitario realizado en adelante para mantener las plantas ligeramente por encima del PMP no produjo su muerte y permitió su evaluación por un lapso de tiempo mayor a dos meses.

La conductancia estomática se midió en el segundo ensayo a los 13, 24 y 68 DDDR en contraste con el ensayo anterior, en el que este parámetro se midió a los 21 DDDR. A los 13 DDDR, la conductancia estomática disminuyó notoriamente como consecuencia de la falta de agua (tabla S4.9). Estudios previos han determinado que las estomas se cierran rápidamente en respuesta a la disminución en la disponibilidad de agua (García Lozano, 2014). Este parámetro no se midió antes del día 13 después de la restricción del riego, razón por la cual, en el tercer ensayo, la conductancia se evaluó en lapsos de tiempo menores.



## Working Papers 2022

La conductancia estomática disminuyó en respuesta al déficit hídrico en el sustrato y al potencial hídrico de la atmósfera, pero no a la inoculación con HFMA. No hubo evidencia de diferencias estadísticamente significativas entre plantas estresadas cuando se evaluaron a lo largo del día, lo que confirma la alta sensibilidad de la actividad estomática a la disponibilidad de agua en el sustrato en plantas de cacao. En plantas cuyo sustrato estuvo hidratado, hubo una rápida disminución de la conductividad estomática entre las 7 AM y las 10 AM, después del cual se mantuvo constante hasta la 1 PM. Estas variaciones fueron consistentes con las variaciones del potencial hídrico de la atmósfera durante el día (Figura S 4.3). Este comportamiento estomático también fue observado por García Lozano, (2014) en plantas de cacao en condiciones de vivero a capacidad de campo. En horas de la tarde, las diferencias de conductancia estomática no fueron suficientemente grandes entre plantas sometidas a déficit hídrico y las que no lo estaban lo que sugiere un efecto importante de la humedad atmosférica sobre este parámetro en plantas de cacao, especialmente en horas de la tarde (Lozano & Fonseca, 2016).

La dinámica de esta variación indica que a las 10 am la medición de este parámetro permite el suficiente contraste entre plantas sometidas o no a déficit hídrico y disminuye la probabilidad de variaciones al interior de los tratamientos. Adicionalmente, estudios previos han indicado que la tasa fotosintética es máxima a esta hora (Tezara et al., 2016).

El valor de  $F_v/F_m$  se asocia con el estado funcional del fotosistema II (González Moreno et al., 2008). El primer registro de la disminución de este valor sucedió a los 24 DRR es decir que las limitaciones funcionales del PSII en las plantas de cacao sucedieron después de las limitaciones estomáticas (disminución en la conductancia estomática). Este comportamiento sugiere una respuesta isohídrica de las plantas de cacao en condiciones de campo, que refleja su alta susceptibilidad a la disponibilidad de agua, no solo en el sustrato, sino también de la atmósfera a lo largo del día (Hugalde & Vila, 2014). Los resultados indican que el mecanismo utilizado por las plantas de cacao frente al déficit hídrico incluye la evasión a esta condición con la disminución de la conductancia estomática, lo cual es de particular importancia si se considera el aumento de la sensibilidad de las plantas de cacao con mayor área foliar por cuenta del incremento de la transpiración.



## Working Papers 2022

Los efectos de la inoculación sobre la conductancia estomática y la Fv/Fm se registraron de forma muy esporádica. En la literatura se encuentran numerosos ejemplos del efecto de los HFMA en plantas sometidas a déficit hídrico (Fernández-Lizarazo & Moreno-Fonseca, 2016) (Anexo B), no obstante, en cacao también se ha registrado la ausencia del efecto en condiciones de vivero (Chibuike & Daymond, 2015) o en otras especies, incluso efectos negativos (Purin & Rillig, 2008; Ryan et al., 2005; Schmidt et al., 2011).

La inoculación con HFMA normalmente induce una respuesta asociada a la evasión del estrés por déficit hídrico, principalmente con el aumento de la conductancia estomática y del aumento del flujo de agua entre el sustrato y la raíz a través de la absorción por las hifas extraradicales (M. F. Allen, 2009), esto implicaría una importante asignación de carbohidratos desde la planta para el crecimiento de los HFMA (Augé et al., 2008; M. Miransari et al., 2007; Mohammad Miransari et al., 2008). Sin embargo, las hojas de las plantas de cacao en etapa de vivero realizan el proceso de fotosíntesis para producir carbohidratos necesarios para soportar el crecimiento inicial y con limitada capacidad de asignar carbohidratos hacia almacenamiento (Niinemets, 2010) lo que explicaría su limitada capacidad para asignar carbohidratos hacia otros *verteaderos* como lo son los hongos micorrícicos con los que se asocia.

La etapa de desarrollo de las plantas, la condición de sombrero y el lapso de tiempo transcurrido entre la inoculación y la medición de parámetros, pueden ser factores importantes en la evaluación del beneficio de la inoculación con HFMA (Konvalinkova & Jansa, 2016). La fase inicial del crecimiento de los HFMA en las plantas de cacao después de la inoculación, pudo requerir un costo energético de las plantas superior al beneficio que los HFMA les pudieran suministrar en esa etapa del desarrollo. De hecho, algunas diferencias esporádicas, en conductancia estomática y en Fv/Fm debidas a la inoculación, indicaron mayores valores en plantas no inoculadas lo que es consistente con la posibilidad de un mayor gasto energético inicial de la planta.

Consecuentemente, estos resultados abren la pregunta acerca de la relación costo/beneficio de la inoculación en diferentes fases de desarrollo de plantas de cacao sometidas a estrés hídrico. Ceballos et al. (en preparación) estudió el beneficio de la inoculación de plantas de yuca (*Manihot esculenta* Cranz.) en un campo de cultivo cercano al vivero donde se desarrolló la presente investigación. Los resultados del estudio de Ceballos et al (en preparación) indicaron que el beneficio de la inoculación es claramente



## Working Papers 2022

negativo en plantas jóvenes y se incrementa sustancialmente a lo largo del ciclo de producción hasta afectar positivamente el rendimiento económico de las plantas. No obstante, este tipo de estudios no existen en cacao ni tampoco en condiciones de estrés por déficit hídrico lo cual reviste importancia para el cultivo de cacao en la medida en que su etapa inicial de desarrollo sucede en condiciones de vivero, en donde es posible la realización de labores culturales que incrementen la sobrevivencia de las plantas una vez sembradas en campo. Navarro García et al. (2011) lograron mejorar la resistencia a estrés por déficit hídrico de plantas de madroño (*Arbutus unedo* L.) transplantadas a campo a través de la inoculación micorrízica y de inducción de déficit hídrico desde etapa de vivero.

Se han determinado importantes diferencias intra e interespecíficas en la funcionalidad de los HFMA con respecto a la tolerancia de las plantas al estrés hídrico (Augé, 2001). Más interesante aún, en experimentos en campo utilizando la especie vegetal *Manihot esculenta* Cranz., sometida a estrés hídrico de forma natural, las diferencias genéticas intra-específicas del hongo *Rhizophagus irregularis* mostraron ser suficientes para ejercer un efecto diferencial y determinante en la tolerancia de la planta a este estrés, así como el rendimiento al final del ciclo de cultivo (12 meses) (Peña, Thuita, et al, en preparación). Probablemente no es apropiado utilizar la generalización acerca del efecto de los HFMA en la tolerancia de plantas a estrés por déficit hídrico y en este orden de ideas, es posible considerar que la ausencia de efecto de la inoculación en plantas de cacao sometidas a este estrés solamente aplique para el genotipo de HFMA utilizado.

Recientemente, se ha encontrado la fuerte influencia que puede tener la asociación micorrízica en términos la tolerancia al estrés por déficit hídrico por cuenta de la producción de proteínas del tipo glomalina y el consecuente aumento de los agregados estables en el suelo, lo que teóricamente resulta en una mayor capacidad de retención de agua (Wright & Upadhyaya, 1998). No obstante, en este experimento las condiciones de vivero, en las cuales la planta tuvo una restricción en el desarrollo de su sistema radical (en donde el HFMA se ubica y ejerce su mayor influencia) pudo ser determinante para la esporádica respuesta detectada en este ensayo por cuanto i) el tiempo posterior a la inoculación pudo no ser suficiente para un cambio físico del sustrato utilizado, ii) el crecimiento de hifas extraradicales pudo ser bajo en respuesta a una baja asignación de carbono a las hifas en el estado fenológico inicial de las plantas, iii) el confinamiento del sustrato y de las raíces también incluye a los HFMA que las colonizan, lo que limita el potencial de las hifas para absorber agua desde zonas más distantes a la rizósfera.





## Working Papers 2022

Con base en los argumentos anteriores y a pesar de que se ha reportado explícitamente que la inoculación micorrícica no influencia la respuesta de plántulas cacao al estrés por déficit hídrico (Chibuike & Daymond, 2015), no es posible generalizar sobre la funcionalidad de los HFMA ni sobre los resultados obtenidos en este ensayo con respecto a *R. irregularis*.

Adicionalmente, el hongo utilizado para la inoculación fue propagado en condiciones *in vitro* y el inóculo consistió en un gel estéril que para garantizar ausencia de otros microorganismos. No obstante, el sustrato utilizado para el crecimiento de las plantas de cacao no fue esterilizado, para simular las condiciones de cultivo utilizadas en la región. Esto implica que *R. irregularis* fue incorporado en un sustrato que contenía una comunidad pre-establecida de microorganismos. Consecuentemente, el efecto de la inoculación no solo se puede atribuir a las características particulares del hongo FMA, sino también como producto de las interacciones con la comunidad de microorganismos: bacterias, hongos, HFMA y demás componentes de la microbiota del suelo (Augé, 2004) entre otros aspectos de la ecología microbiana.

La disminución en el área foliar y en la biomasa en general en las plantas sometidas a déficit hídrico es consistente con los resultados obtenidos en los otros parámetros descritos. En condiciones de estrés hídrico, la disminución de la conductancia estomática y de  $F_v/F_m$  son limitantes de la fotosíntesis (de tipo estomático y no estomático, respectivamente) que conducen a la disminución en la asimilación de carbono y formación de esqueletos de carbono para el crecimiento (Drake et al., 2017). No se pueden descartar otros procesos fisiológicos que pudieron afectar la formación de biomasa de las plantas como por ejemplo, la respiración (Flexas et al., 2005). En este ensayo no se midió respiración ni otros parámetros, que se sugiere pueden ser objeto de medición en futuros ensayos.

**Hay algunos parámetros descriptores de estrés, más sensibles que otros para estudiar el efecto del estrés hídrico en plantas de cacao.**



## Working Papers 2022

La disminución progresiva del potencial hídrico foliar en las plantas sometidas a déficit hídrico en el tercer ensayo, no coincidió con lo hallado en el primer ensayo, en el que se encontraron diferencias significativas al día siguiente a la restricción de riego. La razón de esta diferencia es que el DVP en el primer ensayo fue casi el doble del DVP en el tercer ensayo en tanto que el potencial hídrico atmosférico fue dos veces mayor en el primero con respecto al tercer ensayo. Así, la tensión hídrica a la cual estaba sometido el xilema en las plantas del primer ensayo era mucho mayor y la transpiración en el tercer ensayo mucho menor. En conjunto, esto implicó un estado hídrico menos variable (sensible) en las plantas del tercer ensayo aun cuando la disponibilidad de agua en el suelo fuera baja.

La conductancia estomática en los tratamientos previos se midió inicialmente a los 13 y 21 DRR con resultados contrastantes entre plantas con un suministro de agua diferente. Este resultado evidenció la necesidad de realizar mediciones de este parámetro en un lapso de tiempo menor, que para el tercer ensayo fue de 7 DRR (58 DDS). La disminución de la conductancia estomática refleja la alta sensibilidad de los estomas a la disponibilidad de agua en el suelo y confirma un patrón isohídrico en respuesta al estrés por déficit hídrico que podría incluir un componente hidropasivo en el cierre estomático en cacao (García Lozano, 2014) De hecho, a los 7 DRR (58 DDS) la conductancia estomática fue menor a  $50 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  lo que corresponde a la tercera fase de estrés por déficit hídrico (estrés severo) caracterizada de forma general por el debilitamiento de la capacidad fotosintética causada por daño enzimático, disminución del contenido de proteínas y clorofilas y comienzo de re-movilización de nutrientes (Aroca, 2012) . Por lo tanto, estos parámetros pueden ser objeto de medición en futuros ensayos.

De hecho, el rápido cierre estomático está asociado con la disminución en la pérdida de agua por transpiración estomática, lo que sumado al bajo DVP (y alto potencial hídrico atmosférico) pudieron disminuir la pérdida de agua por transpiración (cuticular y estomática), lo que también explica las diferencias en el potencial hídrico foliar de las plantas sometidas a déficit hídrico del tercer ensayo con respecto al primero. En conjunto, los resultados sugieren que la transpiración estomática estuvo determinada principalmente por el potencial hídrico en el suelo mientras que la transpiración cuticular lo estaría por la variación en la demanda evapotranspirativa (Mishra & Cherkauer, 2010) y esto, puede resultar en diferencias en el estado hídrico de las plantas, reflejadas en el potencial hídrico. García Lozano, (2014), también encontró que las plantas de cacao pierden agua con relativa facilidad debido al poder evaporante de la atmósfera.



## Working Papers 2022

En los experimentos anteriores el  $F_v/F_m$  pareció no ser muy sensible para establecer si las plantas sometidas a restricción de riego presentaban una condición de estrés. La única excepción se presentó cuando las plantas tenían 7 meses de edad (mayor área foliar para transpiración) y el DVP era alto.

Las plantas utilizadas en el tercer ensayo eran jóvenes. Al finalizar el experimento las plantas tenían una edad de 79 días, es decir, una edad muy similar a las plantas jóvenes del primer ensayo en las que tampoco se evidenció efecto del estrés sobre el  $F_v/F_m$ , lo que corrobora los resultados. Alternativamente se evaluaron otros índices de estrés calculados a partir de la fluorescencia de la clorofila. De estos, el índice de vitalidad con base en la absorción de energía ( $PI_{abs}$ ) y el índice de vitalidad con base en los procesos de absorción, atrapamiento de electrones y flujo de electrones ( $PI_{total}$ ) (Stirbet & Govindjee, 2011) fueron más sensibles que  $F_v/F_m$ , de forma particular, al final del periodo evaluado (28 DRR (72 DDS)). La sensibilidad de los índices de vitalidad al déficit hídrico con respecto al  $F_v/F_m$  ya ha sido reportada previamente en trigo (*Triticum aestivum* L.) (Živčák et al., 2008) e incluso se consideran más apropiados para evaluar el efecto de la inoculación con HFMA (Tsimilli-Michael & Strasser, 2008). Por tal razón, en los capítulos posteriores se presentan los resultados incluyendo estos parámetros.

En plantas sometidas a restricción de riego, el P tuvo una concentración menor a nivel de tejido foliar. El P se absorbe por contacto físico/directo con las raíces y se mueve en el suelo por difusión (Marschner, 2011). Al agotarse el agua, el proceso de difusión se vuelve lento y la zona de agotamiento se incrementa (F. W. Smith, 2002). La ausencia de efecto de la inoculación con hongos FMA podría atribuirse a que, en el suelo de las plantas no inoculadas, las raíces también pudieron encontrarse colonizadas de forma natural con otros HFMA. Esto debido a que el sustrato no estéril estaba conformado por suelo proveniente de una finca en la que se produce cacao cuya rizósfera contiene los géneros *Scutellospora sp.*, *Gigaspora sp.*, *Rhizophagus sp.*, *Acaulospora sp.*, *Glomus sp.* y *Claroideoglossum sp.*, (Cárdenas, 2017). En el mismo tipo de suelo Ordoñez, (2016), inoculó plantas de yuca (*Manihot esculenta* Cranz.) con el mismo tipo de inóculo utilizado en este capítulo determinando que la riqueza de la comunidad intraradical de HFMA aumentó y que hubo una fluctuación en la abundancia de las especies de HFMA (Ordoñez et al, sometido). Si bien existen procesos de selección dirigidos por alguno de los dos simbiontes (planta u hongo) (Davison et al., 2011; Öpik & Moora, 2012) (lo que no permiten extrapolar



## Working Papers 2022

estos mismos resultados a cacao), es posible que los hongos presentes en el sustrato también hubieran contribuido a la absorción de P.

Chulan & Ragu, (1986) evaluaron plantas de cacao inoculadas con HFMA en sustrato estéril y no estéril encontrando que estos hongos favorecen la absorción de P y el crecimiento pero con diferencias significativas más evidentes en sustrato estéril. En contraste, Chibuike & Daymond, (2015) no encontraron efecto de la inoculación de HFMA en un sustrato aparentemente inerte. Las diferencias entre los experimentos descritos y los resultados obtenidos en esta investigación radican en que en las tres investigaciones se estudiaron diferentes genotipos de cacao y de HFMA. Chulan & Ragu, (1986) utilizaron una mezcla de *Gigaspora spp.* y *Gigaspora margarita*, Chibuike & Daymond, (2015) utilizaron una mezcla comercial (Rootgrow™) de cinco especies no definidas de HFMA y dos de hongos ectomicorrícicos, en tanto que en la presente investigación se utilizó un producto comercial que contiene exclusivamente una cepa *R. irregularis* aislado en Canadá.

Así, las diferencias interespecíficas podrían explicar las diferencias en los resultados obtenidos en los diferentes experimentos. De hecho, Droh et al. (2016) compararon el efecto de la cepa SC3 (aislada en Suiza) con inóculos provenientes de zonas cacaoteras de Costa de Marfil y la mezcla de estos sobre el crecimiento de plantas jóvenes de cacao sembradas en sustrato estéril. Los autores encontraron claras diferencias entre los diferentes tipos de inóculo. De forma similar, Rini et al (1996) realizaron el mismo tipo de evaluación pero con sustrato no estéril y utilizando como inóculo *Glomus mosseae*, *Scutellospora sp.* *Acaulospora sp.* y su mezcla. Los autores también encontraron diferencias a nivel de crecimiento y nutrición (P, K, Ca y Mg).

Adicionalmente, se ha encontrado que las diferencias funcionales intraespecíficas pueden ser mayores que las interespecíficas tanto a nivel de condiciones de laboratorio e invernadero (Munkvold et al., 2004) como de campo (Ceballos, en preparación y Peña, en preparación). No obstante, este aspecto no se ha evaluado aun en plantas de cacao.

El incremento de la concentración de K foliar en plantas inoculadas, sometidas a restricción de riego es consistente con dos de los mecanismos que se han identificado en plantas micorrizadas para tolerar el



## Working Papers 2022

déficit hídrico (Fernández-Lizarazo & Moreno-Fonseca, 2016) (Anexo B). El primero es el mejoramiento de la nutrición de aquellos nutrientes que contribuyen a tolerar el estrés (Al-Karaki, 2006; Asensio et al., 2012) y el segundo consiste en el ajuste osmótico que contribuye a disminuir el potencial hídrico en la planta para facilitar la absorción de agua desde el suelo (Sharma et al., 2017; Wu & Xia, 2006). En cacao, el K ha sido reconocido como un osmolito compatible que contribuye al ajuste osmótico en situaciones de déficit hídrico (Almeida & Valle, 2008). García Lozano, (2014) asoció esta respuesta a un componente hidroactivo de la respuesta estomática al estrés por déficit hídrico. Este resultado es de particular importancia por cuanto, es la primera vez que reporta el efecto de la inoculación con HFMA sobre el incremento de la concentración de K en hojas de plantas de cacao sometidas a déficit hídrico y porque el K es el ion que probablemente hace la mayor contribución a la osmolaridad del jugo celular (Premachandra & Joly, 1992).

La disminución de la concentración de S en plantas inoculadas encontrada en esta investigación coincide parcialmente con los resultados obtenidos por Sieh et al., (2013). Estos autores encontraron que, a bajas concentraciones de P en sustrato estéril, la concentración foliar de S en *Medicago truncatula* fertilizada con S, fue menor que la de plantas no inoculadas pero fue mayor que la de plantas inoculadas sin fertilización con S. Esto supone la existencia de un balance P/S en plantas micorrizadas. En el presente experimento, dicho balance pudo afectar la absorción de S en plantas inoculadas por cuanto la inoculación pudo cambiar la estructura de la comunidad de hongos HFMA (Ordoñez, 2016) y modular la absorción de S (J. W. Allen & Shachar-Hill, 2009). Sin embargo, a la fecha no existen experimentos que caractericen este balance en cacao y por lo tanto esto debe ser objeto de futuras investigaciones.

Tanto el vigor como el área foliar se disminuyeron de forma significativa alrededor de un mes después de la restricción de riego lo que obedece a limitaciones en la fotosíntesis, debidas al estrés hídrico (Aroca, 2012). El vigor de las plantas inoculadas y sometidas a restricción de riego disminuyó con respecto a las no inoculadas lo que es consistente con la posibilidad de que las plantas inoculadas deban suplir un mayor costo energético y reasignación de sus esqueletos de carbono (Jha et al., 2014), sin embargo, estos resultados no se pueden generalizar dada la creciente evidencia de que genotipos diferentes de *R. irregularis* pueden inducir respuestas diferentes en las plantas hospederas, por tanto, esta posibilidad debe ser objeto de ensayos posteriores.



## Working Papers 2022

### CONCLUSIONES

De forma consistente, la conductancia estomática de plantas de cacao en etapa de vivero disminuye rápidamente con la restricción de agua en el sustrato o con la disminución del potencial hídrico de la atmósfera. No obstante, el estado hídrico de la planta depende, entre otros factores, de la magnitud de su área foliar. A mayor área foliar y bajo condiciones de déficit hídrico, se incrementa la evapotranspiración debida a la transpiración cuticular, aun cuando los estomas estén cerrados. Este efecto se agudiza con la disminución del potencial hídrico de la atmósfera y con el aumento del DVP.

Consecuentemente, los parámetros que pueden indicar disminución del estado hídrico de las plantas en respuesta al déficit hídrico, como el potencial hídrico foliar, las clorofilas y algunos parámetros de fluorescencia de la clorofila, pueden también variar en función del potencial hídrico de la atmósfera, del DVP y del área foliar de las plantas.

La restricción de riego indujo un proceso de limitación estomática y no estomática de la fotosíntesis. La limitación estomática pudo suceder en el lapso de unas pocas horas y permanecer así por varias semanas. La limitación no estomática indicada por el contenido de clorofilas y por los parámetros de fluorescencia de la clorofila *a* sucedieron en un lapso mayor de tiempo.

El  $PI_{total}$  es un parámetro de fluorescencia que pareció ser más sensible para la identificación del estrés en plantas sometidas a déficit hídrico, en campo, por cuanto incluye en su cálculo los procesos de absorción de energía, atrapamiento y transporte de electrones a diferencia del  $F_v/F_m$  que solamente incluye a los procesos de absorción de energía.

La variación en la concentración foliar de P, S y K en función del déficit hídrico, de la inoculación y de su interacción, respectivamente, sugieren que la imposición de estas condiciones al sistema sustrato-planta-atmósfera, podría modificar fenómenos de movimiento de nutrientes en suelo, asignación de esqueletos de carbono y osmoregulación



## Working Papers 2022

La disminución en el área foliar, en la biomasa y en el vigor de las plantas sometidas a déficit hídrico es consistente con las limitaciones estomáticas, no estomáticas y con limitaciones nutricionales como la del P.

En estos ensayos, la inoculación de las plantas de cacao con HFMA indujo efectos esporádicos disminuyendo el potencial hídrico, la conductancia estomática y la concentración foliar de K y S. Estos efectos esporádicos pudieron estar asociados a la relación costo/beneficio de la asociación, a la relación entre nutrientes al establecimiento de la simbiosis, a cambios en la asignación de esqueletos de carbono, al genotipo del hongo MA, al genotipo de la planta de cacao y a su interacción.



## Working Papers 2022

### INFORMACIÓN SUPLEMENTARIA

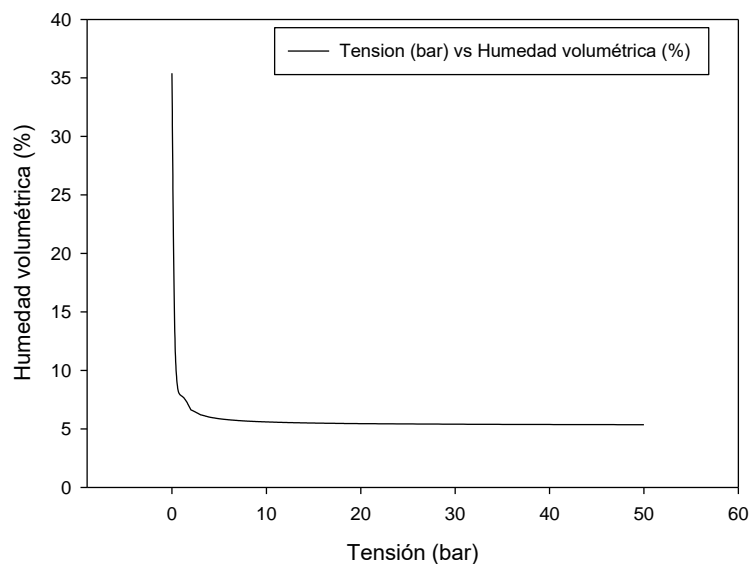
**Tabla S** ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..1. **Análisis del sustrato utilizado en el ensayo uno.**

pH	CE dS/m	CO	N	Ca	K	Mg	Na	Al	CICE	CIC
		%		meq / 100g						
5,6	ns	3,37	0,29	4,21	0,17	1,37	0,03	0,00	5,78	ns

ns: no solicitado

P	S	Cu	Fe	Mn	Zn	B	Ar	L	A	Textura
mg / kg							%			
31,0	20,0	0,67	153	4,83	2,64	0,15	16	29	56	FA

Los resultados corresponden únicamente a las muestras suministradas por el usuario y analizadas en el laboratorio



**Figura S** ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..1. **Curva de tensión de humedad del sustrato utilizado en los ensayos de este capítulo.**

**Tabla S** ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..2. **Efecto de la edad de la planta de cacao y de la restricción de riego sobre la humedad del sustrato. Ensayo uno.**





## Working Papers 2022

DDRR	Edad de la planta	Riego	Edad x Riego
<b>Todo el periodo</b>	13,56*	217,82***	1,91 ns
<b>Interacción con el tiempo</b>	9,64**	41,70***	5,63**
<b>Efecto del tiempo</b>		38,17***	

DDRR: Días después de restricción de riego

**Tabla S** ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..3. **Efecto de la edad de la planta de cacao y de la restricción de riego sobre la conductividad estomática. Ensayo uno.**

DDRR	Edad de la planta	Orden	Riego	Orden	Edad x Riego
21	1,4ns	----	5,22*	Con riego>Sin riego	0,22ns

**Tabla S** ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..4. **Efecto de la edad de la planta de cacao y de la restricción de riego sobre el potencial hídrico foliar. Ensayo uno.**

DDRR	Edad de la planta	Orden	Riego	Orden	Edad x Riego
1	0,71ns	----	11,36**	Con riego>sin riego	
16	1,72ns	----	33,23***	Con riego>sin riego	0,86ns
<b>Todo el periodo</b>	0,89ns		55,62***		1,09ns
<b>Interacción con el tiempo</b>	1,32ns		1,89ns		2,73ns
<b>Efecto del tiempo</b>				18,86**	

**Tabla S** ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..5. **Efecto de la edad de la planta de cacao y de la restricción de riego sobre el índice de clorofilas. Ensayo uno.**

DDRR	Edad de la planta	Orden	Riego	Orden	Edad x Riego
8	15,39**	7 meses>2 meses	0,14ns	----	0,84ns
16	22,02***	7 meses>2 meses	17,23**	Con riego>sin riego	17,02**
<b>Todo el periodo</b>	40,04***		5,44*		4,78*
<b>Interacción con el tiempo</b>	0,47ns		2,69ns		3,00ns
<b>Efecto del tiempo</b>				0,51ns	

**Tabla S** ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..6. **Tabla S 4.6. Efecto de la edad de la planta de cacao y de la restricción de riego sobre la Fv/Fm. Ensayo uno.**



## Working Papers 2022

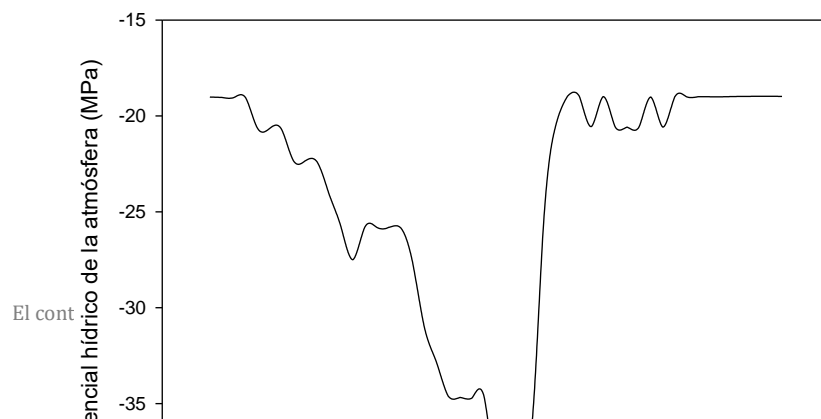
DDRR	Edad de la planta	Orden	Riego	Orden	Edad x Riego
1	0,77ns	----	4,35ns	----	0,002ns
5	0,16ns	----	2,55ns	----	0,26ns
8	0,28ns	----	0,01	----	0,14
12	7,58*	2 meses>7 meses	4,26ns	----	11,11**
13	3,5ns	----	1,06ns	----	0,876ns
14	2,77ns	----	1,15ns	----	2,61ns
15	0,008ns	----	1,85ns	----	2,81ns
16	0,4ns	----	5,24ns	----	0,23
21	1,89ns	----	6,35*	Con riego>sin riego	
<b>Todo el periodo</b>	4,6ns		7,06*		4,47ns
<b>Interacción con el tier</b>	3,14ns		2,46ns		3,04ns
<b>Efecto del tiempo</b>				34,19**	

**Tabla S ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..7. Efecto de la edad de la planta de cacao y de la restricción de riego sobre el área foliar. Ensayo uno.**

DDRR	Edad de la planta	Orden	Riego	Orden	Edad x Riego
1	8,13	7 meses>2 meses	0,01	---	1,75
16	4,14	---	0,04	---	0,95
<b>Todo el periodo</b>	5,56*		0,11ns		0,58
<b>Interacción con el tiempo</b>	1,07ns		0,62ns		2,16ns
<b>Efecto del tiempo</b>			0,0028ns		

**Tabla S ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..8. Efecto de la edad de la planta de cacao y de la restricción de riego sobre el número de hojas. Ensayo uno.**

DDRR	Edad de la planta	Orden	Riego	Orden	Edad x Riego
1	2,83ns	---	0,14ns	---	0,01ns
16	1,7ns	---	0,05ns	---	0,21ns
<b>Todo el periodo</b>	2,25ns		0,003ns		0,07ns
<b>Interacción con el tiempo</b>	0,33ns		3,24ns		1,93ns
<b>Efecto del tiempo</b>			6,85*		



## Working Papers 2022

**Figura S** ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..2. **Potencial hídrico de la atmósfera a los 24 DDRR (64 DDS). Ensayo dos.**

**Tabla S** ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..9. **Efecto de la inoculación y de la restricción de riego en plantas de cacao sobre la conductancia estomática a los 13 DDRR (43 DDS). Ensayo dos.**

Hora	Inoculación	Orden	Riego	Orden	Inoculación x Riego
7: 00 A.M	1,53ns	---	4,63ns	---	0,79ns
10: 00 A.M	1,04ns	---	15,48**	Hidratadas>estresadas	1,32ns
1: 00 P.M	0,14ns	---	15,17**	Hidratadas>estresadas	0,43ns
4: 00 P.M	1,04ns	---	5,87*	Hidratadas>estresadas	0,11ns
7: 00 P.M	9,10*	Sin inoculación>Inoculación	4,94ns	---	3,81ns
<b>Todo el periodo</b>	0,29ns		41,44***		0,01ns
<b>Interacción con el tiempo</b>	1,66ns		6,24*		0,65ns
<b>Efecto del tiempo</b>			25,43**		

**Tabla S** ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..10. **Efecto de la inoculación y de la restricción de riego en plantas de cacao sobre la conductancia estomática a los 24 DDRR (64 DDS). Ensayo dos.**



## Working Papers 2022

Hora	Inoculación	Orden	Riego	Orden	Inoculación x Riego
7: 00 A.M	1,02ns	---	14,36**	Hidratadas>estresadas	0,11ns
10: 00 A.M	0,21ns	---	34,15**	Hidratadas>estresadas	0,06ns
1: 00 P.M	1,79ns	---	87,89***	Hidratadas>estresadas	3,49ns
4: 00 P.M	0,32ns	---	25,04**	Hidratadas>estresadas	0,38ns
7: 00 P.M	1,31ns	---	2,51ns	---	2,17ns
<b>Todo el periodo</b>	1,77ns		62,43***		0,14ns
<b>Interacción con el tiempo</b>	0,33ns		26,88***	Hidratadas>estresadas	0,14ns
<b>Efecto del tiempo</b>				16,07**	

**Tabla S** ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..11. Efecto de la inoculación y de la restricción de riego en plantas de cacao sobre la conductancia estomática a los 68 DRR (98 DDS). Ensayo dos.

Hora	Inoculación	Orden	Riego	Orden	Inoculación x Riego
7: 00 A.M	0,01ns		73,22***	Hidratadas>estresadas	1,34ns
10: 00 A.M	2,39ns		33,46**	Hidratadas>estresadas	1,01ns
1: 00 P.M	0,67ns		12,36**	Hidratadas>estresadas	3,16ns
4: 00 P.M	2,54ns		12,51**	Hidratadas>estresadas	0,01ns
7: 00 P.M	6,17*	Sin inoculación>Inoculación	0,01ns		0,01ns
<b>Todo el periodo</b>	0,77ns		42,51***		1,66ns
<b>Interacción con el tiempo</b>	0,68ns		13,37**		0,96ns
<b>Efecto del tiempo</b>					17,64**

**Tabla S** ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..12. Efecto de la inoculación y de la restricción de riego en plantas de cacao sobre la Fv/Fm a los 13 DRR (43DDS). Ensayo dos.

Hora	Inoculación	Orden	Riego	Orden	Inoculación x Riego
7: 00 A.M	2,35ns	----	1,19ns	----	0,04ns
10: 00 A.M	0,04ns	----	0,16ns	----	1,19ns
1: 00 P.M	0,44ns	----	2,37ns	----	0,60ns
4: 00 P.M	1,16ns	----	1,10ns	----	1,02ns
7: 00 P.M	0,23ns	----	1,59ns	----	0,01ns
<b>Todo el periodo</b>	0,97ns	----	1,71ns	----	1,01ns
<b>Interacción con el tiempo</b>	0,79ns	----	0,75ns	----	0,91ns
<b>Efecto del tiempo</b>					9,76**

**Tabla S** ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..13. Efecto de la inoculación y de la restricción de riego en plantas de cacao sobre la Fv/Fm a los 24 DRR (64DDS). Ensayo dos.



## Working Papers 2022

Hora	Inoculación	Orden	Riego	Orden	Inoculación x Riego
7: 00 A.M	1,68ns		2,32ns		0,05ns
10: 00 A.M	0,39ns		8,43*	Hidratadas>estresadas	0,72ns
1: 00 P.M	0,09ns		1,98ns		0,50ns
4: 00 P.M	7,54*	Control>Glo	14,50**	Hidratadas>estresadas	3,86ns
7: 00 P.M	0,49ns		4,56ns		0,60ns
<b>Todo el periodo</b>	2,66ns		18,54**		1,34ns
<b>Interacción con el tiempo</b>	2,03ns		2,82ns		0,98ns
<b>Efecto del tiempo</b>			78,89***		

**Tabla S** ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..14. Efecto de la inoculación y de la restricción de riego en plantas de cacao sobre la Fv/Fm a los 68 DRR (98 DDS). Ensayo dos.

Hora	Inoculación	Orden	Riego	Orden	Inoculación x Riego
7: 00 A.M	3,36ns		4,29ns		0,30ns
10: 00 A.M	0,47ns		9,11**	Hidratadas>estresadas	
1: 00 P.M	0,59ns		24,80**	Hidratadas>estresadas	0,05ns
4: 00 P.M	0,28ns		8,0**	Hidratadas>estresadas	
7: 00 P.M	0,01ns		19,75**	Hidratadas>estresadas	0,02ns
<b>Todo el periodo</b>	1,56ns		21,59**		0,52ns
<b>Interacción con el tiempo</b>	0,66ns		1,60ns		0,53ns
<b>Efecto del tiempo</b>			0,84ns		

**Tabla S** ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..15. Efecto de la inoculación y de la restricción de riego en plantas de cacao sobre el área foliar. Ensayo dos.

DDS	Inoculación	Orden	Riego	Orden	Inoculación x Riego
64	0,11ns	---	77,79***	Hidratadas>estresadas	0,01ns
98	0,01ns	---	270,83***	Hidratadas>estresadas	1,17ns

**Tabla S** ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..16. Efecto de la inoculación y de la restricción de riego en plantas de cacao sobre la biomasa. Ensayo dos.



## Working Papers 2022

DDS	Órgano	Inoculación	Orden	Riego	Orden	Inoculación x Riego
64	Tallo	2,85ns	---	74,84***	Hidratadas>estresadas	1,24ns
64	Peciolo	1,02ns	---	25,38***	Hidratadas>estresadas	
64	Raíz	0,29ns	---	18,01***	Hidratadas>estresadas	0,87ns
64	Hoja	0,01ns	---	18,76***	Hidratadas>estresadas	
64	Toda la planta	0,06ns	---	59,55***	Hidratadas>estresadas	0,61
64	Raíz/PA	0,36ns	---	7,49**	Estresadas>hidratadas	0,12
98	Tallo	1,18ns	---	205,89***	Hidratadas>estresadas	0,09ns
98	Peciolo	3,54ns	---	358,29***	Hidratadas>estresadas	0,60ns
98	Raíz	1,35ns	---	198,78***	Hidratadas>estresadas	0,85ns
98	Hoja	0,40ns	---	348,66***	Hidratadas>estresadas	0,08ns
98	PSTotal	0,32ns	---	34,13***	Hidratadas>estresadas	
98	Raíz/PA	0,69ns	---	3,62ns	---	1,61ns

**Tabla S** ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..17. Efecto de la inoculación y de la restricción de riego en plantas de cacao sobre la humedad volumétrica del sustrato. Ensayo tres.

	Inoculación	Riego	Inoculación x Riego
<b>Todo el periodo</b>	0,83ns	111,01***	0,2631ns
<b>Interacción con el tiempo</b>	0,44ns	9,36**	0,04ns
<b>Efecto del tiempo</b>		7,61**	

**Tabla S** ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..18. Efecto de la inoculación y de la restricción de riego en plantas de cacao sobre el potencial hídrico foliar. Ensayo tres.

DDS	Inoculación	Orden	Riego	Orden	Inoculación x Riego
37	0,0063ns	---	0,2	---	3,53ns
44	0,01ns	---	0,03ns	---	2,74ns
58	0,82ns	---	3,37ns	---	0,09ns
65	0,36ns	---	3,79ns	---	2,63ns
72	0,40ns	---	18,30**	Hidrat>No hidratadas	1,00ns
79	ND		ND		
<b>Todo el periodo</b>	0,29ns		14,86*		0,78ns
<b>Interacción con el tiempo</b>	0,5ns		4,86*		3,06ns
<b>Efecto del tiempo</b>			6,52*		

**Tabla S** ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..19. Efecto de la inoculación y de la restricción de riego en plantas de cacao sobre la conductancia estomática. Ensayo tres.



## Working Papers 2022

DDS	Inoculación	Orden	Riego	Orden	Inoculación x Riego
37	0,012ns	----	0,09ns	----	0,23ns
44	1,40ns	----	0,90ns	----	0,08ns
58	0,22ns	----	30,25***	Hidrat>No hidratadas	0,51ns
65	0,13ns	----	29,24***	Hidrat>No hidratadas	0,01ns
72	0,93ns	----	44,06***	Hidrat>No hidratadas	0,49ns
79	1,22ns	----	18,33**	Hidrat>No hidratadas	0,03ns
<b>Todo el periodo</b>	0,01ns		62,54***		0,23ns
<b>Interacción con el tiempo</b>	0,74ns		4,29**		0,15ns
<b>Efecto del tiempo</b>			18,81***		

**Tabla S** ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..20. Efecto de la inoculación y de la restricción de riego en plantas de cacao sobre la concentración de nutrientes en la hoja. Ensayo tres.

DDS	Inoculación	Orden	Riego	Orden	Inoculación x Riego
N	0,01ns	---	1,42ns	---	0,33ns
P	0,47ns	---	13,36**	Hidrat>No hidratadas	0,47ns
Ca	1,20ns	---	1,52ns	---	0,59ns
K	0,23ns	---	0,77ns	---	5,67*
Mg	0,14ns	---	0,14ns	---	1,45ns
Cu	0,40ns	---	4,52ns	---	0,40ns
Fe	0,52ns	---	0,01ns	---	0,23ns
Mn	1,01ns	---	0,64ns	---	0,05ns
Zn	0,69ns	---	0,09ns	---	0,05ns
B	0,60ns	---	0,42ns	---	0,01ns
S	4,85*	Control>Glomygel	2,27ns	---	2,56ns

**Tabla S** ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..21. Efecto de la inoculación y de la restricción de riego en plantas de cacao sobre el área foliar. Ensayo tres.

DDS	Inoculación	Orden	Riego	Orden	Inoculación x Riego
37	0,9ns	---	0,23ns	---	0,07ns
44	0,04ns	---	0,01ns	---	0,45ns
58	0,01ns	---	0,01ns	---	0,04ns
65	2,87ns	---	16,57**	Hidrat>No hidratadas	1,38ns
72	2,42ns	---	4,34ns	---	0,01ns
<b>Todo el periodo</b>	0,82ns		3,14ns		0,01ns
<b>Interacción con el tiempo</b>	1,44ns		5,48*		1,03ns
<b>Efecto del tiempo</b>			10,66**		

**Tabla S** ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento..22. Efecto de la inoculación y de la restricción de riego en plantas de cacao sobre vigor de las plantas. Ensayo tres.



## Working Papers 2022

DDS	Inoculación	Orden	Riego	Orden	Inoculación x Riego
37					
44					
58	0,27ns	---	0,27ns	---	0,16ns
65	0,12ns	---	4,77*	Hidrat>No hidratadas	4,77*
72	0,93ns	---	11,85**	Hidrat>No hidratadas	1,69ns
79	0,46ns	---	18,31***	Hidrat>No hidratadas	0,46ns

## REFERENCIAS

- Al-Karaki, G. N. (2006). Nursery inoculation of tomato with arbuscular mycorrhizal fungi and subsequent performance under irrigation with saline water. *Scientia Horticulturae*, 109(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.02.019>
- Allen, J. W., & Shachar-Hill, Y. (2009). Sulfur Transfer through an Arbuscular Mycorrhiza. *Plant Physiology*, 149(1), 549–560. <https://doi.org/10.1104/pp.108.129866>
- Allen, M. F. (2009). Bidirectional water flows through the soil-fungal-plant mycorrhizal continuum. *New Phytologist*, 182(2), 290–293.
- Almeida, A. F. De, & Valle, R. R. (2008). Ecophysiology of the cacao tree. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 19(4), 425–448.
- Anga, J. (2012). Conférence Mondiale sur le Cacao Œuvrer pour une économie cacaoyère mondiale durable. *World Cocoa Conference 2012*, 20.
- Araque, O., Jaimez, R. E., Tezara, W., Coronel, I., Urich, R., & Espinoza, W. (2012). Comparative photosynthesis, water relations, growth and survival rates in juvenile criollo cacao cultivars (theobroma cacao) during dry and wet seasons. *Experimental Agriculture*, 48(4), 513–522. <https://doi.org/10.1017/S0014479712000427>
- Aroca, R. (2012). *Plant responses to drought stress* (Ricardo Aroca (ed.)). Springer-Verlag GmbH Berlin Heidelberg.
- Asensio, D., Rapparini, F., & Peñuelas, J. (2012). AM fungi root colonization increases the production of essential isoprenoids vs. nonessential isoprenoids especially under drought stress conditions or after jasmonic acid application. *Phytochemistry*, 77, 149–161. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.12.012>





## Working Papers 2022

- Atul-Nayyar, A., Hamel, C., Hanson, K., & Germida, J. (2009). The arbuscular mycorrhizal symbiosis links N mineralization to plant demand. *Mycorrhiza*, 19(4), 239–246. <https://doi.org/10.1007/s00572-008-0215-0>
- Augé, R. M. (2001). Water relations , drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 11, 3–42.
- Augé, R. M. (2004). Arbuscular mycorrhizae and soil / plant water relations. *Canadian Journal of Soil Science*, 84, 373–381.
- Augé, R. M., Toler, H. D., Sams, C. E., & Nasim, G. (2008). Hydraulic conductance and water potential gradients in squash leaves showing mycorrhiza-induced increases in stomatal conductance. *Mycorrhiza*, 18(3), 115–121. <https://doi.org/10.1007/s00572-008-0162-9>
- Bago, B., Pfeffer, P. E., & Shachar-hill, Y. (2000). *Update on Symbiosis Arbuscular Mycorrhizas*. 124(November), 949–957.
- Baker, N. R., & Hardwick, K. (1973). Biochemical and physiological aspects of leaves development in cocoa (*Theobroma cacao* L.): I. Deveopment of chlorophyll and photosynthetic activity. *New Phytologist*, 72, 1315–1324.
- Baker, N. R., Hardwick, K., & Jones, P. (1975). Biochemical and physiological aspects of leaves development in cocoa (*Theobroma cacao* l.): II. Development of chloroplast ultrastructure and carotenoids. *New Phytologist*, 75, 513–518.
- Barea, J. M., Palenzuela, J., Cornejo, P., Sánchez-Castro, I., Navarro-Fernández, C., Lopéz-García, a., Estrada, B., Azcón, R., Ferrol, N., & Azcón-Aguilar, C. (2011). Ecological and functional roles of mycorrhizas in semi-arid ecosystems of Southeast Spain. *Journal of Arid Environments*, 75(12), 1292–1301. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2011.06.001>
- Borde, M., Dudhane, M., & Jite, P. (2011). Growth photosynthetic activity and antioxidant responses of mycorrhizal and non-mycorrhizal bajra (*Pennisetum glaucum*) crop under salinity stress condition. *Crop Protection*, 30(3), 265–271. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.12.010>
- Brachmann, & Parniske, M. (2006). The most widespread symbiosis on Earth. *PLoS Biology*, 4(7), e239. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040239>



## Working Papers 2022

- Bravo, A., Brands, M., Wewer, V., Dörmann, P., & Harrison, M. J. (2017). Arbuscular mycorrhiza-specific enzymes FatM and RAM2 fine-tune lipid biosynthesis to promote development of arbuscular mycorrhiza. *New Phytologist*, 214(4), 1631–1645. <https://doi.org/10.1111/nph.14533>
- Brodribb, T. J., & Hill, R. S. (2000). Increases in Water Potential Gradient Reduce Xylem Conductivity in Whole Plants. Evidence from a Low-Pressure Conductivity Method. *Plant Physiology*, 123(July), 1021–1027.
- Brundrett, M. C. (2002). Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist*, 154, 275–304.
- CacaoNet. (2012). *A Global Strategy for the Conservation and Use of Cacao Genetic Resources, as the Foundation for a Sustainable Cocoa Economy* (B. Laliberté (ed.)).
- Cadahia, C. (2005). *Fertirrigación en cultivos hortícolas, frutales y ornamentales* (Mundiprensa (ed.); 3rd ed.).
- Caravaca, F., Alguacil, M. M., Hernández, J. A., & Roldán, A. (2005). Involvement of antioxidant enzyme and nitrate reductase activities during water stress and recovery of mycorrhizal *Myrtus communis* and *Phillyrea angustifolia* plants. *Plant Science*, 169(1), 191–197. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.03.013>
- Cárdenas, N. J. (2017). *Efecto de la simbiosis de Rhizophagus irregularis con plántulas de cacao (Theobroma cacao L.) en el tizón de plántulas (Phytophthora palmivora (Butler))* [Universidad Nacional de Colombia]. <http://bdigital.unal.edu.co/62108/7/Néstor.CárdenasPardo.2017.pdf>
- Carr, M. K. V., & Lockwood, G. (2011). the Water Relations and Irrigation Requirements of Cocoa (*Theobroma Cacao L.*): a Review. *Experimental Agriculture*, 47(04), 653–676. <https://doi.org/10.1017/S0014479711000421>
- CEPLAC. (2012). *Manejo do cacaueteiro clonado*.
- Chibuike, G. U., & Daymond, A. J. (2015). Mycorrhizae Inoculation Did Not Influence the Response of Cocoa Seedlings to Water Stress Department of Soil Science and Land Resources Management, *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, 15(5), 944–956. <https://doi.org/10.5829/idosi.aejaes.2015.15.5.12634>



## Working Papers 2022

- Cho, K., Toler, H., Lee, J., Ownley, B., Stutz, J. C., Moore, J. L., & Augé, R. M. (2006). Mycorrhizal symbiosis and response of sorghum plants to combined drought and salinity stresses. *Journal of Plant Physiology*, 163(5), 517–528. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.05.003>
- Chulan, A., & Ragu, P. (1986). Growth response of *Theobroma cacao* L. seedlings to inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Planting of cocoa seedlings in polythene bags is a widely practised. Growth response of plants looked more vigorous and had produced more leaves ( F. *Plant and Soil*, 285, 279–285.
- Clough, Y., Faust, H., & Tschardtke, T. (2009). Cacao boom and bust: sustainability of agroforests and opportunities for biodiversity conservation. *Conservation Letters*, 2(5), 197–205. <https://doi.org/10.1111/j.1755-263X.2009.00072.x>
- COLOMBIA. Ministerio de Minas y Energía -Unidad de Planeación Minero Energética (UPME) y Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial - Instituto de Hidrología, M. y E. A. (IDEAM). (2005). *Atlas de Radiación Solar de Colombia*. <https://www.siac.gov.co/contenido/contenido.aspx?catID=668&conID=1293>
- Davies, F. T., Puryear, J. D., Newton, R. J., Egilla, J. N., & Grossi, J. A. S. (2001). Mycorrhizal fungi enhance accumulation and tolerance of chromium in sunflower ( *Helianthus annuus* ). *Journal of Plant Physiology*, 786, 777–786.
- Davison, J., Opik, M., Daniell, T., M., M., & Zobel, M. (2011). random assemblages. *FEMS Microbiology Ecology*, 78, 103–115. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01103.x>
- Deressa, T. G., & Schenk, M. K. (2008). Contribution of roots and hyphae to phosphorus uptake of mycorrhizal onion.pdf. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 171(5), 810–820.
- Drake, J. E., Power, S. A., Duursma, R. A., Medlyn, B. E., Aspinwall, M. J., Choat, B., Creek, D., Eamus, D., Maier, C., Pfautsch, S., Smith, R. A., Tjoelker, M. G., & Tissue, D. T. (2017). Agricultural and Forest Meteorology Stomatal and non-stomatal limitations of photosynthesis for four tree species under drought: A comparison of model formulations. *Agricultural and Forest Meteorology*, 247(September), 454–466. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2017.08.026>
- Droh, G., Kouassi, A.-B., Kouadjo, Z. C. G., Zeze, A., Nguetta, A. S., & Sanders, I. R. (2016). Effect of two AMF on growth of cocoa seedlings (*Theobroma cacao* L.) in greenhouses. *Global Journal of Advanced Research*, 3(3), 157–164.



## Working Papers 2022

- FAOSTAT. (2018). *Food and Agriculture Organization of the United Nations*.  
<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>
- Fedecacao. (2009). *Manejo del recurso genético para incrementar la producción del sistema cacao en Colombia*.
- Fernández-Lizarazo, J. C., & Moreno-Fonseca, L. P. (2016). Mechanisms for tolerance to water-deficit stress in plants inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. A review. *Agronomía Colombiana*, 34(2), 179. <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v34n2.55569>
- Flexas, J., Galmes, J., Ribas-Carbo, M., & Medrano, H. (2005). The effects of water stress on plant respiration. In H. Lambers (Ed.), *Plant Respiration* (pp. 85–94). Springer, Dordrecht.
- Gadkar, V., David-schwartz, R., Kunik, T., & Kapulnik, Y. (2001). *Update on Mycorrhizal Symbiosis Arbuscular Mycorrhizal Fungal Colonization . Factors Involved in Host Recognition*. 127(December), 1493–1499. <https://doi.org/10.1104/pp.010783.vitro>
- García Lozano, J., Romero Carrascal, M., & Ortiz, L. A. (2005). Evaluación edafoclimática de las tierras del trópico bajo colombiano para el cultivo de cacao.
- García Lozano, J. (2014). Caracterización de las respuestas fisiológicas y bioquímicas en tres clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) sometidos a diferentes niveles de déficit hídrico. 166. <http://www.bdigital.unal.edu.co/46575/>
- Gholamhoseini, M., Ghalavand, a., Dolatabadian, a., Jamshidi, E., & Khodaei-Joghan, a. (2013). Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on growth, yield, nutrient uptake and irrigation water productivity of sunflowers grown under drought stress. *Agricultural Water Management*, 117, 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2012.11.007>
- Giovannetti, M., & Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84, 489–500.
- Gobernación de Casanare, P. D. (2008). No Title Proyecto establecimiento de tres mil hectáreas de cacao clonado en zona rural de los municipios del norte de Casanare.
- Gockowski, J., & Sonwa, D. (2008). Biodiversity and smallholder cocoa production systems in West Africa. STCP Working Paper Series 6 (Version January 2008) (Issue 6).



## Working Papers 2022

- González Moreno, S., Perales Vela, H., & Salcedo Alvarez, M. (2008). La fluorescencia de la clorofila a como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. *Revista de Educación Bioquímica*, 27(4), 119–129.
- Hugalde, I. P., & Vila, H. F. (2014). Comportamiento isohídrico o anisohídrico en vides... ¿Una controversia sin fin? *Revista de Investigaciones ...*, 40(1), 75–82.
- Jha, A., Kamalvanshi, M., Kumar, A., Chakravarty, N., Shukla, A., & Dhyani, S. K. (2014). Te effects of arbuscular mycorrhizal inoculations and cotyledon removal on early seedling growth of *Pongamia Pinnata*. *Turkish Journal of Botany*, 38(3), 526–535. <https://doi.org/10.3906/bot-1309-4>
- Jiang, Y., Wang, W., Xie, Q., Liu, N., Liu, L., Wang, D., Zhang, X., Yang, C., Chen, X., Tang, D., & Wang, E. (2017). Plants transfer lipids to sustain colonization by mutualistic mycorrhizal and parasitic fungi. *Science*, 356(6343), 1172–1173. <https://doi.org/10.1126/science.aam9970>
- Johnson, D. J., & Ferrell, W. K. (1983). Stomatal response to vapour pressure deficit and the effect of plant water stress. *Plant, Cell and Environment*, 6, 451–456.
- Keymer, A., Pimprikar, P., Wewer, V., Huber, C., Brands, M., Bucerius, S. L., Delaux, P. M., Klingl, V., von Röpenack-Lahaye, E., Wang, T. L., Eisenreich, W., Dörmann, P., Parniske, M., & Gutjahr, C. (2017). Lipid transfer from plants to arbuscular mycorrhiza fungi. *ELife*, 6, 1–33. <https://doi.org/10.7554/eLife.29107>
- Konvalinkova, T., & Jansa, J. (2016). Lights Off for Arbuscular Mycorrhiza : On Its Symbiotic Functioning under Light Deprivation. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1–11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00782>
- Läderach, P., Martinez-Valle, a., Schroth, G., & Castro, N. (2013). Predicting the future climatic suitability for cocoa farming of the world's leading producer countries, Ghana and Côte d'Ivoire. *Climatic Change*, 119(3–4), 841–854. <https://doi.org/10.1007/s10584-013-0774-8>
- Lau, C., Jarvis, A., & Ramírez, J. (2013). *Agricultura Colombiana : Adaptación al Cambio Climático*.
- Lim, T. K. (2012). *Edible Medicinal And Non Medicinal Plants (Vol. 3)*. Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-2534-8>



## Working Papers 2022

- Lozano, J. G., & Fonseca, L. P. M. (2016). Respuestas fisiológicas de *Theobroma cacao* L. En etapa de vivero a la disponibilidad de agua en el suelo. *Acta Agronomica*, 65(1), 44–50. <https://doi.org/10.15446/acag.v65n1.48161>
- Mardukhi, B., Rejali, F., Daei, G., Ardakani, M. R., Malakouti, M. J., & Miransari, M. (2011). Arbuscular mycorrhizas enhance nutrient uptake in different wheat genotypes at high salinity levels under field and greenhouse conditions. *Comptes Rendus Biologies*, 334(7), 564–571. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2011.05.001>
- Marschner, P. (2011). Mineral Nutrition of higher plants. In Elsevier (Ed.), *Vasa* (third). <http://medcontent.metapress.com/index/A65RM03P4874243N.pdf>
- Martínez-vilalta, J., & Garcia-forner, N. (2017). Water potential regulation , stomatal behaviour and hydraulic transport under drought : deconstructing the iso / anisohydric concept. *Plant, Cell and Environment*, 40, 962–976. <https://doi.org/10.1111/pce.12846>
- Miransari, M., Bahrami, H. A., Rejali, F., Malakouti, M. J., & Torabi, H. (2007). Using arbuscular mycorrhiza to reduce the stressful effects of soil compaction on corn (*Zea mays* L.) growth. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(8), 2014–2026. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.02.017>
- Miransari, Mohammad, Bahrami, H. A., Rejali, F., & Malakouti, M. J. (2008). Using arbuscular mycorrhiza to alleviate the stress of soil compaction on wheat (*Triticum aestivum* L.) growth. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(5), 1197–1206. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.12.014>
- Mishra, V., & Cherkauer, K. A. (2010). Agricultural and Forest Meteorology Retrospective droughts in the crop growing season : Implications to corn and soybean yield in the Midwestern United States. *Agricultural and Forest Meteorology*, 150(7–8), 1030–1045. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2010.04.002>
- Motamayor, J. C., Lachenaud, P., da Silva E Mota, J. W., Loor, R., Kuhn, D. N., Brown, J. S., & Schnell, R. J. (2008). Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L.). *PloS One*, 3(10), e3311. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003311>
- Munkvold, L., Kjøller, R., Vestberg, M., Rosendahl, S., & Jakobsen, I. (2004). High functional diversity within species of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 164(2), 357–364. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01169.x>



## Working Papers 2022

- Murtaza, G., Rasool, F., Habib, R., Javed, T., Sardar, K., Mohsin, M., Ayub, M. A., & Rasool, A. (2016). A Review of Morphological , Physiological and Biochemical Responses of Plants under Drought Stress Conditions. *Imperial Journal of Interdisciplinary Research*, 2(12), 1600–1606.
- Navarro García, A., Del Pilar Bañón Árias, S., Morte, A., & Sánchez-Blanco, M. J. (2011). Effects of nursery preconditioning through mycorrhizal inoculation and drought in *Arbutus unedo* L. plants. *Mycorrhiza*, 21(1), 53–64. <https://doi.org/10.1007/s00572-010-0310-x>
- Niinemets, Ü. (2010). Responses of forest trees to single and multiple environmental stresses from seedlings to mature plants: Past stress history, stress interactions, tolerance and acclimation. *Forest Ecology and Management*, 260(10), 1623–1639. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2010.07.054>
- Niyogi, K. K. (1999). PHOTOPROTECTION REVISITED: Genetic and Molecular Approaches. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50(1), 333–359. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.333>
- Õpik, M., & Moora, M. (2012). Commentary Missing nodes and links in mycorrhizal networks. *New Phytologist*, 194, 304–306.
- Ordoñez, Y. M. (2016). Dinámica de la comunidad de Hongos Formadores de Micorrizas Arbusculares después de inocular *Rhizophagus irregularis* en un sistema agrícola en el trópico [Universidad Nacional de Colombia]. <http://bdigital.unal.edu.co/54900/1/yulimarcelaordonezcastañeda.2016.pdf>
- Porcel, R., & Ruiz-Lozano, J. M. (2004). Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. *Journal of Experimental Botany*, 55(403), 1743–1750. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh188>
- Premachandra, G. S., & Joly, R. J. (1992). Solutes Contributing to Osmotic Potential in Young versus Mature Leaves of Cacao Seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 139(3), 355–360. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)80350-0](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)80350-0)
- Purin, S., & Rillig, M. C. (2008). Parasitism of arbuscular mycorrhizal fungi: Reviewing the evidence. *FEMS Microbiology Letters*, 279(1), 8–14. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.01007.x>



## Working Papers 2022

- Rada, F., Jaimez, R. E., García Núñez, C., Azócar, A., & Ramírez, M. E. (2005). Relaciones hídricas e intercambio de gases en *Theobroma cacao* var . Guasare bajo períodos de déficit hídrico Resumen Introducción. *Revista de La Facultad de Agronomía LUZ*, 22, 112–120.
- Reddy, A. R., Chaitanya, K. V., & Vivekanandan, M. (2004). Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology*, 161(11), 1189–1202. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.01.013>
- Redecker, D. (2002). Molecular identification and phylogeny of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 67–73.
- Rini, M. V., Hashim, A., Idris, M., & Abidin, Z. (1996). The Effectiveness of Two Arbuscular Mycorrhiza Species on Growth of Cocoa. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 19(2/3), 197–204.
- Ryan, M. H., Herwaarden, A. F. Van, Angus, J. F., & Kirkegaard, J. a. (2005). Reduced growth of autumn-sown wheat in a low-P soil is associated with high colonisation by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 270(1), 275–286. <https://doi.org/10.1007/s11104-004-1611-7>
- Saxton, K. E., & Rawls, W. J. (2006). Soil Water Characteristic Estimates by Texture and Organic Matter for Hydrologic Solutions. *Soil Science Society of America Journal*, 70(5), 1569. <https://doi.org/10.2136/sssaj2005.0117>
- Sayed, O. H. (2003). Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal crop research. *Photosynthetica*, 41(3), 321–330. <https://doi.org/10.1023/B:PHOT.0000015454.36367.e2>
- Schmidt, B., Gaşpar, S., Camen, D., Ciobanu, I., & Umălan, R. (2011). Arbuscular mycorrhizal fungi in terms of symbiosis-parasitism continuum. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 76(4), 653–659.
- Schüßler, A., Schwarzott, D., & Walker, C. (2001). A new fungal phylum , the Glomeromycota : phylogeny and evolution \*. 105(December), 1413–1421.
- Sharma, N., Yadav, K., & Aggarwal, A. (2017). Role of potassium and arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of water stress on *Vigna mungo*. *Environmental and Experimental Botany*, 15, 15–24. <https://doi.org/10.22364/eeb.15.03>





## Working Papers 2022

- Sieh, D., Watanabe, M., Devers, E. A., Brueckner, F., Hoefgen, R., & Krajinski, F. (2013). The arbuscular mycorrhizal symbiosis influences sulfur starvation responses of *Medicago truncatula*. *New Phytologist*, 197(2), 606–616. <https://doi.org/10.1111/nph.12034>
- Simonneau, T., & Urban, L. (2010). An overview of models of stomatal conductance at the. *Plant, Cell and Environment*, 33, 1419–1438. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02181.x>
- Smirnoff, N. (1995). Antioxidant systems and plant response to the environment. In V. Smirnoff (Ed.), *Environment and Plant Metabolism: Flexibility and Acclimation*. BIOS Scientific Publishers.
- Smith, F. W. (2002). The phosphate uptake mechanism. *Plant and Soil*, 245, 105–114.
- Smith, S., & Read, D. (2008). *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press;
- Sonwa, D. J., & Weise, S. F. (2008). Diversifying and intensifying the cocoa agroforest landscape: review and strategic approaches for managing the shade matrix in West and Central Africa STCP Working Paper Series 4 (Version January 2008). (Issue 4).
- Stirbet, A., & Govindjee. (2011). On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and Photosystem II: Basics and applications of the OJIP fluorescence transient. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 104(1–2), 236–257. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2010.12.010>
- Tezara, W., Urich, R., Jaimez, R., Coronel, I., Araque, O., Azócar, C., & Chacón, I. (2016). Does griollo cocoa have the same ecophysiological characteristics as forastero? *Botanical Sciences*, 94(3), 563–574. <https://doi.org/10.17129/botsci.552>
- Tsimilli-Michael, M., & Strasser, R. (2008). In vivo Assessment of Stress Impact on Plant's Vitality: Applications in Detecting and Evaluating the Beneficial Role of Mycorrhization on Host Plants. In *Mycorrhiza* (pp. 679–703). Springer, Berlin, Heidelberg. [https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-540-78826-3\\_32](https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-540-78826-3_32)
- van Genuchten, M. T. (1980). A Closed-form Equation for Predicting the Hydraulic Conductivity of Unsaturated Soils<sup>1</sup>. *Soil Science Society of America Journal*, 44(5), 892. <https://doi.org/10.2136/sssaj1980.03615995004400050002x>



## Working Papers 2022

- Wright, S. F., & Upadhyaya, A. (1998). A survey of soils for aggregate stability and glomalin , a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 198(1), 97–107.
- Wu, Q.-S., & Xia, R.-X. (2006). Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. *Journal of Plant Physiology*, 163(4), 417–425. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.04.024>
- Yang, Y., Chen, Y., & Li, W. (2008). Arbuscular mycorrhizal fungi infection in desert riparian forest and its environmental implications: A case study in the lower reach of Tarim River. *Progress in Natural Science*, 18(8), 983–991. <https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2008.02.009>
- Živčák, M., Brestič, M., Olšovská, K., & Slamka, P. (2008). Performance index as a sensitive indicator of water stress in *Triticum aestivum* L. *Plant, Soil and Environment*, 54, 133–139.

