



UNIVERSIDAD CENTRAL DE
VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA

Respuestas ecofisiológicas de cacao (*Theobroma cacao* L.)
a diferentes intensidades lumínicas.

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

Presentado ante la Ilustre
Universidad Central de Venezuela
por la Bachiller Jenny Cristina De
Almeida Dos Santos como requisito
parcial para optar al título de
Licenciado en Biología.

Tutor: Dr. Wilmer Tezara Fernández

CARACAS, VENEZUELA
MARZO- 2012

AGRADECIMIENTOS

A mis padres y hermana.

A mi tutor, Wilmer Tezara.

A Rosa Urich e Ilsa Coronel.

A Ana Herrera.

A Eleinís Ávila y Alejandro Ángel.

Al Instituto Nacional De Investigaciones Agrícolas (INIA), en especial al ingeniero Olivier Rondón.

A los integrantes del laboratorio de Biotecnología Vegetal, en especial a Eva, Edith, Luis, Grecio y Hector.

A Oranys Marín, Marcia Escala, Maribe Raymudez, Gunta Smits, Alicia Cáceres y a todos los profesores que me dirigieron y enseñaron durante toda la carrera.

A Maricela, Omar y Pedro.

A todos mis amigos y compañeros, en especial a Vanessa H., Rosana S., Leomar G., Luisana C., Marianny P., Victor M., Migdelis A., Carolina C., Alicia S., Armando G., Darly A., Fabiana B., Rossana M., María M., Alejandra V., Luis Manuel L., Antonio Z., Any Q., Ruben R., Marcos G., Eduardo R., Maried B., Dayanna P. e Ismenia J. y los que se me olvidó nombrar pero no dejan de ser importantes.

A todos gracias...

RESUMEN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es una especie tropical arbórea, generalmente cultivada en condiciones de sombra, aunque se han reportado algunos cultivos forasteros y trinitarios desarrollados a plena exposición solar. En este estudio nos planteamos como objetivo principal evaluar las diferencias en algunas características morfoanatómicas y fisiológicas de plantas juveniles de dos cultivares de cacao criollo cultivadas en condiciones de vivero y su relación con variables de crecimiento a tres intensidades lumínicas y de árboles adultos en condiciones naturales cultivados a plena exposición solar y en sombra. Debido a que aparentemente el cacao “criollo moderno” tienen la capacidad de crecer a altas DFF, nos planteamos las siguientes preguntas: ¿Presentarán las plantas de cacao “cultivares Ocumare y Chuao” una alta plasticidad en la respuesta fotosintética y de crecimiento a la DFF? y ¿Podrían las plantas de cacao “cultivar Chuao” tener una mayor plasticidad fenotípica en parámetros fisiológicos y bioquímicos (A , g_s , $A_{máx}$, Φ_{PSII} , Cl a) que en parámetros morfológicos (CAF , AFE , AFt , V/R) en respuesta a la variación de la intensidad lumínica?. El cacao mostró bajas $A_{máx}$, R_d , PCL y altos Φ_{CO2} en los tres tratamientos y a distintas DFF de medición, apoyando el hecho de que es un cultivo tolerante a la sombra. Además, mostró disminuciones en F_v/F_m , J , Φ_{PSII} , q_p e incrementos en q_N al encontrarse sometido a altas DFF, lo que sugiere una regulación descendente de la actividad fotoquímica (fotoprotección) y/o daños en el aparato fotoquímico (fotoinhibición). Las plantas más sombreadas mostraron disminuciones en la relación V/R y AFE lo que podría traducirse en una mayor inversión en biomasa hacia la parte aérea para lograr una mayor interceptación a las bajas DFF. Las plantas de cacao “Chuao” presentaron mayor plasticidad en variables morfoanatómicas que en variables fisiológicas y bioquímicas, sin que esto se tradujera en una mayor acumulación de biomasa, tasa relativa de crecimiento o tasa de asimilación neta.

ÍNDICE

	Pág.
Tabla de abreviaturas.....	iv
Introducción.....	1
Antecedentes.....	5
Objetivos.....	9
Materiales y métodos.....	10
• Ubicación y descripción de las áreas de estudio.....	10
• Material vegetal.....	10
• Parámetros microclimáticos.....	13
• Medidas fisiológicas.....	13
• Intercambio de gases.....	13
• Curvas de fotosíntesis vs densidad de flujo fotónico.....	13
• Actividad fotoquímica.....	14
• Determinaciones bioquímicas.....	15
• Parámetros morfoanatómicos.....	15
• Análisis de crecimiento.....	15
• Anatomía foliar.....	15
• Determinación del índice de plasticidad.....	16
• Análisis estadístico.....	17

Resultados.....	18
• Parámetros microclimáticos.....	18
• Medidas fisiológicas.....	19
• Intercambio de gases.....	19
• Curvas de fotosíntesis vs densidad de flujo fotónico.....	24
• Actividad fotoquímica.....	27
• Curvas de transporte de electrones vs densidad de flujo fotónico.....	30
• Determinaciones bioquímicas.....	32
• Parámetros morfoanatómicos.....	33
• Análisis de crecimiento.....	33
• Anatomía foliar.....	36
• Determinación del índice de plasticidad.....	37
Discusión.....	39
Conclusiones.....	48
Bibliografía.....	50

Tabla 1. Relación, descripción o ecuación (en su caso), abreviación y unidades de las variables estudiadas.

Variable	Descripción o ecuación	Abreviaturas	Unidades
Densidad de flujo fotónico	Radiación integrada en longitudes de onda entre 400-700 nm.	DFF	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
Temperatura del aire	Temperatura del aire.	T_a	$^{\circ}\text{C}$
Temperatura foliar	Temperatura de la hoja.	T_f	$^{\circ}\text{C}$
Humedad relativa	Cantidad de vapor de agua presente en el aire.	HR	%
Eficiencia cuántica aparente	Moles de CO ₂ fijado por mol de fotones absorbidos.	Φ_{CO2}	$\mu\text{mol } \mu\text{mol}^{-1}$
Punto de compensación a la luz	Intensidad de luz a la cual la fotosíntesis es balanceada con la tasa de respiración.	PCL	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
Tasa de asimilación de CO ₂	Tasa de fotosíntesis.	A	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
Fotosíntesis máxima	Tasa máxima de fotosíntesis a DFF saturante.	A_{máx}	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
Respiración	Tasa de respiración en oscuridad.	R_d	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
Conductancia estomática	Conductancia de la difusión de CO ₂ y vapor de agua a través de los estomas.	g_s	$\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
Tasa de traspiración	Evaporación de agua en las hojas.	E	$\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
Eficiencia en el uso del agua	Relación entre la asimilación de CO ₂ y la pérdida de vapor de agua (A/E).	EUA	mmol mol^{-1}
Fotosistema II	Centro de racción.	PSII	
Fluorescencia mínima	Fluorescencia mínima en oscuridad.	F₀	
Fluorescencia máxima (de hojas adaptadas a oscuridad)	Fluorescencia máxima luego de iluminar con luz saturante.	F_m	
Fluorescencia variable	Diferencia entre la fluorescencia máxima y mínima en oscuridad (F _m – F ₀)	F_v	
Fluorescencia estable	Fluorescencia estable a una determinada intensidad de luz actínica.	F	

Coninuación Tabla 1. Relación, descripción o ecuación (en su caso), abreviación y unidades de las variables estudiadas.

Variable	Descripción o ecuación	Abreviaturas	Unidades
Fluorescencia máxima (de hojas adaptadas a una determinada luz)	Máxima fluorescencia en hojas iluminadas.	F_m'	
Eficiencia cuántica máxima del PSII	$\frac{(F_m - F_0)}{F_m}$	F_v/F_m	
Eficiencia cuántica relativa del PSII	$(\Delta F / F_m') = (F_m' - F)F_m'$	Φ_{PSII}	
Coefficiente de extinción fotoquímica	$\frac{(F_m' - F)}{(F_m' - F_0)}$	q_P	
Coefficiente de extinción no fotoquímica	$\frac{(F_m - F_m')}{(F_m - F_0)}$	q_N	
Tasa de transporte de electrones	$\phi_{PSII} * DFF * \alpha * 0,5$	J	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
Coefficiente de absortividad foliar		α	
Especies reactivas del oxígeno		ERO	
Déficit de presión de vapor	Es la diferencia entre la cantidad de humedad en el aire y cuánta humedad puede sostener el aire cuando se satura.	DPV	
Peso seco de la raíz	Peso de la raíz.	R	g
Peso seco del vástago	Peso del vástago.	V	g
Peso seco foliar		f	g
Peso seco total		P_s	g
Área foliar total		AF_t	cm^2
Área foliar específica	$\frac{A}{P}$	AFE	$\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$

Coninuación Tabla 1. Relación, descripción o ecuación (en su caso), abreviación y unidades de las variables estudiadas.

Variable	Descripción o ecuación	Abreviaturas	Unidades
Relación vástago-raíz	$\frac{V}{R}$	V/R	g g^{-1}
Cociente de área foliar	$\frac{Af_t}{Pt}$	CAF	$\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$
Cociente de peso foliar	$\frac{f_t}{V}$	CPF	g g^{-1}
Tasa relativa de crecimiento	$\frac{(\ln P_{sf} - \ln P_{si})}{\Delta T}$	TRC	d^{-1}
Tasa de asimilación neta	$\frac{(P_f - P_i)}{(A_{ff} - A_{fi})} \times \frac{(\ln A_{ff} - \ln A_{fi})}{\Delta t}$	TAN	$\text{g cm}^{-2} \text{d}^{-1}$
Clorofila a	$12.25A_{663} - 2.79A_{645}$	Cl a	$\mu\text{g/cm}^2$
Clorofila b	$21.5A_{645} - 5.1A_{663}$	Cl b	$\mu\text{g/cm}^2$
Carotenoides totales	$(1000A_{470} - 1.82\text{cla} - 85.02\text{clb})/198$	Cx+c	$\mu\text{g/cm}^2$
Grosor Foliar		GF	μm
Grosor del parénquima en empalizada		PEM	μm
Grosor del parénquima esponjoso		PES	μm
Análisis de varianza		ANOVA	

INTRODUCCIÓN

Aproximadamente $1,3 \text{ kW m}^{-2}$ de la energía radiante del sol alcanza la Tierra, pero sólo alrededor del 5% de esta energía puede ser convertida por una hoja en el proceso de fotosíntesis(A) en carbohidratos. La razón de que este porcentaje sea tan bajo es que una fracción importante de luz incidente es de una longitud de onda muy corta o demasiado larga para ser absorbida por los pigmentos fotosintéticos. La energía radiante del sol se compone de diferentes longitudes de onda de la luz; sólo los fotones de longitudes de onda de 400 a 700 nm se utilizan en A, y el 85 y el 90% de esta densidad de flujo fotónico (DFF) es absorbida por la hoja, y el resto o bien se refleja en la superficie de la hoja o es transmitida a través de la hoja (Taiz y col., 1991). De la luz absorbida, una fracción significativa se pierde como calor, y una cantidad más pequeña se pierde en forma de fluorescencia, Las plantas del sotobosque de los bosques tropicales por lo general reciben densidades de flujo fotónico (DFF) entre 5 y $25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, lo que se traduce en 1-2% de la DFF recibida en el dosel (Liang y col., 2001).

Existen diferencias en las características foliares en especies de sol y sombra: a bajas DFF hay un aumento en la asignación de biomasa hacia las hojas aumentando así el área foliar (maximizando la superficie fotosintética) e incrementando la captura de fotones; se puede observar además un alargamiento de los entrenudos en respuesta a baja disponibilidad lumínica (Gianoli, 2004b).

Las plantas cultivadas en sombra generalmente presentan hojas más delgadas debido a que el parénquima en empalizada tiene células más pequeñas y/o en menor número de capas (Lambers y col., 1998). Estas hojas poseen más clorofila por unidad de masa, mayor cantidad de clorofila b, menores tasas de respiración, una menor DFF de saturación, menor cantidad de

pigmentos fotoprotectores y por lo tanto una mayor susceptibilidad a fotoinhibición que las hojas expuestas al sol (Walters, 2005; Niinemets, 2007).

Cuando las plantas están expuestas a altas DFF, la cantidad de energía lumínica interceptada puede sobrepasar la capacidad de la maquinaria fotosintética de procesar dicha energía, dando lugar a fotoinhibición (Moraes y col., 2010), proceso caracterizado por una disminución en la eficiencia cuántica máxima del fotosistema II (PSII) (F_v/F_m) y que ocasiona reducciones en A (Osmond, 1994).

La fotoinhibición puede ser dinámica o crónica, la primera es reversible y está asociada con una disipación térmica del exceso de energía absorbida y a una reducción en la eficiencia fotoquímica (Demming-Adams y col., 1996; Thiele y col., 1998). La fotoinhibición crónica en cambio, ocurre cuando el exceso de luz absorbida genera especies reactivas del oxígeno (ERO), que pueden causar daños en el aparato fotosintético (Mittler, 2002). Las plantas pueden protegerse del exceso de luz absorbida mediante una regulación descendente de la eficiencia cuántica (Asada, 1999) y a través del ciclo de las xantofilas: el estado de de-epoxidación (DEPS) de las xantofilas permite una disipación el exceso de energía antes de llegar a los centros de reacción del PSII evitando el fotodaño (Demmig-Adams y col., 1996; 2006; Adams y col., 2004).

Los cultivos pueden presentar diferentes rasgos morfológicos y fisiológicos aunque se cultiven bajo condiciones ambientales similares (Tausend y col., 2000). Las plantas presentan una notable capacidad para ajustar su morfología y fisiología a las condiciones ambientales; por ejemplo, mediante la aclimatación a diferentes intensidades lumínicas, o más ampliamente, por la plasticidad fenotípica (Matos y col., 2009) definida como la capacidad que posee un genotipo

particular de expresar diferentes fenotipos frente a la variación ambiental mediante la alteración de su morfología y fisiología (Lincoln y col., 1982, Sultan, 2000; Gianoli, 2004b). En general, las plantas presentan una mayor plasticidad en ambientes heterogéneos (Gianoli, 2004b), es decir, presentan una capacidad de respuesta plástica en ambientes variables, representando esta respuesta un mecanismo de supervivencia (Harper, 1977).

La capacidad de aclimatación de las plantas a una determinada DFF es variable entre especies, entre poblaciones de una misma especie, e incluso entre clones lo cual refleja aspectos genéticos involucrados (Valladares y col., 2002a), pero también podría ser el resultado del ambiente lumínico prevaleciente en el hábitat natural donde la planta crece (Tognetti y col., 1998). Las plantas pueden expresar cambios en su expresión fenotípica debido a las adaptaciones ecofisiológicas (Lusk y col., 2008).

Las investigaciones acerca de plasticidad han ido aumentando durante los últimos años (Valladares y col., 2000, 2005, 2006, 2007; Gianoli, 2004a; Chambel y col., 2005; Palacio-López y Rodríguez-López, 2007). Por ejemplo, en café (*Coffea arabica*), se ha reportado el éxito del cultivo en ambientes expuestos y sombreados, aunque con una baja eficiencia en el uso de luz a altas DFF (Moraes y col., 2010); pocos trabajos han estudiado la plasticidad fenotípica a la luz en especies de cultivos tropicales tales como cacao.

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es una especie leñosa tropical alógama de la familia Malvacea (Almeida y Valle, 2007), nativa de los bosques lluviosos de la cuenca amazónica y otras áreas tropicales de América central y América del sur. El cacao mide entre 4 y 8 metros de alto (González, 2007), es cultivado comúnmente en sombra en el sotobosque; especialmente las plantas juveniles requieren bajas DFF para reducir el déficit hídrico y de nutrientes que puede

ocurrir a plena exposición solar. Generalmente se ha reportado que el cacao es incapaz de adaptarse a una alta DFF, aun cuando se conoce la existencia de cacaos cultivados exitosamente en plena exposición en Brasil y países africanos (Ghana y Costa de Marfil). No existe un acuerdo universal en relación a la cantidad exacta de DFF necesaria para maximizar la producción de cacao (Baligar y col., 2008).

El cacao ha sido dividido en dos grandes grupos morfogenéticamente diferenciados (“Criollo” y “Forastero”), que presentan diferencias en las características del fruto y las almendras así como en la calidad y sabor. Actualmente se considera un tercer grupo, el “Trinitario”, cuyo origen posiblemente sea la isla de Trinidad como resultado de la hibridación (cruzamiento de criollo x forastero) entre individuos criollos introducidos desde el este de Venezuela con forasteros del Amazonas (González, 2007). En Venezuela existe el denominado cacao “criollo moderno” el cual tiene características del cacao criollo, un ejemplo del mismo es la variedad Chuao (Tezara y col., 2009).

La producción de cacao en Venezuela fue una de las principales actividades agropecuarias del país y las almendras de cacao consideradas como un elemento de exportación desde 1579 (Sánchez y col., 2000). Actualmente la producción en el país es baja principalmente debido a que los cultivos son viejos y se encuentran ubicados en ambientes con una DFF extremadamente baja, es decir, condiciones de sombra extremas, además de prácticas agronómicas incorrectas (González, 2007).

ANTECEDENTES

Las especies leñosas tropicales siempreverdes, tales como cacao (*Theobroma cacao* L.), café (*Coffea arabica*) y té (*Camellia sinensis*), son típicas especies adaptadas en su hábitat natural a bajas DFF, de aquí que generalmente son cultivadas en el sotobosque. Las plantas juveniles de muchas especies tropicales crecen mejor en condiciones de sombra que a plena exposición solar, por lo que el cultivo de estas especies en altas DFF podría provocar fotoinhibición (Huxley, 2001).

Se ha sugerido que la sombra no excesiva podría ser ventajosa para árboles de cultivo en el trópico debido a que: (1) A se satura a bajas DFF; (2) la radiación en el trópico durante gran parte del año es muy elevada y puede ocasionar daños fotoinhibitorios, particularmente cuando está asociada con déficit hídrico; y (3) las mejores condiciones microclimáticas tienen un efecto amortiguador sobre la humedad del aire y la disponibilidad de agua del suelo, lo que permite un prolongado funcionamiento y mantenimiento del intercambio gaseoso foliar (Matos y col., 2009).

Algunas plantas leñosas tropicales se originaron como plantas de sotobosque (ambientes sombreados) por lo que el aparato fotosintético funciona a su máxima capacidad y está adaptado a estas condiciones. Se han realizado investigaciones de los procesos fotosintéticos de especies de sombra (captura de luz, la tasa de transporte de electrones (J), tasas de carboxilación de la ribulosa-1,5-bisfosfato (RuBP), actividad de la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa (Rubisco)), los cuales son esenciales para la caracterización y la comprensión de cómo estas especies son exitosas cuando la luz es limitante. De hecho, se han reportado bajos valores de DFF saturantes para la A en hojas individuales de estas especies

(Kumar y Tieszen, 1980; Fahl y col., 1994). Además, se han observado bajas A (entre 2 y 14 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y baja conductancia estomática (g_s) entre 50 y 150 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, en plantas de café y té, respectivamente, en comparación con la mayoría de los árboles tropicales. Estas características podrían estar relacionadas con una menor eficiencia en la captura de energía de excitación del PSII, y con los menores J .

La información sobre parámetros fotosintéticos de cultivos tropicales es escasa (Joly y Hahn, 1989; Balasimha y col., 1991; DaMatta y col., 2007) y específicamente en cacao (criollo o forastero), pocos son los estudios ecofisiológicos realizados (Pereyra, 2007; Tezara y col., 2009; Jaimez y col., 2008).

El desempeño fotosintético y la eficiencia en el uso del agua (EUA) de cultivares élite de cacao (*Theobroma cacao* L.) se han estudiado mediante la evaluación del intercambio gaseoso, la actividad fotoquímica del PSII, la EUA instantánea e integrada y el contenido de nitrógeno de árboles juveniles y adultos de los tres tipos de cacao (criollo, trinitario y forastero) en diferentes hábitats en Venezuela (Pereyra, 2007; Tezara y col., 2009). En estos trabajos se reportó una alta plasticidad fisiológica en algunos de los cultivares estudiados en respuesta a la sequía. La A de la mayoría de los genotipos del tipo de cacao criollo y criollo “moderno” no disminuyó con la sequía a diferencia de los genotipos de cacao Trinitario y cacao tipo Forastero cuya A disminuyó. Sin embargo, la plasticidad fenotípica y la respuesta ecofisiológica a diferentes intensidades lumínicas de tan importante cultivo en Venezuela no han sido estudiados.

Theobroma cacao es una especie que crece en zonas con alta precipitación y bajo condiciones de reducida disponibilidad de luz (Baligar y col., 2008). Muchos trabajos realizados

en condiciones de laboratorio o vivero han reportado que las plantas juveniles de cacao tienen una baja A y g_s , la cual es sensible al déficit hídrico, al incremento del déficit de presión de vapor (DPV) y a la alta DFF entre otros estreses abióticos (Almeida y Valle, 2007). Sin embargo, son pocos los trabajos en los cuales se comparan las respuestas ecofisiológicas a la disponibilidad hídrica y lumínica de los diferentes genotipos de cacao, tanto en ecosistemas agrícolas como en hábitats naturales.

Las medidas de A en hojas de cacao oscilan entre los 0.7 a 6.5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Backer y Hardwick, 1973, 1976; Hutcheon, 1977; Miyaji y col., 1985; Joly y Hahn, 1989; Rada y col., 2005; Barrera, 2006; Pereyra, 2007). El punto de saturación de luz en cacao ocurre a una DFF cercana a 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Balasimha y col., 1991). A pesar de que el cacao puede tolerar altas DFF, es comúnmente aceptado que, controlando otros factores, la productividad y sostenibilidad del cultivo es más eficiente a bajas DFF (Ahekoran y col., 1974).

Las investigaciones fisiológicas en cacao realizadas en el país han estado orientadas hacia el efecto del déficit hídrico (Rada y col., 2005) y la DFF sobre el intercambio gaseoso (Gómez y Azocar, 2002) y la actividad fotoquímica del PSII (Barrera, 2006) en las variedades Guasare y Porcelana de cacao criollo. Además, se han reportado, atributos ecofisiológicos de 32 cultivares de cacao de árboles de 5 años de edad cultivados en un banco de germoplasma en Barlovento (Pereyra, 2007) y de árboles adultos en diferentes zonas de Venezuela (Tezara y col., 2009).

La evaluación de caracteres morfoanatómicos y características ecofisiológicas (estado hídrico, intercambio gaseoso y actividad fotoquímica del PSII), al igual que las respuestas fisiológicas y de crecimiento del cacao criollo a diferentes intensidades lumínicas, podría ser

una importante estrategia para mejorar la producción de este tipo de cacao basándose en un manejo agrícola adecuado, trayendo mayores beneficios a los productores del país.

En este estudio evaluaremos las diferencias en algunas características morfoanatómicas y fisiológicas de hojas de cacao cultivadas en condiciones contrastantes de DFF. Específicamente enfocamos nuestra atención en la plasticidad morfoanatómica, en el balance entre la captura de luz y en la disipación de energía del exceso de luz y en las características fisiológicas asociadas con el balance de carbono, distribución de biomasa y crecimiento. Debido a que aparentemente el cacao “criollo moderno” tiene la capacidad de crecer a altas DFF, nos planteamos las siguientes preguntas: ¿Presentarán las plantas de cacao “cultivares Ocumare y Chuao” una alta plasticidad en la respuesta fotosintética y de crecimiento a la DFF? y ¿Podrían las plantas de cacao “cultivar Chuao” tener una mayor plasticidad fenotípica en variables fisiológicas que en variables de crecimiento y distribución de biomasa, en respuesta a la variación de la intensidad lumínica?

OBJETIVOS

- **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar las características fisiológicas y morfoanatómicas de *Theobroma cacao* L. (cultivares Ocumare y Chuao), en plantas juveniles cultivadas en vivero a tres diferentes DFF y en árboles adultos que crecen a plena exposición solar y en sombra (cultivar Chuao).

- **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Evaluar el intercambio gaseoso (A , g_s , EUA y las curvas de A vs DFF y actividad fotoquímica del PSII: la eficiencia cuántica máxima del PSII (F_v/F_m) al amanecer, la eficiencia cuántica relativa del PSII (Φ_{PSII}), el coeficiente de extinción fotoquímica (q_P), el coeficiente de extinción no fotoquímica (q_N) en condiciones naturales y de vivero.
2. Determinar parámetros bioquímicos: clorofilas y carotenoides, en condiciones naturales y de vivero.
3. Determinar cambios morfoanatómicos: Área foliar específica (AFE) y estudios anatómicos foliares (en condiciones naturales y de vivero).
4. Evaluar el crecimiento (Tasa relativa de crecimiento (TRC), tasa de asimilación neta (TAN), cociente de peso foliar (CPF), cociente de área foliar (CAF), área foliar específica (AFE) y relación vástago-raíz (V/R)) y distribución de biomasa (biomasa para cada componente de la planta) de plantas juveniles en vivero.
5. Cuantificar la plasticidad fenotípica en parámetros morfológicos (CAF, AFE, AFt, V/R) y en parámetros fisiológicos y bioquímicos (A , g_s , $A_{máx}$, Φ_{PSII} , Cl a), en condiciones de vivero.

MATERIALES Y MÉTODOS

- **UBICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DE LAS ÁREAS DE ESTUDIO**

En condiciones naturales:

El estudio se realizó en la costa central de Venezuela, sector Andrés España (Chua, Estado Aragua) 10° 31' N 67° 32' O a 15 msnm; esta zona está caracterizada por una precipitación promedio anual de 747 mm, y una temperatura promedio anual de 28 °C.

En condiciones de vivero:

El estudio se realizó en un vivero ubicado en la Estación Experimental Arboretum del IBE en Caracas, 10° 24' N y 67° 36' O a 1100 msnm y con una temperatura promedio anual de 22,4 °C.

- **MATERIAL VEGETAL**

En condiciones naturales:

Se realizaron todas las evaluaciones en al menos seis árboles adultos (entre 35 y 40 años de edad), de una población cultivada a plena exposición solar y otros seis individuos cultivados en sombra.

En condiciones de vivero: se realizaron dos experimentos.

El primer experimento consistió en cultivar clones de cacao trinitario: cruce de Ocumare 61(híbrido, con características de criollo) x Forastero (IMC 77), los cuales fueron donados por el Ing. Olivier Rondón, (INIA-Estación Experimental Padrón, Tapipa, estado Miranda); se colocaron quince plantas de un año de edad en tres tratamientos con diferentes

DDF: en T_1 (10% de exposición solar, o sombreado), en T_2 (20% de exposición solar, o sombra moderada), y en T_3 (70% de exposición solar, o expuesto), medidos a (Fig.1).



Figura 1. Plantas de cacao (Ocumare 61 x IMC 77) del 1^{er} experimento, colocadas en el vivero bajo las tres condiciones de DDF: T_1 (a), T_2 (b), y T_3 (c).

Para la ejecución del segundo experimento se realizó una salida de campo en febrero de 2011 a la hacienda Chuao de la costa central de Venezuela, sector Andrés España, Estado Aragua, en la cual nos fueron suministradas mazorcas de cacao, cultivar Chuao, por el Sr. Alcides Herrera, Presidente de la Hacienda Campesina Chuao. Se utilizaron las semillas ubicadas en la porción central de las mazorcas de cacao, a las mismas se les retiró el mucílago y fueron sembradas en tierra estéril (por un mes); una vez germinadas fueron trasplantadas en bolsas de 5 kg con tierra abonada, fertilizadas cada 21 días con nitrofoska foliar y regadas dos veces por semana. Se colocaron en un ambiente sombreado para que las plantas juveniles crecieran durante dos meses (Fig.2).



Figura 2. Plantas de cacao (Chuao) del 2^{do} experimento, a) al mes de ser trasplantadas y b) al ser colocadas en los distintos tratamientos.

Una vez que las plantas presentaron una altura promedio de 19,52 cm (tres meses después de la germinación), fueron colocadas en sus respectivos tratamientos. Se colocaron 28 plantas en cada tratamiento con diferentes DFF (T_1 , T_2 , T_3) Las mediciones iniciales se realizaron a los cuatro meses de edad de las plantas juveniles y antes de ser colocadas en sus respectivos tratamientos (Fig.3).



Figura 3. Plantas de cacao (Chuao) del 2^{do} experimento, colocadas en el vivero bajo las tres condiciones de DFF: T_1 (a), T_2 (b), y T_3 (c).

Las plantas de ambos experimentos fueron ubicadas en mesones 2 x 3 m², donde se sometieron a diferentes intensidades lumínicas mediante el uso de mallas neutras, las cuales reducen la DFF que incide sobre las plantas sin alterar la calidad espectral, por lo que los procesos de desarrollo influenciados por la relación rojo/rojo-lejano no fueron afectados.

Todas las determinaciones fisiológicas se realizaron en hojas adultas totalmente expandidas de plantas similares en follaje y altura, de seis individuos por cada tratamiento. Las mediciones de los distintos parámetros fueron realizadas a los tres y seis meses después de haber sido sometidas las plantas a los tratamientos en los dos experimentos de vivero.

- **PARÁMETROS MICROCLIMÁTICOS**

Se realizaron cursos diarios a intervalos de medición de una hora, tanto en el campo como en vivero de los siguientes parámetros:

- ✓ Densidad de flujo fotónico (DFF), mediante un sensor de flujo cuántico Li-Cor, Modelo 250S (Lincoln, NE).
- ✓ Temperatura del aire (T_a) y temperatura foliar (T_f), con un teletermómetro YSI (Yellow Springs Instruments Co, Ohio, EUA).
- ✓ Humedad relativa (HR), con un higrómetro Abbeon, Modelo AB167B (Abbeon, CA).

- **MEDIDAS FISIOLÓGICAS**

Intercambio de gases:

- ✓ La A , g_s , y eficiencia de uso de agua (EUA), se midieron con el uso de un analizador infrarrojo de gases (Pp System CIRAS-II, Hitchin, UK), a diferentes DFF ($DFF_1=50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $DFF_2=150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y $DFF_3=500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) a T_a de 28°C , $385 \mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO_2 , 21% de O_2 , con un $n=6$.

Curvas de Fotosíntesis vs Densidad de flujo fotónico:

- ✓ Se realizaron curvas de A en función de DFF (A/DFF) en hojas de diferentes plantas ($n=3$) con el analizador infrarrojo de gases, variando la DFF desde 0 hasta $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en ocho pasos sucesivos. Se esperó a que A se estabilizara antes de registrar cada valor. Las

medidas se realizaron a $385 \mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO_2 , 21% de O_2 en hojas adultas bien expandidas. Las curvas se ajustaron con una ecuación empírica:

$$A = b + d * \exp^{k*DFF}$$

donde b representa la capacidad fotosintética máxima, $b+d$ es la tasa de respiración en oscuridad y el producto $K*DFF$ representa la pendiente de la porción lineal (eficiencia cuántica aparente, Φ_{CO_2}).

Actividad fotoquímica:

Se determinó la actividad fotoquímica del PSII a través de medidas de fluorescencia de la clorofila a , con el uso de un fluorímetro (PAM 2100, Walz, Alemania), siguiendo el protocolo descrito por Genty y col. (1989).

Las curvas de J vs DFF y las mediciones de F_v/F_m se realizaron en hojas adaptadas a la oscuridad por dos horas, determinándose los siguientes parámetros de fluorescencia: fluorescencia mínima (F_o), fluorescencia máxima (F_m) y fluorescencia variable (F_v); mientras que con hojas adaptadas a una determinada intensidad de luz se obtuvieron los parámetros: fluorescencia estable (F) y máxima fluorescencia en hojas iluminadas (F_m') medidos a diferentes DFF ($DFF_1=50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $DFF_2=150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y $DFF_3=500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); con estas medidas se determinaron los siguientes parámetros: Φ_{PSII} , q_p , q_n . J se calculó según Krall & Edwards, (1992), en el segundo experimento a los tres y seis meses de colocadas las plantas en sus respectivos tratamientos los valores de J fueron corregidos por el valor de absortividad foliar (α) de 10 plantas (por tratamiento); las medidas de α se realizaron con una esfera de integración 1800-1812 (LI-COR).

- **DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS:**

Se realizó la cuantificación de clorofilas y carotenoides, según Wellburn (1994), con discos de hojas de seis plantas por tratamiento del 2^{do} experimento, a los tres y seis meses de sometidas a los mismos, y de seis plantas expuestas y sombreadas en el campo, utilizando como solvente acetona al 80% en frío.

- **PARÁMETROS MORFOANATÓMICOS**

Análisis de crecimiento:

En el segundo experimento se realizó un análisis de crecimiento según Chiariello y col. (1989). Inicialmente se realizó una cosecha de 5 plantas (antes de ser colocadas en los respectivos tratamientos) y dos cosechas sucesivas (tres y seis meses después de haber sometido las plantas en sus respectivos tratamientos) donde se obtuvieron los pesos secos de raíz, vástago y hojas para determinar los siguientes parámetros: TRC, TAN, CPF, CAF, AFE y V/R. Además, se realizaron medidas alométricas no destructivas (número de hojas, largo y ancho de hojas, largo y diámetro del tallo de 10 plantas por tratamiento) una vez al mes desde el momento en que se establecieron las plantas a los tratamientos en el vivero.

Anatomía foliar:

Se tomaron cuatro hojas de cada tratamiento de los individuos en vivero de T₁ y T₃ en el primer experimento y cuatro hojas de cada tratamiento de los individuos en vivero en el segundo experimento; además, se tomaron muestras de cuatro hojas adultas completamente expandidas de individuos que se encontraban a plena exposición solar y cuatro hojas de individuos sombreados en el campo.

El material se fijó en etanol 70%. Se realizaron cortes a mano alzada de la sección media de la lámina foliar. Luego se tiñeron con azul de toluidina en una mezcla acuosa y se realizaron montajes en láminas semipermanentes con glicerina fenolada al 50%, según Jensen (1962).

Posteriormente se realizaron mediciones del grosor foliar total (GF), grosor del parénquima en empalizada (PEM) y parénquima esponjoso (PES), por medio de fotos tomadas con un microscopio binocular (NIKON-FDX 35, Japón), utilizando el programa Image Tool 2.0 (UTHSCSA, 1995-96).

- **DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE PLASTICIDAD**

En el segundo experimento se estimó el índice de plasticidad según Valladares y col., 2006; este índice tiene valores entre 0 (no hay plasticidad) y 1 (máxima plasticidad) y está basado en las distancias fenotípicas entre las diferentes hojas expuestas a diferentes DFF, resumido en un índice de distancia relativa de plasticidad (**RDPis**).

Este índice puede ser obtenido como:

$$RDPis = \frac{\sum (d_{ij} \rightarrow \hat{i} \hat{j} / (x_{i_j} + x_{ij}))}{n}$$

donde $d_{ij} \rightarrow \hat{i} \hat{j} / (x_{i_j} + x_{ij})$ es la distancia relativa definida para todos los pares de hojas individuales expuestas a diferentes DFF, y n es el número de repeticiones (Valladares y col., 2006).

A diferencia de métodos más comunes para las estimaciones cuantitativas de la plasticidad que muestran varias limitaciones estadísticas para las comparaciones entre los rasgos, el RDPIs permite la agregación estadística sin ambigüedades y la clasificación de los rasgos de acuerdo a su plasticidad.

Las diferencias morfológicas y fisiológicas en una población o en cultivares específicos, pueden tener una base genética (Tausend y col., 2000) por lo que algunos autores consideran los valores de este índice como un estimado de la “plasticidad fenotípica” de la especie. En este trabajo se utiliza el término “plasticidad”, ya que, no controlamos la variabilidad genética de las plantas juveniles del cultivar Chuao, aunque las mismas pertenecen a la misma población.

- **ANÁLISIS ESTADÍSTICO:**

Se utilizó el paquete estadístico Statistica 5.5 para realizar el análisis de varianza (ANOVA) de una y dos vías, donde se evaluó si los diferentes parámetros difieren entre tratamientos o entre DFF de medida; con un nivel de significancia de $p < 0.05$.

Además, se utilizó el programa SigmaPlot 11.0 para el ajuste de las curvas.

RESULTADOS

• PARÁMETROS MICROCLIMÁTICOS

En la figura 4 se muestran los valores promedio de DFF, HR, T_a y T_f registrados de los tratamientos T_1 , T_2 y T_3 en el vivero para los dos experimentos y en el campo (Chuafo).

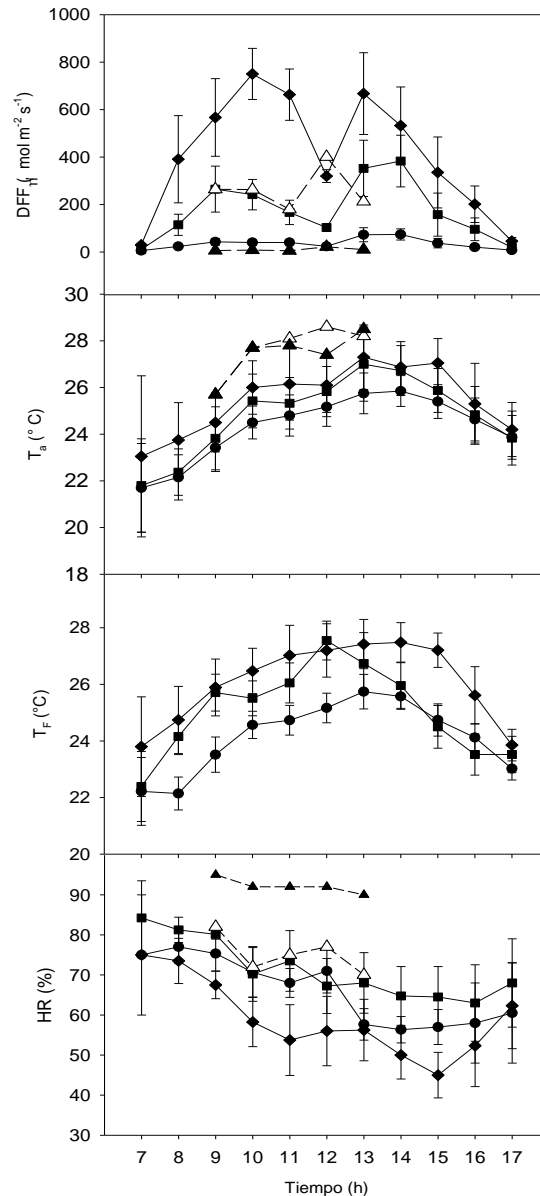


Figura 4. Cursos diarios de: Densidad de flujo fotónico (DFF); Humedad relativa (HR); Temperatura del aire (T_a); Temperatura foliar (T_f) en los diferentes tratamientos T_1 (●), T_2 (■) y T_3 (◆) y en campo (Chuafo) en plantas sombreadas (▲) y expuestas (△). Los valores son la media \pm ES ($n=5$ en vivero y $n=1$ en campo).

Las máximas DFF (aprox. $760 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) se observaron en T_3 , debido a que éste presenta un 70% de la radiación solar que incide fuera del vivero, mientras que las mínimas ($50 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) se obtuvieron en T_1 . En los tres tratamientos se observan los valores más altos de HR en las primeras horas de la mañana (85-95%) disminuyendo a un 40% en horas de la tarde en T_3 . Los menores valores en T_a y T_f se observaron en T_1 . Los valores de T_a y T_f oscilaron entre 19 y 26 °C en los distintos tratamientos (Fig. 4). En Chuao, las DFF incidentes en plantas sombreadas y expuestas coinciden con las DFF de T_1 y T_2 de vivero respectivamente. La HR fue mayor en el ambiente sombreado y la T_a fue similar en ambas condiciones, y ligeramente mayores a las medidas en los viveros (Fig. 4).

- **MEDIDAS FISIOLÓGICAS**

Intercambio de gases:

En el primer experimento (cultivar Ocumare 61 x IMC 77) las A y g_s máximas observadas fueron $6.1 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $91.8 \text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente en T_3 medidas a DFF_3 a los tres meses, mientras que las más bajas se observaron en el mismo tratamiento medidas a DFF_1 (fig. 5 a-c). Se observó un incremento de la g_s con la DFF en todos los tratamientos a los seis meses (fig. 5 d); cabe destacar que en T_1 medido a DFF_3 g_s se triplicó (fig. 5 d). A los tres meses se encontraron las mayores EUA en los tres tratamientos medidos a DFF_2 y DFF_3 , que en promedio presentaron valores 40% mayores que los medidos a DFF_1 (fig. 5 e). A los seis meses se observó una disminución de 47% en A en T_3 medidas a DFF_3 (fig. 5 b). En T_1 medida a DFF_3 la EUA disminuyó en un 50% (fig. 5 f), mientras que en T_2 la EUA se mantuvo constante.

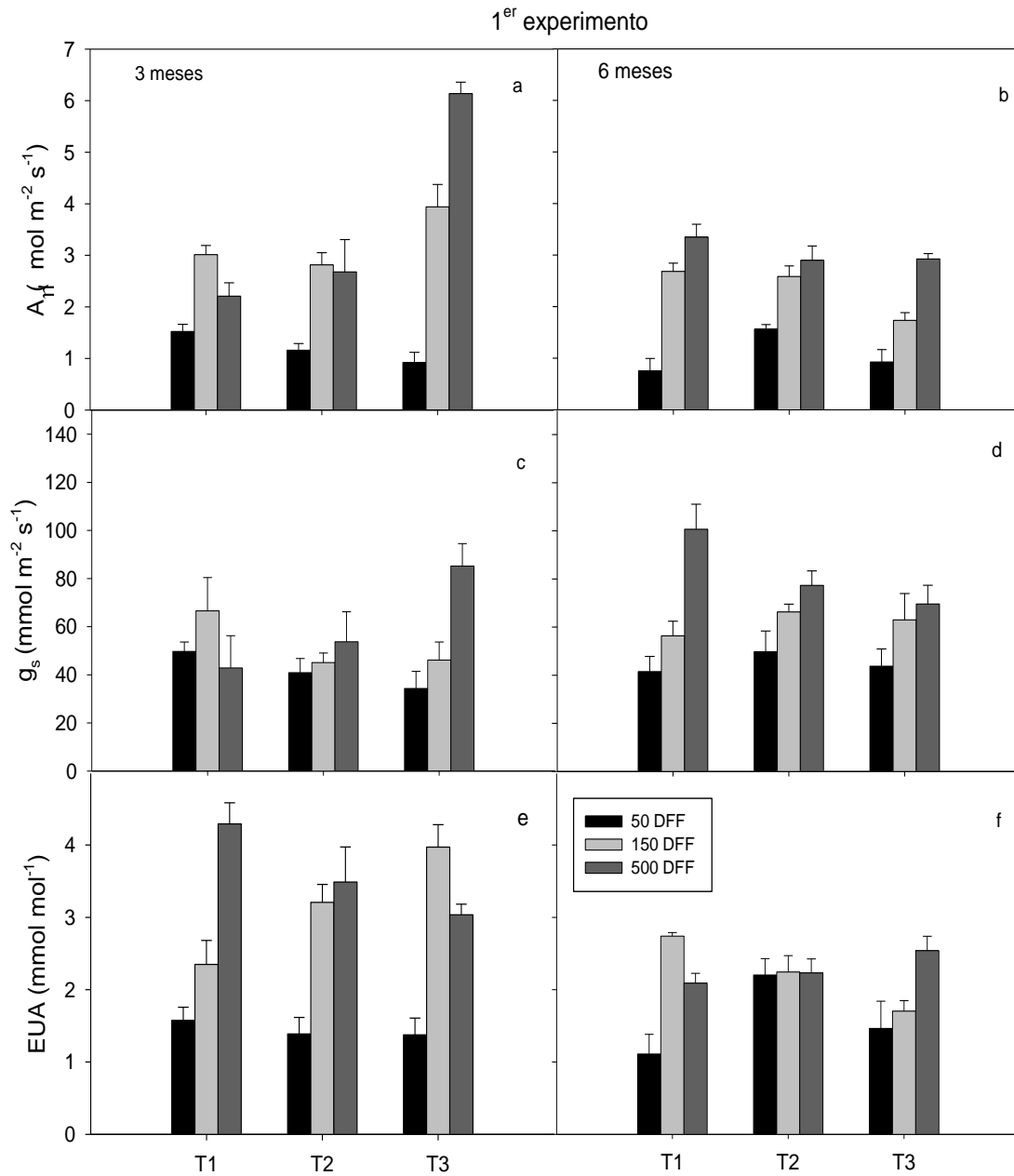


Figura 5. Parámetros de intercambio gaseoso del 1^{er} experimento. Fotosíntesis (a, b), conductancia estomática (c, d) y eficiencia de uso de agua (e, f), en los diferentes tratamientos (T₁, T₂, T₃), a los tres y seis meses de haber colocado las plantas en cada tratamiento, los diferentes colores de las barras indican las DFF a las cuales se realizaron las medidas. Los valores son la media \pm ES (n=6).

En el segundo experimento (cultivar Chuao) se realizaron medidas antes de someter las plantas en cada tratamiento lumínico (día cero), donde se observó que los parámetros de

intercambio gaseoso fueron similares a los medidos en los tratamientos T₁ y T₂ del cultivar Ocumare 61 x IMC 77 (usado en el primer experimento) a las diferentes DFF de medida, indicando que las plantas presentaban buen funcionamiento fisiológico al momento de ser sometidas en los distintos tratamientos.

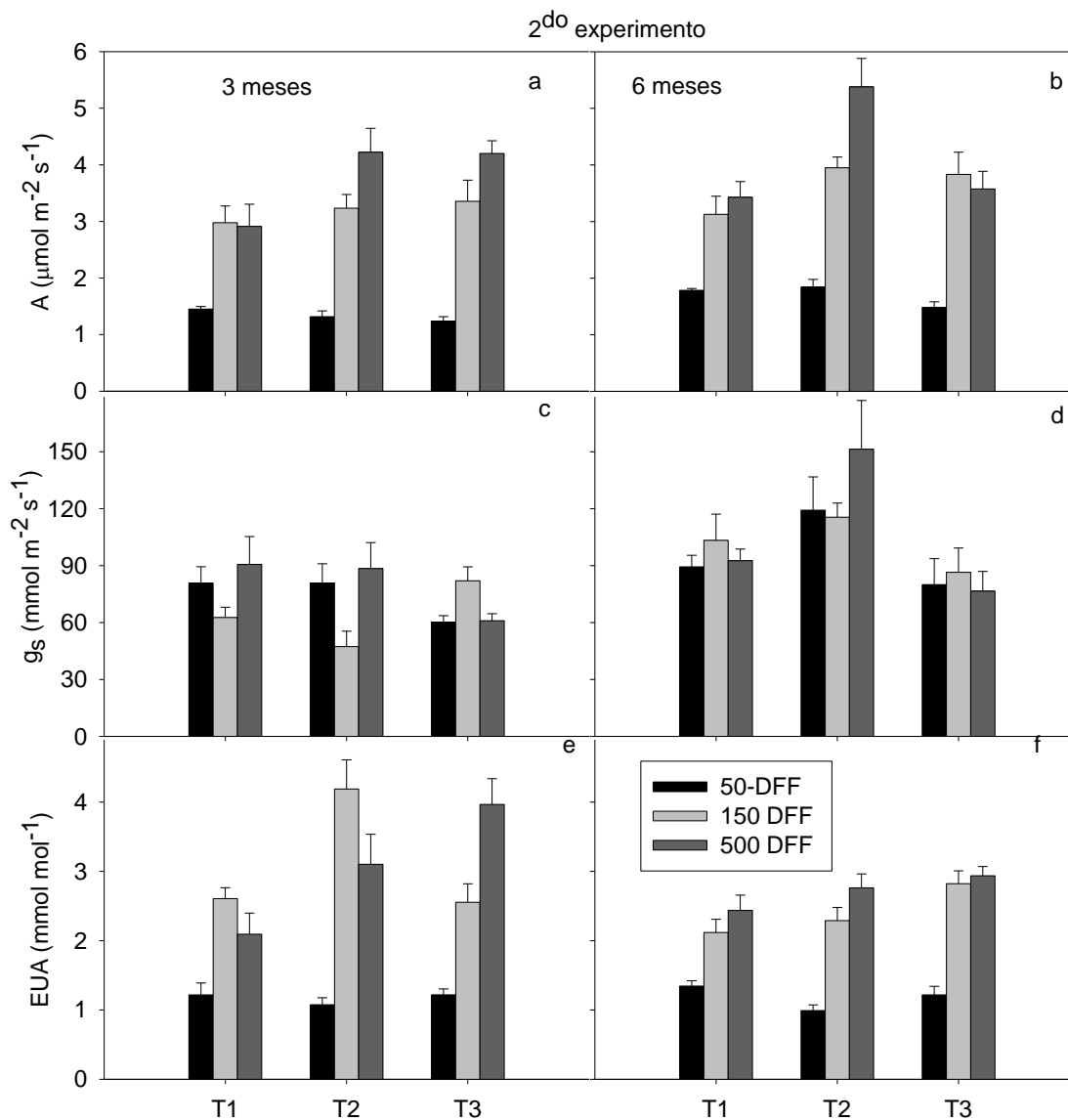


Figura 6. Parámetros de intercambio gaseoso del 2° experimento. Fotosíntesis (a, b), conductancia estomática (c, d) y eficiencia de uso de agua (e, f), en los diferentes tratamientos (T₁, T₂, T₃), a los tres y seis meses de haber colocado las plantas en cada tratamiento, los diferentes colores de las barras indican las DFF a las cuales se realizaron las medidas. Los valores son la media ± ES (n=6).

En el segundo experimento, a los tres meses no se encontraron diferencias significativas en A entre tratamientos ($p=0.058$), sólo se observaron diferencias en A entre DFF de medida ($p=7 \times 10^{-14}$). En contraste, a los seis meses se encontraron diferencias significativas en A entre tratamientos ($p<0.05$) y entre DFF de medida ($p<0.05$). A los tres meses se observaron diferencias significativas en g_s en la interacción Tratamiento x DFF de medida ($p=0.009$), y a los seis meses sólo se encontraron diferencias en g_s entre tratamientos; en contraste con las EUA, las cuales mostraron diferencias entre tratamientos y entre DFF de medida. A los tres y seis meses las menores A se observaron en DFF₁ de todos los tratamientos ($< 2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; fig. 6 a-b), mientras que las g_s estuvieron en un intervalo de 50-70 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a los tres meses y a los seis meses se observaron las mayores A y g_s en T₂ a DFF₃ (5.3 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y 151.3 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente; fig. 6 b-d). La EUA a los tres meses fue mayor en T₂ a DFF₂ y en T₃ a DFF₃ y a los seis meses EUA aumentó a medida que aumentaba la DFF de medición en los tres tratamientos (fig. 6 f).

En Chuao, se encontraron diferencias significativas entre condiciones lumínicas (sombreadas y expuestas) y entre DFF de medida en los parámetros A y EUA ($p<0.05$). A diferencia de g_s que sólo mostró diferencias significativas entre DFF de medida ($p=0.001$). Se observaron las mayores A en las plantas expuestas medidas a DFF₂ y DFF₃ (fig. 7 a), mientras que g_s disminuyó a medida que aumentó la DFF de medida (fig. 7 a-b); la EUA mostró una tendencia similar a la observada en A, es decir, la mayor EUA se observó en las plantas expuestas medidas a DFF₃ (fig. 7 a-c). Es importante señalar que los valores de los parámetros de intercambio gaseoso obtenidas en el campo (árboles adultos) fueron similares a las mostradas por las plantas juveniles de los experimentos 1 y 2 (en el vivero).

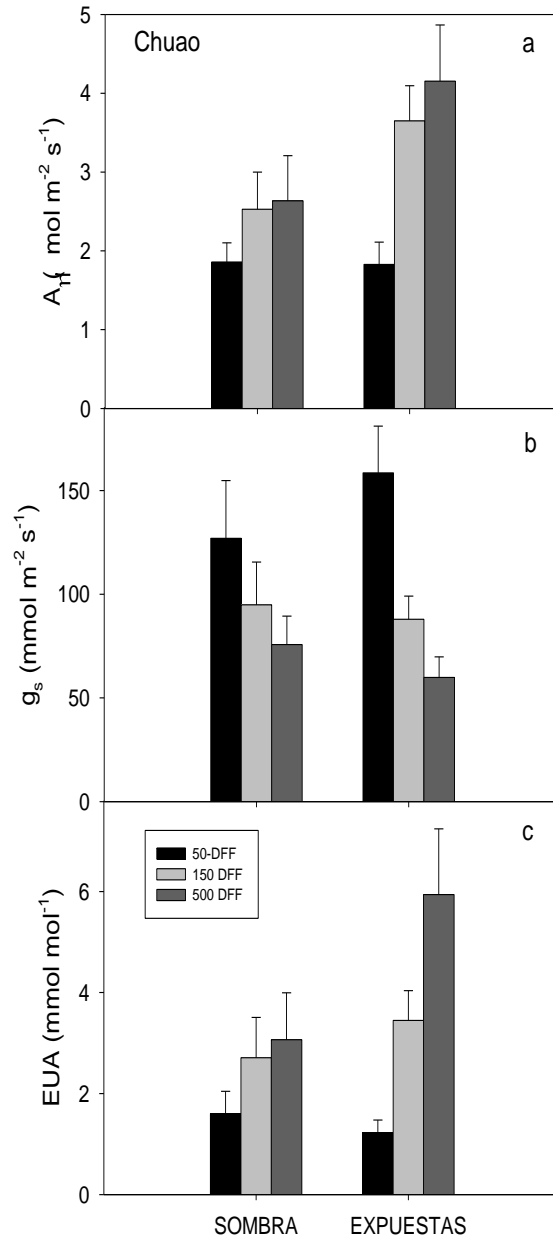


Figura 7. Parámetros de intercambio gaseoso en campo (Chuao). Fotosíntesis (a), conductancia estomática (b) y eficiencia de uso de agua (c), los diferentes colores de las barras indican las DFF a las cuales se realizaron las medidas. Los valores son la media \pm ES (n=6).

Curvas de Fotosíntesis vs Densidad de flujo fotónico:

A los tres meses de haber iniciado el primer experimento no se observaron diferencias significativas en las curvas A/DFF entre tratamientos (fig. 8); a los seis meses la disminución de $A_{m\acute{a}x}$ en T_3 sugiere aclimatación (fig. 8). En el segundo experimento tampoco se observaron diferencias en los parámetros de la curva A/DFF a los tres meses; a los seis meses T_3 presentó un mayor punto de saturación a la luz y una menor Φ_{CO_2} con respecto a los otros tratamientos. En el campo se observaron curvas A/DFF diferentes a las observadas en el vivero, A se saturó a $DFF < 100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y $A_{m\acute{a}x}$ entre $1-2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (fig. 8).

En el primer experimento se observó que en T_3 $A_{m\acute{a}x}$ se redujo en un 45% a los seis meses de haber realizado las medidas, mientras que R_d , Φ_{CO_2} y PCL no mostraron cambios significativos (Tabla 2).

En el segundo experimento se observaron menores R_d que en el primer experimento ($0.07-0.3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), Φ_{CO_2} ($0.03-0.04 \mu\text{mol CO}_2/\mu\text{mol fotones}$) y PCL ($0-11 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en los tres tratamientos; no se encontraron diferencias significativas en algunos de los parámetros de las curvas de luz ($A_{m\acute{a}x}$, R_d , y PCL) a los tres y a los seis meses (Tabla 2); sin embargo, a los seis meses la Φ_{CO_2} fue menor en T_3 (fig. 8).

En Chuao no se observaron diferencias significativas entre plantas sombreadas y expuestas (Tabla 2). La $A_{m\acute{a}x}$ en el campo ($1.8-2.5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) fueron menores que las observadas en las plantas de vivero ($3.1-4.5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), mientras que Φ_{CO_2} en el campo ($0.05-0.07 \mu\text{mol CO}_2/\mu\text{mol fotones}$) fue mayor con respecto a las plantas de vivero ($0.008-0.04 \mu\text{mol CO}_2/\mu\text{mol fotones}$; Tabla 2).

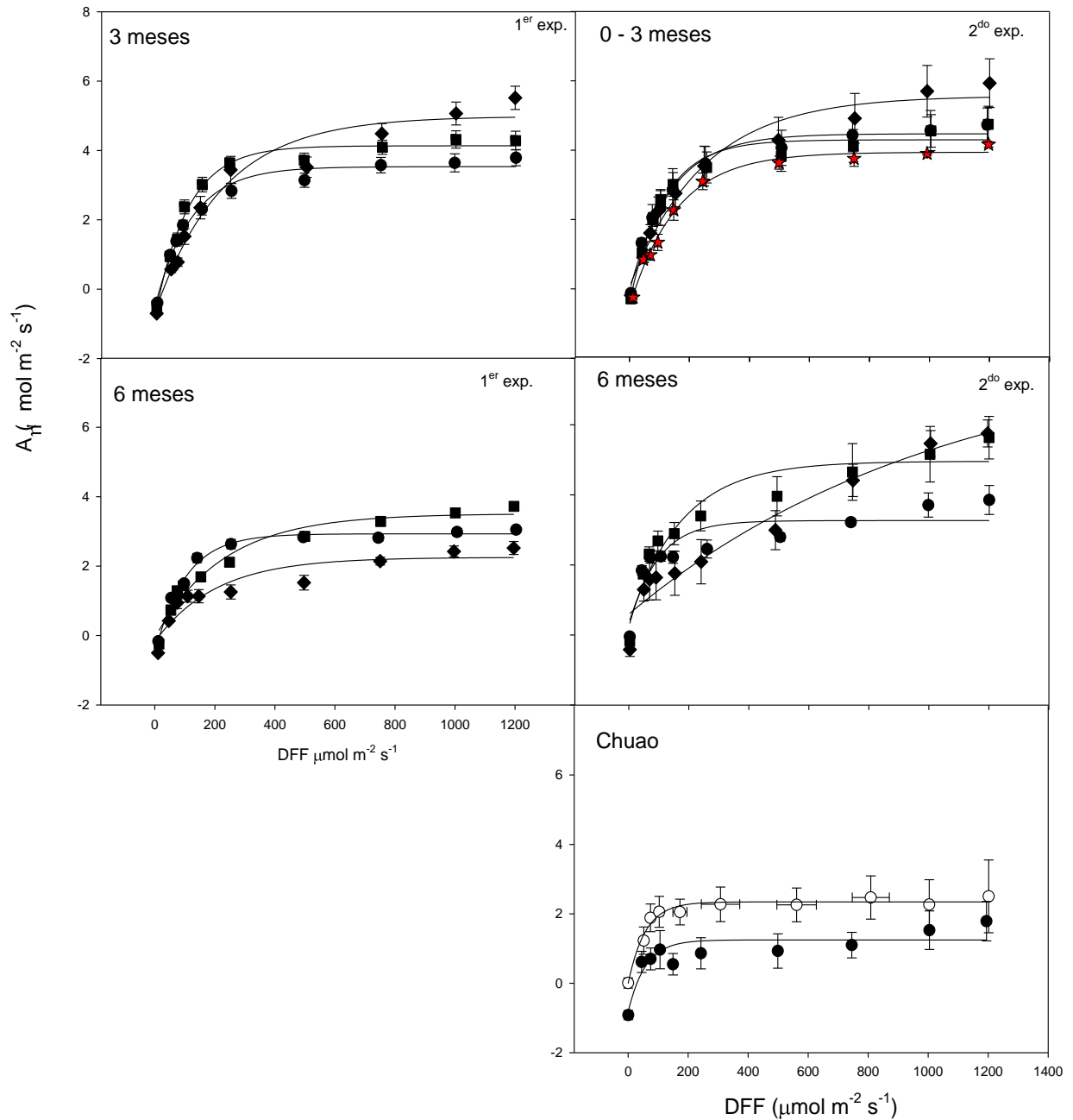


Figura 8. Curvas de fotosíntesis (A_p) vs densidad de flujo fotónico (DFF) de los diferentes tratamientos T_1 (●), T_2 (■) y T_3 (◆), del 1^{er} y 2^o experimento, a los cero (sólo 2^o experimento (★)), tres y seis meses de colocadas las plantas en los tratamientos; y en campo (Chuao) en plantas sombreadas (●) y expuestas (○). Los valores son la media \pm ES ($n=3$).

Tabla 2. Tasas de fotosíntesis a una DFF saturante ($A_{m\acute{a}x}$), respiración en oscuridad (R_d), eficiencia cuántica aparente (Φ_{CO_2}) y punto de compensación de luz (PCL), del 1° y 2° experimento, a los cero (sólo 2° experimento) tres y seis meses de colocadas las plantas en los tratamientos; y en campo (Chua) en plantas sombreadas y expuestas. Los valores son la media \pm ES (n=3). Las letras indican diferencias significativas de un ANOVA de una vía, $p \leq 0.05$.

1^{er} experimento

3 meses	T₁	T₂	T₃
$A_{m\acute{a}x}$ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	3.7 \pm 0.4 a	4.4 \pm 0.5 a	5.5 \pm 0.6 a
R_d ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	0.6 \pm 0.2 a	0.7 \pm 0.1 a	0.8 \pm 0.2 a
Φ_{CO_2} ($\mu\text{mol CO}_2/\mu\text{mol foton}$)	0.04 \pm 0.01 a	0.04 \pm 0.01 a	0.03 \pm 0.01 a
PCL ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	16.6 \pm 4.2 a	19.3 \pm 4.5 a	30.0 \pm 5.6 a
6 meses	T₁	T₂	T₃
$A_{m\acute{a}x}$ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	3.1 \pm 0.0 a	3.7 \pm 0.0 a	2.5 \pm 0.2 b
R_d ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	0.3 \pm 0.0 a	0.3 \pm 0.1 a	0.4 \pm 0.1 a
Φ_{CO_2} ($\mu\text{mol CO}_2/\mu\text{mol foton}$)	0.02 \pm 0.0 a	0.01 \pm 0.0 a	0.02 \pm 0.01 a
PCL ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	17.89 \pm 3.28 a	12.70 \pm 6.90 a	18.87 \pm 2.30 a

2^{do} Experimento

Día 0			
$A_{m\acute{a}x}$ ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	3.9 \pm 0.14		
R_d ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	0.3 \pm 0.12		
Φ_{CO_2} ($\mu\text{mol CO}_2/\mu\text{mol foton}$)	0.01 \pm 0.008		
PCL ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	18.83 \pm 2.47		
3 meses	T₁	T₂	T₃
$A_{m\acute{a}x}$ ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	4.4 \pm 0.47 a	4.3 \pm 0.46 a	6.3 \pm 0.18 a
R_d ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	0.1 \pm 0.10 a	0.3 \pm 0.06 a	0.2 \pm 0.48 a
Φ_{CO_2} ($\mu\text{mol CO}_2/\mu\text{mol foton}$)	0.03 \pm 0.009 a	0.04 \pm 0.004 a	0.03 \pm 0.008 a
PCL ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	0.32 \pm 3.75 a	10.8 \pm 0.62 a	0 \pm 20 a
6 meses	T₁	T₂	T₃
$A_{m\acute{a}x}$ ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	7.4 \pm 1.44a	5.34 \pm 1.08 a	11.6 \pm 7.8 a
R_d ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	0.5 \pm 0.07 a	0.07 \pm 0.38 a	0.6 \pm 0.4 a
Φ_{CO_2} ($\mu\text{mol CO}_2/\mu\text{mol foton}$)	0.03 \pm 0.004 a	0.04 \pm 0.02 a	0.04 \pm 0.01 a
PCL ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	0 \pm 1.81 a	0 \pm 23 a	0 \pm 58 a
Chua	Sombreadas	Expuestas	
$A_{m\acute{a}x}$ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	1.83 \pm 0.52 a	2.45 \pm 0.57 a	
R_d ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	0.1 \pm 0.10 a	0.002 \pm 0.15 a	
Φ_{CO_2} ($\mu\text{mol CO}_2/\mu\text{mol foton}$)	0.07 \pm 0.03 a	0.05 \pm 0.01 a	
PCL ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	0 \pm 2.75 a	0 \pm 5.47 a	

Actividad fotoquímica:

En el primer experimento se encontraron los menores valores de F_v/F_m en T_3 , tanto a los tres como a los seis meses de haber sometido las plantas a cada tratamiento lumínico; en contraste T_1 presentó los mayores F_v/F_m en ambas mediciones (Tabla 3). En el segundo experimento no se encontraron diferencias significativas en F_v/F_m a los tres meses. Por el contrario, F_v/F_m de T_1 (0.81) fue significativamente mayor que T_2 y T_3 a los seis meses (Tabla 3). En Chuao el F_v/F_m en las plantas expuestas (0.67) fue significativamente menor en comparación a las plantas sombreadas (0.77; Tabla 3).

Tabla 3. Eficiencia cuántica máxima (F_v/F_m), del 1° y 2° experimento, a los tres y seis meses de colocadas las plantas en los tratamientos y en campo (Chuao) en plantas sombreadas y expuestas. Los valores son la media \pm ES (n=6). Las letras indican diferencias significativas de un ANOVA de una vía, $p \leq 0.05$.

	F_v/F_m		
	T_1	T_2	T_3
1^{er} experimento			
3 meses	0.75 \pm 0.007 b	0.74 \pm 0.003 b	0.70 \pm 0.008 a
6 meses	0.82 \pm 0.002 c	0.80 \pm 0.007 b	0.75 \pm 0.007 a
2^{do} experimento			
	F_v/F_m		
	T_1	T_2	T_3
3 meses	0.83 \pm 0.011 a	0.82 \pm 0.018 a	0.81 \pm 0.013 a
6 meses	0.81 \pm 0.003 b	0.79 \pm 0.003 a	0.79 \pm 0.002 a
Chuao			
	F_v/F_m		
	Sombreadas	Expuestas	
	0.77 \pm 0.010 b	0.67 \pm 0.042 a	

En general tanto los experimentos en el vivero como en el campo, se observó que mayores DFF de medida causaron una reducción de Φ_{PSII} y q_P e incrementos en J y q_N . Similarmente, T_3 causó una disminución en Φ_{PSII} , q_P y un incremento de q_N (Tabla 4).

En Chuao, se observaron las menores J en las plantas de sombra medidas a DFF_1 ; en plantas expuestas medidas a DFF_3 J fue alrededor de 73% mayor con respecto a las plantas de sombra y 66% mayor con respecto a las otras DFF de medida (Tabla 4). Mientras que Φ_{PSII} y q_P fueron menores en las plantas sombreadas medidas a DFF_3 , los mayores q_N se encontraron en las plantas expuestas (Tabla 4).

Tabla 4. Valores instantáneos de los parámetros de fluorescencia: eficiencia cuántica relativa del PSII (Φ_{PSII}), coeficiente de extinción fotoquímica (q_P), coeficiente de extinción no fotoquímica (q_N) y tasa de transporte de electrones (J), del 1° y 2° experimento, a los cero (sólo 2° experimento), tres y seis meses de colocadas las plantas en los tratamientos; y en campo (Chuao) en plantas sombreadas y expuestas. Los valores son la media \pm ES (n=6). Las letras indican diferencias significativas de un ANOVA de una vía, $p \leq 0.05$ en el 1° experimento y de un ANOVA de dos vías, $p \leq 0.05$ en el 2° experimento y campo).

1° experimento

3 meses	T_1	T_2	T_3
J ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	27.7 \pm 1.0 a	35.8 \pm 3.2 a	57.0 \pm 5.2 b
Φ_{PSII}	0.61 \pm 0.02 c	0.49 \pm 0.03 b	0.32 \pm 0.31 a
q_P	0.62 \pm 0.02 c	0.48 \pm 0.04 b	0.34 \pm 0.03 a
q_N	*	*	*
6 meses	T_1	T_2	T_3
J ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	16.9 \pm 7.7 a	15.3 \pm 2.6 a	28.4 \pm 5.0 a
Φ_{PSII}	0.55 \pm 0.30 b	0.38 \pm 0.10 a	0.37 \pm 0.10 a
q_P	0.55 \pm 0.31 b	0.38 \pm 0.15 a	0.37 \pm 0.15 a
q_N	0.84 \pm 0.01 a	0.91 \pm 0.01 b	0.97 \pm 0.0 c

*Los valores fueron reportados de manera errónea por el fluorímetro.

2° Experimento

Día 0

	J	Φ_{PSII}	q_P	q_N
DFF_1	27.02 \pm 0.36	0.715 \pm 0.002	0.715 \pm 0.002	0.807 \pm 0.001
DFF_2	37.90 \pm 1.94	0.597 \pm 0.009	0.597 \pm 0.009	0.810 \pm 0.002
DFF_3	55.21 \pm 5.98	0.289 \pm 0.010	0.289 \pm 0.010	0.860 \pm 0.002

Continuación Tabla 4.

3 meses					
		T ₁	T ₂	T ₃	
J ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	DFE₁	26.43±0.23 a	24.46±0.49 a	24.66±0.40 a	
	DFE₂	35.19±0.86 b	37.80±1.46 b	40.43±0.65 b	
	DFE₃	53.90±2.87 c	91.80±2.88 d	90.14±3.43 d	
Φ_{PSII}	DFE₁	0.72±0.01 f	0.68±0.01 e	0.67±0.02 ef	
	DFE₂	0.50±0.02 c	0.61±0.02 d	0.66±0.01 de	
	DFE₃	0.24±0.01 a	0.44±0.01 a	0.41±0.02 b	
q_P	DFE₁	0.72±0.01 f	0.68±0.01 e	0.67±0.02 ef	
	DFE₂	0.50±0.02 c	0.61±0.02 d	0.66±0.01 de	
	DFE₃	0.24±0.01 a	0.44±0.01 a	0.41±0.02 b	
q_N	DFE₁	0.83±0.00 a	0.87±0.01cd	0.88±0.01bc	
	DFE₂	0.83±0.01 a	0.89±0.01cd	0.89±0.01cd	
	DFE₃	0.85±0.00 ab	0.90±0.01 d	0.94±0.00 e	
6 meses					
		T ₁	T ₂	T ₃	
J ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	DFE₁	7.63±0.67 a	16.08±0.94 b	20.17±2.34 b	
	DFE₂	31.87±1.54 c	35.98±1.59 cd	40.79±1.72 de	
	DFE₃	43.32±1.87 d	74.01±5.42 f	83.53±4.53 e	
Φ_{PSII}	DFE₁	0.62±0.02 f	0.61±0.02 f	0.58±0.02 de	
	DFE₂	0.49±0.02 c	0.53±0.02 cd	0.58±0.02 de	
	DFE₃	0.23±0.01 a	0.35±0.03b	0.39±0.02 b	
q_P	DFE₁	0.62±0.02 f	0.61±0.02 f	0.58±0.02 de	
	DFE₂	0.49±0.02 c	0.53±0.02 cd	0.58±0.02 de	
	DFE₃	0.23±0.01 a	0.35±0.03b	0.39±0.02 b	
q_N	DFE₁	0.89±0.02 a	0.92±0.00 bc	0.93±0.00 cde	
	DFE₂	0.90±0.00ab	0.93±0.00cde	0.93±0.00 cd	
	DFE₃	0.92±0.01 bc	0.94±0.00 ef	0.95±0.00 f	
Chuafo					
		J ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Φ_{PSII}	q_P	q_N
sombra	DFE₁	9.61±0.22 a	0.62±0.02 d	0.62±0.02 d	0.89±0.004 a
	DFE₂	26.39±0.72 c	0.38±0.02 b	0.38±0.02 b	0.94±0.005 bc
	DFE₃	33.55±2.79 cd	0.17±0.02 a	0.17±0.02 a	0.92±0.005 d
Expuestas	DFE₁	16.61±1.16 b	0.51±0.03 c	0.51±0.03 c	0.95±0.004 cd
	DFE₂	33.91±2.34 d	0.53±0.04 c	0.53±0.04 c	0.95±0.007 cd
	DFE₃	75.71±3.22 e	0.37±0.01b	0.37±0.01b	0.96±0.006 d

Curvas de transporte de electrones vs densidad de flujo fotónico:

La curva de J vs DFF en el primer experimento no presentó diferencias significativas entre tratamientos (fig. 9); se apreció que J se saturó a una DFF de $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ aproximadamente, observando los valores máximos de J cercanos a $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

En la fig. 9 se muestran las gráficas de J vs DFF del segundo experimento sin corregir la tasa del transporte de electrones por el coeficiente de absorción foliar (α). A los tres meses T₃ presentó las menores J respecto a T₂ y T₁, los valores correspondientes a T₃ fueron similares a los medidos en el día cero y a los obtenidos en el primer experimento. El efecto de T₃ en J se revirtió a los seis meses, observándose las mayores J en el tratamiento expuesto a altas DFF (T₃). Los valores de α obtenidos a los tres meses del segundo experimento fueron significativamente diferentes: $\alpha_{T_1}=0,81\pm0,008$; $\alpha_{T_2}=0,75\pm0,02$; $\alpha_{T_3}=0,68\pm0,03$, lo que trae como consecuencia que J corregido, sea menor en un 9% y 16% en T₂ y T₃. Sin embargo, a los seis meses α fue igual en los tres tratamientos ($\alpha= 0.81$), observándose una mayor J en las plantas cultivadas a mayores DFF (T₂ y T₃). En el campo las J fueron mayores en comparación a las obtenidas en el vivero, los mayores valores de J se encontraron en hojas de las plantas expuestas (fig. 9).

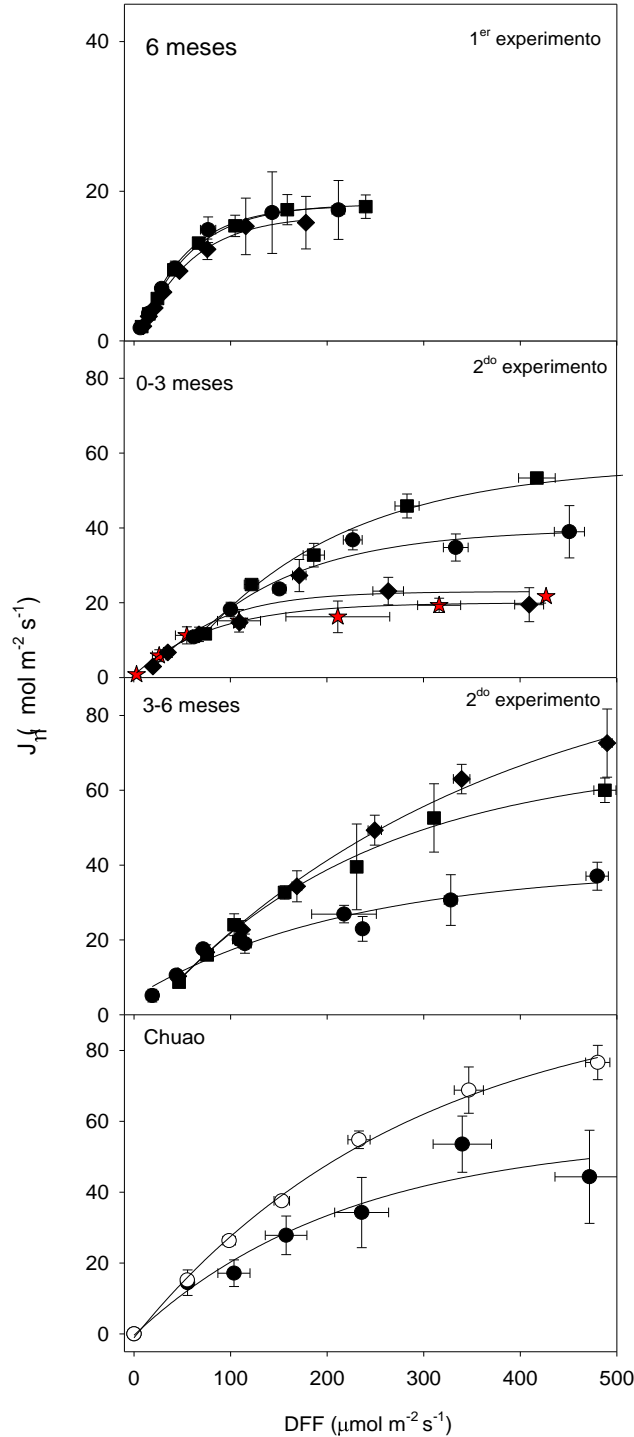


Figura 9. Curvas de tasa de transporte de electrones (J) vs densidad de flujo fotónico (DFF), en los diferentes tratamientos T₁ (●), T₂ (■) y T₃ (◆), a los 6 meses de colocadas las plantas en los tratamientos (primer experimento); a los cero (sólo 2^o experimento (★), tres y seis meses del 2^{do} experimento; y en campo (Chuafo) en plantas sombreadas (●) y expuestas (○). Los valores son la media \pm ES (n=3).

- **DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS**

Se observaron diferencias significativas en Cl a, Cl b y Cl a+b entre tratamientos a los tres meses del segundo experimento (Tabla 5). El contenido de Cl a y Cl a+b fueron mayores en T₂, mientras que el contenido de Cl b fue mayor en T₃. La relación Cl a/b y C_(x+c) no variaron significativamente. A los seis meses no se encontraron diferencias significativas en estos parámetros entre tratamientos.

En Chuao el contenido de Cl a, Cl b y Cl a+b fue mayor en las plantas sombreadas que en las expuestas, por el contrario la relación Cl a/b fue mayor en plantas expuestas, mientras que no hubo diferencias significativas en el C_(x+c) (Tabla 5).

Tabla 5. Contenido de clorofilas a (Cl a), b (Cl b), totales (Cl a+b), relación Cl a/b y carotenoides (C_(x+c)) del 2^{do} experimento, a los tres y seis meses de colocadas las plantas en los tratamientos; y en campo (Chuao) en plantas sombreadas y expuestas. Los valores son la media ± ES (n=4 a los tres meses y n=6 a los seis meses y campo). Las letras indican diferencias significativas de un ANOVA de una vía, p≤0.05).

2^{do} Experimento

3 meses

	T ₁	T ₂	T ₃
Cl a (µg cm ⁻²)	16.8±1.6 ab	20.3±1.1 b	13.1±2.0 a
Cl b (µg cm ⁻²)	13.7±0.7 a	16.8±0.9 b	29.3.1±2.8 c
Cl (a+b) (µg cm ⁻²)	34.6±1.5 b	41.9±1.8 c	33.1±3.1 a
Cl a/b	1.2±0.2 a	1.21±0.1 a	1.23±0.1 a
C _(x+c) (µg cm ⁻²)	1.63±0.5 a	1.37±0.2 a	1.32±0.4 a

6 meses

	T ₁	T ₂	T ₃
Cl a (µg cm ⁻²)	20.0±1.3 a	21.5±1.7 a	20.2±1.6 a
Cl b (µg cm ⁻²)	5.0±0.4 a	5.6±0.4 a	5.17±0.6 a
Cl (a+b) (µg cm ⁻²)	28.6±1.5 a	30.9±2.4 a	28.8±2.5 a
Cl a/b	4.13±0.5 a	3.8±0.1 a	3.9±0.1 a
C _(x+c) (µg cm ⁻²)	5.2±0.4 a	5.9±0.3 a	5.5±0.3 a

Chuao

	Cl a (µg cm ⁻²)	Cl b (µg cm ⁻²)	Cl (a+b) (µg cm ⁻²)	Cl a/b	C _(x+c) (µg cm ⁻²)
Sombra	25.4±1.9 b	8.36±0.6 b	39.2±2.8 b	3.03±0.04 a	6.07±0.6 a
Expuestas	17.0±1.9 a	5.01±0.4 a	25.2±2.6 a	3.35±0.12 b	5.03±0.4 a

- **PARÁMETROS MORFOANATÓMICOS**

Análisis de crecimiento:

En todos los tratamientos del segundo experimento, se observó un aumento de las medidas alométricas (área foliar, altura y diámetro del tallo) en el tiempo; sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos; a los seis meses las plantas presentaron en promedio un área foliar de $475.6 \pm 77.43 \text{ cm}^2$, una altura de $21.4 \pm 0.65 \text{ cm}$ y un diámetro de $0.69 \pm 0.03 \text{ cm}$ (fig.10).

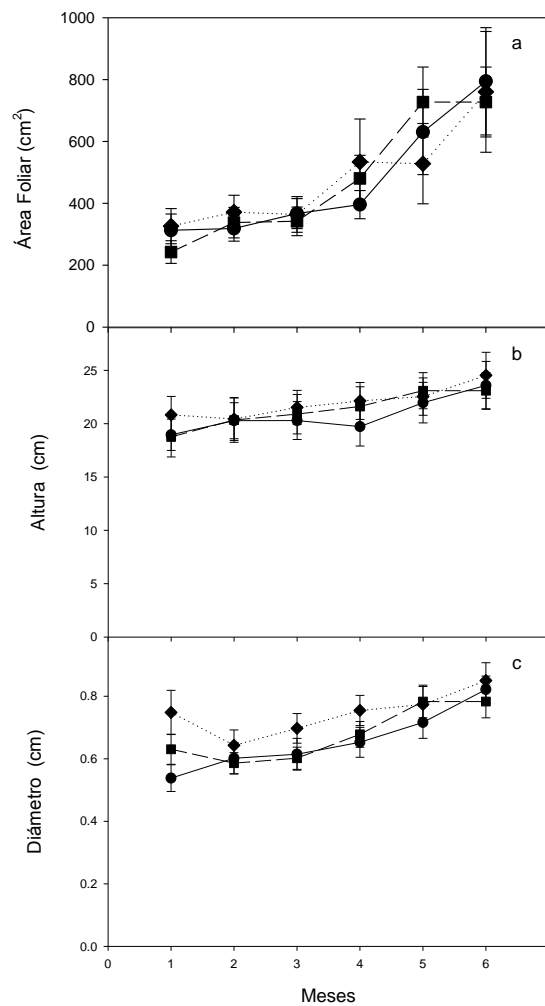


Figura 10. Medidas alométricas no destructivas (área foliar, altura y diámetro del tallo), realizadas mensualmente en los diferentes tratamientos T₁ (●), T₂ (■) y T₃ (◆) del 2^{do} experimento. Los valores son la media \pm ES (n=10).

Se observó que el AFE en T₁ del primer experimento fue 23% mayor que en T₂ y T₃.

En el segundo experimento en la cosecha 1 (tres meses), no se encontraron variaciones significativas en la distribución de biomasa, ni en los parámetros de crecimiento entre tratamientos (Tabla 5). A los seis meses se observó mayor AFE y CAF en T₁ y T₂ en comparación con T₃, mientras que la relación V/R fue mayor en T₃ (Tabla 5). A lo largo del experimento no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en CPF, TRC y TAN.

Las hojas sombreadas en el campo (Chua) presentaron un AFE 37% mayor al de las hojas expuestas (Tabla 6).

Tabla 6. Distribución de biomasa: peso seco de raíz (R), vástago (V), hojas (*f*), peso seco total (P_S), área foliar total (AF_t) y análisis de crecimiento: área foliar específica (AFE), relación vástago-raíz (V/R), cociente de área total (CAF), cociente de peso foliar (CPF), tasa relativa de crecimiento (TRC) y tasa de asimilación neta (TAN) del 2^{do} experimento. En el primer experimento y campo (Chua) sólo se determinó AFE. Los valores son la media ± ES (n=5). Las letras indican diferencias significativas de un ANOVA de una vía, p≤0.05).

1^{er} experimento				
6 meses				
	T₁	T₂		
	T₃			
	AFE (cm² g⁻¹)	290.4 ± 2.81 a	215.5±5.39 b	233.1±19.5b
2^{do} experimento				
Cosecha inicial				
	R (g)	0.29±0.04		
	V (g)	0.58±0.04		
Distribución de biomasa	<i>f</i> (g)	0.80±0.06		
	P_S (g)	1.67±0.10		
	AF_t (cm²)	337.7±32		
Análisis de crecimiento	AFE (cm² g⁻¹)	418.2±14		
	V/R (g g⁻¹)	2.15±0.32		
	CAF(cm² g⁻¹)	200.9±10		
	CPF (g g⁻¹)	2.09±0.04		

**Continuación
Tabla 6.**

Cosecha 1		T₁	T₂	T₃
<i>Distribución de biomasa</i>	R (g)	0.78±0.19 a	0.62±0.13 a	0.91±0.26 a
	V (g)	0.75±0.13 a	0.93±0.24 a	1.13±0.31 a
	f (g)	0.97±0.18 a	1.09±0.15 a	1.04±0.40 a
	P_S (g)	2.50±0.35 a	2.63±0.39 a	3.08±0.86 a
	AF_t (cm²)	338.4±53 a	352.3±44 a	313.3±103 a
	<i>Análisis de crecimiento</i>	AFE (cm² g⁻¹)	355.7±15 a	328.7±21 a
V/R (g g⁻¹)		1.33±0.50 a	1.80±0.71 a	1.26±0.05 a
CAF(cm² g-1)		135.1±7 a	136.5±6 a	109.3±25 a
CPF (g g⁻¹)		2.68±0.23 a	2.41±0.13 a	4.45±1.87 a
TRC (d⁻¹)		0.0033±0.001 a	0.0037±0.0014 a	0.0044±0.0022 a
TAN (g cm⁻² d⁻¹)		0.00002±0.0000 a	0.00002±0.0000 a	0.00004±0.0000 a
<hr/>				
Cosecha 2		T₁	T₂	T₃
<i>Distribución de biomasa</i>	R (g)	1.46±.23 a	1.61±0.35 a	1.34±.32 a
	V (g)	1.88±0.38 a	1.46±0.28 a	1.78±0.38 a
	f (g)	2.53±0.70 a	3.16±0.61 a	2.63±0.66 a
	P_S (g)	5.87±1.29 a	6.23±1 a	5.75±1.29 a
	AF_t (cm²)	880±243 a	810±146 a	560±132 a
<i>Análisis de crecimiento</i>	AFE (cm² g⁻¹)	345.3±7 c	258.1±7 b	216.9±6 a
	V/R (g g⁻¹)	1.26±0.08 ab	0.98±0.14 a	1.36±0.05 b
	CAF(cm² g-1)	141.3±13 b	129.2±9 ab	99.3±7 a
	CPF (g g⁻¹)	2.51±0.19 a	2.05±0.18 a	2.22±0.13 a
	TRC (d⁻¹)	0.0108±0.0032 a	0.0115±0.0025 a	0.0072±0.0036 a
	TAN (g cm⁻² d⁻¹)	0.00005±0.0000 a	0.0001±0.0000 a	0.0001±0.00004 a
<hr/>				
		Sombra		Expuestas
Chua0	AFE (cm² g⁻¹)	267.23 ±8.29 b		168.7±23.28 a

Anatomía Foliar:

En el primer experimento se encontraron diferencias en la anatomía foliar entre los tratamientos T_1 y T_3 ; se observó que las células parenquimáticas en T_3 se encuentran de manera más compacta y organizada que en T_1 (fig.11 a-b). Además, el parénquima en empalizada de T_3 posee mayor número de capas que T_1 .

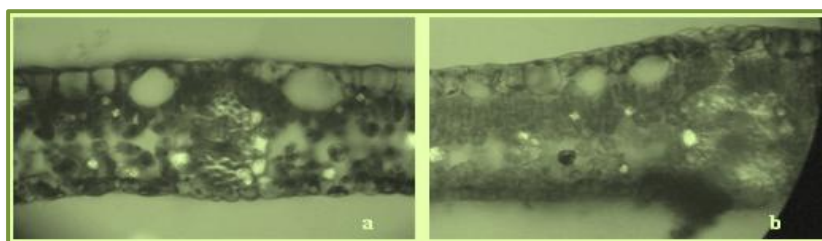


Figura 11. Sección transversal de la lámina foliar de *T. cacao* L. del 1^{er} experimento en vivero (Ocumare 61 x IMC77). a) T_1 (10% de exposición solar o sombra) (690X) y b) T_3 (70% de exposición solar o expuesto; 750X).



Figura12. Sección transversal de la lámina foliar de *T. cacao* L. 2^{do} experimento en vivero (Chuao). a) T_1 (10% de exposición solar o sombra) y b) T_3 (70% de exposición solar o expuesto; 800X).

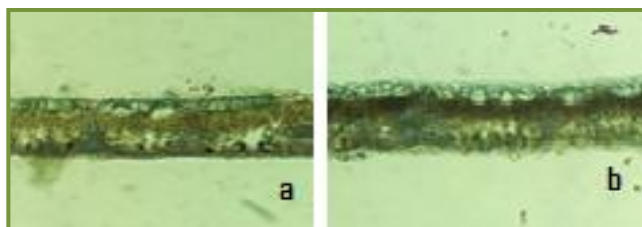


Figura 13. Sección transversal de la lámina foliar de *T. cacao* L. En campo (Chuao) a) plantas sombreadas b) plantas expuestas. (800x).

En el segundo experimento se observó un mayor GF, PEM, y PES en T₃ (24%, 45% y 30% de aumento respectivamente); en Chuao se observó que GF aumentó un 12% y PEM aumentó un 31% en plantas expuestas, mientras que no se encontraron diferencias significativas en PES (Figs 12, 13 y Tabla 7).

Tabla 7. Grosor foliar (GF), grosor del parénquima en empalizada (PEM) y grosor del parénquima esponjoso (PES), a los seis meses del 2^{do} experimento y en campo (Chuao). Los valores son la media ± ES (n=3). Las letras indican diferencias significativas (p≤0.05).

2^{do} experimento			
	T₁	T₂	T₃
GF (µm)	289.8±13.7 a	258.8±3.4 a	489.1±14.1 b
PEM (µm)	97.6±4.9 a	78,8±1.5 a	161.5±9.9 b
PES (µm)	93.8±2.8 a	120.1±10.6 b	154.9±6.4 c
Chuao			
	Sombra	Expuestas	
GF (µm)	268.4± 2.4 a	306.4±2.4 b	
PEM (µm)	84.6±1.4 a	122.3±7.7 b	
PES (µm)	96.2±2.2 a	94.2±2.2 a	

- **DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE PLASTICIDAD**

La mayor plasticidad se observó en los parámetros morfoanatómicos (0.21±0.04) en comparación con los fisiológicos-bioquímicos (0.16±0.02), sin que esto se traduzca en una mayor distribución de biomasa y crecimiento; también se apreció que en los parámetros fisiológicos-bioquímicos la mayor plasticidad fue entre T₂, T₃ (0.19±0.07) a los seis meses y en los morfonatómicos la mayor plasticidad fue entre T₁ y T₂ (0.24±0.06) a los tres meses (Tabla 8).

Tabla 8. Índice de distancia relativa de plasticidad (**RDPis**), en variables fisiológicas, bioquímicas y morfoanatómicas, a los tres y seis meses del segundo experimento. En A y gs fue determinado el índice a tres DFF.

Parámetros	3 meses		6 meses		Promedio Total	
	RDPis T ₁ T ₂	RDPis T ₂ T ₃	RDPis T ₁ T ₂	RDPis T ₂ T ₃		
<i>Fisiológicos</i>						
<i>Bioquímicos</i>	DFF ₁	0.1	0.09	0.08	0.13	0.10
A	DFF ₂	0.12	0.13	0.14	0.1	0.12
	DFF ₃	0.22	0.1	0.23	0.21	0.19
	DFF ₁	0.17	0.18	0.08	0.13	0.14
gs	DFF ₂	0.21	0.29	0.14	0.1	0.18
	DFF ₃	0.22	0.25	0.23	0.21	0.23
	DFF ₁	0.17	0.18	0.08	0.13	0.14
A _{máx}		0.09	0.18	0.24	0.33	0.21
Φ _{CO2}		0.2	0.32	0.33	0.57	0.35
F _v /F _m		0.02	0.02	0.008	0.008	0.01
Cl a/b		0.11	0.08	0.09	0.06	0.08
Promedio		0.15±0.03	0.16±0.04	0.16±0.04	0.19±0.07	0.16±0.02
<i>Morfoanatómicos</i>						
V/R		0.33	0.19	0.16	0.18	0.21
CAF		0.33	0.19	0.1	0.14	0.19
AFE		0.07	0.08	0.14	0.09	0.09
AFt		0.24	0.34	0.36	0.4	0.33
Promedio		0.24±0.06	0.20±0.05	0.19±0.06	0.20±0.07	0.21±0.04

DISCUSIÓN

El estudio permitió evaluar la plasticidad en dos diferentes variedades de cacao: (Ocumare 61 x IMC 77) y Chuao en condiciones de vivero (plantas juveniles) sometidas a tres tratamientos lumínicos (T_1 , T_2 y T_3) y en condiciones naturales (árboles adultos) en árboles sombreados y expuestos. En conclusión, la plasticidad morfológica fue mayor a la fisiológica-bioquímica, sin que esto se tradujera distribución de biomasa diferente y/o crecimiento diferente en las plantas de cacao sometidas a condiciones lumínicas contrastantes. Estas variedades de cacao mostraron cambios en el intercambio de gases, actividad fotoquímica y en los parámetros morfoanatómicos, que le permitieron ajustarse a las diferentes condiciones lumínicas. Sin embargo, la aclimatación observada en algunas de las variables estudiadas a los seis meses en T_3 no presentó una ventaja particular en cacao. Consideramos que T_3 (mayor intensidad lumínica) y T_1 (menor intensidad lumínica) no son las intensidades adecuadas para el crecimiento de cacao, ya que si bien observamos plasticidad fisiológica; en T_1 representa una condición muy sombreada, con mayor HR lo que posiblemente propicie enfermedades; y T_3 es una condición con altas DFF, el cacao es una planta de sombra, cuya capacidad fotosintética está genéticamente fijada y no pudo responder de manera adecuada a altas DFF de crecimiento, las cuales pueden ocasionar daños fotoinhibitorios, caída de hojas, causando una menor eficiencia del uso de recursos (mayor uso de agua y nutrientes) reduciéndose la vida útil de tan importante cultivo.

Las diferencias en las DFF que llega a cada uno de los tratamientos lumínicos (T_1 , T_2 y T_3) en vivero, es una condición que se logra en el campo generalmente con la siembra de árboles maderables, árboles de producción de frutos o de los árboles que conforman los

sistemas boscosos donde se encuentra el cacao (Alvim y Nair, 1986; Cubillo, 1993; Paredes, 1993; Rodríguez, 1993; Jaimez y Franco, 1999; Jaimez y col., 2008); generalmente se recomienda una sombra del 60% de la luz que llega al dosel en los cultivos de cacao (Jaimez y col., 2008), a pesar de que no exista un acuerdo universal de la DFF necesaria para maximizar la producción en cacao (Baligar y col., 2008). Las bajas DFF en Chuao y un mayor porcentaje de humedad relativa ayuda a reducir el déficit hídrico de las plantas, tal y como ha sido reportado por Zamora y col. (2001), sin embargo, se ha reportado que en las épocas donde aumenta la humedad relativa las condiciones se vuelven excelentes para la propagación de hongos (Porras y Sánchez, 1991).

Las A y g_s medidas en las plantas sometidas a las distintas intensidades lumínicas en vivero y en Chuao son similares a las reportadas por Backer y Hardwick, 1973, 1976; Hutcheon, 1977; Miyaji y col., 1985; Joly y Hahn, 1989; Miyaji y col., 1997; Rada y col., 2005; Barrera, 2006; Pereyra, 2007; Daymond y col., 2011. La reducción de las tasas de A medidas a DFF_3 a los seis meses del primer experimento indica una posible aclimatación y/o regulación descendente del aparato fotosintético a altas intensidades lumínicas, apoyando el hecho de que el cacao es un cultivo tolerante a la sombra, como ha sido reportado por (Baligar y col., 2008 y Jaimez y col., 2008).

En un estudio realizado a 73 especies de plantas en bosques de dosel cerrado y dosel abierto, se encontraron diferencias en las respuestas de las mismas a diferentes intensidades lumínicas, muchas de estas especies mostraron no ser plantas estrictamente de sombra o de sol, la mayoría de las especies presentó requerimientos intermedios de luz (Wright y col., 2003), lo que podría explicar el aumento en A y g_s en T_2 del segundo experimento y cambios menos marcados en T_1 y T_3 .

Las EUA encontradas en ambos experimentos de vivero son menores a las reportadas por Pereyra (2007) en un banco de germoplasma de Tapipa, en los mismos cultivares de cacao que los utilizados en este estudio. Se observó una disminución de la EUA en los tres tratamientos medidos a DFF₂ y DFF₃ en la medición a los seis meses de los dos experimentos de vivero, este hecho podría ser debido a una disminución de A producto a las DFF en el primer experimento. Generalmente un aumento en la intensidad lumínica debe dar lugar a un aumento en EUA debido al aumento de A; sin embargo, A y en consecuencia la EUA puede disminuir de haber daños en el aparato fotoquímico (Fay y col., 1993). En Chuao se observa una reducción en g_s a medida que aumenta la DFF tanto en plantas sombreadas como en plantas expuestas, donde los aumentos en A a medida que ocurre disminución en g_s no es claramente explicado en la literatura.

Las respuestas de A a la DFF que mostraron las plantas de cacao tanto en vivero como en el campo (A_{max} , R_d , Φ_{CO_2} y PCL) son características de plantas de sombra (Alvim, 1977; Boardman, 1977; Cai y col., 2005; Guers, 1985; Mcmillen y McClendon, 1983; Daymond y col., 2011), es decir, bajas A_{max} , R_d , PCL y altos Φ_{CO_2} .

La DFF saturante para la A fue alrededor de $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en ambos experimentos y alrededor de $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en Chuao, menores a los reportados por Balasimha y col., 1991 y Baligar y col., 2008. Los valores de A_{max} se encontraron alrededor de $2.5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y $7.8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en plantas juveniles en los experimentos de vivero; en Chuao se encontraron valores más bajos ($1,8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ - $2.5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en plantas sombreadas y en plantas expuestas respectivamente, lo que podría ser explicado por la edad de los árboles y/o la ontogenia de las hojas, ya que se tomaron hojas totalmente expandidas para realizar las mediciones pero se desconocía la edad de las mismas en el campo.

Los cambios en los parámetros de las curvas A vs DFF entre tratamientos, en especial la baja A_{max} en T_3 sugieren aclimatación en el primer experimento; Matos y col., (2009), reportaron en café que la aclimatación de A_{max} a la disponibilidad de altas DFF implica acumulación de proteínas fotosintéticas por unidad de área foliar; en cacao encontramos un aumento en GF en T_3 , lo que implica una disminución en el AFE de las plantas de este tratamiento. En contraste las plantas en T_3 del segundo experimento no muestran saturación a las altas DFF y se observa una reducción en Φ_{CO_2} , indicando aclimatación del aparato fotoquímico, donde posiblemente las características fisiológicas de estas plantas juveniles no fueron suficientes como para mostrar las respuestas de una planta de sol.

Se observaron valores alrededor de 0.81 en F_v/F_m en algunos tratamientos de vivero, indicando un buen funcionamiento del aparato fotoquímico, valores que concuerdan con los reportados por Daymond y col., (2011) en cultivares forasteros de cacao y con lo reportado para plantas sanas que no están sometidas a ningún tipo de estrés (Maxwell y Johnson 2000). A los seis meses de comenzados ambos experimentos, los tratamientos T_2 y T_3 presentaron diferencias significativas con respecto a T_1 en este parámetro, observándose una disminución en el F_v/F_m , lo que podría indicar fotoinhibición del PSII (Maxwell y Johnson, 2000) y/o una regulación descendente de la actividad fotoquímica, ya que en este tratamiento una DFF saturante podría ser considerado un factor de estrés en cacao. Se ha reportado que las reducciones en F_v/F_m causadas por algún tipo de estrés (biótico o abiótico) podrían ser considerados como un indicador de fotoinhibición, debido a una pérdida de función a nivel del aparato fotosintético (Bilger y col., 1995); el exceso de excitación generado por altos niveles de energía lumínica puede resultar en la inactivación del PSII, el daño oxidativo, y la fotoinhibición de la fotosíntesis (Huner y col., 1993, Öquist y Npahuner, 1993). Sin embargo,

también se ha reportado que una disminución de este parámetro está asociada a procesos de fotoprotección (Osmond, 1994), ya que puede ser considerada como la capacidad de las plantas para ajustar la fotosíntesis a las condiciones ambientales prevalecientes, en lugar de un proceso que necesariamente se traduce en daños o lesiones a las plantas (Huner y col., 1993).

En el primer experimento q_N presentó mayores valores para T_2 y T_3 en comparación con T_1 , observándose además reducciones Φ_{PSII} y q_P ; estas reducciones indican que los tratamientos más expuestos tienen menor capacidad de transferencia de la energía captada por los centros de reacción del PSII. Se observó un aumento en la disipación térmica del exceso de energía en forma de calor (q_N), sugiriendo una regulación descendente de la actividad fotoquímica de las plantas de cacao (Laisk y col., 1997).

En el segundo experimento también se observó un aumento en q_N en los tratamientos más expuestos, sugiriendo que hay una mayor disipación del exceso de energía en forma de calor en los tratamientos más expuestos y al aumentar las DFF de medición. El Φ_{PSII} y q_P disminuyeron con respecto al aumento en las DFF de medición. Matos y col., (2009) reportaron en café que a medida que aumenta la DFF de medición Φ_{PSII} y q_P disminuyen y q_N aumenta.

La disminución del número de centros de reacción funcionales a causa de una alta intensidad lumínica se relaciona con la integridad de la maquinaria fotosintética, lo que podría estar asociada con la “fotoinhibición crónica” (Osmond, 1994). Se ha estudiado que la maquinaria implicada en el transporte de electrones es escasamente afectada, al menos a estreses moderados, considerándose que el aparato fotosintético es relativamente resistente a ciertos tipos de estrés (Cornic y Massacci, 1996).

Las plantas sometidas a altas DFF tanto en los tratamientos en vivero como en el campo, presentaron aumentos en J al aumentar las DFF, tal y como ha sido reportado por Graham y col., (2000); Bautista y Necchi (2007); Barros y col., (2011), lo que podría sugerir que las plantas de cacao que están sometidas a altas DFF tienen una mayor capacidad fotoquímica en comparación a las que están sometidas a bajas DFF (Barros y col. 2011).

El contenido de $Cl\ a$, $Cl\ b$, $Cl\ a+b$ y la relación $Cl\ a/b$ encontradas a los seis meses en vivero y en las plantas expuestas de campo (Chua) son consistentes con las reportadas por Pereyra, (2007) y Daymond y col., (2011). No se observaron cambios en $Cl\ a/b$, contrario a lo reportado por Walters, (2005) y Niinemets, (2007), donde la relación $Cl\ a/b$ es menor en las plantas sometidas a menores DFF; se encontró una baja relación de $Cl\ a/b$ en las plantas de cacao en vivero y en el campo, lo que podría considerarse como una adaptación para mejorar la absorción de la cantidad luz que está disponible, para así poder mantener el equilibrio de energía entre los fotosistemas (Boardman 1977, Björkman, 1981),

En las plantas sombreadas en Chua se observó mayor cantidad de $Cl\ b$, posiblemente este aumento mejora la capacidad de captación de luz en las plantas donde es baja la disponibilidad lumínica directa (Goodchild y col., 1972).

No encontramos diferencias significativas en los distintos tratamientos, ni en el campo en el contenido de $Cl\ (x+c)$ a pesar de haber diferencias entre las DFF de los mismos, puede que las plantas se hayan adaptado a cambios de luz y que la heterogeneidad que presenta el régimen lumínico no es tanto como para mostrar cambios en este parámetro (Manrique, 2003). Chaves y col., 2008, reportaron que la cantidad de $C\ (x+c)$ puede ser

tomados como indicador de mecanismos fotoprotectores en condiciones de estrés, ya que éstas son moléculas capaces de disipar la energía de excitación excedente (Manrique, 2003).

En el primer experimento T_1 presentó un AFE mayor a los observados en T_2 y T_3 , esto se debe a que éstas últimas presentan mayor número de capas de parénquima en empalizada y células de mayor tamaño, indicando una mayor inversión de biomasa hacia las hojas en este tratamiento. Los valores de AFE en Chuao son mayores a los reportados por Pereyra, (2007) en plantas del mismo cultivar; las hojas sombreadas presentaron un AFE mayor a las plantas expuestas, tal y como se ha reportado que plantas de sombra presentan hojas más delgadas en comparación a las plantas de sol, similar a lo reportado en un estudio en 85 especies leñosas encontraron que el AFE fue mayor en las especies tolerantes a las sombra (Niinemets y Kull, 1994), un AFE mayor en cacao podría traducirse en una mayor intercepción de las bajas DFF que llegan al sotobosque.

Las diferencias encontradas en el GF de las hojas de las plantas de los distintos experimentos y en Chuao son resultado de cambios simultáneos en PEM y PES con respecto a las DFF de medida, esto es contrario a lo reportado en café por Matos y col., (2009), donde PEM y PES no cambiaron en respuesta a la DFF. Disminuciones en AFE son explicadas por aumentos en el GF, el cual aumentó al incrementar la disponibilidad lumínica; además, las plantas que crecen en ambientes a bajas DFF generalmente presentan engrosamiento en las paredes celulares y acumulación de nutrientes (Lambers y col., 1998) lo que explica menores AFE en las plantas más expuestas.

A los seis meses del segundo experimento AFE fue mayor en T_1 , además, los tratamientos más sombreados presentaron un mayor CAF y una menor relación V/R

indicando que estas plantas invierten más para la producción aérea (vástago y hojas) que en la producción de raíz; tal y como ha sido reportado por Valladares y col. (2004). Barros y col., (2011) reportaron que un aumento en el vástago es una estrategia importante donde se maximiza la recolección de luz, siendo éste un mecanismo utilizado por las plantas cuando la luz es un recurso limitado.

Las plantas juveniles de cacao presentaron una capacidad de respuesta plástica para condiciones heterogéneas del medio al cual fueron sometidas, lo que puede ser utilizado como mecanismo de supervivencia ante ambientes cambiantes, principalmente en las primeras etapas de desarrollo que son cruciales para su establecimiento (Harper, 1977). Se observaron modificaciones en los parámetros medidos en los distintos tratamientos, lo que podría explicar las bajas plasticidades en cacao, tal y como ha sido reportado en café (Araujo y col., 2008; Chaves y col., 2008; Matos y col., 2009).

En el tratamiento de vivero se observó una mayor plasticidad en los parámetros morfoanatómicos ($RDPis=0.21$) en comparación con los fisiológicos-bioquímicos ($RDPis=0.16$); se ha encontrado que las plantas tolerantes a la sombra presentan este patrón, es decir, mayor plasticidad en parámetros morfoanatómicos que en los fisiológicos-bioquímicos (Valladares y col., 2005; Valladares y Niinemets 2008). Sin embargo, se ha reportado en café que también es un cultivo tropical, leñoso y aparentemente tolerante a la sombra, que la respuesta plástica a diferentes DFF en parámetros fisiológicos-bioquímicos era mayor que la respuesta plástica de los parámetros morfoanatómicos ($RDPis=0.24$ y 0.12 respectivamente; Matos y col., 2009).

La mayor respuesta plástica que presentan los parámetros morfoanatómicos entre T_1 y T_2 incrementa la eficiencia en la captura de fotones, lo que contribuye al aumento de la supervivencia en sombra, diferente a las plantas tolerantes al sol que incrementan la eficiencia de A (Kitajima, 1994; Valladares y col., 2002b; Valladares y Niinemets 2008).

La luz se considera un factor ambiental de gran importancia ya que de éste va a depender la distribución y adaptación de las plantas; este factor abiótico además de ser un recurso de energía, también causa un estímulo que gobierna el desarrollo de las plantas y en oportunidades puede llegar a ser un factor de estrés en muchas especies (Larcher, 1995). Además, la luz es un factor ambiental que varía tanto temporal como espacialmente; en ese sentido, esa variación ambiental es el escenario propicio para que se evidencie plasticidad entre y dentro de las especies vegetales (Bazzaz y Morse, 1991).

CONCLUSIONES

- Las respuestas mostradas por las plantas juveniles de cacao en los parámetros de intercambio gaseoso y actividad fotoquímica sometidas a diferentes DFF, sugieren aclimatación del aparato fotosintético en T_3 (altas DFF). Mientras que a bajas DFF (T_1) las plantas muestran baja capacidad fotosintética y en condiciones de campo está asociada a una alta HR que podrían generar condiciones perjudiciales para este cultivo (propagación de enfermedades, patógenos, hongos). El someter las plantas juveniles de cacao a altas DFF no aporta un beneficio extra, ya que no poseen una maquinaria fotoquímica y bioquímica para un buen desempeño en estas condiciones e inclusive se puede propiciar estrés por altas radiaciones (fotoinhibición).
- Reducciones en la actividad fotoquímica (J , Φ_{PSII} , q_P) e incrementos en q_N en las plantas de cacao en T_2 y T_3 de los experimentos en vivero y en plantas expuestas en Chuao, sugieren una regulación descendente del aparato fotoquímico (fotoprotección); sin embargo, este hecho podría estar asociado a bajos valores de F_v/F_m , indicando un posible daño de aparato fotoquímico (fotoinhibición del PSII en plantas de cacao sometido a altas DFF).
- Las plantas de cacao sometidas a bajas DFF (T_1 en vivero y plantas sombreadas en el campo) presentaron un mayor AFE y un menor GF en comparación con las plantas expuestas a altas DFF; aumentos en CAF y disminución en la relación V/R en T_1 indican una mayor inversión en la parte aérea en detrimento de las raíces, sugiriendo que plantas sombreadas de cacao invierten mayor biomasa en hojas para obtener una mayor intercepción de la luz.

- Las plantas de cacao “cultivar Chuao” presentaron mayor plasticidad “plasticidad fisiológica-bioquímica y morfoanatómica” en parámetros morfológicos (CAF, AFE, AFt, V/R) que en parámetros fisiológicos y bioquímicos (A, gs, Amax, Φ_{PSII} , Cla); resultados que apoyan el hecho de que el cacao es un cultivo tolerante a la sombra, el cual puede aclimatarse al estar sometido a altas DFF, sin que esto se traduzca en una ventaja adicional para el cultivo; debido a que el resultado final de la captación y transducción de energía (en el proceso fotosintético), no se tradujo en una mayor acumulación y distribución de biomasa, tasa relativa de crecimiento, tasa de asimilación neta o medidas alométricas.

BIBLIOGRAFÍA:

Adams W., Zarter C., Ebbert V., Demmig-Adams B. 2004. Photoprotective strategies of overwintering evergreens. *Bioscience* **54**: 41-49.

Ahenkorah Y., Akrofi E., Adri A. 1974. The end of the first cocoa shade and manorial experimental the cocoa research Institute of Ghana. *Journal of Horticultural Science* **49**: 43-51.

Almeida A., Valle R. 2007. Ecophysiology of the cacao tree. Brazilian J. *Plant Physiology* **19**: 425-448.

Alvim P. 1977. Cacao. En: Alvim P, Kozlowsky TT, eds. *Ecophysiology of Tropical Crops*. London: Academic Press, **pp**: 279-313.

Alvim R., Nair P. 1986. Combination of cocoa with other plantation crops: an agroforestry system in southeast Bahía, Brasil. *Agroforestry System* **4**: 3-15.

Araujo W., Dias P., Moraes G., Celin E., Cunha R., Barros R., DaMatta F., 2008. Limitations to photosynthesis in coffee leaves from different canopy positions. *Plant Physiology Biochemistry* **46**: 884-890.

Asada K. 1999. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual Review, Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **50**: 601-639.

Baker N., Hardwick K. 1973. Biochemical and physiological aspects of leaf development in cacao (*Theobroma cacao*). I. Development of chlorophyll and photosynthetic activity. *New Phytologist* **72**:1315-1324.

Baker N., Hardwick K. 1976. Development of photosynthetic apparatus in cacao leaves *Photosynthetica* **10**:361-366.

Balasinha D., Daniel E., Bhat P. 1991. Influence of environmental factor on photosynthesis in cocoa trees. *Agriculture Forest Meteorology* **55**:15-21.

Baligar V., Bunce J., Machado R., Elson M. 2008. Photosynthetic photon flux density carbon, dioxide concentration and vapor pressure deficit effects on photosynthesis in cacao seedlings. *Photosynthetica* **46**: 216-221.

Barrera L. 2006. Respuesta de la clorofila a y la fotosíntesis al déficit hídrico y diferentes condiciones de luz en dos variedades de Cacao (*Theobroma cacao* L). *Tesis de Licenciatura. Departamento de Biología. Universidad de los Andes.* pp 65.

Barros F., Goulart M., Sá Telles S., Lovato M, Valladares F., De Lemos-Filho. 2011. Phenotypic plasticity to light of two congeneric trees from contrasting habitats: Brazilian Atlantic Forest *versus* cerrado (savanna) *Plant Biology* **14(1)**: 208–215.

Bautista A., Necchi J. 2007. Photoacclimation in three species of freshwater red algae. Braz. *Journal of Plant Physiology* **19(1)**: 23-34.

Bazzaz F., Morse S. 1991. The Response of Annual Plants to Multiple Stresses. Winnert W, Pell E, Mooney HA, editores. San Diego (California), pp: 283-299.

Bilger W., Schreiber U., Bock M. 1995. Determination of the quantum efficiency of photosystem II and of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in the field. *Oecologia* **102(4)**: 425-432.

Björkman O. 1981. Responses to different quantum flux densities. En: *Encyclopedia of Plant Physiology*. Vol. I. New Series. Eds. O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond and H. Ziegler. Springer-Verlag, Berlin, **pp**: 57–107.

Boardman N. 1977. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. *Annual Review, Plant Physiology* **28**:355–377.

Cai Z., Rijkers T., Bongers F. 2005. Photosynthetic acclimation to light changes in tropical monsoon forest woody species differing in adult stature. *Tree Physiology* **25**: 1023–1031.

Chambel M., Climent J., Alía R., Valladares F. 2005. Phenotypic plasticity: a useful framework for understanding adaptation in forest species. *Investigación agraria: Sistemas y recursos forestales* **14**: 334-34.

Chaves A., Ten-Caten A., Pinheiro H., Ribeiro A., DaMatta F. 2008. Seasonal changes in leaf photoprotective mechanisms of leaves from shaded and unshaded field-grown coffee (*Coffea arabica* L.) trees. *Trees* **22**: 351-361.

Chiariello N., Mooney A., Williams K. 1989. Growth, carbon allocation and cost of plant tissues. En: *Plant Physiological Ecology*. Pearcy R.; Ehleringer J.; Mooney H.A.; Rundel P.E. (eds). Chapman & Hall. Londres **pp**: 327-365.

Cornic, G., Massacci, A. 1996. Leaf photosynthesis under drought stress. In: Baker NR, ed. *Photosynthesis and the Environment*. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers **pp:** 347-366.

Cubillo O. 1993. Desarrollo de un sistema sostenible cacaoplátano-maderables en la región central de Costa Rica. En: *Seminario Regional” Sombras y cultivos asociados con cacao”* Phillips-Mora. W. (ed) Catie Turrialba. Costa Rica. **pp:** 176-178

DaMatta F., Ronchi C., Barros R., Maestri M. 2007. Ecophysiology of coffee growth and production. *Brazilian Journal of Plant Physiology* **19:** 485-510.

Daymond A., Tricker P., Hadley P. 2011. Genotypic variation in photosynthesis in cacao is correlated with stomatal conductance and leaf nitrogen. *Biologia Plantarum* **55 (1):** 99-104.

Demmig-Adams B., Adams W., Baker D., Logan B., Bowling D. 1996. Verhoeven A.S.: Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. *Physiologia Plantarum* **98:** 253-264.

Demmig-Adams B., Adams W. 2006. Photoprotection in an ecological context: The remarkable complexity of thermal energy dissipation. *New Phytologist* **172:** 11-21.

Fahl J., Carelli M., Vega J., Magalhães A. 1994. Nitrogen and irradiance levels affecting net photosynthesis and growth of young coffee plants (*Coffea arabica* L.). *Horticultural Science & Biotechnology* **69:** 161-169.

Fay P., Knapp A. 1993 Photosynthetic and stomatal responses of *Avena sativa* (Poaceae) to a variable light environment. *American Journal of Botany* **80:** 1369-1373.

Genty B., Briantais J., Baker N. 1989. The relationships between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica* **990**: 87-92.

Gianoli E. 2004a. Plasticity of traits and correlations in two populations of *Convolvulus arvensis* (Convolvulaceae) differing in environmental heterogeneity. *International Journal of Plant Sciences* **165**: 825-832.

Gianoli E. 2004b. Plasticidad fenotípica adaptativa en plantas. En: Cabrera, H. (ed). *Fisiología ecológica en plantas mecanismos y respuestas a estrés en los ecosistemas*. EUV Valparaíso Chile **pp**: 13-25.

Gómez A., Azocar A. 2002. Áreas potenciales para el desarrollo del cultivo de cacao en el Estado Mérida. *Agronomía Tropical* **52(4)**: 403-425.

González E. 2007. Denominación de origen Cacao Chuao. *Consultoría realizada para la FAO y el IICA en el marco del estudio conjunto sobre los productos de calidad vinculada al origen* **pp**: 1-62.

Goodchild D., Bjorkman O., Pyliotis, N. 1972. Chloroplast ultrastructure, leaf anatomy, and content of chlorophyll and soluble protein in rainforest species. *Yearb* **71**: 102-7.

Graham L., Strong, Bannister P., Burritt D. 2000. Are Mistletoes Shade Plants? CO₂ Assimilation and Chlorophyll Fluorescence of Temperate Mistletoes and their Hosts *Annals of Botany* **85**: 511-519.

Guers J. 1985. Potentialites photosynthétiques du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) en fonction de l'éclairage, de la température et du CO₂ ambiant. *Cafe', Cacao, The'* **(29)**: 245-254.

Harper J. 1977. *Population biology of plants*. Academic Press London United Kingdom **pp** 892.

Huner N., Öquist, Hurry N., Krol M., Falk S., Griffith M. 1993. Photosynthesis, photoinhibition and low-temperature acclimation in cold tolerant plants. *Photosynthesis Research* **37**: 19-39.

Hutcheon W. 1977. Water reations and other factors regulating the seasonal periodicity and productivity of cacao in Ghana. *Proceeding of the 5th International Cacao Conference* Ibadan Nigeria **pp**: 233-244.

Huxley P. 2001. Multipurpose trees: biological and ecological aspects relevant to their selection and use. En: *Tree Crop Ecosystems*. Last F. (ed). Elsevier, Amsterdam **pp**: 19-74.

Jaimez R., Franco W. 1999. Producción de hojarasca, aporte de nutrientes y descomposición en sistemas agroforestales de cacao con frutales. *Agrotropica* **11(1)**: 1-8.

Jaimez R., Tezara W., Coronel I. 2008. Ecofisiología del cacao (*Theobroma cacao*): su manejo en el sistema agroforestal. Sugerencias para su mejoramiento en Venezuela. *Revista Forestal Venezolana* **52(2)**: 253-258.

Jensen W. 1962. *Botanical Histochemistry: Principles and Practice*. Freeman. San Francisco, EEUU. **pp**: 389.

Joly R., Hahn D. 1989. Net assimilation of cacao seedlings during periods of plant water deficit. *Photosynthesis research* **21**:151-159.

Krall JP., Edwards GE. 1992. Relationship between photosystem II activity and CO₂ fixation in leaves. *Physiologia Plantarum* **86**: 180-187.

Kitajima K. 1994. Relative importance of photosynthetic traits and allocation patterns as correlates of seedling shade tolerance of 13 tropical trees. *Oecologia* **98**: 419-428.

Kumar D., Tieszen L. 1980. Photosynthesis in *Coffea arabica*. I. Effects of light and temperature. *Experimental Agriculture* **16**:13-19.

Laisk A., Oja, V., Rasulov, B., Eichelmann, H., Sumberg, A. 1997. Yields and Rate Constants of Photochemical and Nonphotochemical Excitation Quenching (Experiment and Model). *Plant Physiology* **115**: 803-815.

Larcher W. 1995. Physiological Plant Ecology. En: *Ecophysiology and Stress Physiology of Function Groups* (3rd edition). Springer Verlag. Berlin-Heidelberg.

Lambers H., Chapin I., Pons T. 1998. *Plant Physiological Ecology*. Springer-Verlag, New York pp: 540.

Liang N., Tang, Y., Okuda, T. 2001. Is elevation of carbon dioxide concentration beneficial to seedling photosynthesis in the understory of tropical rain forests? *Tree Physiology* **21**: 1047-1055.

Lincoln R., Boxshall G., Clark P. 1982. En: *A dictionary of ecology evolution and systematics*. Cambridge University Press Cambridge United Kingdom pp: 298.

Lusk C., Reich P., Montgomery R., Ackerly D., Cavender-Bares J. 2008. Why are evergreen leaves so contrary about shade? *Trends in Ecology & Evolution* **23**: 299-303.

Matos F., Wolfgramm R., Gonçalves F., Cavatte P., Ventrella M., DaMatta F. 2009. Phenotypic plasticity in response to light in the coffee tree. *Environmental and Experimental Botany* **67**: 421-427.

Maxwell K., Johnson G. 2000. Chlorophyll fluorescence a practical guide. *Journal of Experimental Botany* **51**: 659–668.

McMillen G., McClendon J. 1983. Dependence of Photosynthetic Rates on Leaf Density Thickness in Deciduous Woody Plants Grown in Sun and Shade. *Plant Physiology*. **72**: 674-678.

Mittler R. 2002. Oxidative stress antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* **7**: 405-410.

Miyaji K., Silva W., Alvim P. 1985. Atividade fotossintética em folhas dos cacauzeiros (*Theobroma cacao* L.) em duas estações do ano. En: *Informe Técnico, Centro de Pesquisas do Cacau*. Ilhéus Brasil **pp**: 122-125.

Miyaji K., Silva W., Alvim P. 1997. Productivity of Leaves of a Tropical Tree, *Theobroma cacao*, Grown Under Shading. Relation to Leaf Age and Light Conditions within the Canopy. *New Phytologist* **137(3)**: 463-472.

Moraes G., Chaves A., Matins S., Barros R., DaMatta F. 2010. Why is it better to produce coffee seedlings, a plant native to shaded habitats in full sunlight than in the shade? *Photosynthetica* **48(2)**: 199-207.

Niinemets Ü. 2007. Photosynthesis and resource distribution through plant canopies. *Plant, Cell & Environment* **30**: 1052-1071.

Niinemets Ü., Kull K. 1994. Leaf weight per area and leaf size of 85 Estonian woody species in relation to shade tolerance and light availability. *Forest Ecology and Management* **70**: 1-10.

Osmond C. 1994. What is photoinhibition? Some insights from comparisons of shade and sun plants. En: Baker N.; Bowyer J. (eds). *Photoinhibition of Photosynthesis: from Molecular Mechanisms to the Field*. BIOS Scientific Publishers Oxford **pp**: 1-24.

Öquist y Npahuner. 1993 Cold - hardening - induced resist an ceto photoinhibition of photosynthesis in winter Rye is dependent upon an increased capacity for photosynthesis. *Planta* **189**: 150-156.

Palacio-López K. y Rodríguez-López N. 2007. Plasticidad fenotípica en *Lippia alba* (verbenaceae) en respuesta a la disponibilidad hídrica en dos ambientes lumínicos. *Acta Biológica Colombiana* **12**: 187 – 198.

Paredes A. 1993. Asociación de cacao con Palmáceas. En: Seminario Regional “*Sombras y cultivos asociados con cacao*” Phillips-Mora (ed.) Catie. Turrialba, Costa Rica. **pp**:83-90

Pereyra G. 2007. Eficiencia de uso de agua en diferentes cultivares de germoplasma de cacao (*Theobroma cacao* L.) en Venezuela. *Tesis de Licenciatura. Departamento de Biología. Universidad Central de Venezuela* **pp**: 64.

Porras V., Sánchez L. 1991. Enfermedades del cacao. En: Fundación Hondureña de investigación agrícola, La Lima, Cortés, Honduras **pp**: 7-27.

Rada F., Jaimez R., García-Núñez C., Azócar A. 2005. Relaciones hídricas e intercambio de gases en *Theobroma cacao* var. Guasare bajo períodos de sequía. *Revista de la Facultad de Agronomía de LUZ* **22**: 112-120.

Rodríguez M. 1993. Especies de sombra utilizadas en Nicaragua. En: *Seminario Regional “Sombras y cultivos asociados con cacao”*. Phillips-Mora (ed.) Catie. Turrialba, Costa Rica. pp: 187-189.

Sánchez P., Morillo F., Tortolero J. 2000. El sistema de producción de cacao (*Theobroma cacao* L.) en Venezuela: situación actual y perspectiva. En: *Informe final. Ministerio de Ciencia y Tecnología. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas*. Estación Experimental del Estado Miranda Venezuela **pp:** 1-11.

Sultan S. 2000. Phenotypic plasticity for plant development, function, and life-history. *Trends in Plants Science* **5**(12): 537-542.

Taiz L., Zeiger E. 1991. Photosynthesis: Physiological and ecological considerations. En: *Plant Physiology*. Benjamin Cummings **pp:** 250-251.

Tausend P., Goldstein G., Meinzer F. 2000. Water utilization plant hydraulic properties and xylem vulnerability in three contrasting coffee (*Coffea arabica*) cultivars. *Tree Physiology* **20**: 159–168.

Tezara W., Coronel I., Urich R., Marín O., Jaimez R., Chacón I. 2009. Plasticidad ecofisiológica de árboles de cacao (*Theobroma cacao* L.) en diferentes ambientes de Venezuela. En: *III Congreso Latinoamericano de Ecología y IX Congreso de Ecología de Brazil*. São Lorenço **pp:** 5.

Thiele A., Krause G., Winter K. 1998. *In situ* study of photoinhibition of photosynthesis and xanthophyll cycle activity in plant growing in natural gaps of the tropical forest. *Australian Journal of Plant Physiology* **25**: 189-195.

Tognetti R., G. Minotta S., Pinzauti M., Michelozzi M., Borghetti. 1998. Acclimation to changing light conditions of long-term shade-grown beech (*Fagus sylvatica* L.) seedlings of different geographic origins. *Trees* **12**: 326-333.

Valladares F., Aranda I., Sánchez D. 2004. La luz como factor ecológico y evolutivo para las plantas y su interacción con el agua. En: F. Valladares (ed.). *Ecología del Bosque Mediterráneo en un Mundo Cambiante*. Ministerio de Medio Ambiente, EGRAF. Madrid **pp**: 335-369.

Valladares F., Arrieta S., Aranda I., Lorenzo D., Tena D., Sánchez D., Suarez F., Pardos J. 2005. Shade tolerance photoinhibition sensitivity and phenotypic plasticity of *Ilex aquifolium* in continental-Mediterranean sites. *Tree Physiology* **25**: 1041-1052.

Valladares F., Chico I., Aranda L., Balaguer P., Dizengremel E., Dreyer. 2002a. The greater seedling high-light tolerance of *Quercus robur* over *Fagus sylvatica* is linked to a greater physiological plasticity. *Trees* **16**:395-403.

Valladares F., Gianoli E., Gómez J. 2007. Ecological limits to plant phenotypic plasticity. *New Phytologist* **176**: 749-763.

Valladares F., Niinemets Ü. 2008. Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* **38**: 237–257.

Valladares F., Sánchez D., Zavala M. 2006. Quantitative estimation of phenotypic plasticity. *Journal of Ecology* **94**: 1103-1116.

Valladares F., Skillman J., Percy. 2002b. Convergence in light capture efficiencies among tropical forest understory plants with contrasting crown architectures: a case of morphological compensation. *American Journal of Botany* **89**: 1275-1284.

Valladares F., Wright J., Lasso E., Kitajima K., Percy R. 2000. Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rainforest. *Ecology* **81**: 1925-1936.

Walters R. 2005. Towards an understanding of photosynthetic acclimation. *Experimental Botany* **56**: 435-447.

Wellburn A. 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **144**: 307-313.

Wright S., Muller-Landau C., Condit R., Hubbell P. 2003. Gap-dependent recruitment, realized vital rates, and size distributions of tropical trees. *Ecology* **84**: 3174-3185.

REFERENCIAS ELECTRÓNICAS:

Ecosistemas. Manrique E. 2003. Los pigmentos fotosintéticos, algo más que la captación de luz para la fotosíntesis. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=54012108>. [Consulta: 16 de diciembre de 2011].

Quercus. Zamora y col. 2001. El papel de los matorrales en la regeneración forestal. Disponible en: <http://www2.uah.es/pedrovillar/Docencia/Ecologia%20Grado%20Biologia/Archivos/Zamora%20et%20al%202001%20Facilitacion.pdf>. [Consulta: 10 de febrero de 2011].