

## Efecto de la concentración del potasio ( $K^+$ ) sobre el desarrollo morfológico y procesos fisiológicos de plántulas de cinco genotipos de *Theobroma cacao* L.

**Effects of Potassium ( $K^+$ ) concentration on the morphological development and physiological processes of seedlings of five genotypes of *Theobroma cacao* L.**

### Juan Felipe Tamayo-Ramírez

Grupo de Biotecnología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia, Colombia.

### Laura Michell Carmona-Rojas\*

Grupo de Biotecnología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia, Colombia.

### Aura Inés Urrea-Trujillo

Grupo de Biotecnología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia, Colombia.

### Revista de la Facultad de Agronomía

Universidad Nacional de La Plata, Argentina

ISSN: 1669-9513

Periodicidad: Semestral

Vol. 121 (Num. Esp. 2), 2022

redaccion.revista@agro.unlp.edu.ar

Recepción: 31/07/2022

Aprobación: 18/08/2022

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/23/233546006/>

DOI: <https://doi.org/10.24215/16699513e094>

\*Autor de correspondencia: [laura.carmona@udea.edu.co](mailto:laura.carmona@udea.edu.co)



## Resumen

Entre las diferentes acciones encaminadas a mejorar la tecnificación del cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) se encuentra la optimización de sus condiciones de crecimiento. Para ello, identificar sus requerimientos nutricionales, es una de las estrategias que permite mejorar el material vegetal. Entre los nutrientes esenciales, se seleccionó el potasio como uno de los elementos fundamentales para la regulación de procesos hídricos, enzimáticos, iónicos y de osmorregulación. Así, se buscó profundizar en la optimización de los niveles de potasio para diferentes genotipos de cacao. En este estudio se evaluó el efecto de diferentes concentraciones y fuentes de K<sup>+</sup> sobre características morfo-fisiológicas de cinco genotipos de *T. cacao*. Principalmente se encontraron diferencias en altura, longitud de raíz y biomasa, entre los clones CCN-51, FSA-13 y FEAR-5, siendo los dos primeros los que registraron valores superiores. Igualmente, se encontró una redistribución de la biomasa de la raíz y el vástago en las plantas crecidas con la menor concentración de potasio (0,16g/planta). Particularmente el índice raíz: vástago para el genotipo CCN-51 fue superior. Respecto a los parámetros fisiológicos se encontraron valores altos en conductancia estomática y fluorescencia de la clorofila para todos los genotipos independientemente de los tratamientos evaluados. Además, las variaciones genéticas entre los genotipos muestran respuestas diferenciales para las condiciones nutricionales evaluadas. Finalmente, los resultados sugieren que las plantas de cacao lograron un desarrollo adecuado al ser suplementadas con 0,16 g de K<sup>+</sup>/planta en esta etapa de crecimiento, y ambas fuentes, KNO<sub>3</sub> y KCl, son adecuadas para el suministro de este nutriente.

**Palabras clave:** cacao, nutrición, genotipo, fluorescencia de la clorofila, conductancia estomática

## Abstract

Among the different actions aimed to improve the cultivation technology of cacao (*Theobroma cacao* L.), there is the optimization of its growing conditions. To do this, identifying their nutritional requirements is one of the strategies that allow for improving plant material. Among the essential nutrients, potassium was selected as one of the fundamental elements for the regulation of hydric, enzymatic, ionic, and osmoregulatory processes. Therefore, it was sought to deepen the optimization of this nutrient level for different cocoa genotypes. In this study, the effect of different concentrations and sources of K<sup>+</sup> on morpho-physiological characteristics of five genotypes of *T. cacao* was evaluated. Mainly differences in height, root length, and biomass were found between clones CCN-51, FSA-13, and FEAR-5, the first two being the ones that registered higher values. Similarly, a redistribution of root and shoot biomass was found in plants grown with the lowest potassium concentration (0,16g/plant). In particular, the root: shoot ratio for the CCN-51 genotype was higher. Regarding the physiological parameters, high values were found in stomatal conductance and chlorophyll fluorescence for all genotypes regardless of the treatments evaluated. Additionally, the genetic variations between the genotypes show differential responses to the nutritional conditions evaluated. Finally, results suggest that cocoa plants achieved adequate development when supplemented with 016 g of K<sup>+</sup>/plant at this growth stage, and both sources, KNO<sub>3</sub> and KCl, are adequate for this nutrient supply.

**Keywords:** cacao, nutrition, genotype, chlorophyll fluorescence, stomatal conductance

## INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao* L.), es una especie frutal de la familia Malvaceae, originaria de las selvas húmedas tropicales de la región colombo-brasileña en América del Sur (Salazar et al., 2018). Esta planta es uno de los principales cultivos perennes del mundo, su producción está concentrada en África (63,2%), seguido de Asia (17,4%) y América Latina (14,1%), siendo Ecuador y Brasil los principales países productores de cacao (Wickramasuriya & Dunwell, 2018). El gran aprecio por este fruto deriva principalmente por ser materia prima clave para la elaboración del chocolate, además de su uso en la industria cosmética y farmacológica (ICCO, 2017; Van Vliet & Giller, 2017).

En Colombia, el cacao se ha priorizado en la última década como uno de los productos agrícolas con mayor potencial e importancia, esto gracias al reconocimiento mundial de la calidad de los genotipos que se cultivan en el país. Según la ICCO (The International Cocoa Organization), el 95% del cacao exportado por Colombia se considera como fino en sabor y aroma (Contreras Pedraza, 2017). En este sentido, se busca transformar este cultivo en uno de los principales productos de exportación agrícola (Abbott et al., 2018). Sin embargo, su productividad es baja, alcanzando sólo cerca del 0,96% de la cuota mundial (Pabón, 2016). Este comportamiento deriva de varios factores, donde se incluyen la baja tecnificación, la poca calidad de algunos materiales que se llevan a campo, la debilidad en la implementación de esquemas nutricionales óptimos para cada etapa fenológica del cultivo. Esto se suma a que dichos esquemas no responden o no son acordes con los genotipos sembrados y las condiciones edafoclimáticas de las distintas regiones de producción del país.

Como respuesta a estos desafíos presentados en la producción del cacao, se busca profundizar en la tecnificación del cultivo, mejorando la calidad del material vegetal que se transfiere a campo. Las plántulas usadas en la mayoría de las plantaciones provienen de un proceso de injertación, en el cual se cuenta con un material usado como patrón que aporta el sistema radicular y generalmente es obtenido a partir de semilla y un material usado como copa que se obtiene de la ramilla del árbol y aporta la genética para la formación de los frutos (Sena & Sodré, 2015).

Las prácticas agrícolas que se implementen en esta etapa son cruciales para asegurar características fisiológicas y sanitarias óptimas, garantizando árboles vigorosos para las etapas subsecuentes (Gómez & Ormeño, 2013). Por ejemplo, en Ghana uno de los mayores productores de cacao, la supervivencia de las plantas trasladadas a campo es sólo del 20% (Kaba et al., 2022). Por esta razón, avanzar en el proceso de tecnificación, permite proveer las herramientas y estudios que aporten en la generación de procesos de optimización de las condiciones de crecimiento de las plantas desde su primera etapa de desarrollo. Además de la caracterización de la respuesta de los diferentes genotipos a condiciones variables de crecimiento, buscando disminuir las tasas de mortalidad del material vegetal, incrementar las productividades y mejorar la competitividad del cultivo.

Entre las principales líneas de trabajo y materia principal de este estudio, se ha identificado la importancia de intervenir en la elaboración de los planes nutricionales, en los cuales, se busca suplementar los nutrientes necesarios para un correcto funcionamiento de los procesos biológicos de la especie, mejorando la calidad del fruto, la resistencia a patógenos y desde el punto de vista económico menores costos en la producción. De los primeros trabajos realizados para cacao se encuentran las investigaciones adelantadas por Thong & Ng., (1980), quienes diseñaron para la etapa del cultivo en invernadero un programa de fertilización. Más tarde Lizarazo et al., (2016) retomaron esta investigación y evaluaron el efecto de los diferentes niveles de macronutrientes, logrando demostrar que se alcanzan altas tasas de producción de biomasa suplementando el cultivo con cerca del 50% de la concentración de n tr geno y potasio sugerida en el estudio anterior. Estas y otras investigaciones demuestran que no existe un consenso frente a los planes nutricionales para el crecimiento de las plantas de cacao en esta etapa del desarrollo (Malavolta et al., 1997; Chepote et al., 2013; Kaba et al., 2022). Algunas de las principales razones que explican porque no es eficiente, ni eficaz establecer un plan nutricional único para las plantas de cacao, obedece a factores que incluyen, la falta de estudios relacionados con la identificación de las demandas nutricionales específicas de cada genotipo, el limitado avance en el establecimiento de los niveles óptimos de todos los nutrientes, en combinación con las condiciones ambientales particulares de cada región productora.

Entre todos los elementos que se aportan en mayores cantidades para suplir los requerimientos nutricionales de las plantas de cacao, se encuentra el potasio. Este elemento es un macronutriente esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas, desempeñando funciones vitales en muchos procesos

fisiológicos, como metabolismo primario, equilibrio catiónico-aniónico, presión de turgencia, fotosíntesis, procesos de transporte electrogénico, osmorregulación, activación de múltiples enzimas, síntesis de proteínas, entre otros (Hawkesford et al., 2012). Además, juega un papel crucial en diferentes resistencias al estrés abiótico y biótico, incluyendo la salinidad, la sequía y el anegamiento (Hasanuzzaman et al., 2018). En el árbol de cacao este elemento se acumula en altas concentraciones a nivel del fruto, especialmente para la formación de la cascara, en niveles superiores respecto a otros nutrientes como N y P (Furcal-Beriguete, 2017). Además, es fundamental para la formación de la estructura vegetativa (Calvo-Romero, 2018).

Para esta especie existen pocos estudios centrados en la respuesta morfo-fisiológica y bioquímica de las plantas a diferentes concentraciones o aportes del potasio en etapas tempranas del crecimiento (Shaban, 2010; Gattward et al., 2012; Li et al., 2013; Kaba et al., 2022). De estas investigaciones se resalta el efecto de la disponibilidad potasio en los diferentes procesos fisiológicos, en la distribución de la biomasa entre los órganos, así como la respuesta diferencial de cada genotipo a las concentraciones variables de este nutriente. Particularmente se ha identificado, que las variaciones genéticas intraespecíficas de la especie, han conferido a cada genotipo capacidades de respuesta diferenciales ante las condiciones nutricionales o ambientales (Baligar et al., 2018; Puentes-Páramo et al., 2016; Santiago et al., 2016). Por lo cual, la caracterización de las eficiencias de absorción y traslocación de los nutrientes, contribuyen en la identificación de las demandas de cada genotipo, con el propósito de orientar el diseño de planes de fertilización específicos.

Con esta investigación se buscó identificar los aportes del elemento potasio en la nutrición de las plantas de cacao y su respuesta en diferentes genotipos; con el propósito de aportar en la optimización de los planes nutricionales de este cultivo, así como en la caracterización de los rasgos morfo-fisiológicos de genotipos de interés. Para ello se evaluó, en cinco genotipos de cacao, el efecto de concentraciones y fuentes diferenciales de potasio, a través del registro de diferentes parámetros morfo-fisiológicos, en plantas que se encontraban en etapa vegetativa.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **MATERIAL VEGETAL Y CONDICIONES DE CRECIMIENTO**

Para este estudio se seleccionaron cinco genotipos de la especie *T. cacao*: CCN-51, FSA-13, ICS-39, EET-8, y FEAR-5, procedentes de los jardines clonales de Ecoyuma (Victoria-Caldas), los cuales fueron obtenidos mediante polinización abierta. El proceso de germinación se realizó en aserrín húmedo, en completa oscuridad y bajo condiciones de laboratorio. Pasadas 48h de germinación se transfirieron las semillas que presentaron una radícula de 2mm a bolsas plásticas de cultivo de 40cm x 15cm, con un sustrato compuesto por sustrato de coco y turba en una proporción de 3:1, respectivamente. El experimento se llevó a cabo bajo condiciones de vivero en la Universidad de Antioquia (Medellín, Colombia). Las plantas crecieron bajo polisombra al 60%, a una temperatura ambiental promedio de  $26\pm 3^{\circ}\text{C}$  y humedad relativa promedio de  $75\pm 5\%$ .

Una vez las plántulas formaron el segundo par de hojas verdaderas (un mes después de germinadas), fueron suplementadas con los nutrientes esenciales y tratamientos seleccionados de  $\text{K}^+$ . Semanalmente se adicionó 100mL de una solución nutritiva a cada planta, para proporcionar la misma cantidad de macro y micronutrientes, de acuerdo a lo reportado por Li et al., (2015) (Tabla 1). Para suplementar el  $\text{K}^+$  se evaluaron tres concentraciones, 0,16; 0,31 y 1,24 g/planta, usando KCl como fuente del elemento. Adicionalmente, se evaluaron dos concentraciones de  $\text{K}^+$ : 0,31 y 1,24 g/planta, proporcionadas mediante  $\text{KNO}_3$ , para un total de 5 tratamientos. Las concentraciones de  $\text{K}^+$  evaluadas en este estudio, se seleccionaron de acuerdo a lo reportado por Thong & Ng., (1980) y Lizarazo et al., (2016).

### **MEDICIONES DE CRECIMIENTO**

Una vez iniciada la fertilización se registró el número de hojas, altura del vástago y grosor del tallo cada 30 días durante la duración del experimento. Al final del ensayo se retiró el sustrato de las raíces usando agua de grifo y se registró la longitud de la raíz primaria. Adicionalmente, se registró el peso seco de las raíces, tallo y hojas, el cual fue obtenido después de secar el material vegetal a  $65^{\circ}\text{C}$  durante 48h. La biomasa seca fue utilizada para determinar el índice raíz:vástago (R:V) y cuantificar el contenido de  $\text{K}^+$  en las raíces y el vástago (hojas + tallo) mediante absorción atómica. Este último análisis fue realizado por el Laboratorio de Suelos de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín.

**Tabla 1**  
Composición de la solución nutricional

Nutriente	Concentración semanal (g/planta)	Formula química
<b>N*</b>	0,1691	NH <sub>3</sub>
<b>P*</b>	0,0997	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
<b>Mg</b>	0,0413	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O
<b>Ca</b>	0,060	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O
<b>S*</b>	0,0381	S
<b>Fe</b>	6,14×10 <sup>-3</sup>	FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O
<b>Zn*</b>	5,714×10 <sup>-3</sup>	Zn
<b>Cu</b>	1,016×10 <sup>-5</sup>	CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O
<b>Mn</b>	2,912×10 <sup>-4</sup>	MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O
<b>Mo</b>	4,701×10 <sup>-5</sup>	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O
<b>Ni</b>	1,76×10 <sup>-5</sup>	NiSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O
<b>Bo</b>	2,22×10 <sup>-4</sup>	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>

\* Estos elementos fueron aportados a partir del formulado MicroEssentials ® MONOMEROS SA

### CONDUCTANCIA ESTOMÁTICA

El registro de la conductancia estomática se realizó a partir del tercer mes, cada 30 días hasta finalizar el experimento. Las mediciones se realizaron con un Porómetro de estado estacionario (Leaf METER SC-1 ®). Para este análisis se seleccionaron 3 hojas jóvenes totalmente desarrolladas por planta, desde la tercera hasta la quinta hoja a partir del ápice. Las medidas se realizaron en la región central de la cara abaxial, sin incluir la vena media. Todas las mediciones se realizaron entre las 06:00h y 10:00h; registrando el flujo de vapor de agua a través de los estomas en mM.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>.

### FLUORESCENCIA DE LA CLOROFILA

Simultáneamente, se realizaron medidas de la fluorescencia de la clorofila, en 4 hojas jóvenes totalmente desarrolladas por planta. Para esto, se instalaron clips en la región central de las hojas sin incluir la vena media, para adaptarlas a la oscuridad durante mínimo 15 minutos. Luego se emitió un pulso lumínico de 3500µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> de 627 nm durante un segundo con el fluorómetro Pocket PEA (Hansatech Instruments Ltd. ®). La señal de emisión de la fluorescencia fue registrada con el sistema de adquisición de datos del equipo. Los parámetros obtenidos fueron calculados usando el software PEA Plus (Hansatech Instruments Ltd. ®). La variable analizada para determinar la eficiencia fotosintética fue el rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (Fv/Fm).

### CARACTERIZACIÓN DEL SUSTRATO

El sustrato fue caracterizado tanto física como químicamente en el laboratorio de Suelos de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Adicionalmente, al inicio y al final del experimento se registró el pH y la electroconductividad del suelo circundante a las raíces de las plantas con equipo pH/EC/TDS HANNA®.

### DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Cada planta se trató como una unidad experimental, en total se tuvieron 4 plantas de cada genotipo para cada tratamiento, para así tener un modelo 5x5x4 y un total de 100 plantas. Los análisis estadísticos se realizaron por medio del lenguaje de programación R (versión 4.0.3). El modelo lineal de los datos fue analizado mediante un ANOVA desbalanceado dada la naturaleza de los datos, estas pruebas se llevaron a cabo con y sin arreglo factorial, en conjunto con una prueba *post hoc* de Tukey. Para determinar variación en el tiempo se realizaron pruebas t. Para todas las pruebas se consideró un nivel de confianza del 95%.

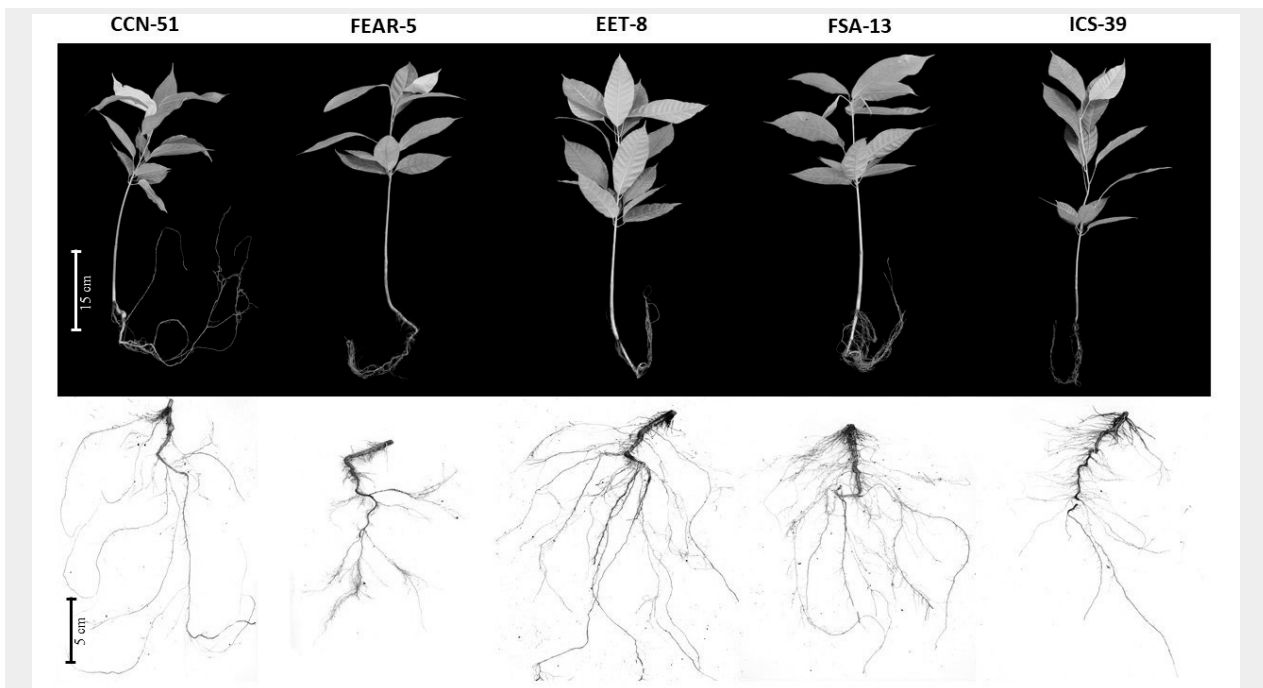
## RESULTADOS

### DIFERENCIAS DEL DESARROLLO MORFOLÓGICO PARA *T. CACAO*

Para este estudio, se evaluó la respuesta de los genotipos CCN-51, FEAR-5, EET-8, FSA-13, e ICS-39, al crecimiento y desarrollo bajo diferentes niveles y fuentes de  $K^+$  durante 150 días en condiciones de vivero. Durante su crecimiento y hasta finalizar la fase experimental, las plantas no mostraron sintomatología a nivel foliar asociada a deficiencia o toxicidad causado por el  $K^+$  (Figura 1).

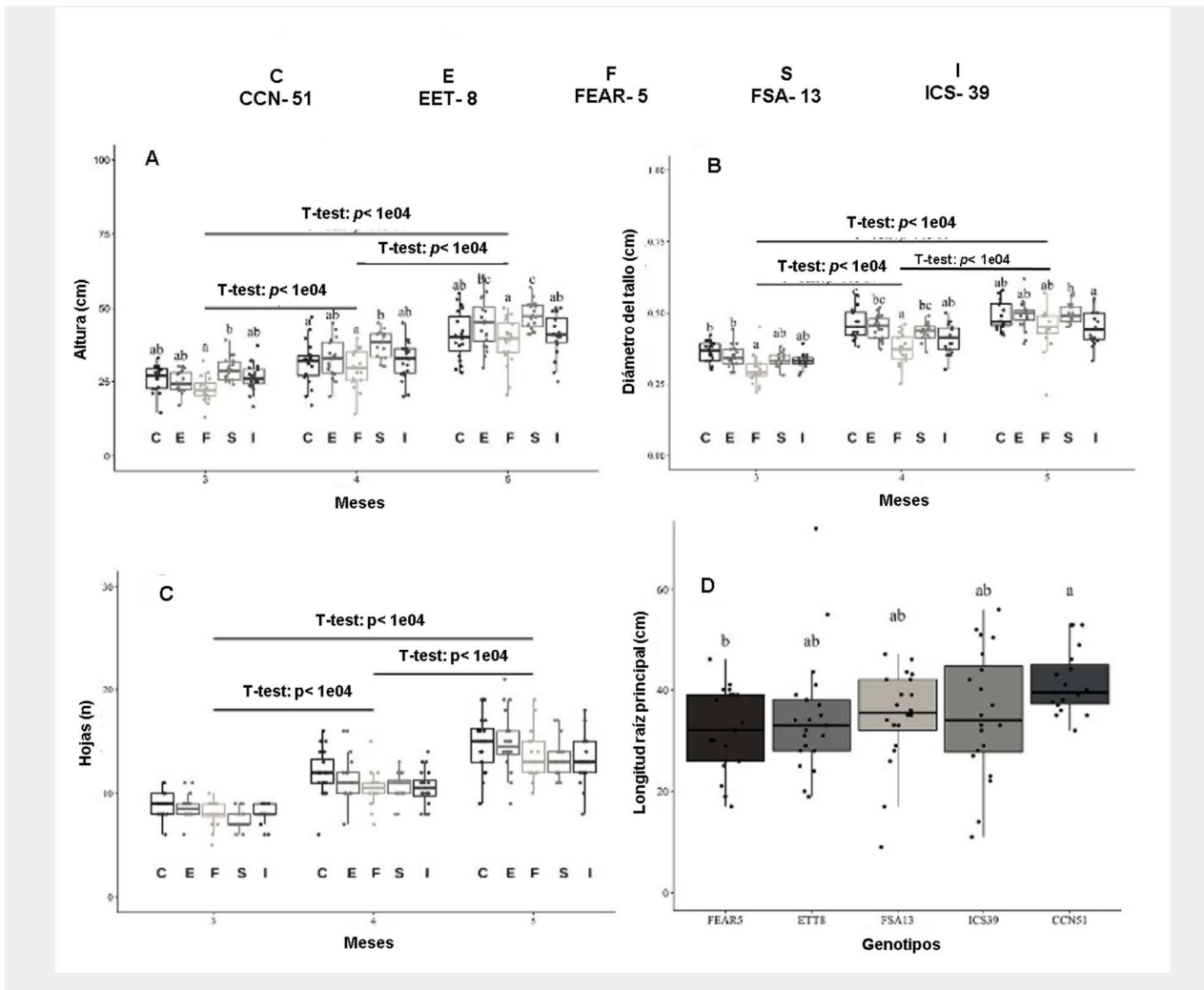
La altura, el diámetro del tallo, el número de hojas y la longitud de la raíz principal, fueron significativamente diferentes entre los genotipos y entre los tiempos analizados (Figura 2). Para el mes cinco, la altura del genotipo CCN-51 fue en promedio de 40,60cm y la de FEAR-5 de 38,62cm, significativamente menores que FSA-13 que presentó una altura promedio de 47,45cm (Figura 2A). Para el diámetro del tallo, en el mes cinco, se hallaron diferencias significativas entre FSA-13 e ICS-39, los cuales presentaron diámetros promedio de 0,50cm y 0,44cm respectivamente (Figura 2B). El número de hojas demostró no ser una variable informativa entre los genotipos para esta etapa de crecimiento (Figura 2C). Por su parte, la longitud de la raíz principal para el genotipo CCN-51 fue de 41,858cm significativamente mayor que la del genotipo FEAR-5 que presentó una longitud de 31,837cm. Los demás genotipos evaluados no presentaron diferencias significativas entre ellos para este parámetro (Figura 2D).

Las concentraciones de  $K^+$  y las fuentes de suministro evaluadas no demostraron tener un efecto estadísticamente significativo entre los genotipos para los parámetros de altura, diámetro del tallo, número de hojas y longitud de la raíz principal ( $p > 0,05$ , Tuckey Test).



**Figura 1**

Arquitectura del vástago y configuración del sistema radicular de los cinco genotipos de *T. cacao* evaluados, crecidos bajo la menor concentración de  $K^+$  evaluada (0,16 g/planta) suplementados con KCl.



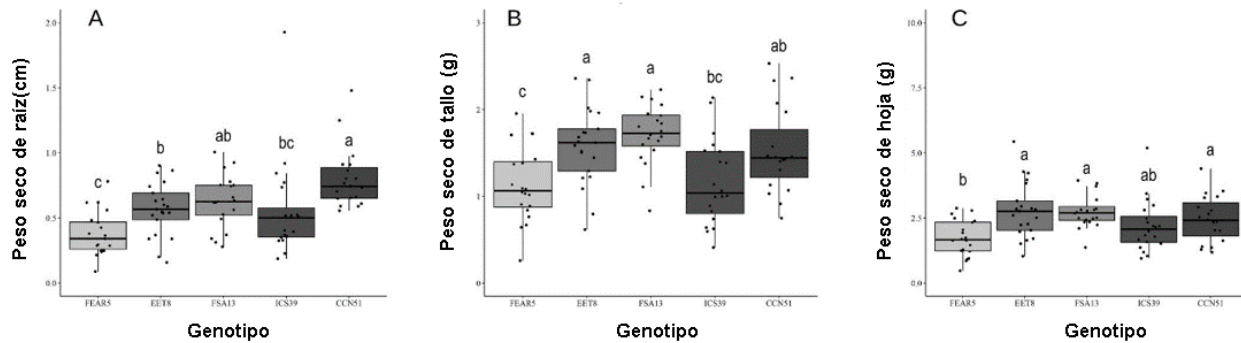
**Figura 2**

Variables morfológicas de las plantas de *T. cacao* registradas durante el experimento. Altura (A), diámetro del tallo (B), número de hojas (C) y longitud de la raíz principal (D) de los genotipos CCN-51, FEAR-5, EET-8, FSA-13 e ICS-39 en los meses tres, cuatro y cinco del experimento. Las letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ , HSD Tuckey Test). Para determinar diferencias significativas entre los tiempos se realizó una prueba t ( $p < 0.05$ ). La longitud de la raíz principal se registró al finalizar el experimento (mes cinco).

### BIOMASA SECA DE LA RAÍZ, TALLO Y HOJAS

Se determinó el peso seco de la raíz, tallo y hojas al final del experimento; estas variables fueron analizadas y comparadas entre los genotipos, las concentraciones de  $K^+$  y las fuentes de suministro de este nutriente (Figura 3A).

Al realizar el análisis estadístico se encontraron diferencias significativas entre los genotipos para el peso seco de estos órganos ( $p < 0,05$ , Tuckey Test). Para la raíz, los genotipos CCN-51, FSA-13, y EET-8 presentaron pesos secos promedio de 0,802g; 0,569g y 0,623g respectivamente, valores que fueron significativamente superiores a FEAR-5 que presentó un peso promedio de 0,387g (Figura 3A). El peso seco del tallo para los genotipos CCN-51, FSA-13 y EET-8 fue de 1,519g; 1,714g y 1,577g respectivamente, pesos significativamente significativamente mayores a FEAR-5 que presentó un peso promedio 1,172g (Figura 3B). El peso seco de las hojas para los genotipos CCN-51, FSA-13 y EET-8, fue en promedio de 2,423g; 3,143g y 2,798g respectivamente, valores significativamente superior a FEAR-5 con un peso promedio de 1,795g (Figura 3C).



**Figura 3**

Biomasa seca de la raíz, tallo y hojas de las plantas de *T. cacao*. Biomasa seca de la raíz (A), tallo (B) y hojas (C) para los genotipos CCN-51, FEAR-5, EET-8, FSA-13 e ICS-39. Las letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas ( $p < 0,05$ , HSD Tukey Test).

Los análisis estadísticos no mostraron diferencias significativas para estas variables cuando se compararon entre las concentraciones de  $K^+$  evaluadas y las fuentes de suministro de este nutriente ( $p > 0,05$ , Tukey Test).

### ÍNDICE RAÍZ:VÁSTAGO

El índice R:V se analizó para todos los genotipos teniendo en cuenta la concentración de  $K^+$  evaluada y la fuente de este nutriente (Figura 4). El genotipo CCN-51 presentó un índice R:V significativamente mayor en la concentración de  $K^+$  más baja comparado con las demás concentraciones. Por su parte, el genotipo ICS-39 en la misma concentración, registró un índice R:V significativamente menor comparado con las demás concentraciones. Los demás genotipos no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos de  $K^+$  para este parámetro.

### CONDUCTANCIA ESTOMÁTICA

Los valores obtenidos para este parámetro en todas las plantas fueron constantes a lo largo del experimento, encontrándose diferencias significativas entre los genotipos únicamente en el mes cuatro (Figura 5A). Para este periodo, los genotipos CCN-51 y FSA-13 registraron conductancias estomáticas promedio de 85,1 y 89,7  $mM \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$  respectivamente, los cuales fueron estadísticamente menores que la conductancia estomática presentada por FEAR-5, que fue de 120,5  $mM \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$  (Figura 5A).

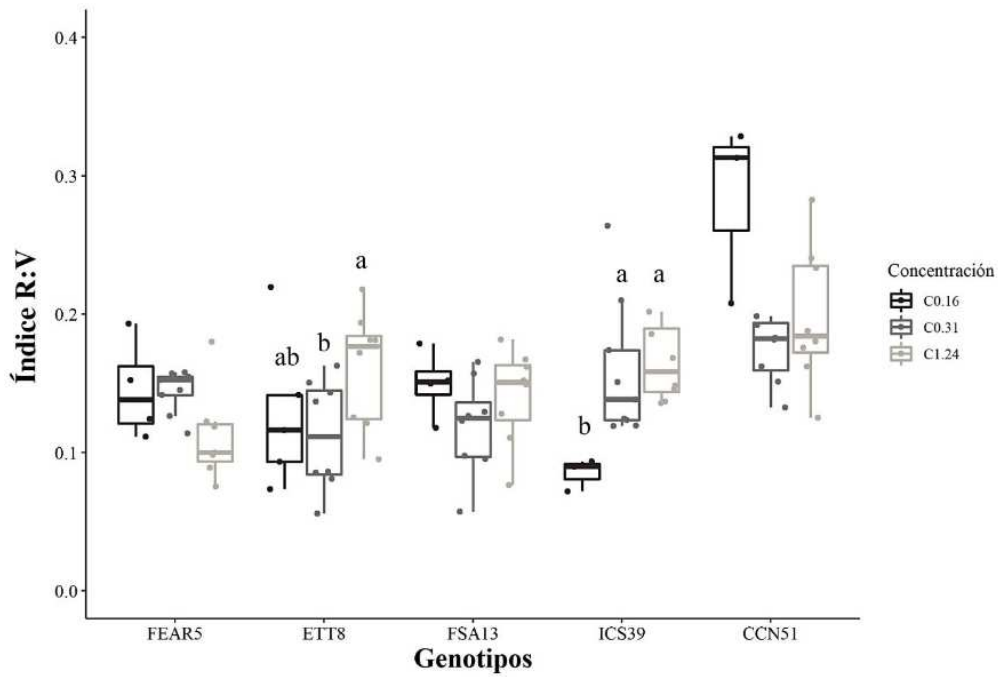
Los análisis estadísticos no demostraron diferencias significativas en este parámetro al compararlo entre las concentraciones de  $K^+$  evaluadas, ni entre las fuentes de este nutriente ( $p > 0,05$ , Tukey Test), además, únicamente se encontró diferencia entre el mes tres y cinco de evaluación ( $t$ -test  $p < 0,05$ ) (Figura 5A).

### FLUORESCENCIA DE LA CLOROFILA ( $F_v/F_m$ )

Con relación a los genotipos, se encontró una disminución general significativa en el  $F_v/F_m$  en el mes cinco con respecto a los meses anteriores ( $t$ -test  $p < 0,05$ ). Para este mes, CCN-51 obtuvo un valor de 0,793 significativamente menor que FEAR-5, FSA-13 e ICS-39 que presentaron valores promedio de 0,808; 0,801 y 0,807 respectivamente. EET-8 con un valor promedio de 0,799 no fue diferente a CCN-51 y FSA-13, pero fue significativamente menor que FEAR-5 e ICS-39 (Figura 5B).

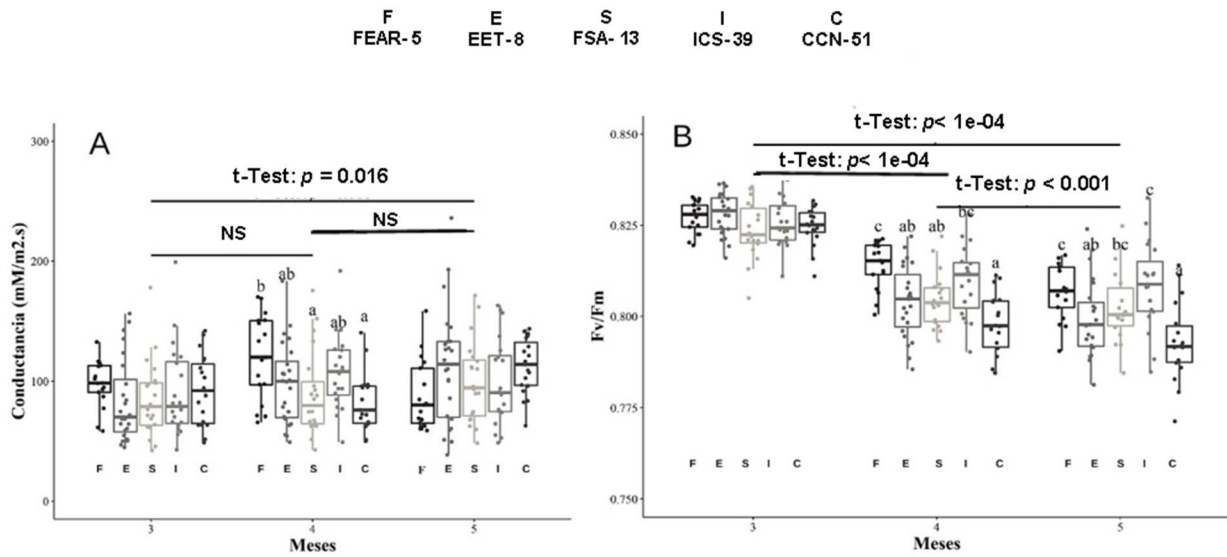
Los análisis estadísticos no mostraron diferencias significativas para estos parámetros al compararlos entre las concentraciones de  $K^+$  evaluadas y las fuentes de suministro de este nutriente ( $p < 0,05$ , Tukey Test), por lo cual, no se puede concluir que hubo una influencia de los tratamientos sobre estas variables.





**Figura 4**

Índice raíz:vástago entre los genotipos CCN-51, FEAR-5, EET-8, FSA-13 e ICS-39 y tratamientos de K<sup>+</sup> evaluados. Las letras diferentes indican diferencias significativas (p < 0,05, HSD Tuckey Test).



**Figura 5**

Parámetros fisiológicos. Conductancia estomática (A), fluorescencia de la clorofila (F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>) (B), entre los genotipos CCN-51, FEAR-5, EET-8, FSA-13, e ICS-39, para el mes tres, cuatro y cinco de crecimiento. Las letras diferentes indican diferencias significativas (p < 0,05, HSD Tuckey Test). Para determinar diferencias significativas entre los tiempos se realizó una prueba t (p < 0,05).

**CONTENIDO DE K EN LAS PLANTAS**

En la Tabla 2 se resumen los porcentajes de K encontrados en la raíz y el vástago de las plantas, para cada uno de los genotipos, las concentraciones de K<sup>+</sup> evaluadas y las fuentes de este nutriente. Los análisis estadísticos realizados para el contenido de K no mostraron diferencias significativas entre los genotipos para la raíz ni para el vástago ( $p > 0,05$ , HSD Tuckey Test), aunque se puede notar una mayor acumulación de K a nivel del vástago. Adicionalmente, se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de este elemento en la raíz al comparar los resultados obtenidos entre las concentraciones evaluadas ( $p < 0,05$ , HSD Tuckey Test). De igual manera, se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de K a nivel del vástago al realizar las comparaciones entre las dos fuentes de este nutriente ( $p < 0,05$ , HSD Tuckey Test).

**Tabla 2**

Contenido de potasio (K) en el vástago y la raíz de las plantas de *T. cacao*.

\*Los valores corresponden al contenido de K en mg/g obtenido a partir de cuatro replicas biológicas ± la desviación estándar (DE). Letras diferentes indican resultados estadísticamente significativos ( $p < 0,05$ , HSD Tuckey Test).

	K en vástago ± DE (mg/g)	K en raíz ± DE (mg/g)
<b>Genotipo</b>		
CCN-51	30,2±3,4	21,0±2,9
FEAR-5	29,8±2,2	18,2±2,4
EET-8	32,1±3,1	17,8±3,9
ICS-39	29,3±3,4	19,2±5,9
FSA-13	29,9±3,3	19,6±3,8
<b>Concentración (g/planta)*</b>		
0,16	28,4±2,9 a	17,5±3,2 a
0,31	29,5±2,0 a	18,4±3,8 a
1,24	31,8±3,5 b	20,9±4,0 b
<b>Fuente</b>		
KCl	29,5±2,4	18,3±3,8
KNO <sub>3</sub>	31,2±3,9	20,5±4,0

**DISCUSIÓN**

**DIFERENCIAS DEL DESARROLLO MORFOLÓGICO ENTRE GENOTIPOS DE T. CACAO**

Las variables morfológicas han sido utilizadas a lo largo del tiempo para determinar la influencia de la nutrición mineral en los patrones de crecimiento de las plantas, ya que, en general, estos responden a la variación en la composición nutricional (Camacho et al., 2002). Para *T. cacao* estas variables han sido ampliamente utilizadas en diversos experimentos a nivel de vivero, para la caracterización de genotipos y en estudios con énfasis en nutrición, en los cuales han sido informativas para detectar el efecto de los tratamientos (Aguirre-Medina et al., 2007; Ribeiro et al., 2013; Santiago et al., 2016; Meza-Calderón et al., 2019).

En *T. cacao* la altura ha sido un parámetro de gran importancia porque permite identificar fácilmente genotipos con potencial de crecimiento superior en etapas tempranas del desarrollo, lo que favorece el éxito en fases de posteriores del cultivo (Kunikullaya, 2018). En este estudio la altura de la planta fue una de las variables morfológicas que resultaron ser más informativas al momento de detectar diferencias entre genotipos. Principalmente se encontraron diferencias entre los clones CCN-51, FSA-13 y FEAR-5, siendo

los dos primeros los que registraron las mayores alturas (Figura 2A). Estudios similares han demostrado un desempeño superior del clon CCN-51 al compararlo con otros clones de interés, lo que sugiere que este genotipo presenta características superiores en su crecimiento y en la producción de biomasa desde etapas tempranas del desarrollo (Aliaga-Gonzales, 2018; Nivelá-Andrade, 2020). Respecto a FSA-13 este es el primer estudio que caracteriza su comportamiento en esta fase del desarrollo.

Otros de los parámetros que han resultado informativos para detectar diferencias entre los genotipos de cacao, son la longitud de la raíz y su biomasa (Quaye et al., 2019). Las diferencias en el sistema radicular en plántulas de *T. cacao* han sido estudiadas en diversas investigaciones con distintos énfasis, en los que se han encontrado variaciones importantes entre los genotipos evaluados (Baligar et al., 2021; Ruseani et al., 2022). En este estudio, el registro de estos parámetros permitió identificar diferencias claras entre los genotipos. Por ejemplo, el genotipo CCN-51 demostró tener valores superiores de longitud de la raíz y biomasa seca, comparado con los genotipos FEAR-5, ICS-39 y EET-8 (Figura 2D y Figura 3A).

La variación en el sistema radicular entre los clones de *T. cacao* tiene implicaciones importantes en el desarrollo y productividad de las plantas, ya que un buen desarrollo de la arquitectura de la raíz conlleva a una mejor absorción de agua y nutrientes, favoreciendo el flujo de estos elementos desde las raíces hasta las hojas, flores y frutos (Furcal-Beriguete, 2017). A su vez, una condición superior en la absorción de agua y nutrientes, puede favorecer la interacción entre las copas y patrones, lo cual es de suma importancia para mejorar el desarrollo de la planta y optimizar la productividad del cultivo (Silveira & Valle, 2017). Otro factor importante para examinar, es que los genotipos con un mejor desarrollo radicular pueden tener un uso potencial como patrones, debido a su mayor capacidad para acceder a los recursos edáficos, como fue el caso del genotipo CCN-51 para este estudio. Este tipo de rasgos, sumado a las características de tolerancia a agentes patógenos del suelo, son fundamentales a considerar en futuros programas de caracterización y selección de patrones de *T. cacao*.

Como se ha discutido anteriormente, los tratamientos nutricionales evaluados no mostraron significancia sobre los parámetros morfológicos. Sin embargo, se encontró una redistribución diferencial de la biomasa de la raíz y el vástago en las plantas crecidas con la menor concentración de potasio (0,16 g/planta). Por ejemplo, para el genotipo CCN-51 el índice R:V fue superior, indicando un mayor desarrollo del sistema radicular en comparación con el vástago. Por el contrario, para ICS-39 el índice R:V fue menor, indicando que hubo una mayor concentración de biomasa en el vástago (Figura 4). En general, una de las estrategias de las plantas para mitigar los efectos de la deficiencia de nutrientes es cambiar la acumulación de biomasa en ciertos órganos. Particularmente, las deficiencias de potasio, en periodos cortos, pueden promover el crecimiento de la raíz, es decir, aumentar el índice R:V, lo opuesto a una condición deficiente de potasio prolongada, en la cual el índice R:V puede reducirse significativamente (Giménez et al., 2013; Jeanguenin et al., 2016). Nuestros resultados indican que, de acuerdo con la concentración de potasio suministrada para el crecimiento de las plantas de cacao, los productos fotosintéticos son dirigidos de manera diferencial a los órganos de la planta, así mismo la respuesta varía de acuerdo con el genotipo.

### **PARÁMETROS FISIOLÓGICOS EN PLÁNTULAS DE *T. CACAO***

La conductancia estomática es un parámetro que se ha utilizado extensamente en diferentes investigaciones realizadas con la especie *T. cacao*, para determinar el efecto de diferentes condiciones de estrés abiótico, incluyendo la deficiencia nutricional (Balasimha et al., 2013; Medina & Laliberte, 2017; Jaimez et al., 2021). Adicionalmente, la conductancia estomática puede variar entre genotipos que crecen bajo condiciones de diferente naturaleza y es un parámetro intrínseco de cada individuo (Kunikullaya, 2018; Susilo et al., 2019; Anokye et al., 2021).

En esta investigación, la conductancia estomática no varió para los genotipos y tratamientos de potasio evaluados (Figura 5A). Recientemente Baligar et al., (2021) demostraron que la conductancia estomática se ve afectada por las condiciones de luz y CO<sub>2</sub>, con una fuerte variación entre los genotipos. Adicionalmente, las variaciones en la disponibilidad de agua en el suelo han demostrado afectar la dinámica de la apertura y cierre de estomas en plántulas de cacao (Zakariyya & Indradewa, 2018). En términos nutricionales, el potasio confiere a las plantas la capacidad de mantener el potencial osmótico y la turgencia de las células guarda, y por lo tanto, este elemento es el mayor osmolito inorgánico que regula la función estomática; por lo que su disponibilidad puede mejorar la resistencia a la sequía y favorecer el intercambio gaseoso en las plantas (Kaba et al., 2022). Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que todas las concentraciones de potasio evaluadas favorecieron una correcta función de los estomas, manteniendo una adecuada conductancia estomática.

La fluorescencia de la clorofila es una de las técnicas más informativas utilizadas para detectar el efecto del estrés biótico y abiótico en los procesos fotosintéticos. Principalmente la relación  $F_v/F_m$  ha sido un indicador sensible del rendimiento cuántico del fotosistema II, por medio del cual es posible conocer el estado de los complejos antena, LCII y los complejos proteicos (Ej. Las proteínas D1 y D2), que componen este fotosistema y determinando su desempeño fotosintético (Baker, 2008; Moreno et al., 2008; Guidi et al., 2019). En este estudio, se encontraron diferencias significativas entre los genotipos evaluados, sin embargo, los valores obtenidos para esta relación fueron cercanos o superiores a 0,80 (Figura 5B). Resultados similares se han encontrado en otros estudios para *T. cacao* donde las plantas no mostraron limitaciones fotoquímicas y registraron valores similares a los de este estudio (Salazar et al., 2018; Lennon et al., 2021). Estos resultados sugieren que las plantas de cacao crecidas en nuestro estudio no exhibieron fotoinhibición y las concentraciones de  $K^+$  evaluadas no representaron condiciones de estrés por déficit de este elemento.

### **CONTENIDO DE K EN LA BIOMASA DE LAS PLÁNTULAS DE T. CACAO**

El contenido nutricional de las plantas depende de las características del suelo, de las condiciones ambientales y de la especie vegetal. A su vez, los nutrientes se depositan de manera diferencial entre los diferentes órganos de las plantas, por lo cual, aquellas que crecen bajo condiciones óptimas presentan una distribución específica de los nutrientes de acuerdo a su estado fenológico (Calvo-Romero, 2018). Para *T. cacao* se ha propuesto el siguiente orden en el contenido de nutrientes  $N \geq K \geq Ca > Mg > P > S$ , haciendo la salvedad que este puede cambiar dependiendo de la edad del cultivo (Leiva-Rojas & Ramírez-Pisco, 2017). Particularmente para el potasio, este se deposita en orden decreciente en frutos, corteza, hojas y raíces (Furcal-Beriguete, 2017; Calvo-Romero, 2018).

En nuestro estudio la distribución del potasio fue mayor para el vástago en comparación con la raíz, obteniendo valores promedio de  $30,26 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  y  $19,16 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  respectivamente. Estos valores son superiores a los reportados por Lizarazo et al., (2016), los cuales registraron para su mejor tratamiento nutricional valores de  $24,44 \text{ mg/g}$  para el vástago y  $16,18 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  para la raíz. Lo cual sugiere que ambas, las concentraciones y las fuentes de potasio evaluadas en este estudio, cumplieron con los requerimientos adecuados para el desarrollo de las plantas en esta etapa del crecimiento. Cabe notar que las plantas crecidas en  $\text{KNO}_3$  y en la mayor concentración de potasio, mostraron un mayor contenido de este elemento, lo cual no fue correspondiente con el aumento de la biomasa y podría indicar un consumo de lujo. Por su parte, las plantas suplementadas con KCl mostraron altos contenidos de potasio en los diferentes órganos, sugiriendo que esta puede ser una fuente adecuada para el suministro de este elemento sin causar un efecto fitotóxico debido a la disociación del ion cloruro ( $\text{Cl}^-$ ).

## **CONCLUSIÓN**

Bajo la perspectiva del fortalecimiento de la competitividad en la cadena productiva del cacao y su potencial para el desarrollo económico del campo colombiano, se identificaron una serie de factores que inciden en su desarrollo productivo. Entre ellos se resalta la importancia de la optimización de los planes nutricionales. Este estudio aporta a una ruta crítica de análisis y establecimiento de un modelo experimental para la evaluación del efecto de los nutrientes. Entre los elementos esenciales, se seleccionó el potasio dado las diversas funciones que desempeña en las plantas de cacao. Como producto de la evaluación de las diferentes concentraciones de este nutriente, se identificaron respuestas significativas en algunos parámetros fisiológicos y morfológicos, los cuales permitieron encontrar variables informativas como el índice raíz:vástago, biomasa seca y longitud de la raíz principal, así como la altura de la planta. Estos resultados estuvieron aparejados de manera relevante de acuerdo al genotipo evaluado, resaltando en este punto la significativa variabilidad genética de la especie. En este análisis se demostró, para los genotipos evaluados, que  $0,16 \text{ g/planta}$  de potasio puede ser una concentración adecuada para el desarrollo de los diferentes órganos de las plantas en etapas tempranas del crecimiento e impactan de manera positiva el desempeño fotosintético y el intercambio de gases. Igualmente permitió identificar variables como el consumo de lujo y el consumo mínimo de dicho nutriente. Los hallazgos obtenidos permiten sentar un punto de partida para futuros experimentos centrados en la respuesta de la variación de nutrientes en los diferentes procesos biológicos que lleva a cabo la planta y sentar las bases para nuevos planes nutricionales específicos que identifiquen las necesidades reales del cultivo de cacao de acuerdo a sus condiciones.

## Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Sistema General de Regalías - Fondo de Ciencia, Tecnología e Innovación de la Gobernación de Antioquia, Universidad de Antioquia, Universidad Católica de Oriente, Compañía Nacional de Chocolates con el proyecto identificado con BPIN 2016000100060.

## REFERENCIAS

- Abbott, P. C.; Benjamin, T. J.; Burniske, G. R.; Croft, M. M.; Fenton, M. C.; Kelly, C. R.; Lundy, M. M.; Camayo, F. R. & Michael D. Wilcox Jr.** (2018). An Analysis of the Supply Chain of cacao in Colombia. United States Agency for International Development 1–69.
- Aguirre-Medina, J. F.; Mendoza-López, A.; Cadena-Iniguez, J. & C.H. Avendano-Arrazate** (2007). Efecto de la biofertilización en vivero del cacao (*Theobroma cacao* L.) con *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg et döbereiner y *Glomus intraradices* Schenk et Smith. *Interciencia* 32(8): 541–546.
- Aliaga Gonzales, T.** (2018). Efecto de dos abonos orgánicos en el crecimiento de plantones de cacao (*Theobroma cacao* L.) de los clones CCN- 51 e IMC-67 en vivero. Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo Maria. 96 pp.
- Anokye, E.; Lowor, S. T.; Dogbatse, J. A. & F.K. Padi** (2021). Potassium application positively modulates physiological responses of cocoa seedlings to drought stress. *Agronomy* 11(3): 563.
- Baker, N. R.** (2008). Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology* 59: 89–113.
- Balasimha, D.; Apshara, S. E. & C.T. Jose** (2013). Genotypic variations in chlorophyll fluorescence and stomatal conductance of cocoa in relation to drought tolerance. *Journal of Plantation Crops* 41(1): 40–45.
- Baligar, V C; Almeida, A. A. F.; Ahnert, D.; Pires, J. L.; Arévalo-Gardini, E.; Goenaga, R.; He, Z. & M. Elson** (2018). Impact of drought on morphological, physiological and nutrient use efficiency of elite cacao genotypes from Bahia-Brazil, Tarapoto-Peru and Puerto Rico-USA. International Symposium on Cocoa Research (ISCR), Lima, Peru, 13-17 November 2017.
- Baligar, Virupax C.; Elson, M. K.; Almeida, A. F.; de Araujo, Q. R.; Ahnert, D. & Z. He** (2021). The Impact of Carbon Dioxide Concentrations and Low to Adequate Photosynthetic Photon Flux Density on Growth, Physiology and Nutrient Use Efficiency of Juvenile Cacao Genotypes. *Agronomy* 11(2): 397.
- Calvo Romero, F.** (2018). Biomass and nutrient distribution in cacao trees (*Theobroma cacao*): Wageningen, Países Bajos. MSc Thesis, Plant Production System pp. 22-38.
- Camacho, R.; Malavolta, E.; Guerrero-Alves, J. & T. Camacho** (2002). Vegetative growth of grain sorghum in response to phosphorus nutrition. *Scientia Agricola* 59(4): 771–776.
- Chepote, R. E.; Sodré, G. A.; Reis, E. L.; Pacheco, G. R.; Marrocos, P. C. L. & R.R. Valle** (2013). Recomendações de corretivos e fertilizantes na cultura do cacauzeiro no sul da Bahia: 2. aproximação. In R. Costa Argôlo (Ed.), Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. BA, CEPLAC/ CEPEC. Boletim Técnico n. 203.
- Contreras Pedraza, C. A.** (2017). Análisis de la cadena de valor del cacao en Colombia: generación de estrategias tecnológicas en operaciones de cosecha y poscosecha, organizativas, de capacidad instalada y de mercado. Magister en Ingeniería – Ingeniería Agrícola. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ingeniería. 221 pp.
- Furcal-Beriguete, P.** (2017). Extracción de nutrientes por los frutos de cacao en dos localidades en Costa Rica. *Agronomía Mesoamericana* 28(1): 113–129.
- Gattward, J. N.; Almeida, A. A. F.; Souza, J. O.; Gomes, F. P. & H.J. Kronzucker** (2012). Sodium-potassium synergism in *Theobroma cacao*: Stimulation of photosynthesis, water-use efficiency and mineral nutrition. *Physiologia Plantarum* 146(3): 350–362.
- Giménez, C.; Gallardo, M. & R.B. Thompson** (2013). Plant–Water Relations. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences. Elsevier 1–8.

- Gómez, A. & Ormeño, M.** (2013). Selección de semilla y establecimiento de vivero para cacao. Lugar editorial. Maracay VE. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. 56 pp.
- Guidi, L.; Lo Piccolo, E. & M. Landi** (2019). Chlorophyll fluorescence, photoinhibition and abiotic stress: Does it make any difference the fact to be a C3 or C4 species? *Frontiers in Plant Science* 10 (174): 1–11.
- Gultinan, M.; Lockwood, G.; Maximova, S.; Sena Gomes, A. R.; Sodre, G. A. & S. Weise** (2015). Supplying new cocoa (*Theobroma Cacao* ..)planting material to farmers: A review of cacao propagation methodologies (B. Laliberté & M. End (eds.)).
- Hasanuzzaman, M.; Bhuyan, M. H. M. B.; Nahar, K.; Hossain, M. S.; Mahmud, J. A., Hossen, M. S.; Masud, A. A.; Moumita & M. Fujita** (2018). Potassium: A Vital Regulator of Plant Responses and Tolerance to Abiotic Stresses. *Agronomy* 8 (31).
- Hawkesford, M.; Horst, W., Kichey, T.; Lambers, H.; Schjoerring, J.; Møller, I. & P. White** (2012). Functions of macronutrients. En: Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. M. P (Ed.) (3rd ed.), pp. 135–189.
- ICCO** (2017). Research (ISCR), Lima, Peru. International Cocoa Organization (ICCO).
- Jaimez, R.; Loor, R.; Arteaga, F.; Márquez, V. & W. Tezara** (2021). Differential response of photosynthetic activity, leaf nutrient content and yield to long-term drought in cacao clones. *Acta Agronomica* 70 (3).
- Jeanguenin, L.; Mir, A. P. & F. Chaumont** (2016). Uptake, Loss and Control. In *Encyclopedia of Applied Plant Sciences* (Second Edi, Vol. 1). Elsevier.
- Kaba, James S.; Asare, A. Y.; Andoh, H. & G.K.S. Kwashie** (2022). Toward Sustainable Cocoa (*Theobroma Cacao* L.) Production: The Role of Potassium Fertilizer in Cocoa Seedlings Drought Recovery and Survival. *International Journal of Fruit Science* 22(1): 618–627.
- Kaba, James Seutra; Abunyewa, A. A.; Kugbe, J.; Godswill, K. S.; Ansah, E. O.; Andoh, H.; Seutra, J.; Abunyewa, A. A.; Kugbe, J. & K.S. Godswill** (2021). Arbuscular mycorrhizal fungi and potassium fertilizer as plant biostimulants and alternative research for enhancing plants adaptation to drought stress: Opportunities for enhancing drought tolerance in cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Sustainable Environment* 7(1): 0–12.
- Kunikullaya, G. A.** (2018). Estimation of variability parameters for certain quantitative traits in cocoa (*Theobroma cacao* L.) genotypes. *Electronic Journal of Plant Breeding* 9(4): 1538–1544.
- Leiva-Rojas, E. & R. Ramírez-Pisco** (2017). Acumulación y extracción de nutrientes en el cultivo en el cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.). *International Symposium on Cocoa Research (ISCR)*. Lima, Perú. Noviembre 2017.
- Lennon, A. M.; Lewis, V. R.; Farrell, A. D. & P. Umaharan** (2021). Photochemical responses to light in sun and shade leaves of *Theobroma cacao* L. (West African Amelonado). *Scientia Horticulturae* 276(2021): 109747.
- Li, Y.-M.; Elson, M.; Zhang, D.; He, Z.; Sicher, R. & V. Baligar** (2015). Macro and Micro Nutrient Uptake Parameters and Use Efficiency in Cacao Genotypes as Influenced by Levels of Soil Applied K. *International Journal of Plant & Soil Science* 7(2): 80–90.
- Li, Y.-M.; Elson, M.; Zhang, D.; Sicher, R. C.; Liang, H.; Meinhardt, L. W. & V. Baligar** (2013). Physiological traits and metabolites of Cacao seedlings influenced by potassium in growth medium. *American Journal of Plant Sciences* 4: 1074–1080.
- Lizarazo, J. C. F.; Santana, W. B. & A.R. Villate** (2016). Dinámica nutricional de cacao bajo diferentes tratamientos de fertilización con N, P y K en vivero. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 10(2): 367–380.
- Malavolta, E.; Vitti, G. C. & S.A. De Oliveira** (1997). Avaliação do estado nutricional das plantas. Princípios e aplicação. In *Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato* (2a edicica). Piracicaba.
- Medina, V. & B. Laliberte** (2017). A review of research on the effects of drought and temperature stress and increased CO<sub>2</sub> on *Theobroma cacao* L., and the role of genetic diversity to address climate change. *Costa Rica: Biodiversity International*. 58 pp.
- Meza-Calderón, M. A.; Moya-Menjívar, X. M.; Parada-Berrios, F. A. & E.A. Vásquez-Osegueda** (2019). Nutrición de portainjertos de cacao (*Theobroma cacao* L.) utilizando diferentes dosis de fórmula 15-15-15 y su influencia en el prendimiento de cuatro tipos de injerto. *Revista Científica Multidisciplinaria de La Universidad de El Salvador-Revista Minerva* 2(1): 63–78.

- Moreno, G.; Vela, P. & M.O. Salcedo Alvarez** (2008). La fluorescencia de la clorofila a como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. *Revista de Educación Bioquímica* 27(4): 119–129.
- Nivela Andrade, D. J.** (2020). Relaciones alométricas para estimar biomasa aérea en cultivares de cacao (*Theobroma cacao L.*) de origen trinitario (CCN-51) y de tipo nacional en la Provincia de los Ríos. Quevedo: UTEQ.
- Pabón, M.** (2016). Caracterización socio-económica y productiva del cultivo de cacao en el departamento de Santander (Colombia). *Revista Mexicana de Agronegocios* 38: 283–294.
- Puentes-Páramo, Y. J.; Menjivar-Flores, J. C. & A.M.O. Camacho** (2016). Eficiencia fisiológica de uso de NPK en clones autoincompatible y autocompatible de cacao (*Theobroma cacao L.*) en Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental* 7(1): 17–24.
- Quaye, A.; Konlan, S.; Arthur, A.; Pobee, P. & J.A. Dogbatse** (2019). Effect of media type and compost mixtures on nutrient uptake and growth of cocoa (*Theobroma cacao L.*) seedling in the nursery. *Ghana Journal of Horticulture* 14: 11–21.
- Ribeiro, M. A. Q.; Almeida, A. A. F. de; Mielke, M. S.; Gomes, F. P.; Pires, M. V. & V.C. Baligar** (2013). Aluminum effects on growth, photosynthesis, and mineral nutrition of cacao genotypes. *Journal of Plant Nutrition* 36(8): 1161–1179.
- Ruseani, N. S.; Vanhove, W.; Susilo, A. W. & P. Van Damme** (2022). Clonal differences in nitrogen use efficiency and macro-nutrient uptake in young clonal cocoa (*Theobroma cacao L.*) seedlings from Indonesia. *Journal of Plant Nutrition* 45(20): 1–16.
- Salazar, J. C. S.; Melgarejo, L. M.; Casanoves, F.; Di Rienzo, J. A.; DaMatta, F. M. & C. Armas** (2018). Photosynthesis limitations in cacao leaves under different agroforestry systems in the Colombian Amazon. *PLoS ONE* 13(11): 1–13.
- Santiago, M. A.; Canacuan, I. R.; Franco, J. J. & S. Semillero** (2016). Determinación de los estados críticos de nutrientes de cacao en etapa de vivero. *Construyendo Investigación: Semilleros Generadores de Ideas*. Universidad de La Salle. Ed. Unisalle. 228 pp.
- Sena G., A. R. & G.A. Sodr ** (2015). Supplying new cocoa planting material to farmers: a review of propagation methodologies. In), *Conventional Vegetative Propagation*. CGIAR. Ed. Laliberté B. pp 34-66
- Shaban, I.** (2010). Effects of potassium fertilization on agronomic characters and resistance to chocolate spot and rust diseases in faba bean. *Plant Protection* 5: 131–150.
- Silveira, R. & R.R. Valle** (2017). Resistance to water flow, hydraulic conductivity and leaf nutrient concentration among *Theobroma cacao L.* grafts. *Agrotr pica (Itabuna)* 29(1): 5–12.
- Susilo, A. W.; Sobir, S.; Wuriandani, A. & D. Wirnas** (2019). Seedling performance of cocoa genotypes (*Theobroma cacao L.*) in Drought Stress Condition. *Pelita Perkebunan* 35(3): 167–176.
- Thong, K. C. & W.L. Ng** (1980). Growth and nutrient composition of monocrop cocoa plants on inland Malaysian soils. En: *Proceedings of the International Conference on Cocoa and Coconuts, 1978, Kuala Lumpur* (pp. 262–286). Kuala Lumpur: Incorporated Society of Planters.
- Van Vliet, J. A. & K.E. Giller** (2017). Mineral nutrition of cocoa: a review. *Advances in Agronomy* 141: 185–270.
- Wickramasuriya, A. M. & J.M. Dunwell** (2018). Cacao biotechnology: current status and future prospects. *Plant Biotechnology Journal* 16(1): 4–17.
- Zakariyya, F. & D. Indradewa** (2018). Drought Stress Affecting Growth and Some Physiological Characters. *Pelita Perkebunan* 34(3): 156–165.