

Artículo de Investigación

Restricción del volumen del suelo, efecto sobre la fotosíntesis en cacao

Alejandro Ángel¹ , Rosana Sánchez^{2*} , Jenny De Almeida² ,
Wilmer Tezara^{1,3} 

1 Centro de Botánica Tropical, Instituto de Biología Experimental, Universidad Central de Venezuela, Apartado 47114, Caracas 1041-A, Venezuela. **2** Centro Nacional de Tecnología Química. **3** Facultad de Ciencias Agropecuarias y Ambientales, Universidad Técnica Luis Vargas Torres, Estación Experimental Mulite, Esmeraldas.

Resumen

El cultivo de plantas bajo condiciones de invernadero, generalmente se hace en macetas de volumen reducido, durante tiempos prolongados, lo que genera un estrés abiótico que puede afectar la capacidad fotosintética, el crecimiento y el desarrollo vegetal. Especies de interés agronómico muestran que, al ser cultivadas en un volumen de maceta pequeña, ocurre una limitación en el crecimiento radicular. El objetivo fue evaluar la regulación de tasa fotosintética (A) y el crecimiento en plántulas de cacao cultivadas en diferentes volúmenes de suelo durante 5 meses: Pequeño (P; 2 L), Mediano (M; 8 L) y Grande (G; 11 L); evaluando parámetros de intercambio gaseoso, fotoquímicos, y de crecimiento. Se obtuvo una reducción de A, fotosíntesis diurna integrada (A_D) y mantenimiento de la respiración nocturna (R_{dN}) en P, sugiriendo una posible inhibición de A por retroalimentación negativa y una alteración en el balance de carbono. La reducción en peso seco total, medidas alométricas y crecimiento sugieren una relación entre el crecimiento y el desempeño fisiológico. El tratamiento P, produjo una limitación en el crecimiento radicular, que alteró la relación fuente-sumidero, ocasionando la reducción de la respuesta fisiológica y de crecimiento. Se concluyó que, para el cacao estudiado, los volúmenes de maceta más adecuados son los G y M.

Palabras clave: Balance de carbono, sumidero, cacao, restricción radicular, crecimiento, tasa fotosintética.



Recibido: 24 de noviembre del 2022

Aceptado: 27 de enero del 2023

Publicado: 9 de junio del 2023

Conflicto de intereses: los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

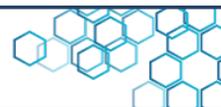
DOI: <https://www.doi.org/10.5281/zenodo.8355909>

***Autor para**

correspondencia: Rosana Sánchez

e-mail:

rosana.sanchezr@gmail.com



Research article

Soil volume restriction, effect on photosynthesis in cocoa

Alejandro Ángel¹ , Rosana Sánchez^{2*} , Jenny De Almeida² ,
Wilmer Tezara^{1,3} 

1 Centro de Botánica Tropical, Instituto de Biología Experimental, Universidad Central de Venezuela, Apartado 47114, Caracas 1041-A, Venezuela. **2** Centro Nacional de Tecnología Química. **3** Facultad de Ciencias Agropecuarias y Ambientales, Universidad Técnica Luis Vargas Torres, Estación Experimental Mulite, Esmeraldas.

Abstract

The cultivation of plants under greenhouse conditions is generally done in pots of reduced volume, during prolonged periods of time, which generates abiotic stresses that can affect photosynthetic capacity, growth and plant development. Species of agronomic interest show that when grown in small pot volume, root growth is limited. The aim was to evaluate the regulation of photosynthetic rate (A) and growth in cocoa seedlings grown in different soil volumes during 5 months: Small (P; 2 L), Medium (M; 8 L) and Large (G; 11 L); evaluating gas exchange, photochemical and growth parameters. A reduction of A , integrated diurnal photosynthesis (A_D) and maintenance of nocturnal respiration (R_{dN}) was obtained in P, suggesting a possible inhibition of A by feedback and an alteration in the carbon balance. The reduction in total dry weight, allometric measures and growth suggest a relationship between growth and physiological performance. The P treatment produced a limitation in root growth, which altered the source-sink relationship, causing a reduction in the physiological and growth response. It was concluded that for the cocoa studied, the most appropriate pot volumes were G and M treatments.

Key words: Carbon balance, sink, cocoa, root restriction, growth, photosynthetic rate.



Received: November 24, 2022

Accepted: January 27, 2023

Published: June 9, 2023

Conflict of interest: the authors declare that there are no conflicts of interest.

DOI:

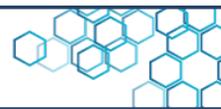
<https://www.doi.org/10.5281/zenodo.8355909>

***Corresponding author:**

Rosana Sánchez

e-mail:

rosana.sanchez@gmail.com

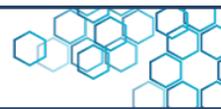


1. Introducción

Las plantas requieren de un sistema radicular que les permita un suministro adecuado de agua y nutrientes, así como también, el crecimiento de brotes necesarios para su anclaje al suelo [1]. La disminución del volumen de suelo disponible para el desarrollo de las raíces, como es el caso de cultivos en viveros, genera una competencia por los recursos minerales, baja disponibilidad de oxígeno y capacidad de absorción de agua [2], reduciendo el crecimiento [3]; así como, cambios en la asignación de carbono hacia las raíces y por tanto en la relación fuente-sumidero.

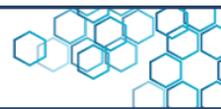
Los principales órganos donde ocurre la fotosíntesis son las hojas maduras (fuente), mientras que las raíces, tallos, semillas y frutos (sumideros de carbono) no contribuyen significativamente a la ganancia de carbono, y son dependientes del CO₂ fijado durante la fotosíntesis [4].

Las alteraciones en la relación fuente-sumidero a causa de una restricción en el volumen del suelo (para la optimización de espacio en los viveros), durante un tiempo prolongado, generan cambios en la distribución de asimilados, que pueden causar una variación de la tasa neta fotosintética (A) y alteraciones en el crecimiento de las plantas [3, 5-7]. Estos cambios fisiológicos y morfológicos ocurren como respuesta a una reducción del crecimiento radicular con el tamaño de la maceta, que afectan: el crecimiento de brotes radiculares, alteraciones en la acumulación y asignación de la biomasa, la A, el contenido de clorofila, las relaciones hídricas de la planta, la absorción de nutrientes y la floración [8].



Mientras que las plantas tropicales cultivadas sin limitación de suelo en el campo mantienen altas capacidades fotosintéticas [9], indicando que la aclimatación de A puede ser una consecuencia del crecimiento radicular restringido debido a un volumen de maceta inadecuada [10] y, como la raíz es el principal sumidero metabólico de carbono, se estaría limitando la demanda del mismo, conduciendo a la acumulación de almidón y azúcares en las hojas [11]. La A también puede reducirse cuando la demanda de carbohidrato por las plantas disminuye (reducción de fuerza del sumidero) [4].

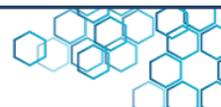
DaMatta (2003) [12], reportó en café arábigo (*Coffea arabica*), una baja A, asociada al pequeño tamaño de maceta. Resultados similares han sido reportados en tabaco (*Nicotiana tabacum*; [13]), pepino (*Cucumis sativus*; [3]), algodón (*Gossypium hirsutum*; [5]) y otras especies C_3 crecidas a elevadas $[CO_2]$ [9]. Árboles de aguacate (*Persea americana*) y mango (*Mangifera indica*) muestran disminuciones de A, acompañado de una disminución en la conductancia estomática (g_s) y en el potencial hídrico foliar (Ψ) [6, 14]. Por el contrario, estudios realizados en soya (*Glycine max*; [15]) no mostraron cambios en A, pero sí disminuciones en el contenido de clorofila [3, 16, 17]. En mandarina (*Citrus reticulata*) sometidas a restricción radicular durante tres años, no se encontraron cambios en A, Ψ , tasa de transpiración (E) e incluso en el contenido de carbohidratos foliares [18]; mientras que plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*), mostraron una disminución en A, g_s , Ψ y concentración intercelular de CO_2 (C_i), causando un aumento en la limitación estomática (L_s) y una reducción de los parámetros fotoquímicos como el transporte de electrones (J) y la eficiencia cuántica relativa del fotosistema II (Φ_{PSII}); acompañados por aumentos en la cantidad de carbohidratos en varios tejidos de las plantas [19].



La disminución del volumen de suelo, causó una reducción en la longitud y expansión foliar [14, 20, 21]; un menor número de ramas [3], área foliar más pequeña y menos cantidad de hojas por planta [17, 18, 20, 22, 23], tallos de menor tamaño, resultando en plantas enanas [5, 16, 18, 24] y un menor crecimiento [14], además de una disminución de la biomasa seca en hojas, tallos y raíces [5]. En plantas de tomate, la biomasa seca aérea disminuyó en menor grado que la biomasa seca de raíces [21]; mientras que, en macetas de mayor tamaño, las plantas mostraron un aumento en la biomasa seca del tallo [25] y en soja [15].

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es una especie perenne tropical, alógama, de la familia Malvaceae [26], caracterizada por ser un árbol con un crecimiento de 4 a 7 m pudiendo alcanzar hasta los 20 m [27]. Su producción mundial fue de 4,75 millones de toneladas en 2020 [28], y es considerado uno de los cultivos perennes más importantes en el mundo por sus valores nutritivos y económicos [29].

Los estudios en cuanto a la respuesta ecofisiológica de plantas de *T. cacao* sometidas a restricción radicular han sido escasos, es necesario identificar el volumen de sustrato para obtener plántulas de cacao saludables, con el fin de establecer futuras plantaciones con éxito [30]. Evaluar esta respuesta, a través del intercambio de gases, fluorescencia de la clorofila *a*, crecimiento y acumulación de biomasa, de plantas de cacao cultivadas en diferentes volúmenes de suelo, nos permitirá evaluar la respuesta integral de las plantas y conocer la contribución de los factores estomáticos y no estomáticos de la fotosíntesis bajo condiciones de restricción del desarrollo o crecimiento radicular.



2. Metodología

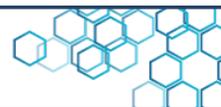
El estudio se realizó en el Arboretum del Instituto de Biología Experimental (IBE), Caracas-Venezuela. Se realizaron dos experimentos: primer experimento (PE; Marzo-Julio 2011) y segundo experimento (SE; Marzo-Agosto 2012). En el cual se utilizaron individuos de *T. cacao* resultado de cruces entre los cultivares IMC67 x Ocumare (PE) y IMC67 x Santa Cruz 10 (SE), de aproximadamente 1 año de edad cuya altura promedio fue 0,6 m y se encontraban cultivadas en un volumen de suelo de aproximadamente 1 L en condiciones de sombra, es decir, 50 % con respecto a la densidad de flujo fotónico (DFF) previo a cada experimento.

En el PE se utilizaron 15 plantas y en el SE 25, las cuales fueron cultivadas en diferentes volúmenes de suelo: Pequeño (P; 2 L); Mediano (M; 8 L) y Grande (G; 11 L); además, en el SE se colocaron 5 plantas en el suelo sin restricción radicular, las cuales fueron utilizadas como plantas control (C).

2.1 Parámetros microclimáticos

Se realizaron cursos diarios mensuales del PE (al t_4) y durante el desarrollo del SE (t_{0-5}) a intervalos de medición de una hora de los siguientes parámetros:

- Densidad de Flujo Fotónico (DFF), mediante un sensor de flujo cuántico LI-250I (Li-COR, USA).
- Temperatura del Aire (T_a) y Temperatura Foliar (T_f), con termistores YSI (Yellow Springs, Ohio, USA) conectados a un teletermómetro.



- Humedad Relativa (% HR).
- Gradiente de Presión de Vapor Hoja-Aire ($\Delta_{w \text{ hoja-aire}}$): con los datos de temperatura y % HR se calculó mediante la siguiente ecuación, descrita por Rundel y Jarrel (1989) [31]:

$$\Delta_{\text{whoja} - \text{aire}} = \rho_x - \rho_a \times \left(\frac{HR}{100}\right)$$

donde ρ_x es la presión de saturación de vapor de agua a la T_f para la hoja y ρ_a es la presión de saturación de agua a la T_a .

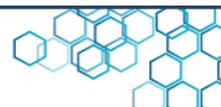
2.2 Estado hídrico

El Ψ de las plantas ($n=6$) fue determinado a las 7:00 am y 12:00 am con el uso de una cámara de presión (PMS 600, PMS Instrument Company, Oregon, USA) a los 5 meses (t_5) en el SE.

2.3 Intercambio de gases

Las mediciones se realizaron en hojas completamente expandidas y desarrolladas durante cada tratamiento, después de un periodo de aclimatación de 4 meses (t_4) en el PE ($n=3$) y al inicio (t_0), a los 3 (t_3), 4 (t_4) y 5 (t_5) meses ($n=6$) en el SE.

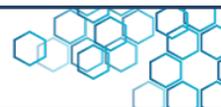
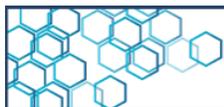
Las medidas instantáneas de fotosíntesis (A), conductancia estomática (g_s), transpiración (E) y concentración intracelular de CO_2 (C_i) se realizaron en hojas completamente expandidas ($n=6$), utilizando un



sistema abierto de intercambio de gases modelo CIRAS 2 (PP Systems, Hitchin, RU). Las medidas fueron realizadas a $380 \mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO_2 , 21 % de O_2 , a $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de DFF y a una T de $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Con los valores obtenidos de las medidas de intercambio gaseoso se calculó la eficiencia de uso de agua instantánea ($\text{EUA} = \text{A}/\text{E}$). Se determinaron A, E y EUA integradas, mediante el cálculo del área bajo la curva de los cursos diarios ($n=6$) y de respiración nocturna (R_{dN}) ($n=3$) realizados a intervalos de 2 horas durante 8 horas y 30 minutos durante 12 horas respectivamente (SE), bajo la densidad de flujo fotónico ambiental (DFF_{amb}) y temperatura ambiental (T_{amb}).

2.4 Curvas respuesta A vs C_i (A/C_i)

Se realizaron curvas A/C_i en hojas intactas de plantas, incrementando progresivamente la concentración atmosférica de CO_2 (C_a) de 0 a $1500 \mu\text{mol mol}^{-1}$. Las curvas fueron ajustadas utilizando el programa SigmaPlot 11.0 según la ecuación empírica: $\text{A} = (\text{b}+\text{d}) \times e^{k \cdot C_i}$, donde b es la A a CO_2 saturante ($\text{A}_{\text{CO}_2\text{sat}}$); $\text{b}+\text{d}$ = es un estimado de la fotorespiración (F_R). La eficiencia de carboxilación (EC) fue calculada como el producto de $k * d$, la cual corresponde a la pendiente de la porción lineal de la curva. Se calculó la limitación estomática relativa (L_s) según Farquhar y Sharkey (1982) [32] como: $L_s = [(\text{A}_o - \text{A})/\text{A}_o] \times 100$, donde A_o es la tasa fotosintética cuando $C_i = C_a$, considerando una g_s infinita y A es la tasa fotosintética a C_a ($380 \mu\text{mol mol}^{-1}$) y limitación mesofilar relativa (L_m) según Jacob y Lawlor (1991) [33] como: el porcentaje de limitación relativa impuesto por el estrés (volumen de suelo) sobre A evaluado a



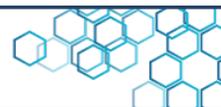
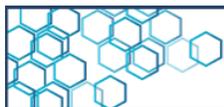
800 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO_2 , el cual fue definido como:
 $L_m = [(A_c - A_s) / A_c] \times 100$, donde A_c es la $A_{\text{CO}_2\text{sat}}$ del tratamiento correspondiente a la curva mayor y la A_s es la $A_{\text{CO}_2\text{sat}}$ para los otros tratamientos bajo estrés ligero y estrés severo.

2.5 Curvas respuesta A vs DFF (A/DFF)

Se realizaron curvas de A/DFF a los 3 (t_3) y 5 (t_5) meses después del inicio del SE. Se incrementó progresivamente la DFF de 0 a 1.200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las medidas se realizaron a 380 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO_2 , 21 % de O_2 y T a 25 °C en hojas completamente expandidas. Las curvas A/DFF fueron ajustadas utilizando el programa SigmaPlot 11.0 según la ecuación empírica: $A = b + d * e^{k * \text{DFF}}$, donde b es la A a luz saturante (A_{DFFsat}); b + d es la tasa de respiración mitocondrial. La eficiencia cuántica aparente (Φ_{CO_2}) se calculó como el producto de k * DFF, la cual corresponde a la pendiente de la porción lineal de la curva.

2.6 Actividad fotoquímica del PSII

Las medidas de fluorescencia de la clorofila a se realizaron en hojas intactas (n=6) en cada tratamiento al inicio (t_0), al primer (t_1) y tercer (t_3) mes de aclimatación del SE, según el protocolo descrito por Genty y col. (1989) [34]. Mediante la determinación de la fluorescencia mínima (F_0) y la fluorescencia máxima (F_m) de hojas adaptadas a oscuridad (previo al amanecer) y la fluorescencia mínima (F'_0), la fluorescencia



máxima (F'_m) y la fluorescencia estable (F) de hojas adaptadas a $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de DFF, se calcularon los siguientes parámetros:

- La eficiencia cuántica máxima del PSII (F_v/F_m) en hojas adaptadas a la oscuridad:

$$F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$$

- La eficiencia cuántica relativa del PSII (Φ_{PSII}):

$$\Phi_{\text{PSII}} = (F'_m - F) / F'_m$$

- El coeficiente de extinción fotoquímica (q_p):

$$q_p = (F'_m - F) / (F'_m - F_o)$$

- El coeficiente de extinción no fotoquímica (q_n):

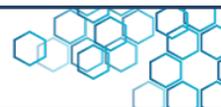
$$q_n = 1 - (F'_m - F'_o) / (F_m - F_o)$$

- El transporte de electrones (J) se estimó según Krall y Edwards (1992) [35] de la siguiente manera:

$$J = \Phi_{\text{PSII}} \times \text{DFF} \times a \times f$$

donde: a = la fracción de DFF absorbida por la hoja (considerada como 0,84).

f = la proporción de e^- que es absorbida por el PSII (0,5 ya que ambos fotosistemas están involucrados de igual manera en el transporte lineal de e^-).



2.7 Determinaciones bioquímicas

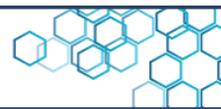
Las determinaciones bioquímicas se realizaron en muestras de hojas ($n=5$) en las cuales se realizaron las mediciones de intercambio gaseoso al t_0 , t_3 y t_5 del SE. Para la extracción de clorofila se siguió el protocolo de Bruinsma (1963) [36]. La extracción de PST se determinó según el protocolo de Bradford (1976) [37].

2.8 Parámetros de crecimiento

Se realizaron medidas alométricas no destructivas de parámetros de crecimiento en las plantas al cuarto (t_4) mes del PE ($n=3$) y al t_{0-5} del SE ($n=6$). Los parámetros medidos fueron: la altura de la planta, el número de hojas, diámetro del tallo y el área foliar, la cual fue calculada como ancho x largo de la hoja.

2.9 Biomasa

Se determinó la biomasa seca acumulada en las plantas ($n=5$): tallo, raíz y hoja, utilizando el método de cosecha, determinando el peso seco de los individuos al t_4 en el PE y al t_0 , t_3 y t_5 en el SE. Cada individuo previamente marcado fue colocado en sobres de papel y secado por 3 días en la estufa a temperatura constante (70 °C).



2.10 Análisis de crecimiento

El análisis de crecimiento se realizó según Chiariello y col. (1989) [38] en el PE al t_4 ($n=3$) y al t_0 , t_3 y t_5 en el SE ($n=6$). Entre los parámetros medidos se encuentran:

- Tasa relativa de crecimiento de biomasa seca total (TRC):

$$TRC = \frac{(\ln P_{sf} - \ln P_{si})}{\Delta T} (d^{-1})$$

- Tasa de asimilación neta (TAN):

$$TAN = \frac{2(P_f - P_i)}{(A_{ff} + A_{fi}) \times (\Delta t)} (g \text{ cm}^{-2} d^{-1})$$

Suponiendo una relación lineal entre la biomasa seca y el área foliar total.

- Cociente de peso foliar (CPF):

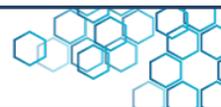
$$CPF = \frac{P_{Ftotal}}{P_{vástago}} (g \text{ g}^{-1})$$

- Cociente de área foliar (CAF):

$$CAF = \frac{A_{f total}}{P_{vástago}} (cm^2 \text{ g}^{-1})$$

- Área foliar específica (AFE):

$$AFE = \frac{A_{f discos}}{P_f} (cm^2 \text{ g}^{-1})$$



El $Af_{discos} = (\pi * r^2) n$; donde r es el radio de discos de área conocida y n el número de discos utilizados.

- Área foliar total (AFT):

$$AFT = \frac{P_h \times Af_{discos}}{P_d} \text{ (cm}^2\text{)}$$

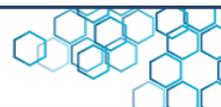
donde P_d corresponde al peso de los discos (g) y P_h al peso de las hojas (g).

- Relación raíz: vástago (R/V):

$$\frac{R}{V} = \frac{P_{raíz}}{P_{vástago}} \text{ (g g}^{-1}\text{)}$$

2.10 Análisis estadísticos

Se utilizó el paquete estadístico Statistica 8.0 para realizar análisis de varianzas (ANOVA) de dos vías en los parámetros de crecimiento, utilizando como factores los tratamientos y el tiempo, así como análisis de varianzas de una vía en parámetros fisiológicos, fotoquímicos, bioquímicos, crecimiento y de biomasa entre tratamientos, con un nivel de significancia de $p < 0,05$.



3. Resultados y discusiones

Los experimentos realizados permitieron evaluar el efecto de la restricción radicular sobre la fotosíntesis y el crecimiento en dos diferentes híbridos de cacao: IMC67 x Ocumare (PE) y IMC67 x Santa Cruz10, sometidos a diferentes volúmenes de suelo (G, M y P) y sin limitación radicular (C), durante 5 meses.

3.1 Microclima

En el sitio de estudio solo el 10 % de la DFF promedio llega al sotobosque (Figura 1a) con T_a y T_f máximos a horas del mediodía de 27 °C (Figura 1b-d). Sin embargo, para los cultivos de cacao se recomienda una sombra que sea entre 20 y 60 % de la DFF total que llega al sotobosque [39, 40]. Otros estudios realizados en plántulas de cacao plantean intervalos de temperatura óptima para el crecimiento entre 18,7 y 30,3 °C [41].

La Figura 1 muestra los valores promedios de los cursos diarios de DFF, T_a , T_f , HR y Δ_w hoja-aire, registrados en el PE y SE en los diferentes tratamientos. El valor máximo de DFF registrado al mediodía fuera del dosel fue de $1.800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y el mínimo en horas de la tarde fue de $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. La HR disminuyó a horas del mediodía hasta un 65 % (Figura 1c). El Δ_w hoja-aire fue mayor en C a las 8 horas mientras que en los otros tratamientos se encontró entre las 12 y 14 horas (Figura 1e).

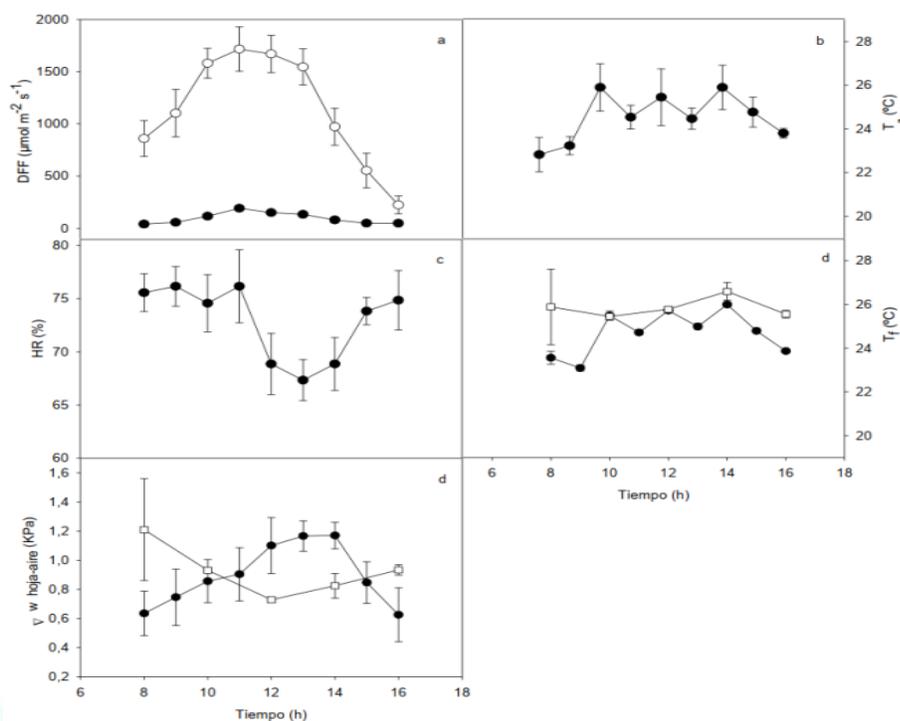
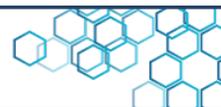


Figura 1. Promedio de cursos diarios del PE y SE de: a) Densidad de flujo fotónico (DFF) fuera del dosel (o) y bajo el dosel (●); b) Temperatura del aire (T_a); c) Humedad relativa (HR); d) Temperatura foliar (T_f) y e) Gradiente de presión de vapor hoja-aire ($\Delta w_{\text{hoja-aire}}$) en los diferentes tratamientos: C (□), G (■), M (▲) y P (●). Los valores son la media \pm ES (n=5)

Las plantas de cacao tradicionalmente son cultivadas en sistemas agroforestales bajo condiciones de sombra, donde la densidad de plantas tanto en el sotobosque, como en el dosel es reducida [40, 42, 43]. Además, son plantas que evolutivamente están adaptadas a ambientes de sombra con alta precipitación y baja disponibilidad lumínica [44]. Se ha reportado que el cacao (Criollo, Forastero y Trinitario) se saturan a DFF comprendidas entre 400-600 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, intensidades que constituyen entre 25 y 30 % de la radiación máxima en un día despejado [40].



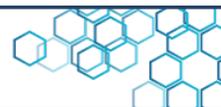
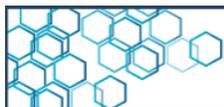
3.2 Estado hídrico

Los Ψ matutinos fueron significativamente menores en C, en comparación con los otros tratamientos ($\Psi = -0,43$ MPa); mientras que, al mediodía no variaron entre tratamientos. Los Ψ fueron similares a valores medidos en plantas de cacao presentes en bancos de germoplasma y en árboles en condiciones de lluvia, presentando Ψ altos [45, 46]. Plantas de *Coffea arabica* [7] y de *Citrus reticulata* [18] sometidas a restricción radicular no mostraron cambios en el Ψ matutino y al mediodía (Tabla 1).

Tabla 1. Potencial hídrico (Ψ) matutino (7 am) y al mediodía (12 am) de hojas (n=6) al t_5 del SE. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas. Los valores son la media \pm ES (n=3).

Tiempo	T	Ψ (MPa)	
		7am	12am
t_5	C	$-0,43 \pm 0,04^b$	$-0,57 \pm 0,03^a$
	G	$-0,28 \pm 0,02^a$	$-0,58 \pm 0,08^a$
	M	$-0,28 \pm 0,02^a$	$-0,62 \pm 0,07^a$
	P	$-0,35 \pm 0,03^{ab}$	$-0,70 \pm 0,13^a$

Se ha demostrado que el uso de pequeños volúmenes de maceta puede traer desventajas relacionadas con las limitaciones biológicas, debido a que un menor volumen implica menor cantidad de sustrato y por tanto una menor disponibilidad de agua y nutrientes, acompañado de una limitación en el crecimiento radicular [47].



3.3 Intercambio de gases

3.3.1 Fotosíntesis instantánea en PE y SE

Las A obtenidas en ambos experimentos bajo los diferentes tratamientos de volumen de suelo fueron similares a las reportadas por diversos autores [39, 40, 43, 45]. Sin embargo, en el tratamiento P se observó una reducción significativa de A del 75 % con respecto a G en el PE (Figura 2a) y del 50 % al t_3 en el SE (Figura 3a). Esto podría deberse a una inhibición de A debido a una restricción del crecimiento radicular por el volumen de maceta. La fotosíntesis es un proceso que se encuentra fuertemente afectado por el tamaño de la maceta [47] y que puede ser revertido cuando las plantas son trasplantadas a volúmenes de maceta mayor [13].

Previos reportes en plantas de *C. sativus*, *G. hirsutum*, *L. esculentum*, *P. americana* y *M. indica*, demuestran que una limitación en el crecimiento radicular pueden llevar a una alteración en la relación fuente-sumidero, generando cambios en la distribución de asimilados [3, 5, 6, 19] y un desbalance entre la formación de carbohidratos y su posterior utilización [5]. Posiblemente, una disminución en la fuerza del sumidero, podría causar una inhibición de A por retroalimentación negativa [48], siendo un mecanismo de “inhibición directa” [49].

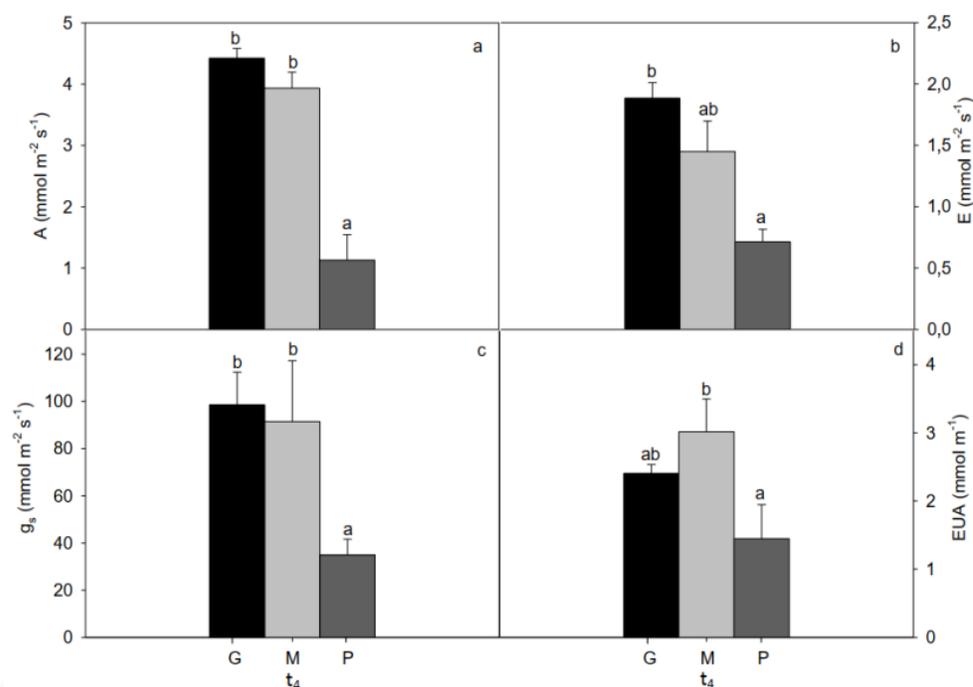


Figura 2. Parámetros de intercambio gaseoso del PE a $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$. a) Fotosíntesis (A); b) Transpiración (E); c) Conductancia Estomática (g_s) y d) Eficiencia de Uso de Agua (EUA). Diferentes intensidades de grises en las barras indican los distintos tratamientos en los que se realizaron las medidas. Los valores son la media \pm ES ($n=3$).

Las E y g_s obtenidas en ambos experimentos mostraron una reducción en el P con respecto a G (PE) (Figura 2a-c) y en los tratamientos G, M y P con respecto a C (SE) (Figura 3b-c) al t_3 - t_4 . Estos valores así como la EUA son similares a los obtenidos en plantas de bancos de germoplasma [39, 45]. El suelo en volúmenes de maceta pequeña pierde mayor cantidad de agua en comparación a volúmenes mayores causando estrés hídrico en las plantas [50]. Sin embargo, el tamaño de maceta no afectó el g_s en plantas de *C. arabica* [7]. En contraste, en *Glycine max*, hubo un aumento de g_s cuando las plantas eran trasplantadas a volúmenes de maceta mayor [51].

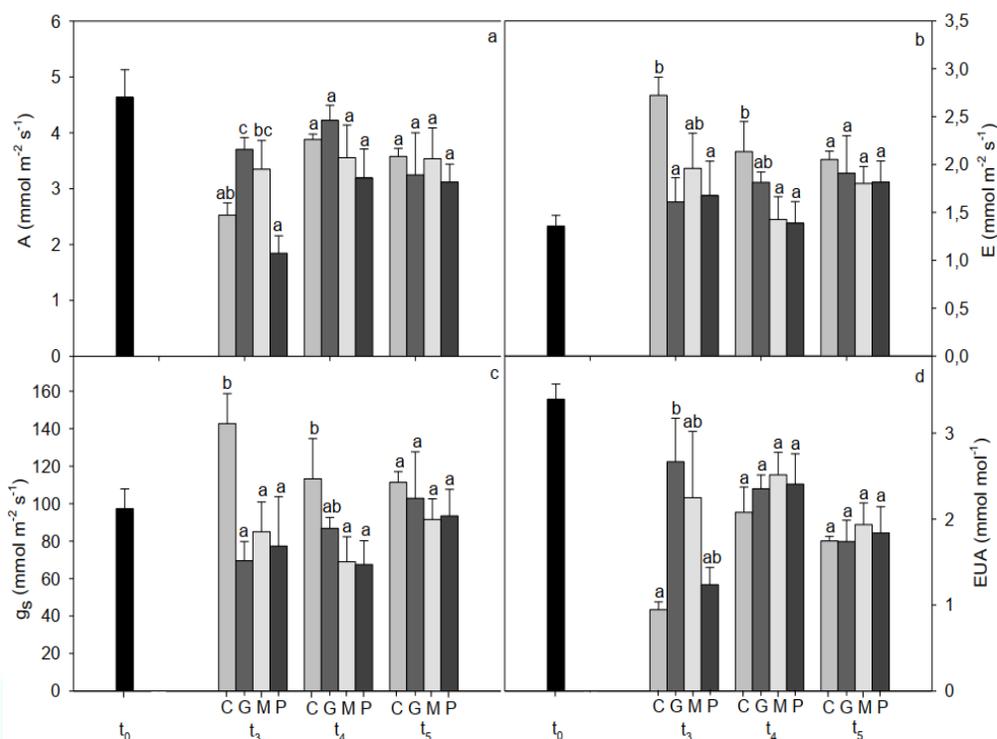


Figura 3. Parámetros de intercambio gaseoso del SE a $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$. a) Fotosíntesis (A); b) Transpiración (E); c) Conductancia Estomática (g_s) y d) Eficiencia de Uso de Agua (EUA). Las diferentes intensidades de grises de las barras indican los distintos tratamientos en los que se realizaron las medidas. Los valores son la media \pm ES ($n=6$)

La realización de cursos diarios son métodos directos que permiten evaluar la productividad primaria fotosintética de las plantas en el campo a un tiempo determinado [4]. Los cursos diarios realizados al inicio del tratamiento muestran altos valores de tasa fotosintética diaria integrada (A_D), tasa de transpiración diaria integrada (E_D), y por tanto de valores de eficiencia de uso de agua integrada (EUA_D) (Figura 4), debido a altas DFF ($300\text{-}500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) a causa de un dosel menos denso, mientras que al t_3 y t_5 se obtuvo una reducción significativa de A_D en P, lo cual constituye una menor ganancia de carbono con

respecto a los otros tratamientos. Se ha reportado una alta correlación entre las A_{DFFsat} y las A_D obtenidas en 11 especies xerofitas ($r^2 = 0,82$) [46], lo cual apoya el hecho de que las bajas A_{DFFsat} obtenidas están asociadas a bajas A_D en los diferentes tratamientos.

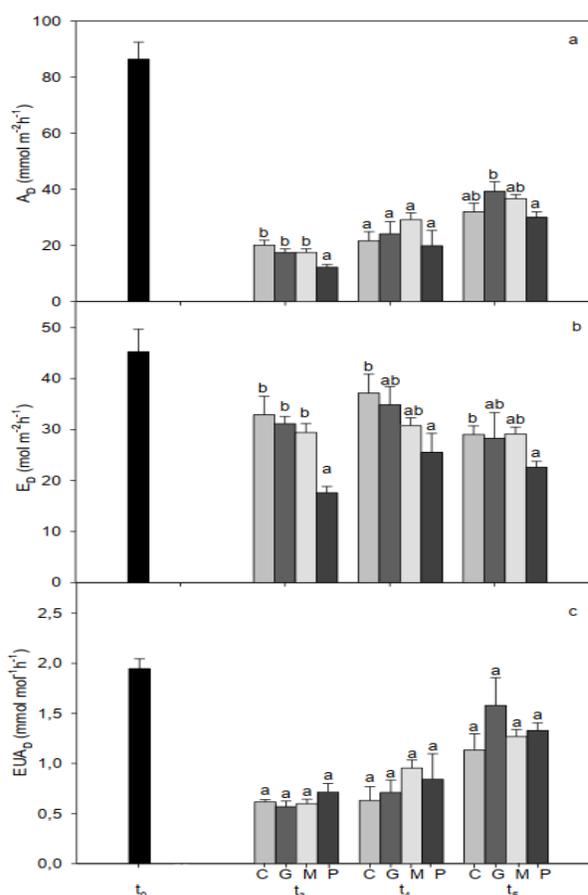


Figura 4. Parámetros de intercambio gaseoso integradas diurnas a DFF_{amb} ($300-500\ \mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ en el t_0 y $150\ \mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ en el t_{3-5}) y T_{amb} promedio ($24,5\ ^\circ C$) en el SE. a) Fotosíntesis Diurna Integrada (A_D); b) Transpiración Diurna Integrada (E_D); c) Eficiencia de Uso de Agua Diurna Integrada (EUA_D). Las diferentes intensidades de grises de las barras indican los distintos tratamientos en los que se realizaron las medidas. Los valores son la media \pm ES ($n=6$)

El crecimiento de una planta depende del balance entre la ganancia de carbono por fotosíntesis y su pérdida respiratoria [4]. En los cursos nocturnos realizados no se observaron diferencias entre tratamientos y las R_{dN} obtenidas constituyen entre el 25 % y el 34 % de A_D en G, M y P (Figura 5). Estos resultados sugieren una similar demanda energética para ambos componentes funcionales (crecimiento y mantenimiento) [52] en todos los tratamientos y por tanto una menor ganancia de carbono para P.

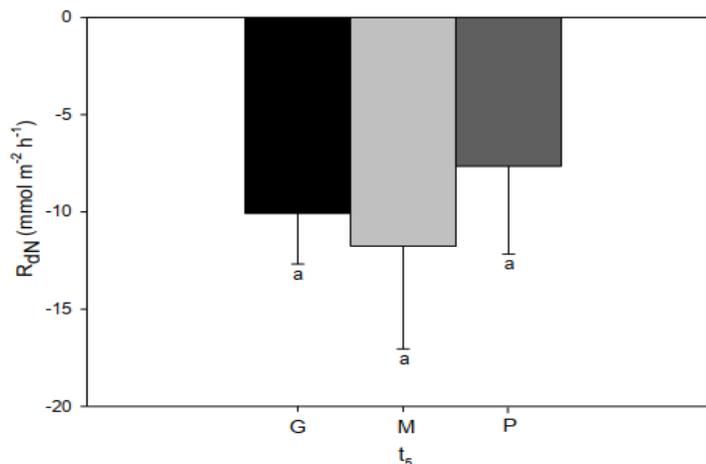
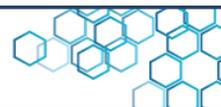


Figura 5. Respiración nocturna integrada (R_{dN}) a DF_{amb} y T_{amb} medidas en el t_5 del SE. Los diferentes colores de las barras indican los distintos tratamientos en los que se realizaron las medidas. Los valores son la media \pm ES ($n=3$)

3.4 Curvas de respuesta A vs C_i (A/C_i)

Las curvas A/C_i informan acerca de las limitaciones relativas estomáticas [53]. Un incremento en estas limitaciones (L_s), acompañada de una disminución en el C_i debido al cierre estomático, puede ocasionar un ajuste a las nuevas condiciones de estrés [54].

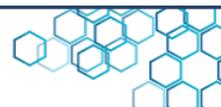
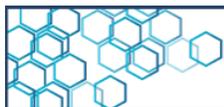


En ambos experimentos no se observaron cambios en la EC y el promedio de la L_s fue de 26 %, indicando que la g_s afectó de igual manera a todos los tratamientos (Tabla 2).

Estos resultados muestran que posiblemente la limitación no estomática (L_m) fue responsable de la limitación de A por la restricción radicular. La respuesta de A a altas concentraciones de CO_2 está limitada por la tasa de regeneración de RuBP.

Tabla 2. Tasas de fotosíntesis a CO_2 saturante (A_{CO_2sat}), tasa de fotorespiración (F_R), eficiencia de carboxilación (EC) y punto de compensación de CO_2 (Γ), determinados en los diferentes tratamientos en el PE al t_4 (n=3) y en el SE a los diferentes tiempos (t_0 , t_3 y t_5). Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas. Los valores son la media \pm ES (n=4).

PE							
Tiempo	T	A_{CO_2sat} ($\mu mol mol^{-2} s^{-1}$)	F_R ($\mu mol mol^{-2} s^{-1}$)	EC ($mol mol^{-2} s^{-1}$)	Γ ($\mu mol mol^{-1}$)	L_s (%)	L_m (%)
t_4	G	11,4 \pm 0,3 ^b	-5,5 \pm 0,7 ^b	0,06 \pm 0,01 ^a	107 \pm 5,6 ^a	26,6 \pm 1,9 ^a	5 \pm 7,2 ^a
	M	10,8 \pm 0,8 ^b	-4,5 \pm 0,1 ^{ab}	0,06 \pm 0,02 ^a	80,1 \pm 17,2 ^a	24,1 \pm 3,5 ^a	0 ^a
	P	6,6 \pm 0,8 ^a	-2,7 \pm 0,9 ^a	0,04 \pm 0,01 ^a	88,3 \pm 24,4 ^a	23,6 \pm 3,7 ^a	41,8 \pm 7,1 ^b
SE							
Tiempo	T	A_{CO_2sat} ($\mu mol mol^{-2} s^{-1}$)	F_R ($\mu mol mol^{-2} s^{-1}$)	EC ($mol mol^{-2} s^{-1}$)	Γ ($\mu mol mol^{-1}$)	L_s (%)	L_m (%)
t_0		9 \pm 0,8	-7,3 \pm 0,6	0,07 \pm 0,007	138,9 \pm 0,5	*	*
t_3	C	8,5 \pm 0,6 ^{ab}	-3,9 \pm 0,42 ^a	0,05 \pm 0,004 ^a	99,7 \pm 6,6 ^a	25,2 \pm 1,5 ^a	7,3 \pm 6,4 ^{ab}
	G	9,2 \pm 1,6 ^b	-5,2 \pm 1,6 ^a	0,06 \pm 0,02 ^a	94,7 \pm 14,3 ^a	23,1 \pm 1,5 ^a	0 ^a
	M	7,8 \pm 0,3 ^{ab}	-4 \pm 0,9 ^a	0,05 \pm 0,005 ^a	101,3 \pm 18,1 ^a	25,5 \pm 2,1 ^a	15 \pm 2,9 ^b
	P	6,5 \pm 0,4 ^a	-4,3 \pm 0,9 ^a	0,06 \pm 0,01 ^a	102,1 \pm 19 ^a	22 \pm 4,9 ^a	30 \pm 4,4 ^c
t_5	C	7,4 \pm 0,6 ^b	-3,6 \pm 0,7 ^a	0,04 \pm 0,004 ^a	110,8 \pm 15,9 ^a	28,2 \pm 1,8 ^a	5,3 \pm 7,4 ^a
	G	7,9 \pm 0,3 ^b	-3,7 \pm 0,6 ^a	0,04 \pm 0,01 ^a	113,3 \pm 7,7 ^a	28,8 \pm 1,3 ^a	0 ^a
	M	7,8 \pm 0,7 ^b	-3,1 \pm 0,3 ^a	0,04 \pm 0,01 ^a	102,6 \pm 17,2 ^a	27,2 \pm 3,9 ^a	1,3 \pm 9,7 ^a
	P	5,2 \pm 0,3 ^a	-4,3 \pm 1,2 ^a	0,05 \pm 0,02 ^a	113,5 \pm 6,4 ^a	23,7 \pm 2,9 ^a	34,1 \pm 3,4 ^b



La A_{CO_2sat} se obtiene cuando el sistema se encuentra saturado con CO_2 y la difusión estomática no impone una limitación sobre la A . Las disminuciones en P de A_{CO_2sat} del 34 %, acompañados de aumentos en L_m (30 - 40) % con respecto a los tratamientos menos estresados (Tabla 2), podrían estar relacionadas con una limitación en la regeneración de ATP, RuBP y en el contenido y/o actividad de Rubisco [32]. En *C. arabica*, sometida a restricción radicular, no se encontraron cambios en el estado activo de Rubisco pero si en su contenido [7]. Por otra parte, las disminuciones en la EC en *G. hirsutum*, los bajos contenidos y actividad de Rubisco en *G. max* fueron revertidos cuando las plantas eran trasplantadas a macetas con un mayor volumen [51], sugiriendo que la actividad de la Rubisco es sensible a desbalances en la relación fuente-sumidero [5].

3.5 Curvas respuesta A vs DFF (A/DFF)

En las curvas A/DFF se obtuvo un menor punto de saturación de luz al t_{3-5} , sin encontrar diferencias significativas en A_{DFFsat} (2,3 - 4 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y ϕ_{CO_2} (0,04-0,06 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol fotones}^{-1}$) entre tratamientos (Figura 6). Estos resultados son similares a los reportados en plantas de cacao sometidas a diferentes intensidades lumínicas [40]. Además, se encontró una reducción significativa en R_d (-0,7 a -0,1 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y el punto de compensación de la luz (PCL) (13,2 a 0,1 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en el tratamiento P. Las R_d obtenidas en todos los tratamientos son menores a las reportadas por De Almeida, 2012 [40]. En contraste, en plantas de *P. americana* y *M. indica* cultivadas en macetas pequeñas, se encontró una reducción de A_{DFFsat} ,

PCL y ϕ_{CO_2} en comparación a plantas crecidas en el campo, lo cual fue atribuido a una mayor capacidad de suministro de asimilados y una disminución de la fuerza del sumidero debido a la restricción radicular

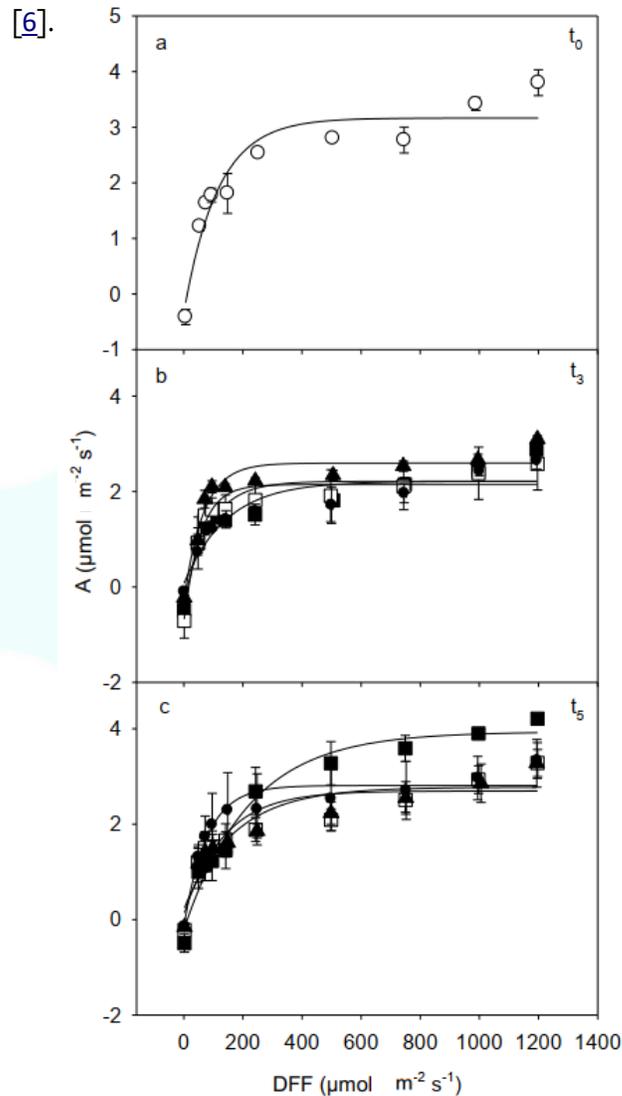
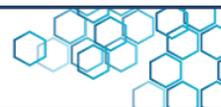


Figura 6. Curva de respuesta de fotosíntesis a la densidad de flujo fotónico (A/DFF) de los diferentes tratamientos: C (\square), G (\blacksquare), M (\blacktriangle) y P (\bullet), a) en el PE (t_4) ($n=3$), b) al t_0 (o), c) al t_3 y d) al t_5 en el SE. Los valores son la media \pm ES ($n=4$)

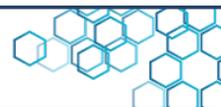


3.6 Actividad fotoquímica del PSII

Los mecanismos de regulación de A en curvas A/C_i y el desequilibrio en la relación fuente-sumidero en el tratamiento P debido a un menor volumen de suelo, podría traer como consecuencia una aclimatación de A con una regulación del PSII en las reacciones lumínicas. Los parámetros obtenidos en P en t₃ se vieron afectados, con una reducción significativa del 27 % en la Φ_{PSII} y de q_P (Tabla 3), sugiriendo una menor capacidad de transferencia de energía a los centros de reacción del PSII.

Tabla 3. Parámetros de fluorescencia: tasa de transporte de electrones (J), eficiencia cuántica relativa del PSII (Φ_{PSII}), coeficiente de extinción fotoquímica (q_P), coeficiente de extinción no fotoquímica (q_N) y eficiencia cuántica máxima (F_v/F_m), determinados en los diferentes tratamientos en el SE a los tiempos t₀, t₁ y t₃. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas. Los valores son la media ± ES (n=6)

Tiempo	DFP ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	T	J ($\mu\text{mol m m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	Φ_{PSII}	q _P	q _N	F _v /F _m
t ₀	399,3±1,2		57,9±2,2	0,3±0,01	0,3±0,01	0,94±0,002	0,8
	32,8±2,4		9,7±0,8	0,7±0,01	0,70±0,01	0,94±0,001	
t ₁	427,9±13,4	G	71,8±2,6 ^a	0,44±0,02 ^a	0,44±0,02 ^a	0,95±0,01 ^a	*
		M	86,2±5,8 ^b	0,47±0,03 ^a	0,47±0,03 ^a	0,94±0,002 ^a	
		P	80,6±2,5 ^{ab}	0,42±0,01 ^a	0,42±0,01 ^a	0,95±0,005 ^a	
	38,3±3,4	G	11,7±2,8 ^a	0,72±0,03 ^a	0,72±0,03 ^a	0,94±0,001 ^a	
		M	13,8±1,9 ^a	0,74±0,02 ^a	0,74±0,02 ^a	0,94±0,002 ^a	
		P	9,1±0,6 ^a	0,68±0,02 ^a	0,68±0,02 ^a	0,94±0,001 ^a	
t ₃	452,3±4,4	G	89,2±7,5 ^b	0,46±0,04 ^b	0,46±0,04 ^b	0,94±0,003 ^a	G 0,84 ^a
		M	87,3±6,1 ^b	0,47±0,02 ^b	0,47±0,02 ^b	0,93±0,001 ^a	
		P	66,1±2,2 ^a	0,34±0,01 ^a	0,34±0,01 ^a	0,94±0,003 ^a	
	37,8±3,3	G	13,4±1 ^b	0,74±0,02 ^a	0,74±0,02 ^a	0,92±0,005 ^a	M 0,85 ^a
		M	8±0,4 ^a	0,74±0,04 ^a	0,74±0,04 ^a	0,92±0,002 ^a	
		P	10,5±2,3 ^{ab}	0,73±0,02 ^a	0,73±0,02 ^a	0,91±0,009 ^a	

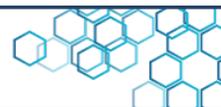
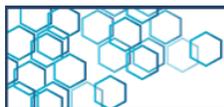


Las reducciones en Φ_{PSII} y q_p fueron acompañadas con una reducción en J en el mismo porcentaje bajo condiciones de DF_{sat} ; resultados similares han sido reportados en plantas de *C. arabica* [7], *L. esculentum* [19] y plántulas de *G. hirsutum* [5] sometidas a restricción del crecimiento radicular.

El descenso de los parámetros fotoquímicos en P, fue atribuido a una regulación descendente de la actividad del aparato fotoquímico, con una menor obtención de energía y poder reductor, sugiriendo una pérdida parcial de la capacidad fotosintética acoplado a una alta disipación de energía en forma de calor (q_N) en los tratamientos, lo cual fue atribuido como un ajuste a una menor demanda de ATP y NADPH [5, 7, 19] y por tanto, una pérdida en la capacidad fotosintética [7].

La regulación descendente de la actividad fotoquímica en P, podría desencadenar un inadecuado suministro de ATP y NADPH al ciclo de Calvin, ocasionando una disminución de la tasa de regeneración de RuBP [5], acompañado por una baja actividad enzimática de Rubisco [55]. Kasai y col. (2012), demuestran que al trasplantar plantas de *G. max* a macetas de mayor volumen, aumenta la actividad de Rubisco, causado por un incremento en su contenido, lo cual podría contribuir a un incremento en su capacidad fotosintética [52].

Por otra parte, al t_3 no se encontraron cambios en F_v/F_m entre tratamientos. En el trabajo de Ronchi y col. (2006), con *C. arabica*, a pesar de que se obtuvo una ligera disminución significativa en éste parámetro en el tratamiento P, sugiere que la energía de las reacciones lumínicas es entregada a los centros de reacción del PSII con relativa eficiencia [7].

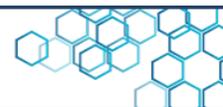
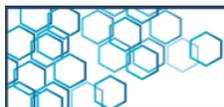


En condiciones de DFF_{amb} ($38 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) no se encontraron diferencias en los parámetros fotoquímicos entre tratamientos al t_1 , mientras que al t_3 se encontró un menor J en M seguido de P y G. Los valores de J fueron similares a los parámetros obtenidos en plantas de cacao cultivadas durante tres meses a bajas DFF ($50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) [40].

3.7 Determinaciones bioquímicas

El contenido de clorofila está relacionado con la capacidad potencial que tiene la planta de transferir la energía lumínica a los centros de reacción [4]. En el SE el contenido de concentración de clorofila a (Cla), concentración de clorofila b (Clb), la concentración de clorofilas totales (Cla+b) y la relación de clorofilas a y b (Cla/b) al t_3 fue mayor en P (Tabla 4), siendo similares a los reportados previamente en cacao [40, 45]. Cabe destacar, que un mayor contenido de clorofila en este tratamiento no explica las reducciones en la actividad fotoquímica, posiblemente sea una consecuencia de un ajuste en el aparato fotoquímico debido a una baja demanda de energía causado por la alteración en el equilibrio fuente-sumidero por el tamaño de maceta. Al t_5 se obtuvo una reducción significativa del contenido de clorofila total entre 39 y 45 % en P con respecto a C. En *C. arabica*, se encontró una reducción en el contenido de clorofila total en plantas P, siendo atribuido a una pérdida de la capacidad fotosintética [7].

Los valores de las proteínas solubles totales (PST) (Tabla 4) fueron similares a los reportados previamente en cacao [45, 46] y no cambiaron



entre tratamiento. El 50 % del contenido de PST corresponden a la enzima Rubisco [49], lo cual apoya el hecho de que la A no fue limitada por disminuciones en el contenido de esta enzima importante del ciclo de Calvin.

Tabla 4. Contenido de clorofilas *a* (Cl_a), *b* (Cl_b), totales (Cl_{a+b}), relación Cl_a/*b* y proteínas solubles totales (PST) determinados en los tratamientos en el SE a los tiempos t₀, t₃ y t₅. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas. Los valores son la media ± ES (n=5).

Tiempo	T	Cl _a (µg/cm ²)	Cl _b (µg/cm ²)	Cl _{a+b} (µg/cm ²)	Cl _a / <i>b</i>	PST (g/m ²)
t ₀		16,6±3,1	8±1	25,5±4,4	2,1±0,1	1,7±0,1
t ₃	G	15,2±3,7 ^{ab}	7,8±1,4 ^{ab}	24±5,3 ^{ab}	1,9±0,2 ^a	1,3±0,3 ^a
	M	12,9±2 ^a	4,3±1,8 ^a	20±2,6 ^a	7,6±5,8 ^a	1,8±0,1 ^a
	P	22,4±1,8 ^b	10,2±0,7 ^b	33,8±2,6 ^b	2,2±0,1 ^a	2±0,5 ^a
t ₅	C	25±5,6 ^b	11,8±2,1 ^b	38,3±8,1 ^b	2,08±0,09 ^a	2,3±0,3 ^a
	G	17,5±2,2 ^{ab}	8,7±0,8 ^{ab}	27,2±3 ^{ab}	1,99±0,09 ^a	1,9±0,1 ^a
	M	20,6±2,2 ^{ab}	9,8±0,9 ^{ab}	31,5±2,7 ^{ab}	2,12±0,03 ^a	1,9±0,2 ^a
	P	13,7±0,9 ^a	7,1±0,2 ^a	21,6±1,1 ^a	1,93±0,08 ^a	2±0,1 ^a

3.8 Parámetros de crecimiento

En el PE, sólo se encontraron diferencias significativas en el diámetro del tallo, siendo menor en P (Tabla 5). El análisis de varianza (ANOVA) de las medidas alométricas en el SE, muestra diferencias significativas en el área foliar (AF) entre tratamientos ($p < 6 \times 10^{-6}$), en el tiempo ($p < 7 \times 10^{-14}$) e interacción ($p < 1,8 \times 10^{-6}$).

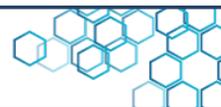


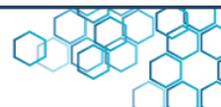
Tabla 5. Medidas alométricas no destructivas (altura, número de hojas y diámetro del tallo) del PE al t₄. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas. Los valores son la media ± ES (n=3).

PE (t ₄)	Altura (cm)	Número de Hojas	Diámetro Tallo (cm)
G	79,4±6 ^a	11,8±3,4 ^a	1,5±0,09 ^{ab}
M	89,2±5,4 ^a	14,6±1,5 ^a	1,7±0,05 ^b
P	73±5 ^a	8,2±1,4 ^a	1,4±0,07 ^a

A partir del t₃, se observó una disminución del AF en P, lo cual podría estar asociado a una disminución en la captura de DFF y en consecuencia ser un factor determinante en el área destinada a la asimilación de carbono. Además, podría estar asociado a una menor superficie transpiratoria, manteniendo menores ED en P y mayores en G y M. Posiblemente, la disminución del AF en P en el tiempo podría deberse a la pérdida de hojas y a una menor producción de nueva biomasa foliar con respecto a G y M, los cuales mantienen una tendencia positiva. Resultados similares fueron obtenidos en *L. escutellum* [19].

4.9 Biomasa seca

Por otra parte, en el SE se encontró una reducción del peso seco del 25 % en hojas y del 30 % en el tallo en P al t₃ y fue acentuado en el t₅ (Tabla 6). Resultados similares se han obtenido en *L. escutellum*, *G. hirsutum* y en *C. sativus*, sugiriendo que una menor acumulación de

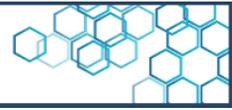
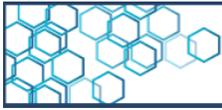


peso seco en el tiempo es el resultado de una menor asimilación de carbono, de una reducción en el metabolismo y de la exportación de productos por parte de los órganos fuentes al resto de la planta, debido a acumulaciones de carbohidratos no estructurales en las hojas, como una consecuencia directa de una inhibición de A por retroalimentación negativa [3, 5, 21].

Plantas cultivadas en macetas de 2 L acumularon un 43 % más de masa seca que plantas cultivadas en macetas de 0,2 L; sugiriendo que tales efectos son el reflejo de alteraciones del proceso fotosintético en las plantas [47].

Tabla 6. Distribución de biomasa: Peso seco de raíz, tallo, hojas y peso seco total realizados en los diferentes tratamientos en el PE al t_4 (n=3) y en el SE a los diferentes tiempos (t_0 , t_3 y t_5). Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas. Los valores son la media \pm ES (n=5).

Tiempo	T	Hoja (gr)	Tallo (gr)	Raíz (gr)	Total (gr)
PE (t_4)	G	6,7 \pm 1,3 ^a	14,1 \pm 1,7 ^a	8,6 \pm 2 ^{ab}	28,6 \pm 2,1 ^a
	M	10,1 \pm 0,9 ^b	20,5 \pm 1,5 ^b	12,3 \pm 0,2 ^b	42,9 \pm 1 ^b
	P	3,9 \pm 0,9 ^a	12,9 \pm 0,7 ^a	7,8 \pm 1,3 ^a	24,6 \pm 1 ^a
SE					
t_0		3,1 \pm 0,3	5,4 \pm 0,3	2,6 \pm 0,2	11 \pm 0,7
	G	9,1 \pm 0,9 ^b	9,5 \pm 0,7 ^b	6,5 \pm 0,9 ^a	25 \pm 2,2 ^b
	M	9,6 \pm 0,6 ^b	8,2 \pm 1,2 ^{ab}	6,4 \pm 1,1 ^a	24,2 \pm 2 ^b
t_3	P	6,7 \pm 0,2 ^a	6,7 \pm 0,3 ^a	4 \pm 0,7 ^a	17,4 \pm 0,7 ^a
	G	10 \pm 0,8 ^c	12,94 \pm 0,5 ^b	9,3 \pm 0,5 ^b	32,3 \pm 1,6 ^b
	M	6,9 \pm 0,3 ^b	14,7 \pm 1,1 ^b	9,3 \pm 1,2 ^b	30,8 \pm 2 ^b
t_5	P	3 \pm 0,5 ^a	8,5 \pm 0,9 ^a	4,8 \pm 1 ^a	16,3 \pm 1,4 ^a



4.10 Análisis de crecimiento

En el análisis de crecimiento no se encontraron diferencias en cuanto al CPF y el CAF en el PE (t_4) y en el t_{0-3} del SE. Sin embargo, en el SE a partir del t_3 se observó una disminución en el CAF y CPF en M y P (Tabla 7); posiblemente como una consecuencia de cambios en el AFT y en el peso seco foliar entre tratamientos. No se encontraron diferencias en la relación R/V entre los distintos tamaños de macetas, pero se observa un leve aumento al t_{0-3} indicando una menor inversión para la producción de la parte aérea en todos los tratamientos, coincidiendo con los resultados alcanzados en el AF y la altura del tallo obtenido en esta cosecha.

Una disminución del AFE ha sido asociada a un incremento en la cantidad de carbohidratos y almidón. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, consistentes con los resultados encontrados en experimentos realizados con plantas herbáceas y leñosas [47].

En el SE, desde el t_{0-3} se encontró una menor TRC en P y la TAN muestra valores negativos en P (Tabla 7), como consecuencia de una pérdida del AF y de la biomasa total respectivamente. Los resultados sugieren que una menor tasa de asimilación de carbono por fotosíntesis (TAN) apoya la teoría de que cualquier variación en la respuesta potencial para el mantenimiento y la formación de nuevas estructuras podría resultar en alteraciones significativas en la productividad [47].

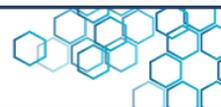
La acumulación de biomasa es proporcional al tamaño de la planta y es reflejado por la TRC [56]. Las diferencias en la TRC de plantas que

crecen en diferentes tamaños de maceta son menores que las diferencias encontradas en la biomasa final de cada tratamiento, sugiriendo que los factores fisiológicos y morfológicos se ven afectados en menor grado que la acumulación de biomasa [47].

Otras hipótesis plantean que la relación entre el crecimiento y la actividad fotosintética puede ser directa, indirecta o de interrelación, donde el crecimiento en sí puede afectar las tasas de fotosíntesis y en vez de ser una relación de una vía, podría ser una relación mutua entre estos dos procesos [57].

Tabla 7. Análisis de crecimiento: Área Foliar Específica (AFE), Área Foliar Total (AFT), Tasa Relativa de Crecimiento (TRC), Tasa de Asimilación Neta (TAN), Cociente de Peso Foliar (CPF), Cociente de Área Foliar (CAF) y Relación Raíz Vástago (R/V) realizados en los diferentes tratamientos en el PE (t4) (n =3) y en el SE a los tiempos t0, t3 y t5. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas. Los valores son la media \pm ES (n=6).

PE								
Tiempo	T	AFE (cm ² /gr)	AFT (m ²)	CPF (g g ⁻¹)	CAF (cm ² g ⁻¹)	R/V (g g ⁻¹)		
t ₄	G	271,8 \pm 17,3 ^a	0,16 \pm 0,03 ^a	0,29 \pm 0,03 ^a	76,5 \pm 5,9 ^a	0,52 \pm 0,17 ^a		
	M	259,8 \pm 15,2 ^a	0,26 \pm 0,03 ^b	0,33 \pm 0,04 ^a	86,5 \pm 11,3 ^a	0,41 \pm 0,01 ^a		
	P	264,7 \pm 14,8 ^a	0,11 \pm 0,03 ^a	0,23 \pm 0,04 ^a	62 \pm 12,6 ^a	0,5 \pm 0,09 ^a		
SE								
Tiempo	T	AFE (cm ² /gr)	AFT (m ²)	CPF (g g ⁻¹)	CAF (cm ² g ⁻¹)	R/V (g g ⁻¹)	TRC (d ⁻¹)	TAN (g cm ⁻² d ⁻¹)
t ₀		294,9 \pm 8	0,1 \pm 0,01	0,35 \pm 0,03	104,1 \pm 8,3	0,31 \pm 0,03		
t ₀₋₃	G	270,9 \pm 10,8 ^a	0,25 \pm 0,03 ^b	0,48 \pm 0,03 ^a	131,8 \pm 11,9 ^a	0,34 \pm 0,04 ^a	0,01 \pm 0,001 ^b	1E-4 \pm 1E-5 ^a
	M	275,7 \pm 9,4 ^a	0,26 \pm 0,02 ^b	0,54 \pm 0,02 ^a	149,7 \pm 6 ^a	0,37 \pm 0,07 ^a	0,01 \pm 0,001 ^b	9E-5 \pm 1E-5 ^a
	P	263,1 \pm 6,7 ^a	0,17 \pm 0,01 ^a	0,5 \pm 0,01 ^a	131,6 \pm 5,4 ^a	0,31 \pm 0,05 ^a	0,007 \pm 0,001 ^a	7E-5 \pm 2E-5 ^a
t ₃₋₅	G	265,1 \pm 20,1 ^a	0,26 \pm 0,02 ^c	0,43 \pm 0,01 ^b	114,1 \pm 6 ^b	0,41 \pm 0,02 ^a	0,04 \pm 0,001 ^b	4E-5 \pm 1E-5 ^b
	M	239,7 \pm 4,5 ^a	0,17 \pm 0,01 ^b	0,32 \pm 0,01 ^a	77,3 \pm 2,3 ^a	0,43 \pm 0,05 ^a	0,04 \pm 0,001 ^b	5E-5 \pm 2E-5 ^b
	P	266,8 \pm 4,3 ^a	0,08 \pm 0,01 ^a	0,27 \pm 0,05 ^a	72 \pm 13,9 ^a	0,41 \pm 0,07 ^a	-0,001 \pm 0,001 ^a	-1E-5 \pm 1E-5 ^a

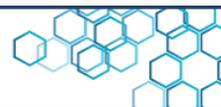


4. Conclusiones

Los resultados discutidos permiten proponer un posible modelo que engloba los mecanismos de regulación de A en plántulas de cacao sometidas a restricción del volumen de suelo y su interrelación con los parámetros de crecimiento, medidas alométricas y acumulación de peso seco total en un tiempo de 5 meses. En condiciones de restricción del crecimiento radicular en el tratamiento P, la alteración de la relación fuente-sumidero debido a una disminución en el volumen de suelo, podría conducir a una inhibición de A por retroalimentación negativa como resultado de una disminución en la demanda del sumidero. Por lo tanto, la reducción en la exportación de asimilados, podría favorecer la vía que conduce la síntesis de almidón en el cloroplasto, por tanto un menor poder energético es disponible en el ciclo de Calvin.

Los mecanismos de regulación de A, se vieron evidenciados con la reducción de los parámetros de crecimiento, medidas alométricas y acumulación de peso seco. Sin embargo, los cambios observados en estas medidas de crecimiento a partir del t_3 , pueden afectar el desempeño fisiológico y bioquímico de toda la planta, por lo que se plantea una interrelación entre A y el crecimiento.

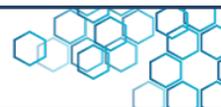
Estos resultados sugieren que el volumen de suelo adecuado a utilizar en plantas de cacao en estas condiciones sería el Grande y el Mediano durante 5 meses, tiempo en el cual no se vieron afectados las variables fisiológicas y de crecimiento con respecto a las plantas control. La selección de volúmenes de maceta adecuado y el tiempo en el cual se encuentran cultivados, son factores importantes a tener en cuenta no



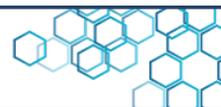
sólo en la realización de experimentos sino también en la obtención de plantas que presenten un mejor desempeño fisiológico y de crecimiento para ser cultivadas en el campo.

5. Referencias

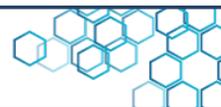
- [1] Fitter A. Characteristics and functions of root systems. En: Waisel Y, Eshel A, Kafkafi U. *Plant Roots: The Hidden Half*. New York. Marcel Dekker, 3, 15-32, 2002.
- [2] Peterson T, Reinsel M, Krizek D. Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Plant response to root restriction. Root respiration and ethylene generation. *Exp Bot*. 1991. 42: 1241-1249.
- [3] Robbins N, Pharr D. Effect of restricted root growth on carbohydrate metabolism and whole plant growth of *Cucumis sativus* L. *Plant Physiol*. 1998. 87: 409-413.
- [4] Taiz L, Zeiger E. *Plant Physiology*. EE.UU. Board, 5, 11-99, 2010.
- [5] Thomas R, Strain B. Root restriction as a factor in photosynthetic acclimation of cotton seedlings grown in elevated carbon dioxide. *Plant Physiol*. 1991, 96, 627-634.
- [6] Whiley A, Searle C, Schaffer B, Wolstenholme B. Cool orchard temperatures or growing trees in containers can inhibit leaf gas exchange of avocado and mango. *J. Am. Soc. Hortic. Sci*. 1999. 124, 46-51.
- [7] Ronchi C, Damatta F, Batista K, Moraes G, Loureiro M, Ducatti C. Growth and photosynthetic down-regulation in *Coffea arabica* in response to restricted root volume. *Funct. Plant Biol*. 2006, 33, 1013-1023.



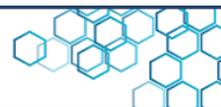
- [8] NeSmith D Duval J. The effect of container size. *Hort. Technol.* 1998. 8(4), 495-498.
- [9] Arp B Drake B. Increased photosynthetic capacity of *Scirpus olneyi* after 4 years of exposure to elevated CO₂. *Plant Cell. Environ.* 1991. 14, 1004-1008.
- [10] Ziska L, Hogan K, Smith A Drake B. Growth and photosynthetic response of nine tropical species with long-term exposure to elevated carbon dioxide. *Oecol.* 1991. 86,383-389, 1991.
- [11] Barrett D y Gifford R. Acclimation of photosynthesis and growth by cotton to elevated CO₂: interactions with severe phosphate deficiency and restricted rooting volume. *Aust. J. Plant Physiol.* 1995. 22,955-963.
- [12] DaMatta F. Drought as a multidimensional stress affecting photosynthesis in tropical tree crops. *Advan. Plant Physiol.* 2003. 5, 227-265.
- [13] Herold A McNeil P. Restoration of photosynthesis in pot-bound tobacco plants. *J. Exp. Bot.* 1979. 30, 1187-1194.
- [14] Zaharah S. Razi I. Growth, stomata aperture, biochemical changes and branch anatomy in mango (*Mangifera indica*) cv. Chokanan in response to root restriction and water stress. *Sci. Hortic.- Amsterdam.* 2009. 123, 58-67.
- [15] Krizek D, Carmi A, Mirecki R, Snyder F Bruce J. Comparative effects of soil moisture stress and restricted root zone volume on morphogenetic and physiological responses of soybean (*Glycine max* L.). *J. Expt. Bot.* 1985. 36,25-38.
- [16] Carmin A, Hesketh J, Enos W Peters D. Interrelationships between shoot growth and photosynthesis as affected by root growth restriction. *Photosynthetica.* 1983. 17,240-245.



- [17] NeSmith D, Bridges D Barbour J. Bell pepper responses to root restriction. *J. Plant. Nutr.* 1992. 15: 2763- 2776.
- [18] Mataa M Tominaga S. Effects of root restriction on the tree development in ponkan mandarin (*Citrus reticulata* B). *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 1998. 123(4), 651-655.
- [19] Shi K, Ding X, Dong D, Zhou Y, Yu J. Root restriction induced limitation to photosynthesis in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) leaves. *Sci. Hortic. -Amsterdam.* 2008. 117, 197-202.
- [20] Van Iersel M. Root restriction effects on growth and development of salvia (*Salvia splendens*). *Hortscience.* 1997. 32:1186-1190.
- [21] Nishisawa T, Saito K. Effects of rooting volume restriction on the growth and carbohydrate concentration in tomato plants. *J. Amer. Soc. Sct.* 1998. 123(4):581-585.
- [22] Weston L. Effect of flat cell size, transplant age, and production site on growth and yield of pepper transplants. *Hortscience.* 1988. 23: 709-711.
- [23] Liu A, Latimer J. Root cell volume in the planter flat affects watermelon seedling development and fruit yield. *Hortscience.* 1995. 30: 242-246.
- [24] Peterson C, Klepper B, Pumphrey F, Rickman R. Restricted rooting decreases tillering and growth of winter wheat. *Agron J.* 1984. 76: 861-3.
- [25] Kemble J, Davis J, Gardner R, Sanders D. Root cell volume affects growth of compact-growth-habit tomato transplants. *Hortscience.* 1994. 29: 261- 262.
- [26] Motamayor J, Risterucci A, López P, Ortiz C, Moreno A, Lanaud C. Cacao domestication. The origin of the cacao cultivated by the Mayas. *Heredity.* 2002. 89: 380-386.
- [27] Almeida A, Valle R. Ecophysiology of the cacao tree. *Braz J. Plant Physiol.* 2008. 9: 425-448.



- [28] International Cocoa Organization (ICCO). *Annual report*. Londres, Inglaterra. 2020.
- [29] Nair KP. Cocoa (*Theobroma cacao* L.). Tree crops: harvesting cash from the world's important cash crops. 2021. pp. 153-213. https://doi.org/10.1007/978-3-030-62140-7_5.
- [30] Angulo Villacorta CD, Mathios Flores MA, Racchumi García A, Bardales-Lozano RM, Montejo DA. Crecimiento de plántulas de cacao (*Theobroma cacao*) en vivero, usando diferentes volúmenes de sustrato. *Manglar*. 2021. 18(3): 261-266.
- [31] Rundel P y Jarrel W. Water in the environment. En: Pearcy, R.W., Ehleringer, J., Mooney, H.A., Rundel, P.W. *Plant Physiological Ecology: Fields, methods and instrumentation*. pp: 29-56. Chapman & Hall, primer edition. London, England. 1989
- [32] Farquhar G y Von Caemmerer S. Modeling of photosynthetic responses to environmental conditions. En: Lange, O.L., Nobel, P.S., Osmond, C.B., Ziegler, H. *Encyclopedia of Plant Physiology*. Berlin, Alemania. Springer-Verla, 549-587, 1982.
- [33] Jacob J, Lawlor D. Stomatal and mesophyll limitations of photosynthesis in phosphate deficit sunflower, maize and wheat plants. *J. Exp. Bot.* 1991. 42: 1003-1011.
- [34] Genty B, Briantais J, Baker N. The relations between the quantum yield of photosynthesis electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochem. Bioph.* 1989. 990: 87-92.
- [35] Krall J, Edwards E. Relationship between photosystem II activity and CO₂ fixation in leaves. *Plant. Physiol.* 1992. 86: 180-187.
- [36] Bruinsma J. The quantitative analysis of chlorophylls a and b in plants extracts. *Photochem. Photobiol.* 1963. 2: 241-249.
- [37] Bradford M. A rapid and sensitive method for a quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annal. Biochem.* 1976. 72: 248-254.



[38] Chiariello N, Mooney A, Williams K. Growth, carbon allocation and cost of plant tissues. En: Pearcy, R., Ehlenringer, J., Mooney, H., Rundel, P. *Plant Physiol Ecol.* 1989. pp: 327-365. Editions Chapman & Hall. London, England.

[39] Jaimez R, Tezara W, Coronel I, Urich R. Ecofisiología del cacao (*Theobroma cacao*) su manejo en el sistema agroforestal. Sugerencias para su manejo en Venezuela. *Rev. For. Venez.* 2008. 52(2): 253-258.

[40] De Almeida J. Respuestas ecofisiológicas de cacao (*Theobroma cacao* L.) a diferentes intensidades lumínicas. Tesis de Pregrado. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. pp: 7. 2012.

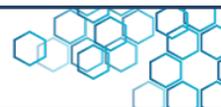
[41] Gomes S, Kozlowski T. Effects of temperature on growth and water relations of cacao (*Theobroma cacao* var. *Comum*) seedlings. *Plant Soil.* 1987. 103: 3-11.

[42] Lobão D, Setenta W, Lobão E, Curvelo K, Valle R. *Cacau cabruca: sistema agrossilvicultural tropical.* pp: 290-323. Ilhéus: Edición Valle RR, Ciência, Tecnologia e Manejo do Cacaueiro. Editorial Vital Ltda. 200.

[43] Araque O, Jaimez R, Tezara W, Coronel I, Urich R, Espinoza W. Comparative photosynthesis, water relations, growth and survival rates in juvenile criollo cacao cultivars (*Theobroma cacao*) during dry and wet seasons. *Exp. Agr.* 2012. 48: 513-522.

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

[45] Pereyra G, Villalobos V, Rondón O, Chacón R, Jaimez R, Tezara W. Variación estacional del intercambio gaseoso y el estado hídrico en accesiones de germoplasma nacional de cacao (*Theobroma cacao* L.). XVII Congreso Venezolano de Botánica, resumen in extenso. pp: 669-672. Venezuela. 2007.



[46] Tezara W, Coronel I, Urich R, Marín O, Jaimez R, Chacón I. 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. pp: 1-5. São Lorenço, Brasil. 2009.

[47] Poorter H, Bühler J, Dusschoten J, Climent J, Johannes A. Pot size matters: a meta-analysis of the effects of rooting volume on plant growth. *Funct. Plant. Biol.* 2012. 39: 839-850.

[48] Paul M, Pellny T. Carbon metabolite feedback regulation of leaf photosynthesis and development. *J. Exp. Bot.* 2003. 54: 539-547.

[49] Stitt M, Quick W. Photosynthetic carbon partitioning, its regulation and possibilities for manipulation. *Physiol. Plantarum.* 1989. 77: 633-641.

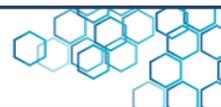
[50] Ray J, Sinclair T. The effect of pot size on growth and transpiration of maize and soybean during water deficit stress. *J. Exp. Bot.* 1998. 49:1381-1386.

[51] Kasai M, Koide K, Ichikawa Y. Effect of pot size on various characteristics related to photosynthetic matter production in soybean plants. *Int. Jo. of Agro.* 2012: 2-7.

[52] Amthor J. The role of maintenance respiration in plant growth. *Plant. Cell. Environ.* 1984. 7: 561-569.

[53] Lawlor D, Tezara W. Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. *Ann. Bot-London.* 2009. 4: 561-579.

[54] Cornic G. Drought stress and high light effects on leaf photosynthesis. En: Baker, N.R., Bowyer, J.R. *Photoinhibition of*



Photosynthesis. pp: 297-313. Bios Scientific Publishers. Oxford, England. 1994.

[55] Lawlor D y Cornic G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant. Cell. Environ.* 2002. 25,275-294.

[56] Evans GC. The quantitative analysis of plant growth. pp: 734. California: University of California Press. 1972.

[57] Sweet G, Wearing P. Role of plant growth in regulating photosynthesis. *Nature*. 1966. 210: 77-7.

