



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución- NoComercial-Compartirigual 2.5 Perú](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/).
Vea una copia de esta licencia en <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN-TARAPOTO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



**“EFECTO DE LAS ENMIENDAS ORGÁNICAS ASOCIADAS A
Trichoderma ENDÓFITOS, APLICADAS A DIFERENTES GENOTIPOS
DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) EN CONDICIONES DE ESTRÉS
HÍDRICO”**

Tesis para optar el título profesional de:

INGENIERO AGRÓNOMO

AUTOR:

Bach. Percy Luis Dominguez Yap

ASESOR:

Ing. Eybis José Flores García

CO-ASESOR

Ing. Ph.D. Enrique Arévalo Gardini

Ing. Erick Trigozo Bartra

Tarapoto – Perú

2018

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN-TARAPOTO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



**“EFECTO DE LAS ENMIENDAS ORGÁNICAS ASOCIADAS A
Trichoderma ENDÓFITOS, APLICADAS A DIFERENTES
GENOTIPOS DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) EN CONDICIONES
DE ESTRÉS HÍDRICO”**

Tesis para optar el título profesional de:

INGENIERO AGRÓNOMO

AUTOR:

Bach. Percy Luis Dominguez Yap

Sustentado y aprobado ante el honorable jurado el día 12 de Julio del 2018

A blue ink signature of Jaime Walter Alvarado Ramirez, written in a cursive style.

Ing. Dr. Jaime Walter ALVARADO RAMÍREZ
Presidente

A blue ink signature of Manuel Santiago Doria Bolaños, written in a cursive style.

Ing. M. Sc. Manuel Santiago DORIA BOLAÑOS
Secretario

A blue ink signature of Segundo D. Maldonado Vásquez, written in a cursive style.

Ing. M.Sc. Segundo D. MALDONADO VÁSQUEZ
Miembro

A blue ink signature of Eybis José Flores García, written in a cursive style.

Ing. Eybis José FLORES GARCÍA
Asesor

Declaración de Autenticidad

Yo, PERCY LUIS DOMINGUEZ YAP, egresado(a) de la Facultad de CIENCIAS AGRARIAS de la Escuela Profesional de AGRONOMÍA, de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, identificado con DNI N° 72745754, Domiciliado en: Jr. Arequipa N° 266 – Morales, con la tesis titulada: “EFECTO DE LAS ENMIENDAS ORGÁNICAS ASOCIADAS A *Trichoderma* ENDÓFITOS, APLICADAS A DIFERENTES GENOTIPOS DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) EN CONDICIONES DE ESTRÉS HÍDRICO”.

Declaro bajo juramento que:

1. La tesis presentada es de mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas. Por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido auto plagiada; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

De considerar que el trabajo cuenta con una falta grave, como el hecho de contar con datos fraudulentos, demostrar indicios y plagio (al no citar la información con sus autores), plagio (al presentar información de otros trabajos como propios), falsificación (al presentar la información e ideas de otras personas de forma falsa), entre otros, asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome a la normatividad vigente de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto.

Tarapoto, 12 de Julio del 2018



PERCY LUIS DOMINGUEZ YAP

DNI N° 72745754



Formato de autorización NO EXCLUSIVA para la publicación de trabajos de investigación, conducentes a optar grados académicos y títulos profesionales en el Repositorio Digital de Tesis

1. Datos del autor:

Apellidos y nombres:	Dominguez Yap Percy Luis	
Código de alumno :	101112	Teléfono: 945783460
Correo electrónico :	percydy91@gmail.com	DNI: 72445454

(En caso haya más autores, llenar un formulario por autor)

2. Datos Académicos

Facultad de:	Ciencias Agrarias
Escuela Profesional de:	Agronomía

3. Tipo de trabajo de investigación

Tesis	(X)	Trabajo de investigación	()
Trabajo de suficiencia profesional	()		

4. Datos de trabajo de investigación

Titulo:	Efecto de las enmiendas orgánicas asociadas a Trichoderma endófitos, aplicadas a diferente genotipos de cacao (Theobroma cacao L.) en condiciones de estrés hídrico
Año de publicación:	

5. Tipo de Acceso al documento

Acceso público *	()	Embargo	()
Acceso restringido **	()		

Si el autor elige el tipo de acceso abierto o público, otorga a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, una licencia **No Exclusiva**, para publicar, conservar y sin modificar su contenido, pueda convertirla a cualquier formato de fichero, medio o soporte, siempre con fines de seguridad, preservación y difusión en el Repositorio de Tesis Digital. Respetando siempre los Derechos de Autor y Propiedad Intelectual de acuerdo y en el Marco de la Ley 822.

En caso que el autor elija la segunda opción, es necesario y obligatorio que indiquen el sustento correspondiente:

6. Originalidad del archivo digital

Por el presente dejo constancia que el archivo digital que entrego a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, como parte del proceso conducente a obtener el Título Profesional o Grado Académico, es la versión final del trabajo de investigación sustentado y aprobado por el jurado.

7. Otorgamiento de una licencia *CREATIVE COMMONS*

Para investigaciones que son de acceso abierto se les otorgó una licencia *Creative Commons*, con la finalidad de que cualquier usuario pueda acceder a la obra, bajo los términos que dicha licencia implica.

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>

El autor por medio de este documento, autoriza a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, publicar su trabajo de investigación en formato digital en el Repositorio Digital de Tesis, al cual se podrá acceder, preservar y difundir de forma libre y gratuita, de manera íntegra a todo el documento.

Según el Inciso 12.2, del Artículo 12° del Reglamento Nacional de Trabajos de Investigaciones para optar Grados Académicos y Títulos Profesionales –RENATI “**Las universidades, instituciones y escuelas de educación superior tienen como obligación registrar todos los trabajos de investigación y proyectos, incluyendo los metadatos en sus repositorios institucionales precisando si son de acceso abierto o restringido, los cuales serán posteriormente recolectados por el Repositorio Digital RENATI, a través del Repositorio ALICIA**”.


.....
Firma del Autor

8. Para ser llenado en la Oficina de Repositorio Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso Abierto de la UNSM-T.

Fecha de recepción del documento:

09, 10, 2018



.....
Firma del Responsable de Repositorio
Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso
Abierto de la UNSM-T.

***Acceso abierto:** uso lícito que confiere un titular de derechos de propiedad intelectual a cualquier persona, para que pueda acceder de manera inmediata y gratuita a una obra, datos procesados o estadísticas de monitoreo, sin necesidad de registro, suscripción, ni pago, estando autorizada a leerla, descargarla, reproducirla, distribuirla, imprimirla, buscarla y enlazar textos completos (Reglamento de la Ley No 30035).

****Acceso restringido:** el documento no se visualizará en el Repositorio.

DEDICATORIA

A mis queridos padres, Teresa Arlett Yap Flores y Toribio Domínguez Ríos, por ser mis mejores consejeros y amigos, mi mayor ejemplo de fortaleza y dedicación; la fuerza interior que me motiva a seguir adelante y ser mejor persona. A mis hermanos, Miguel Ángel, Evelyn Arlett; por brindarme su apoyo incondicional moral y espiritual en cada momento.

Percy Luis Dominguez Yap

AGRADECIMIENTO

A mi asesor Ing. Eybis José Flores García por dedicar su tiempo y sus conocimientos para guiarme en el asesoramiento de mi tesis; por ser un gran docente y amigo.

A mis co-asesores Ing. Ph. D. Enrique Arévalo Gardini, así como Ing. Erick Trigozo Bartra, por dedicar su tiempo y conocimientos para guiarme en el desarrollo de mi tesis.

Agradecer a toda la familia del Instituto de Cultivos Tropicales (ICT), en especial a mis grandes amigos Ing. Juan Arévalo Gardini, Ing. Abel Farfan Pinedo y Tec. Delmar Olivera Cayotopa, por su amistad y calidad humana.

Percy Luis Dominguez Yap

ÍNDICE

DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
RESUMEN	xiii
ABSTRAC	xiv
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
1.1. Consideraciones previas del cultivo de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.).	3
1.1.1. Descripción de la planta.	3
1.1.2. Requerimientos ambientales.	3
1.2. Enmiendas orgánicas.	4
1.3. Estrés hídrico.	4
1.3.1. Mecanismo de resistencia a la sequía.	4
1.3.2. Efectos fisiológicos del estrés hídrico.	5
1.3.3. Estados de marchitez.	7
1.3.4. Tolerancia a la sequía en cacao.	7
1.3.5. Índice de tolerancia a la sequía.	9
1.4. Hongos endófitos.	9
1.4.1. Generalidades de <i>Trichoderma</i> .	9
1.4.2. Interacciones <i>Trichoderma</i> – planta (cacao).	10
1.4.3. <i>Trichoderma</i> en el desarrollo de la planta y la resistencia a patógenos.	11
1.4.4. Colonización de <i>Trichoderma</i> en las raíces.	11
1.4.5. Inducción de resistencia al estrés hídrico.	12
1.4.6. Promoción del crecimiento vegetativo en las plantas.	13
1.5. Antecedentes de investigaciones.	14
CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS	17
2.1. Tipo de método de investigación.	17
2.2. Diseño de investigación.	17
2.3. Unidad de análisis, universo y muestra.	17
2.4. Materiales biológicos.	19
2.4.1. Genotipos de cacao y/o accesiones.	19
2.4.2. Cepas de <i>Trichoderma</i> .	19

2.4.3. Enmiendas orgánicas.	19
2.5. Ubicación del lugar experimental.	19
2.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.	20
2.7. Conducción del experimento.	20
2.7.1. Propagación asexual de cacao (ramillas).	20
2.7.2. Producción y conteo de conidias de <i>Trichoderma</i> endófitos.	23
2.7.3. Siembra de los plántones de cacao, inoculación de <i>Trichoderma</i> endófitos e inducción al estrés hídrico.	26
2.7.4. Porcentaje de colonización de <i>Trichoderma</i> en la raíz de las plantas de cacao.	28
2.8. Variables.	28
2.8.1. Variable dependiente.	28
2.8.2. Variable independiente.	28
2.9. Indicadores de variable a evaluar.	28
2.10. Técnica de procesamiento y análisis de datos.	29
CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIONES	31
3.1. Resultados.	31
a. Efecto de la colonización de <i>Trichoderma</i> endófito en la raíz de cacao sobre el estrés hídrico.	31
b. Efecto del estrés hídrico en la planta de cacao en la variable altura de planta.	35
c. Efecto del estrés hídrico en la planta de cacao en la variable número de hojas.	36
d. Efecto del estrés hídrico en la planta de cacao en la variable número de ramas.	38
e. Efecto del estrés hídrico en la planta de cacao en la variable conductancia estomatal.	39
f. Efecto del estrés hídrico en la planta de cacao en la variable longitud de la raíz.	41
g. Efecto del estrés hídrico en la planta de cacao en la variable índice de tolerancia a la sequía.	42
h. Efecto del estrés hídrico en la planta de cacao en la variable grado de marchitez.	44

i.	Efecto del estrés hídrico en la interacción Genotipo*Enmienda en las variables agronómicas del cacao.	45
j.	Efecto del estrés hídrico en la interacción Cepa*Genotipo en las variables agronómicas del cacao.	46
k.	Efecto del estrés hídrico en la interacción Enmienda*Cepa en las variables agronómicas del cacao.	49
l.	Efecto del estrés hídrico en la interacción Genotipo*Enmienda*Cepa en las variables agronómicas del cacao.	51
3.2.	Discusión de resultados	54
a.	Porcentaje de colonización de <i>Trichoderma</i> en la raíz de cacao.	54
b.	De la altura de planta.	54
c.	Número de hojas.	55
d.	Número de ramas.	56
e.	Conductancia estomatal.	56
f.	Longitud de raíz.	57
g.	Índice de tolerancia a la sequía (DTI).	58
h.	Grado de marchitez.	58
	CONCLUSIONES	60
	RECOMENDACIONES	61
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
	ANEXO	72

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Esquemas de los niveles de factores y tratamientos.	18
Tabla 2 Procedencia de las cepas de <i>Trichoderma</i> endófitos.	19
Tabla 3 Análisis de varianza del porcentaje de colonización de <i>Trichoderma</i> endófito en la raíz de cacao.	31
Tabla 4 Variables agronómicas estudiadas de la planta de cacao con respecto al porcentaje de colonización de la raíz de cacao, en la interacción genotipo*enmienda.	32
Tabla 5 Variables agronómicas estudiadas de la planta de cacao con respecto al porcentaje de colonización de la raíz de cacao, en la interacción enmienda*cepa.	33
Tabla 6 Análisis de varianza de la interacción de genotipos, enmiendas y cepas de <i>Trichoderma</i> , con respecto a la altura de planta de cacao.	35
Tabla 7 Análisis de varianza de la interacción de genotipos, enmiendas y cepas de <i>Trichoderma</i> , con respecto al número de hojas de la planta de cacao.	36
Tabla 8 Análisis de varianza de la interacción de genotipos, enmiendas y cepas de <i>Trichoderma</i> , con respecto al número de ramas de la planta de cacao.	38
Tabla 9 Análisis de varianza de la interacción de genotipos, enmiendas y cepas de <i>Trichoderma</i> , con respecto a la conductancia estomatal de la planta de cacao.	39
Tabla 10 Análisis de varianza de la interacción de genotipos, enmiendas y cepas de <i>Trichoderma</i> , con respecto a la longitud de raíz de la planta de cacao.	41
Tabla 11 Análisis de varianza de la interacción de genotipos, enmiendas y cepas de <i>Trichoderma</i> , con respecto al índice de tolerancia a la sequía (DTI) de la planta de cacao.	42
Tabla 12 Análisis de varianza de la interacción de genotipos, enmiendas y cepas de <i>Trichoderma</i> , con respecto al grado de marchitez de la planta de cacao.	44
Tabla 13 Variables estudiadas de la planta de cacao con respecto a la interacción doble (genotipo*enmienda), en el estrés hídrico.	46
Tabla 14 Variables estudiadas de la planta de cacao con respecto a la interacción doble (cepa*genotipo), en el estrés hídrico.	48
Tabla 15 Variables estudiadas de la planta de cacao con respecto a la interacción doble (enmienda*cepa), en el estrés hídrico.	50

ÍNDICE DE GRÁFICOS

<i>Gráfico 1.</i> Variables agronómicas estudiadas de la planta de cacao con respecto al porcentaje de colonización de <i>Trichoderma</i> endófitos a la raíz de cacao, con enmiendas orgánicas, cepas de <i>Trichoderma</i> y genotipos.	32
<i>Gráfico 2.</i> Interacción entre genotipos, enmiendas y cepas de <i>Trichoderma</i> al porcentaje de colonización de raíz de cacao.	34
<i>Gráfico 3.</i> Variables agronómicas estudiadas de la planta de cacao con respecto a la altura de la planta, con enmiendas orgánicas, cepas de <i>Trichoderma</i> y genotipos.	36
<i>Gráfico 4.</i> Variables agronómicas estudiadas de la planta de cacao con respecto al número de hojas, con enmiendas orgánicas, cepas de <i>Trichoderma</i> y genotipos.	37
<i>Gráfico 5.</i> Variables agronómicas estudiadas de la planta de cacao con respecto al número de ramas, con enmiendas orgánicas, cepas de <i>Trichoderma</i> y genotipos.	39
<i>Gráfico 6.</i> Variables agronómicas estudiadas de la planta de cacao con respecto a la conductancia estomatal, con enmiendas orgánicas, cepas de <i>Trichoderma</i> y genotipos.	40
<i>Gráfico 7.</i> Variables agronómicas estudiadas de la planta de cacao con respecto a la longitud de la raíz, con enmiendas orgánicas, cepas de <i>Trichoderma</i> y genotipos.	42
<i>Gráfico 8.</i> Variables agronómicas estudiadas de la planta de cacao con respecto al índice de tolerancia la sequía, con enmiendas orgánicas, cepas de <i>Trichoderma</i> y genotipos.	43
<i>Gráfico 9.</i> Variables agronómicas estudiadas de la planta de cacao con respecto al grado de marchitez, con enmiendas orgánicas, cepas de <i>Trichoderma</i> y genotipos.	45
<i>Gráfico 10.</i> Interacción entre genotipos, enmiendas y cepas de <i>Trichoderma</i> con respecto a conductancia estomatal durante el proceso de estrés hídrico.	52
<i>Gráfico 11.</i> Índice de tolerancia a la sequía (DTI).	53

RESUMEN

Este estudio de investigación se realizó en el Instituto de Cultivos Tropicales-Tarapoto (ICT), con el objetivo de determinar el efecto de las enmiendas orgánicas, asociadas con *Trichoderma* endófito, aplicada a diferentes genotipos de cacao, en estrés hídrico. Se seleccionaron cuatro genotipos (CCN-51, ICT-2142, ICT-1189 e ICS-95), dos enmiendas orgánicas (humus de lombriz y guano de isla) y cuatro cepas de *Trichoderma*. La investigación duró ocho meses. Se evaluó, altura de planta, número de hojas y ramas, conductancia estomatal, longitud de raíz, índice de tolerancia a la sequía y grado de marchitez. Todas las cepas de *Trichoderma* tuvieron la capacidad de colonizar las raíces de cacao con el método de infestación vía drench, donde las cepas TE-51 y TE-21 tuvieron mayor % de colonización. El genotipo ICT-2142, obtuvo los mejores promedios en cuanto a la altura de planta, conductancia estomatal, longitud de la raíz e índice de tolerancia a la sequía. El genotipo CCN-51 en número de hojas y ramas; el genotipo ICT-1189 solo en grado de marchitez con 2,83. La enmienda humus de lombriz influyó en la mayoría para el desarrollo de los plantones. Para las interacciones cepas*enmiendas, influyeron en el comportamiento de los genotipos tales como E1*TE21 en conductancia estomatal y menor grado de marchitez; E1*TE-51 influyó en número de hojas y ramas; E1*TE-54 influyó en altura de planta mientras E2*TE-21 influyó en longitud de la raíz. Todos los genotipos mostraron índice de tolerancia a la sequía moderadamente, siendo el genotipo ICT-2142 con mayor índice de tolerancia a la sequía con 80,16 %.

Palabras clave: Estrés abiótico, *Trichoderma* cacao, sequía, enmiendas orgánicas.

ABSTRAC

This research study was conducted at the Institute of Tropical Crops-Tarapoto (ICT), with the objective of determining the effect of organic amendments, associated with *Trichoderma* endophyte, applied to different genotypes of cocoa, in water stress. Four genotypes were selected (CCN-51, ICT-2142, ICT-1189 and ICS-95), two organic amendments (earthworm humus and island guano) and four strains of *Trichoderma*. The investigation lasted eight months. It was evaluated, plant height, number of leaves and branches, stomatal conductance, root length, drought tolerance index and degree of wilt. All strains of *Trichoderma* had the ability to colonize cacao roots with the drench infestation method, where strains TE-51 and TE-21 had higher colonization%. The ICT-2142 genotype obtained the best averages for plant height, stomatal conductance, root length and drought tolerance index. The CCN-51 genotype in number of leaves and branches; the ICT-1189 genotype only in degree of wilt. The amendment humus worm influenced the majority for the development of seedlings. For interactions strains * amendments, they influenced the behavior of genotypes such as E1 * TE21 in stomatal conductance and lower degree of wilt; E1 * TE-51 influenced the number of leaves and branches; E1 * TE-54 influenced plant height while E2 * TE-21 influenced root length. All genotypes showed drought tolerance index moderately, being the genotype ICT-2142 with a higher index of tolerance to drought with 80,16 %.

Keywords: Abiotic stress, *Trichoderma* cocoa, drought, organic amendments



INTRODUCCIÓN

En la región San Martín, el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.), es de gran importancia económica, social y ambiental, donde se viene cultivando diversas variedades, clones e híbridos, en diversos ambientes climáticos, los cuales se encuentran instalados en zonas de vidas de bosque seco (bs-T), bosque húmedo premontano tropical (bh-PT) y bosque húmedo tropical (bh-T), trayendo como consecuencia variabilidad de rendimientos. En ambientes secos y cálidos se consumen grandes volúmenes de agua, debido a la mayor cantidad de energía solar disponible y a la mayor tasa de evapotranspiración por las plantas; mientras que en ambientes más húmedos y cálidos el consumo de agua es menor (Torrán, 2007).

Debido a los sucesos del cambio climático y la variabilidad del clima, especialmente por la incidencia de las temperaturas, en nuestra región, se están produciendo cambios significativos en la fisiología y metabolismo de los cultivos agrícolas y en especial del cultivo de cacao, manifestándose en zonas del cultivo; como consecuencia el hábitat y nicho ecológico del mismo, está variando, debido a la transpiración de las plantas. De Almeida y Valle (2010), manifiesta que, las condiciones vulnerables de la planta de cacao a fenómenos extremos de sequía se presentan en las etapas iniciales de establecimiento y afectan negativamente el crecimiento. Por otra parte, la respuesta de la planta en forma de ajuste osmótico y reducción en el potencial hídrico de la hoja, afectan la asimilación de carbono.

La problemática radica en la falta de identificación de clones, híbridos resistentes a los periodos prolongados de sequía, donde los plántones al momento de la instalación son susceptibles al déficit hídrico, que afecta los procesos fisiológicos de la planta, en la etapa de crecimiento, que se reflejará en la producción con bajo rendimiento de almendras por hectáreas. Sin embargo, Malinowski y Belesky (2000), Harman, Howell, Viterbo, Chet y Lorito (2004), Vinale, *et al.*, (2008) y otros autores, indican que la aplicación de *Trichoderma* endófitos en los cultivos de tomate, ají, lechuga y maíz, realizaron trabajos sobre el efecto de *Trichoderma* se logró atenuar el efecto del estrés hídrico, obteniendo resultados muy satisfactorios, para el cual se consideró investigar en el cultivo de cacao

La importancia del estudio está en los genotipos con la capacidad de tolerancia a la sequía, el cacao es una planta hidropériódico, donde los factores ambientales ejercen una influencia de 70 % en el desarrollo, y los hongos endófitos como *Trichoderma*, tienen la capacidad de colonizar las raíces, tallos y hojas de cacao, causando cambios en el metabolismo de los tejidos promoviendo el crecimiento y activando los sistemas de defensa en condiciones adversas bióticas y/o abióticas, y el aporte de enmiendas orgánicas son fuentes de energía para los hongos endófitos y las plantas.

Unas de las limitaciones en esta investigación fue el método de propagación vegetativa (ramilla), para obtener plántulas de cacao genéticamente puros, por ello se seleccionó del banco de germoplasma del Instituto de Cultivos Tropicales, el proceso de aclimatación de las plántulas de cacao, ya que es una actividad primordial para el desarrollo de la investigación, la falta de tiempo para que esta investigación se replique en campo definitivo desde el crecimiento hasta la producción, así mismo, la falta de otras investigaciones similares en nuestra región.

En la región San Martín, la información de los requerimientos hídricos, los mecanismos de tolerancias o adaptación a las condiciones críticas de sequía de los genotipos de cacao es escasa. Por tanto, esta investigación tiene como objetivo general determinar el efecto de las enmiendas orgánicas asociadas con *Trichoderma* endófito, aplicada a diferentes genotipos de cacao en condiciones de estrés hídrico, y como objetivos específicos, evaluar el porcentaje de colonización de *Trichoderma* endófito en los plantones de cacao propagados por ramillas, evaluar la influencia de las cepas de *Trichoderma* endófitos incorporando enmiendas orgánicas en el desarrollo de las plántulas de los genotipos de cacao propagados por ramillas en condiciones de estrés hídrico y determinar el índice de tolerancia a la sequía de los genotipos asociados con *Trichoderma* endófitos, generando una hipótesis que al menos uno de los tratamientos con la aplicación de las enmiendas orgánicas asociadas a *Trichoderma* endófito atenúen la tolerancia del efecto del estrés hídrico (déficit de agua)

Los resultados obtenidos son evaluaciones previas que servirán para promocionar información preliminar del cultivo de cacao en la región San Martín. El trabajo está estructurado por los siguientes capítulos: Introducción, capítulo I revisión bibliográfica, capítulo II materiales y métodos, capítulo III resultado y discusiones, conclusiones, recomendaciones y revisión bibliográfica.

CAPÍTULO I

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. Consideraciones previas del cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.).

1.1.1. Descripción de la planta.

El árbol de cacao (*Theobroma cacao* L.), familia Sterculiaceae, orden Malvales y clase Dicotiledónea, puede alcanzar hasta los 10m, su tallo es recto, con madera de color claro, casi blanco, de corteza delgada, color café, el fruto puede alcanzar longitud de 15-25cm, contiene entre 30 y 40 semillas; las semillas son de color marrón-rojizo en el exterior y están cubiertas de una pulpa blanca y dulce llamada mucilago (Barahona, 1987).

Tiene una raíz principal, pivotante, que crece más de un metro de profundidad, con muchas raíces secundarias que se encuentran distribuidas alrededor del árbol y a poca profundidad, son las que se encargan de absorber los nutrientes del suelo (Navarro y Mendoza, 2006). Además, el cacao es una especie altamente alógama, pues se estima que su polinización cruzada está por encima del 95 %; esta polinización lo realiza una población entomológica bastante especializada y de tamaño muy pequeño, de la familia de Forcipomya (Enríquez, 2010).

1.1.2. Requerimientos ambientales.

El clima apropiado para el cultivo de cacao se hace referencia a la temperatura y la precipitación, considerados como los factores críticos del crecimiento; así mismo, el viento, la radiación solar y la humedad relativa afectan muchos procesos fisiológicos de la planta (Enríquez, 2010). Es una planta C3, en estos tipos de plantas hay mayor concentración de cloroplastos en el haz que en el envés, sensible a la sequía, al exceso de agua; los rangos óptimos de agua oscilan entre 1 500 y 2 500 mm en las zonas bajas más cálidas y entre 1 200 y 1 500 mm en las zonas más frescas o los valles altos (Basurto, Núñez, Pérez, y Hernández, 2008).

1.2. Enmiendas orgánicas.

Es importante para la sostenibilidad de la productividad del suelo, retiene los nutrientes del suelo, reduce la compactación, incrementa la capacidad de retención de agua, no permite cambios rápidos de pH y es fuente de energía para los microorganismos (Valencia, Sánchez, y Valero, 2005). Incorpora nitrógeno y humus al suelo, enriqueciendo con carbono, mejorando sus características físicas, químicas y biológicas, promueven el desarrollo de las plantas (Santos, 2007).

1.3. Estrés hídrico.

Se entiende como estrés, cualquier factor ambiental que ejerza un efecto sobre la planta que la haga cambiar de su normal funcionamiento (fisiología), debido que esta genera una respuesta adversa a los procesos fisiológicos de la planta, se le denomina tensión, (Ball, Woodrow y Berry, 1987) y esta se puede clasificar de 2 forma: Tensión elástica: cuando la planta genera una respuesta de acuerdo a la intensidad y el tiempo del estrés, cuando este termina, la planta vuelve a su estado fenológico anterior al inicio de la respuesta; Tensión plástica: es cuando la planta genera la respuesta al estrés, al finalizar, ha generado una serie de modificaciones que no se revierten, la planta no puede volver a su estado normal antes de generarse la respuesta (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

Dependiendo del tipo de estrés, condiciones de duración e intensidad, genotipo y el estado fenológico de las plantas, muestran diversas respuestas, pueden ser rápidas y reversibles (aclimatación) o permanentes (adaptación). La aclimatación (tolerancia) a medida que se incrementa el estrés, se diferencia de la adaptación por “resistencia” adquirida genéticamente por selección (modificaciones morfofisiológicas de generaciones) (Benavides, 2002; Reigosa, Pedrol y Sánchez, 2004).

1.3.1. Mecanismo de resistencia a la sequía.

Las condiciones de sequía en el ambiente de una planta proporcionan una fuerza a la pérdida de agua. Para resistir estas condiciones, las plantas han creado diferentes estrategias por medio de la evitación y de la tolerancia (Levitt, 1980).

Existen plantas que previenen la sequía desarrollando un sistema radicular profundo que llegue hasta el manto freático (Ehleringer, Bjorkman y Mooney, 1976), y la capacidad para absorber agua y nutrientes, depende de la dinámica de raíces finas (tasas de mortalidad y de raíces finas en crecimiento) Muñoz y Beer, (2001).

Dentro de las estrategias de aclimatación al déficit hídrico, está la inhibición de la expansión foliar, aumento de la profundización de las raíces, abscisión foliar y cierre estomático; otros presentan una capa de cera en la cutícula de las hojas, donde las estomas retrasan la transpiración disminuir la pérdida de agua por la epidermis; y la disipación de energía sobre las hojas, que genera cambios en el tamaño y orientación de las hojas, otras presentan hojas pequeñas (cuya capa límite es delgada) que evita que la temperatura de las hojas se asemeje a la del aire y finalmente otras plantas pierden sus hojas y entran en un estado de dormancia cuando se acerca la época de sequía (Levitt, 1980).

1.3.2. Efectos fisiológicos del estrés hídrico.

Las plantas en su desarrollo están sometidas a condiciones ambientales no optimas, estos factores inducen cambios en el metabolismo, los cuales pueden ser reversibles o permanentes (Taiz y Zeiger, 2002).

La productividad de las plantas depende de la cantidad disponible de agua y de la eficiencia del organismo en el uso de ella, el déficit hídrico en las plantas causa la inhibición de la expansión foliar, aumento de la profundización de las raíces, abscisión foliar y cierre estomático; la relación de biomasa raíz y parte aérea, están sometida en un balance entre el agua absorbida por las raíces y la fotosíntesis de la parte aérea, esto significa que los productos fotosintéticos que no son usados para el crecimiento foliar son acumulados en las extremidades de las raíces que crecen en busca de agua. (Taiz y Zeiger, 2002; Lambers, 2008; Salisbury y Ross, 2000).

El estrés hídrico puede causar diversos efectos en la planta, como la pérdida de agua en los tejidos que reduce la presión hidrostática al interior de las células, originando la concentración de macromoléculas y solutos de menor peso molecular, reduce la actividad del potencial químico del agua presente en la planta, pueden

influnciar en los procesos metabólicos (Carruthers y Clark, 1981), produciendo que la tasa de transpiración excede a la toma de agua, estas condiciones disminuyen la disponibilidad de agua en el citoplasma de las células (Benavides, 2002; Mundree, Baker y Mowla, 2002; Yamaguchi, *et al.*, 2002).

Además, cuando la presión de turgencia en una célula vegetal decae, la expansión celular es reprimida causando la disminución del tamaño celular y el grado de estrés de agua en los tejidos vegetales, afectando el crecimiento celular, división celular, síntesis de proteína y paredes celulares, inhibiendo la incorporación de aminoácidos a las proteínas y causa una disminución del contenido proteico de los tejidos (Kramer, 1989). Cuando el estrés es más pronunciado, los aminoácidos libres, particularmente la prolina puede acumularse en los tejidos vegetales existiendo una correlación positiva entre los niveles de acumulación de prolina y supervivencia de la hoja (Claussen, 2005).

Balasimha (1999), considera que las ocurrencias de amplios periodos secos afectan los procesos fisiológicos de planta en campo. En zonas tropicales de Ecuador, Venezuela, Malasia, Ghana y Brasil se han adelantado trabajos a nivel experimental y comercial con cacao bajo riego, lo resultados fueron en el incremento de producción que varían entre 40 y 100 % (Freire, 1993; Siqueira, Sena, Dias y Souza, 1996).

De Almeida y Valle (2010), encontraron la existencia de genotipos de cacao que no muestran una alta resistencia estomática bajo déficit hídrico y baja humedad relativa, en contraste con otros genotipos que tienen un mecanismo eficiente de regulación estomática y limitan fuertemente la transpiración en condiciones de déficit hídrico, las consecuencias influirán en la disminución de las tasas de fotosíntesis, las relaciones hídricas y el crecimiento de plantas de cacao. Es posible que el estrés hídrico pueda estar relacionado con el ajuste osmótico y las mayores tasas de supervivencia.

En cacao se ha identificado como primer efecto del estrés hídrico, el aumento en la conductancia estomática y la disminución del potencial hídrico foliar al medio día,

lo que afecta la floración y renovación de hojas en las plantas (Machado, Alvim y Milde, 1979).

El crecimiento es afectado por la disminución de la presión de turgencia, que limita nuevos brotes (Skiryycz e Inzé, 2010), estudios por Shinohara y Leskovar, (2014) consideran el ácido abscísico (ABA) como un antitranspirante metabólico para proteger las plantas bajo condiciones de estrés hídrico.

1.3.3. Estados de marchitez.

Tyree, Vargas, Engelbrecht y Kusar, (2002), en un estudio de tolerancia a la sequía, describen cinco estados de marchitez. 1) Ligeramente marchita: Hojas verdes, 2) Marchita: Hojas verdes con un ángulo de 45°, sus extremos comienzan a plegarse y hay necrosis limitada. 3) Severamente marchita: Hojas verde con el ángulo de 90°, con un excesivo pliegue y la necrosis más extensiva. 4) Cercana a la muerte: Muchas de las hojas necróticas, extensivo pliegue en las hojas. 5) Muerte: Todas las hojas necróticas, hojas frágiles que se caen.



Figura 1. Escala de grado de marchitez, modificado por Erick Trigozo (2012).

1.3.4. Tolerancia a la sequía en cacao.

En estudio de la tolerancia a la sequía, la más estudiada es la transpiración estomática bajo estrés hídrico. De Almeida y Valle, (2010), reportan la importancia de la humedad relativa en la abertura estomática, enfatizando los genotipos de cacao que muestran una alta resistencia estomática bajo déficit hídrico y baja humedad relativa. Sobresalen los trabajos por Balasimha, Rajagopal, Daniel, Nair, y Bhagavan

(1988) quienes identificaron en el sur de la India cinco accesiones como resistentes a la sequía (NC23, NC29, NC31, NC39 y NC42).

Posteriormente Balasimha, (1999) evaluó la tolerancia a la sequía en la progenie de cruzamientos entre cuatro padres de alto rendimiento y tres resistentes al desecamiento del polen (NC23/43, NC29/66 y NC42/94), de igual manera, el estudio del potencial hídrico foliar durante la estación seca en un periodo de cinco años.

En un experimento de invernadero en el sur de Bahía (Brasil) se compararon ocho clones sometidos a deshidratación rápida, a partir del ajuste osmótico se seleccionaron tres como resistentes a la sequía, el ajuste osmótico fue asociado con la acumulación de iones de potasio y fósforo en la hoja; los clones (SPA5, SIAL70 y TSH516) fueron recomendados para suelos poco profundos propensos a la sequía (De Almeida, Brito, Aguilar y Valle, 2001). Sin embargo, estos datos no pudieron ser corroborados por Premachandra y Joly, (1991) al no encontrar evidencias de ajuste osmótico en plántulas de cacao sometidas a estrés hídrico en un período de 22 días en un experimento de invernadero en Indiana y EE.UU.

En Venezuela un estudio comparativo de fotosíntesis, relaciones hídricas y crecimiento, durante las épocas secas y lluviosas, encontraron que los cultivares con mayor ajuste osmótico coincidieron con las mayores tasas de supervivencia (Araque, *et al.*, 2012)

Se estudiaron mejorar la tolerancia a la sequía en el cacao alterando los niveles de poliaminas, ya sea por selección o manipulación genética, para ello identificaron los genes implicados en la biosíntesis de poliaminas, identificaron otra forma, mediante la inoculación de plántulas con *Trichoderma hamatum* (aislamiento 219b DIS) (Bae, *et al.*, 2008)

Las condiciones de sequía en la etapa inicial de establecimiento afectan negativamente el crecimiento, el ajuste osmótico y la disminución del potencial hídrico de la hoja y la asimilación de carbono (De Almeida y Valle, 2010). Trabajos por (Moser, *et al.*, 2010), en plantas adultas y en producción, expuestas durante meses al suelo cerca del punto de marchitez, no mostraron disminuciones significativas en

la producción de biomasa de hojas, tallo y raíces finas; pero si fueron significativas las reducciones en la producción de grano.

1.3.5. Índice de tolerancia a la sequía.

Índice de tolerancia a la sequía (DTI = [(shoot + raíz de peso seco, g / planta que se cultiva en 300 kPa) / (shoot. + raíz seca en peso, en g / planta que crece en 33kpa) x 100] se determinó para clasificar los genotipos como no tolerante, moderadamente tolerante y tolerante a la sequía. (Di Rienzo, *et al.*, 2012).

No tolerante	: ≤ 70
Moderadamente tolerante	: $\geq 71 - \leq 90$
Tolerante	: > 91

1.4. Hongos endófitos.

Son organismos que viven dentro de los tejidos de las plantas, sin causar daños (Bandara, Seneviratne y Kulasoorya, 2006; Shi, Lou y Li, 2009); colonizan la mayoría de plantas que son mutualistas omnipresentes (Hata, Atari y Sone, 2002), se encuentran en todas las partes vegetativa de la planta (Bandara, Seneviratne y Kulasoorya, 2006; Shi, Lou y Li, 2009).

Pueden ser extraídos del interior de las plantas o aislados desde los tejidos (Bandara, Seneviratne y Kulasoorya, 2006; Shi, Lou, y Li, 2009). Las plantas se benefician por la protección de estos organismos endofíticos, promoviendo el crecimiento (Compant, Reiter, Sessitsch, Nowak, y Clément, 2005), y otorgando resistencia a varios patógenos, por la producción de varios antibióticos y metabolitos secundarios, actuando como detonantes biológicos para activar los sistemas de defensa ante condiciones adversas bióticas y/o abióticas (Bandara, Seneviratne y Kulasoorya, 2006; Shi, Lou y Li, 2009).

1.4.1. Generalidades de *Trichoderma*.

Trichoderma es un habitante natural del suelo, caracterizado por un comportamiento saprófito o parásito, propiedades que benefician su actividad

antagónica (Camargo, 2005). Pertenece a la familia Hypocreaceae, orden Hypocreales, clase Ascomycota (Papavizas, 1985).

Se reproduce asexualmente, es filamentoso, anamórfico, heterótrofo, aerobio, con una pared celular compuesta de quitina, de rápido crecimiento; muchas cepas crecen en medios sólidos o líquidos, y un amplio rango de temperaturas, son tolerantes a humedades bajas y tienden a crecer en suelo ácido; las hifas hialinas y septadas, conidióforos generalmente cortos, las conidias son esféricas y mantenidas en racimos compactos mediante una ligera secreción mucilaginosa (Harman y Chet, 1981).

La población de *Trichoderma* decrece cuando la humedad del ambiente desciende por largos periodos de tiempo (Fonseca, 1998). Son fotosensibles, presentan mayor esporulación al ser expuestas a la luz; sin embargo, al someterse a periodos alternados de luz y oscuridad, favorece la colonización del hongo (Domsch y Yersoon, 1980).

La germinación de los conidios depende del tipo de enlace que presenta la fuente de carbono (disacárido o polisacárido) (Astudillo y Blanco, 1999). *Trichoderma* se ve inhibido en su crecimiento en altas concentraciones de cloruro de sodio (mayor de 70 g/l), condiciones que ocasionan mutaciones perjudicando el proceso de conidiogénesis, al disminuir la producción de esporas (Cruz, 2007); tiene un rango de pH amplio para su crecimiento, óptimo entre 4,0 y 7,0 (Domsch, *et al.*, 1980).

El crecimiento saprófito en suelo de *Trichoderma* se presenta a una temperatura que oscila entre los 20°C y los 30°C, con una temperatura óptima de 25°C, el contenido de humedad que favorece el crecimiento saprófito de *Trichoderma* se encuentra entre 70% y el 80% (Cruz, 2007).

1.4.2. Interacciones *Trichoderma* – planta (cacao).

El cultivo de cacao es considerado como hidroperiódico (Alvim, 1981). La precipitación influye en la apertura de brotes y estimula la floración (Balasimha, 1999). Los factores ambientales ejercen una influencia de aproximadamente 70% en el desarrollo de la planta de cacao (García, 1973).

La emisión de la hoja es bajo control endógeno (Vogel, 1975); pero está relacionado con los cambios climáticos, el efecto de la temperatura (Coupric, 1972); la radiación solar y precipitaciones (Alvim y Alvim, 1977) y (Snoeck, 1979). Además, los hongos endófitos viven en asociación simbiótica con las plantas, en los espacios intercelular o intracelular en las hojas y tallos, utilizan los nutrientes que sintetiza la planta y ésta se beneficia de los metabolitos bioactivos que ellos producen (Salgado y Caridad, 2005).

Trichoderma es capaz de colonizar la superficie de las raíces y causar cambios sustanciales en el metabolismo de los tejidos de las plantas promoviendo el crecimiento de las plantas, incrementando la disponibilidad de nutrientes y mejorando la producción de los cultivos (Harman, Howell, Viterbo, Chet y Lorito, 2004; Vinale, *et al.*, 2008), incrementando la absorción de nutrientes a través del mejoramiento del desarrollo radicular o promoviendo la disponibilidad de nutrientes necesarios (Lo, Nelson, Hayes y Harman, 1998).

1.4.3. *Trichoderma* en el desarrollo de la planta y la resistencia a patógenos.

Propiedades benéficas que se atribuyen a *Trichoderma* son el control de patógenos en raíz y hojas (induce a la resistencia, control biológico de ataque de enfermedades fúngicas de las plantas como antagonismo), cambio en la composición de la microflora en la raíz, además mejora la absorción de nutrientes, solubilidad de los nutrientes del suelo, crecimiento radicular, incrementa la formación de pelos absorbentes y la profundización de raíz. (Harman, *et al.*, 2004).

Induce la producción de fitohormonas (Ácido jasmónico y salicílico, auxinas, etc.) por las plantas, favorece el crecimiento y las defensas de estas (Shoresh, Yedidia y Chet, 2005; Contreras-Cornejo, Macias-Rodriguez, Corte´s-Penagos y Lopez-Bucio, 2009; Martínez-Medina, Roldan y Pascual, 2011).

1.4.4. Colonización de *Trichoderma* en las raíces.

El movimiento de *Trichoderma* en la rizósfera, es por medio de sus hifas en continuo crecimiento que exploran y penetran la corteza de las raíces, colonizando

los tejidos de las plantas (Vinale, *et al.*, 2008); una reacción biológica que activa la expresión de los genes de la planta respondiendo con un sistema de defensa, promoviendo el crecimiento de la planta, el sistema radicular y disponibilidad de nutrientes (Harman *et al.*, 2004).

Estudio realizado por (Harman, *et al.*, 2004) en plantas de maíz (*Zea mays*) de cinco días de crecimiento, fueron tratadas con y sin *Trichoderma* (cepa T-22), con gel en una electroforesis, aproximadamente un 40% de las proteínas que fueron visibles en presencia de *Trichoderma* (cepa T-22) no fueron visibles en el gel que contenía las proteínas de las plantas no tratadas con *Trichoderma* esto indicaría que este hongo modifica el metabolismo de las plantas, lo cual es beneficioso.

La estimulación de crecimiento sería un proceso común en *Trichoderma*, ya que se ha reportado dicho efecto en varias especies, entre ellas: *Trichoderma harzianum* (Chang, Baker, Kleifeld y Chet, 1986), *Trichoderma koningii* (Windham y Baker, 1986), y *Trichoderma virens* (Ousley, Lynch y Whipps, 1994),

López, Perez, Llobel, Vazquez. y Bonillas, (1999), el cual establece que *Trichoderma* produce sustancias estimulantes del crecimiento y desarrollo de las plantas, que actúan como catalizadores o aceleradores de los tejidos meristemáticos primarios (potencial de formar nuevas raíces en las partes jóvenes), acelerando su reproducción celular, logrando que las plantas alcancen un desarrollo más rápido que aquellas plantas que no han sido tratadas con dicho microorganismo.

1.4.5. Inducción de resistencia al estrés hídrico.

Actividades beneficiosas atribuidas a las interacciones de *Trichoderma*/planta incluyen la promoción del crecimiento vegetal, la tolerancia y resistencia al estrés abiótico como la sequía (Harman, *et al.*, 2004). El impacto de los hongos endófitos a la sequía ha sido estudiado en hierbas, los mecanismos utilizados por *Trichoderma* endófitos de la hierba fresca para alterar la respuesta a la sequía incluyen evitar la sequía a través de adaptaciones morfológicas; toleran la sequía a través de las adaptaciones fisiológicas y bioquímicas, y se recuperan después de la sequía (Malinowski y Belesky, 2000).

Linkies, *et al.*, (2009) muestra que la auxina, citoquinina, ácido abscísico y etileno son los principales actores de crecimiento de las plantas. Estudio realizado por Martínez-Medina *et al.*, (2014), el ácido indolacético (IAA) es el más abundante de auxina natural en plantas vasculares, generando el desarrollo de brotes. Los períodos secos seguidos de lluvia sobre la actividad brote apical parecen ocurrir a través de modificaciones del ácido abscísico (ABA) y equilibrio citoquininas (Alvim, *et al.*, 1974).

1.4.6. Promoción del crecimiento vegetativo en las plantas.

Trichoderma endófitos, promueve el crecimiento y desarrollo vegetativo de las plantas. Estudios con *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma atroviride* reportan un incremento del crecimiento vegetativo de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.), tomate (*Lycopersicon esculentum* L.), ají (*Capsicum annum* L.) (Vinale, *et al.*, 2008). Las especies de *Trichoderma* producen ácidos orgánicos, como el glucónico, ácidos cítricos y fumáricos; estos ácidos disminuyen el pH del suelo y permite la solubilización de fosfatos, micronutrientes y minerales cationes como hierro, magnesio y manganeso útiles para los metabolitos de la planta (Benítez, Rincón, Limó y Codón, 2004; Harman, *et al.*, 2004; Vinale, *et al.*, 2008).

La estimulación del crecimiento de raíces por efecto de la presencia de *Trichoderma*, fue reportada por Bjorkman, Harman y Blanchard, (1995); capaz de modificar el pH del suelo para aumentar el crecimiento debido a una mejor absorción de iones (Bjorkman, Harman y Blanchard, 1995); secuestra fósforo soluble en el micelio, colonizando así todo el sistema radical (Sivan y Harman, 1991).

Así mismo Altomare, Norvell, Bjorkman y Harman, (1999) sugirieron que la promoción del desarrollo se debe a que *Trichoderma* tiene la capacidad de solubilizar manganeso, sin importar el pH del medio, lo solubiliza constantemente, y como este micro elemento es requerido para funciones fisiológicas de las plantas, como fotosíntesis, metabolismo del nitrógeno, síntesis de los compuestos aromáticos, y además, son precursores de aminoácidos y hormonas, fenoles y lignina, que asegura en parte el crecimiento y la resistencia a enfermedades en las plantas.

Los bioestimulantes compuestos orgánicos, en pequeñas cantidades fomentan, modifican los procesos fisiológicos de las plantas (Rodríguez y Zanahoria, 1991). *Trichoderma* produce metabolitos que estimulan los procesos de desarrollo, liberando factores de crecimiento (auxinas, giberelinas y citoquininas) que estimulan la germinación y el desarrollo de las plantas. La producción de ácido 3-indol acético (AIA), hormona vegetal que favorece el desarrollo del sistema radical, actuando como catalizadores de los tejidos meristemáticos primarios, acelerando su reproducción celular (Valencia, Sánchez, y Valero, 2005).

1.5. Antecedentes de investigaciones.

Passioura, (1996), menciona en su trabajo de investigación “**Sequía y tolerancia a la sequía. Regulación de crecimiento vegetal**”, las plantas, pueden mostrar suspensión de crecimiento del brote, decrece la conductancia estomática, reduce la asimilación del CO₂, perjudica la fotosíntesis, la suspensión de crecimiento de la raíz, senescencia de la hoja y marchitez de la planta, durante la sequía.

Harman, *et al.*, (2004), menciona en su investigación “**Especies de *Trichoderma* oportunistas, simbiosis de plantas avirulentas**”, los tratamientos de semillas con *T. harzianum* son capaces de aliviar las presiones abióticas y fisiológicos en semillas, y plántulas de cacao; e inducen la tolerancia al estrés abiótico.

Bailey, *et al.*, (2006), en su trabajo menciona “**Expresión génica de hongos y plantas durante la colonización de plántulas de cacao por aislados endofíticos de cuatro especies de *Trichoderma***”, los cambios observados en las interacciones *Trichoderma**cacao, mediante la caracterización de las interacciones entre las cuatro especies de *Trichoderma* y cacao a nivel molecular, plantea la posibilidad de que las especies de *Trichoderma* induce la tolerancia a estrés abióticos, incluyendo la sequía en el cacao.

Bailey, *et al.*, (2008), menciona en su trabajo “**Antibiosis, micoparasitismo, y el éxito de la colonización *Trichoderma* endófitos aislados con potencial de control biológico en *Theobroma cacao***”, se aisló e identificó a muchas especies de *Trichoderma* que son endófitos de cacao, incluso se encuentran en la superficie del suelo.

Bae, *et al.*, (2008), en su trabajo indica “**La respuesta a la sequía de *Theobroma cacao* (cacao) y la regulación de genes implicados en la biosíntesis de poliaminas por la sequía y otros estreses**”, de acuerdo al impacto del hongo endófito de *Trichoderma hamatum*, aislamiento DIS 219b sobre la respuesta del cacao a la sequía, induce la resistencia al estrés hídrico en las plantas.

Gamboa, (2010), que en su trabajo de investigación “**Efecto de las condiciones hídricas del suelo sobre el intercambio gaseoso y el crecimiento en plantas de *Theobroma cacao***”, reporto que las plantas de cacao que son sometidas al estrés hídrico, modificaron su comportamiento con respecto al intercambio gaseoso, presentándose mayores conductancias estomáticas (2 a 2,5 mol/m².s⁻¹).

Fuentez, (2011), estudio el “**Desempeño fisiológico de tres genotipos de *Theobroma cacao* L. (*Malvaceae*) bajo diferentes regímenes hídricos en etapa de vivero**”, los genotipos evaluados no se encontró diferencia para las condiciones hídricas aplicadas según el crecimiento. Aunque se destaca la respuesta del genotipo PA121 bajo condiciones extremas de agua, 25% y 100%.

Trigozo, (2012), indica en su trabajo de investigación “**Influencia de *Trichoderma spp* endófito sobre el crecimiento e inducción de resistencia al estrés hídrico en cacao (*Theobroma cacao* L.)**”, que todos los aislamientos de *Trichoderma* tuvieron la capacidad de colonizar plantas de cacao de 16 días de edad con los dos métodos de inoculación (inoculación en semillas e infestación del suelo); sin embargo, en el método de inoculación en semillas obtuvo mayor colonización a comparación del método de infestación en suelo), donde los aislamientos TE-39 y TE-50 fueron que mejor colonizaron la raíz del cacao.

Pichis, (2013), como resultado en su trabajo de investigación “**Influencia de cepas de *Trichoderma sp* endófito en el crecimiento, nutrición y resistencia foliar a *Phytophthora palmivora* en plantones de cacao (*Theobroma cacao* L.) en San Martín**”, de acuerdo a los resultados obtenidos se concluye que: el Tratamiento 4, correspondiente a la cepa T.E.-126, influyó de manera positiva en el crecimiento y desarrollo vegetativo de los plantones de cacao en invernadero, ya que esta cepa tuvo un comportamiento como promotor del crecimiento y desarrollo vegetativo, mostrando resultados favorables en la

mayoría de los parámetros biométricos evaluados, tales como altura de planta, área foliar y longitud radicular.

García, (2014), menciona en su trabajo **“Caracterización de las respuestas fisiológicas y bioquímicas en tres clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) sometidos a diferentes niveles de déficit hídrico”**, no se encontraron diferencias en las variables de respuesta en el comportamiento final de los clones de cacao (*Theobroma cacao* L) ICS60, ICS95 y CCN51, a diversas condiciones hídricas del suelo (0, 75, 100 y 120 por ciento de humedad) durante la fase juvenil de crecimiento (establecimiento), también menciona que es sensible al contenido de humedad disponible en el suelo y la respuesta morfológica es la reducción del tamaño de la planta en altura, diámetro del tallo, área foliar y número de hojas. La reducción es proporcional a la magnitud de la deficiencia de humedad en el suelo.

Cortes, Vegas, Sigarroa, Moreno y Cárdenas (2015), nos indica en su trabajo **“Sustratos inoculados con microorganismos para el desarrollo de plantas de cacao (*Theobroma cacao*) en etapa de vivero”**, la inoculación microbiana en los sustratos T2 [bioabono: 2:1:1 = suelo: bioabono (lombricompuesto + *Trichoderma* sp. + HFMA asociado al cultivo de cacao) + arena], T3 (inoculante comercial mixto: 2:1:1 = suelo + lombricompuesto + arena + 20 ml de inoculante comercial mixto) y T4 (rizobacterias de cacao: 2:1:1 = suelo, lombricompuesto y arena + inoculación con 20 ml de inoculante de rizobacterias asociadas al cultivo de cacao), aumentaron las poblaciones de rizobacterias, lo cual se vio favorecido por la incorporación de materia orgánica (humus de lombriz), mejorando el desarrollo vegetativo de las plantas de cacao en etapa de vivero.

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Tipo de método de investigación.

El proyecto de investigación es de nivel aplicada, perteneciendo a un tipo Descriptiva – Comparativa ya que se pretende describir y comparar el efecto de las enmiendas orgánicas asociadas a *Trichoderma* endófitos, aplicadas a diferentes genotipos de cacao (*Theobroma cacao* L.) en condiciones de estrés hídrico, es decir, evaluar el comportamiento de los diferentes genotipos de plántulas de cacao frente al estrés hídrico, aplicando enmiendas orgánicas (humus de lombriz y guano de islas) asociada con *Trichoderma* endófitos, con la finalidad de atenuar la tolerancia del efecto del estrés hídrico.

2.2. Diseño de investigación.

Se empleó un diseño de bloques completamente al azar, con 3 repeticiones, con arreglo factorial de 2x4x4 con 32 tratamientos. Existiendo tres factores, donde el factor “A” es la enmienda orgánica, el factor “B” son los genotipos de cacao y el factor “C” son las cepas de *Trichoderma*. Ver (tabla 1).

Modelo matemático fue:

$$Y_{ij} = \mu + a + b + c + ab + ac + bc + \epsilon_{ij}$$

2.3. Unidad de análisis, universo y muestra.

2.3.1. Unidad de análisis: 3 Plantas/Bloques/Tratamiento (T).

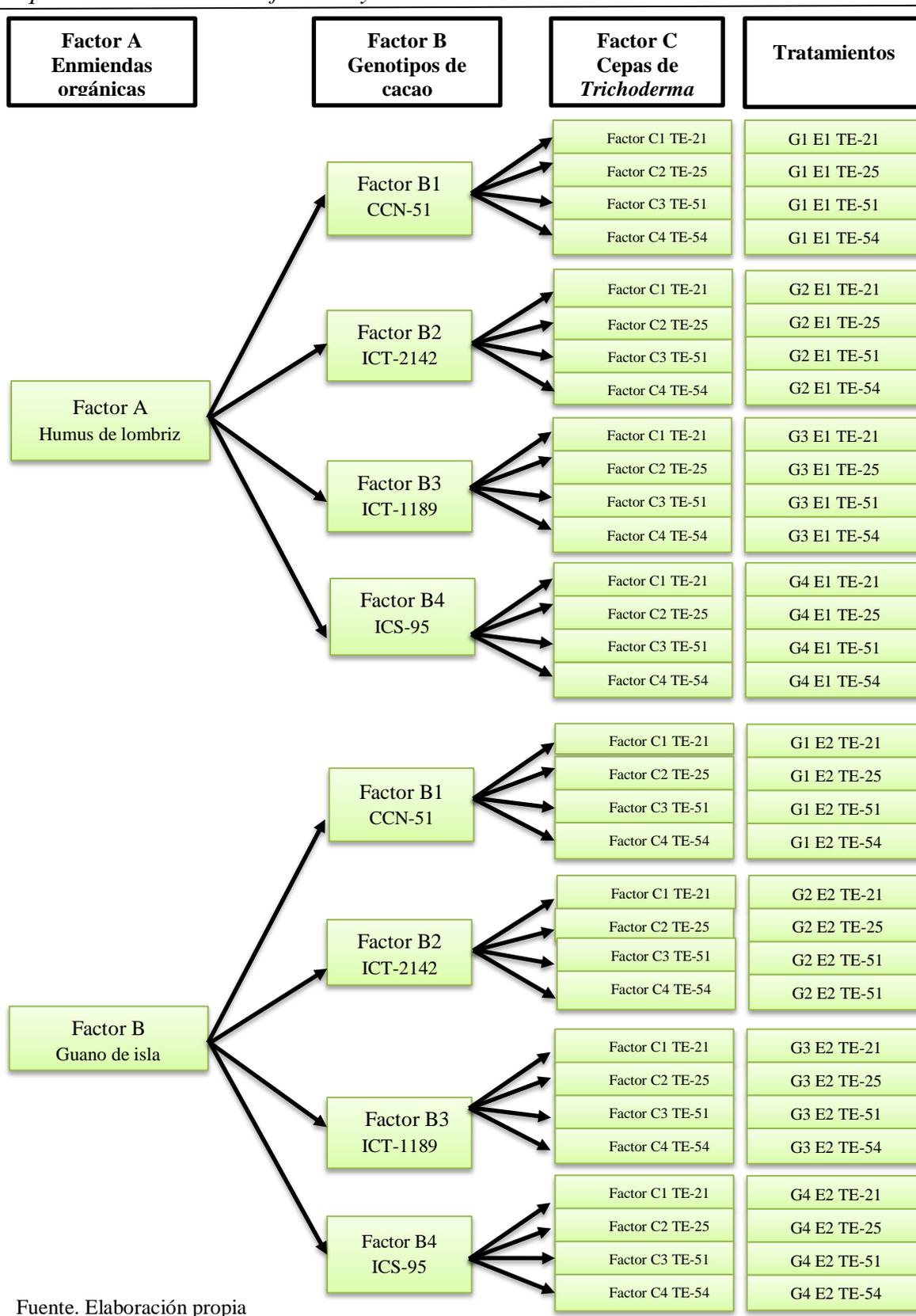
2.3.2. Muestra: 24 plantas de cacao a evaluar por tratamiento durante la duración del proyecto.

2.3.3. Universo: vivero con 96 plantas de cacao.

2.3.4. Tratamientos y niveles de factor.

Tabla 1

Esquema de los niveles de factores y tratamientos.



Fuente. Elaboración propia

2.4. Materiales biológicos.

2.4.1. Genotipos de cacao y/o accesiones.

Los genotipos de cacao que se utilizaron en el presente estudio fueron: CCN 51 e ICS 95 y dos accesiones ICT 2142 e ICT 1189. Tales genotipos y accesiones fueron propagados por ramillas.

2.4.2. Cepas de *Trichoderma*.

La colección de hongos endófitos del Instituto de Cultivos Tropicales, conservados a -10°C en solución de glicerol 2%, se seleccionó cuatro cepas de *Trichoderma* sp con antecedentes de inducir tolerancia al estrés hídrico.

Tabla 2

Procedencia de las cepas de Trichoderma endófitos.

N°	Especies de <i>Trichoderma</i>	Cepas	Órgano	Localidad
1	<i>Trichoderma harzianum</i>	TE - 21	Tallo	Pastaza
2	<i>Trichoderma harzianum</i>	TE - 25	Tallo	Ungumayo
3	<i>Trichoderma harzianum</i>	TE - 51	Tallo	Uritoyacu
4	<i>Trichoderma bermicompectum</i>	TE - 54	Tallo	Uritoyacu

Fuente. Elaboración propia

2.4.3. Enmiendas orgánicas.

Las enmiendas orgánicas utilizadas en esta investigación fueron humus de lombriz y guano de isla.

2.5. Ubicación del lugar experimental.

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Fitopatología e invernadero Trudy del Instituto de Cultivos Tropicales (ICT), distrito de La Banda del Shilcayo, provincia y región de San Martín, ubicado a 06° 00' 28" de latitud sur, 76° 00' 18" longitud oeste y 315 m.s.n.m.m.

2.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

Se recogió la información a través de la observación y el registro físico de cada uno de los indicadores de la variable (porcentaje de colonización de *Trichoderma* endófitos en la raíz de cacao, altura de planta, número de hojas, número de ramas, conductancia estomatal, longitud de la raíz, índice de tolerancia a la sequía y grado de marchitez), donde se consignó los datos en las fichas de registro de cada indicador de la variable.

2.7. Conducción del experimento.

2.7.1. Propagación asexual de cacao (ramillas).

- a. **Preparación del sustrato para el llenado de bolsas.** Para el sustrato se utilizó tierra negra y arena, en una proporción 2:1 respectivamente, con la finalidad que las raíces tengan un desarrollo favorable.
- b. **Llenado bolsas y acomodado en el vivero.** Después de haber preparado el sustrato se llenaron las bolsas y se organizó las bolsas en el vivero en 12 hileras por 60 filas, todas estas sin separación, se remojó el sustrato para mantener el suelo a capacidad de campo (Figura 2). Las bolsas que se utilizó fueron de polietileno negro con las medidas de 25 centímetros de alto por 15 de ancho. Estas bolsas fueron ubicadas en un lugar con sombra regulada al 70%.



Figura 2. Llenado y acomodado de bosas. A) Llenado de bosas, B) Acomodado de bosas.

- c. Propagación de cacao por ramillas.** Un día antes se remojó el sustrato para que estén a capacidad de campo, se localizó las plantas madre para la colecta de las ramillas de cada genotipo mencionado, el tamaño de las ramillas debe de estar entre 30 a 35 cm de largo y no debe tener menos de 1 cm de diámetro. Al momento del transporte de las ramillas no deben de ser maltratadas, para luego ponerlas en baldes con agua para evitar la deshidratación. Para cada ramilla de cacao se dejó entre 3 a 5 hojas de la parte superior, eliminado el resto de las hojas (hojas bases), las hojas seleccionadas, se cortó la cuarta parte de la hoja.

Luego las ramillas se cortaron en bisel a unos 25 cm de largo, que fueron tratadas con oxiclورو de cobre (1g/l) para proteger de algún patógeno. La hormona que se aplicó es el ácido indo butírico (AIB), a una concentración de 8 000 ppm, con el tallo humedecido producto de la desinfección se introdujo en el recipiente conteniendo la hormona, logrando que ésta quede adherida con facilidad, entre 2 a 3 cm de la base.

Seguido se realizó la siembra de las ramillas, donde cada bolsa debe de estar con su respectivo hoyo entre 3 a 5 cm de profundidad, se finalizó con una ligera presión con el dedo pulgar e índice para que, tanto el tallo y suelo queden en contacto. Luego, se hizo un control fitosanitario a las ramillas y el sustrato aplicando un fungicida para prevenir algún ataque fungoso. Finalizando se procedió al tapado y sellado para evitar el ingreso de aire y escape de la humedad, generando así una cámara húmeda (Figura 3).



Figura 3. Propagación de cacao por ramillas. A) Selección de plantas elite de cacao. B) Selección de ramillas para la propagación. C) Ramilla de cacao preparada para su propagación. D) Corte bisel a la ramilla de cacao. E). Tratado de la ramilla de cacao con oxiclورو de cobre F) Aplicación de la hormona AIB a la ramilla de cacao. G) Siembra de la ramilla de cacao. H) Tapado de la cámara húmeda.

- d. Aclimatación de los plantones.** Para no alterar el desarrollo de las plantas se realizó progresivamente la apertura de la cámara húmeda por un tiempo de ocho días, el primer día se abrió por un tiempo de una hora por cinco filas por extremos, el segundo día por un tiempo de dos horas y 10 por filas extremos, así fue aumentado el tiempo y las filas por abrir durante los ocho días hasta completar la aclimatación de los plantones (Figura 4).

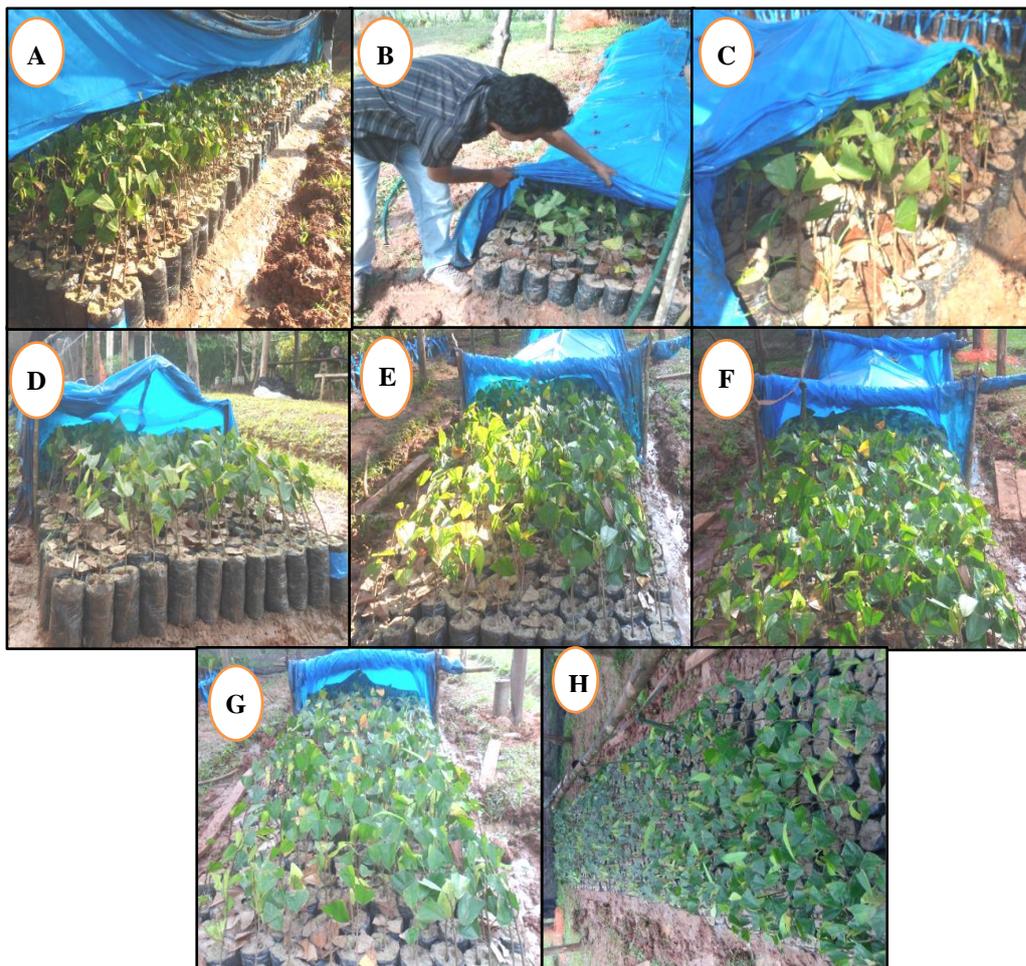


Figura 4. Aclimatación de las ramillas de cacao. A) Verificación y destape parcial de las ramillas al cumplir los 2 meses, B) Primer día de aclimatación. C) Segundo día de aclimatación. D) Tercer día de aclimatación. E) Cuarto día de aclimatación. F) Quinto día de aclimatación. G) Sexto día de aclimatación. H) Séptimo día de aclimatación y destape total.

2.7.2. Producción y conteo de conidias de *Trichoderma* endófitos.

- a. **Preparación de medio de cultivo.** Papa dextrosa Agar (PDA): En un recipiente se incorporó 250 g de papa en trozos previamente lavado y se hirvió con 500 ml de agua destilada por 20 min aproximadamente, y en otro recipiente, se diluyó 18 gr de agar con 500 ml de agua destilada, luego se agregó el caldo de papa y se incorporó 10 gr de azúcar, finalmente, se esterilizó a 120 °C, 15 lb de presión por 15 min (French y Herbert, 1982).

- b. Reactivación de *Trichoderma*.** Los aislamientos seleccionados de *Trichoderma* que se encuentran en conservación en la micoteca del Laboratorio de Fitopatología del ICT, se reactivaron en placas petri conteniendo PDA, incubadas a temperatura ambiente (aprox. 25°C) por cinco días.
- c. Producción de *Trichoderma*.** En condiciones asépticas se incorporó un disco de medio de cultivo (0,5 cm de diámetro) con micelio de *Trichoderma* en placas petri conteniendo medio PDA, se dejó en incubación a temperatura ambiente por cinco días.
- d. Preparación e inoculación de *Trichoderma* en sustrato con BIODAC.** Se preparó el sustrato con biodac en bolsitas de polipropileno de 6 x 12 pulgadas conteniendo 200 g del sustrato por bolsa, en donde se adicionó carbonato de calcio al 0,45% para estimular la esporulación de las conidias en 70 ml de Agua destilada estéril (ADE)/bolsa; luego se esterilizó a 120 °C, a una presión de 15 lb durante 20 minutos; finalmente, se introdujo discos de PDA colonizado con *Trichoderma* en el sustrato y se incubó bajo luz durante 14 días. (Figura 5)



Figura 5. Preparación e inoculación de *Trichoderma* en sustrato con Biodac. A) Pesado del sustrato de biodac, B) Pesado de carbonato de calcio. C) Homogenización del carbonato de calcio con agua destilada. D) Medición de 70 ml de agua destilada con carbonato de calcio. E) Aplicación del carbonato de calcio al biodac. F) Cepas de *Trichoderma*. H) Incubación de las cepas de *Trichoderma*.

- e. **Conteo de conidias de *Trichoderma*.** Se realizó tomando 1 g del sustrato con el hongo de cada unidad experimental (bolsa), la muestra se llevó a un tubo de ensayo con 10 ml de agua destilada estéril (ADE) + tween al 0,1%, se agitó mediante un vortex hasta desprender conidias del sustrato, luego se realizó diluciones hasta 10^{-3} para realizar el conteo de conidias mediante cámara Neubauer en el microscopio. La toma de las muestras se realizó mediante una micropipeta y se llenó la cámara de Neubauer por capilaridad luego se llevó al microscopio y se procedió a contar las conidias en el cuadrante central de la cámara (Figura 6).

Se contó tres veces para minimizar el error y se determinó la concentración de conidias mediante la siguiente fórmula:

$$\text{N}^\circ \text{ conidias/ml} = \bar{X} \cdot 5 \times 10^4 \cdot \text{ID}$$

5 = N° cuadraditos contados en el cuadrante central

\bar{X} = Promedio de conidias contadas

Para obtener el número de conidias por gramo del producto, se multiplicó el promedio del número de conidias por mililitro obtenido en el recuento, por el volumen empleado en la preparación de la suspensión 10^{-0} y se dividió por el peso de la muestra utilizada.

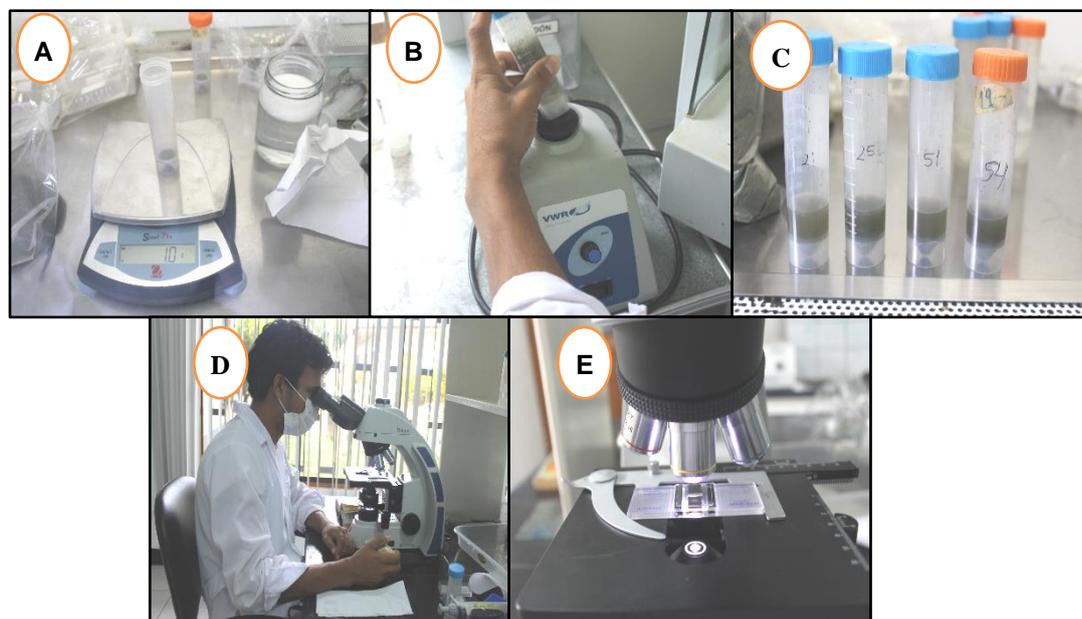


Figura 6. Conteo de conidias de *Trichoderma*. A) Pesado de 1 gr de *Trichoderma*, B) Agitado de las conidias de *Trichoderma*. C) Conidias de *Trichoderma* diluida hasta 10^{-3} . D) Conteo de conidias de *Trichoderma* en la cámara de Neubauer. E) Cámara de Neubauer en el microscopio

2.7.3. Siembra de los plántones de cacao, inoculación de *Trichoderma* endófitos e inducción al estrés hídrico.

- a. **Trasplante de plántones de cacao y aplicación de enmiendas orgánicas.** Al culminar la aclimatación de los plántones de cacao, que duro tres meses, se realizó el repique a una maceta de 4 kilogramos de sustrato y se agregó 300 g de humus de lombriz y 50 g de guano de isla (Figura 7). Se mezcló uniformemente cada enmienda orgánica en cada uno de las macetas.



Figura 7. Traslante de los plantones de cacao y aplicación de enmiendas orgánicas. A) Pesado de las enmiendas orgánicas. B) Suelo preparado para las macetas. C) Pesado de 4 kg de suelo por baldes. D) Mezcla del suelo y enmienda orgánica. E) Traslante del plantón a la maceta. F) Plantones trasplantados

- b. Infestación de suelo con *Trichoderma* endófito.** Se preparó la solución concentrada de *Trichoderma* tomada del sustrato Biodac, el método que se aplicó es vía drench a suelo a razón de 100 ml de solución por cada maceta, se dejará por espacio de siete días para que las cepas de *Trichoderma* colonicen la planta. Los plantones fueron regados cada dos días (Figura 8).

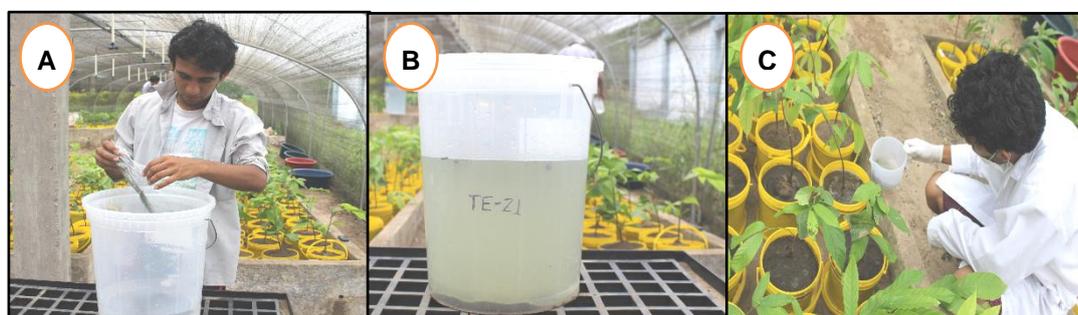


Figura 8. Infestación de suelo con *Trichoderma* endófito. A) Mezcla del *Trichoderma* con agua destilada estéril. B) Cepa de *Trichoderma* (TE-21). C) Infestación a las macetas con *Trichoderma*.

- c. **Inducción al estrés hídrico.** Se sometió a estrés hídrico a las plantas de cacao, que fueron colonizadas con aislamientos de *Trichoderma* endófito. Las plantas fueron sometidas al estrés hídrico (sequía) cuando las macetas estén a capacidad de campo, el riego se cortó hasta que la planta muera y la evaluación de los indicadores culminó. Los plántones tuvieron dos meses de desarrollo para que las cepas de *Trichoderma* endófitas tengan la capacidad de colonización, para luego cesar el riego e indicar al estrés hídrico a las plántulas de cacao.

2.7.4. Porcentaje de colonización de *Trichoderma* en la raíz de las plantas de cacao.

A partir de las secciones (punta de raíz y raíces madura) de tejido de la planta, que fueron sembradas en medio CMDA, se registró el crecimiento de *Trichoderma* sobre cada sección, se colocó un signo positivo (+) a los segmentos donde creció *Trichoderma* y signo negativo (-) en el segmento donde no creció *Trichoderma* endófito. (Bailey, *et al.*, 2008).

2.8. Variables.

2.8.1. Variable dependiente.

Cepas de *Trichoderma* endófitos

Enmiendas orgánicas (humus de lombriz y guano de isla)

2.8.2. Variable independiente.

Genotipos de cacao

2.9. Indicadores de variable a evaluar.

- a. **Porcentaje de colonización de *Trichoderma* endófitos en la raíz de cacao.** Se evaluó al finalizar las evaluaciones, de las sesiones de los tejidos punta de la raíz y raíces madura, fueron sembradas en medio CMDA, se registró el crecimiento de *Trichoderma* sobre cada sección.
- b. **Altura de planta (AP).** Se evaluación durante el proceso de estrés hídrico hasta que la planta muera, con la ayuda de una regla milimetrada desde la base del tallo hasta el ápice de la plántula, esto se realizó cada 4 días. Unidad de medida cm.

- c. **Número de hojas (NH).** Se registró cuantitativamente la cantidad de hojas, se evaluó durante el proceso de estrés hídrico hasta que la planta muera, esto se realizó cada 4 días.
- d. **Número de ramas (NR).** Se registró cuantitativamente la cantidad de ramas, se evaluó durante el proceso de estrés hídrico hasta que la planta muera, esto se realizó cada 4 días
- e. **Conductividad estomática (CE).** Esta variable se evaluó con un Porómetro (Leaf Porometer), marca Decagon Devices, modelo SC - 1, que determina la velocidad de la conductancia estomatal a través los poros de las hojas que son responsables de la toma y expulsar el CO₂ (mmol/m².s⁻¹), se evaluó durante el proceso de estrés hídrico hasta que la planta muera, esto se realizó cada 2 días.
- f. **Longitud de la raíz (LR).** Después de haber sacrificado las plantas (3 plantas/tratamiento), se tomó fotos digitales de las raíces, para determinar la longitud de raíz, estas imágenes fueron procesadas con el programa de análisis de imágenes Assess – Image Analysis Software for Plant Disease Quantification (Lamari, 2002). Unidad de medida mm.
- g. **Índice de tolerancia a la sequía (DTI).** Con la ayuda de una balanza analítica marca Sartorius. se determinó el peso fresco (Pf) el mismo día que las plantas fueron sacrificadas, posteriormente las muestras se pusieron en una estufa por un tiempo de 5 días a 50 °C para determinar el peso seco (Ps), con los datos obtenidos se obtuvo el índice de tolerancia a la sequía.
- h. **Grado de marchitez (GM).** Con la ayuda de la escala del grado de marchitez se determinó, esto se realizó cada 2 días.

2.10. Técnica de procesamiento y análisis de datos.

Los datos fueron procesados con el paquete estadístico Infostat. Para el análisis de medias se utilizó la prueba de Scott & Knott ($p \leq 0,05$).

En caso de la variable longitud de la raíz, primero tomó fotos digitales de las raíces, para determinar la longitud de raíz, estas imágenes fueron procesadas con el programa de análisis de imágenes Assess – Image Analysis Software for Plant Disease Quantification (Lamari, 2002), luego procesado en el programa de Infostad.

Para el índice de tolerancia a la sequía se aplicó una fórmula:

$$DTI = \frac{\textit{peso de biomasa seca (tratamiento)}}{\textit{peso biomasa seca (testigo)}} \times 100$$

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1. Resultados.

a. Efecto de la colonización de *Trichoderma* endófito en la raíz de cacao sobre el estrés hídrico.

En la tabla 3, muestra el análisis de varianza del porcentaje de colonización en la raíz de cacao, para el caso de los factores enmienda, genotipo, cepas e interacciones (genotipo*enmienda, enmienda*cepa y genotipo*enmienda*cepa) existe diferencias significativas, en tanto la interacción (Cepa*Genotipo) no existe diferencia significativa, según el test Scott & Knott ($p \leq 0.05$).

Tabla 3

Análisis de varianza del porcentaje de colonización de Trichoderma endófito en la raíz de cacao. (F tabulado 0.05. 0.01).

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Enmienda	8 437,5	1	8 437,5	48	0,020 2 *
Genotipo	7 942,71	3	2 647,57	21,79	0,000 1 **
Genotipo*Enmienda	2 552,08	3	850,69	7	0,005 6 **
Cepa	36 380,21	3	1 2126,74	69,85	0,000 1 **
Cepa*Genotipo	1 901,04	9	2 11,23	1,22	0,307 3 n.s.
Enmienda*Cepa	2 760,42	3	920,14	5,3	0,003 1 **
Genotipo*Enmienda*Cepa	3 750	9	4 16,67	2,4	0,024 6 *
Error	8 333,33	48	1 73,61		
Total	75 390,63	95			
R ²	89 %				
CV	18,74 %				

Fuente. Elaboración propia

En el gráfico 1 a muestra el porcentaje de colonización de *Trichoderma* endófitos a la raíz de cacao, la enmienda es significativo, siendo humus de lombriz obtuvo un mejor efecto con 79,69 %, en tanto guano de isla obtuvo el menor resultado con 60,94 %. Para los genotipos en el gráfico 1 b, es significativo, siendo los genotipos ICT-1189, ICS-95 e ICT-2142 obtuvieron mejor efecto con 79,17, 75,00 y 71,88 % respectivamente, en tanto CCN-51 con 55,21 %. Por último en el gráfico 1 c, las cepas de *Trichoderma* endófitos, donde las cepas TE-51, TE-21 fueron los que mayor % de colonización obtuvieron con 85,42 y 84,38 respectivamente.

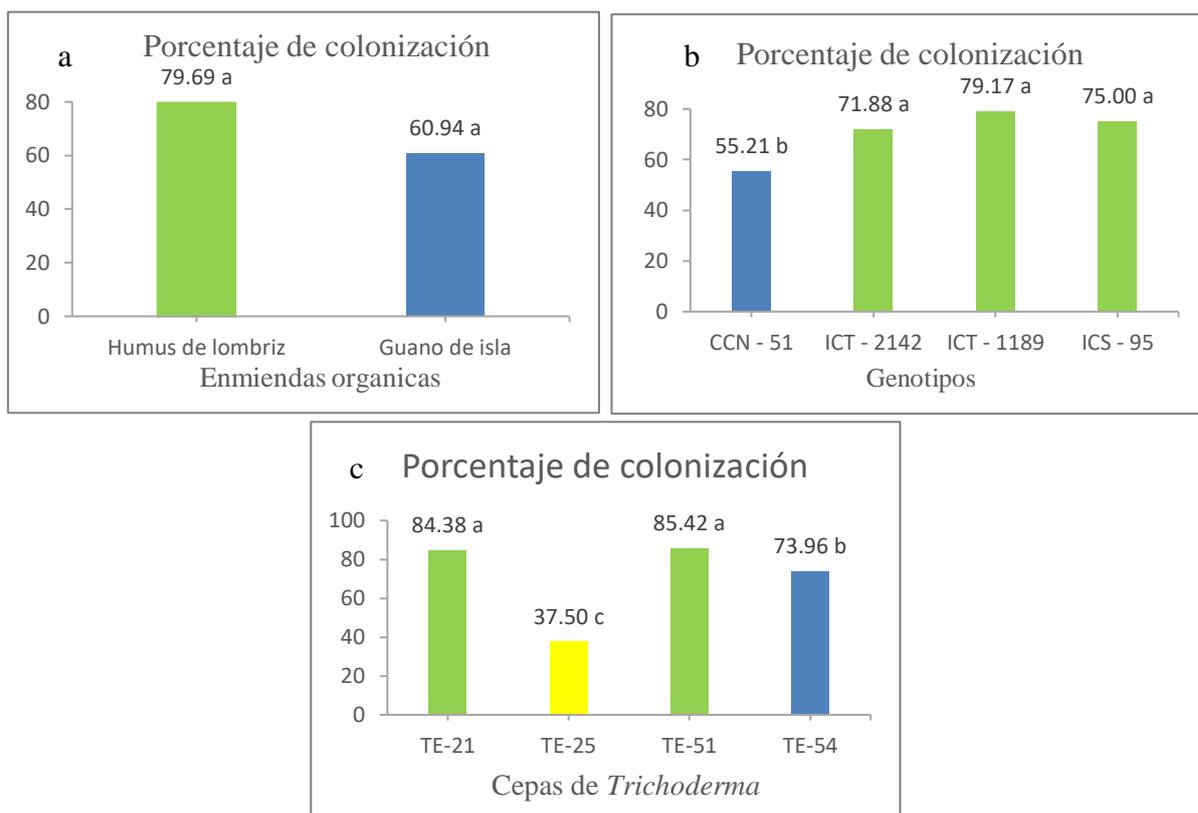


Gráfico 1. Variables agronómicas estudiadas de la planta de cacao con respecto al porcentaje de colonización de *Trichoderma* endófitos a la raíz de cacao, con enmiendas orgánicas, cepas de *Trichoderma* y genotipos.

EL porcentaje de colonización de *Trichoderma* endófitos a la raíz de cacao, muestra en la tabla 4, que la interacciones E1*G3, E1*G4 y E1*G2 influyeron en la colonización de la raíz del cacao con 83,33, 81,25 y 81,25 %.

Tabla 4

*Variables agronómicas estudiadas de la planta de cacao con respecto al porcentaje de colonización de la raíz de cacao, en la interacción genotipo*enmienda.*

Enmiendas	Genotipo			
	G1	G2	G3	G4
Humus de lombriz	72,92 b	81,25 a	83,33 a	81,25 a
Guano de isla	37,50 c	62,50 b	75,00 b	68,75 b

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Fuente. Elaboración propia

EL porcentaje de colonización de *Trichoderma* endófitos a la raíz de cacao, muestra en la tabla 5, que la interacciones E1*TE-51 y E1*TE-21 influyeron en la colonización de la raíz del cacao con 100 y 97,92 %.

Tabla 5

*VARIABLES AGRONÓMICAS ESTUDIADAS DE LA PLANTA DE CACAO CON RESPECTO AL PORCENTAJE DE COLONIZACIÓN DE LA RAÍZ DE CACAO, EN LA INTERACCIÓN ENMIENDA*CEPA.*

Enmiendas	Cepas de <i>Trichoderma</i>			
	TE-21	TE-21	TE-21	TE-21
Humus de lombriz	97,92 a	45,83 b	100,00 a	75,00 b
Guano de isla	70,83 b	29,17 d	70,83 b	72,92 b

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Fuente. Elaboración propia

Se muestra en el gráfico 2, la interacción genotipos, enmiendas y cepas de *Trichoderma* respecto al porcentaje de colonización de la raíz de cacao, siendo G2*E1*TE-51, G4*E1*TE-51, G4*E1*TE-21, G3*E1*TE-51, G1*E1*TE-21, G3*E1*TE-21 y G1*E1*TE-51 los que obtuvieron un 100 % de colonización de la raíz, en tanto G3*E2*TE-21, G2*E1*TE-21 y G3*E2*TE-54 obtuvieron 91,67 % de colonización.

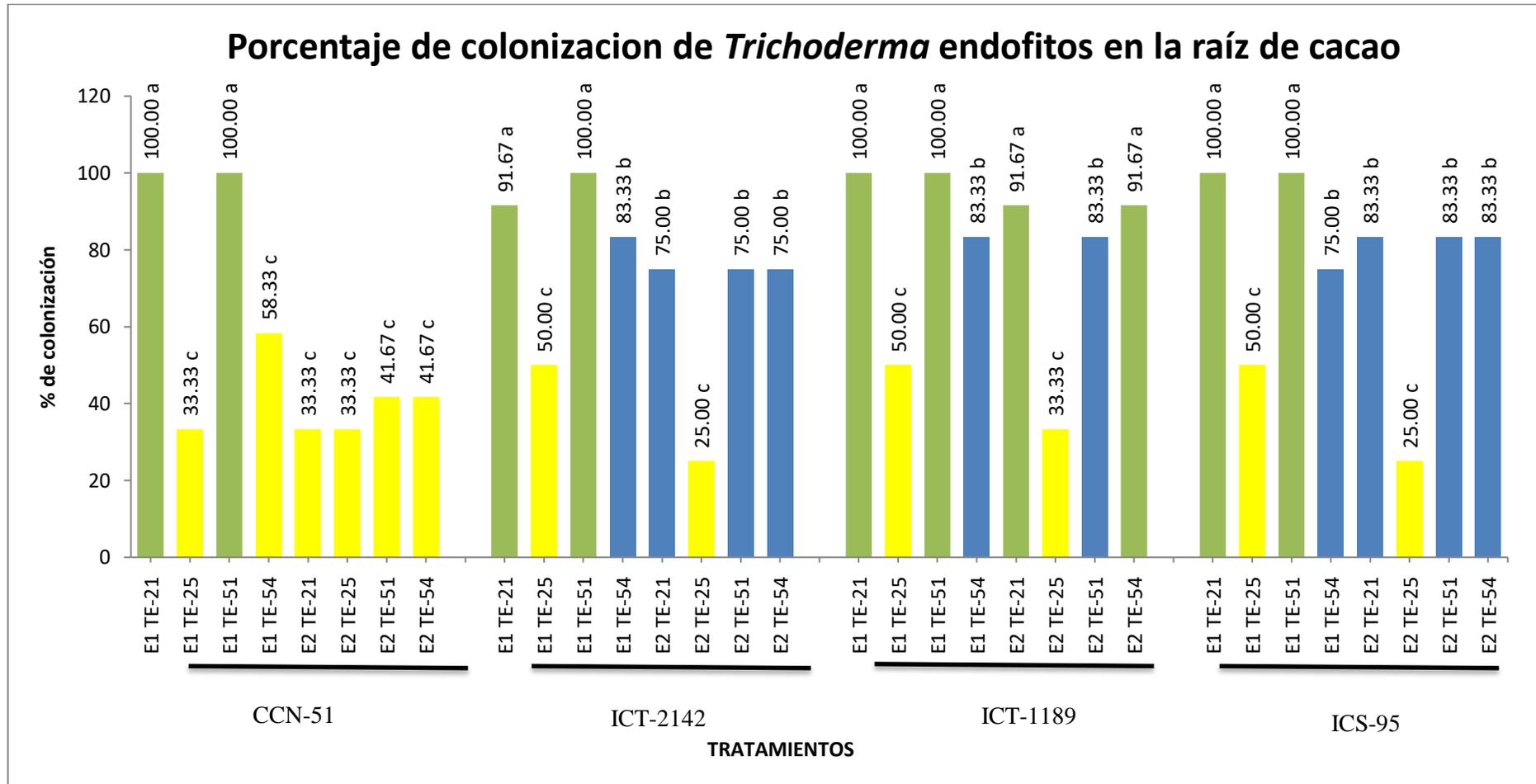


Gráfico 2. Interacción entre genotipos, enmiendas y cepas de *Trichoderma* al porcentaje de colonización de raíz de cacao. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

b. Efecto del estrés hídrico en la planta de cacao en la variable altura de planta.

En la tabla 6, muestra el análisis de varianza de la altura de planta (AP), para el caso del factor genotipo existe diferencias significativas, en tanto la enmienda y cepas no existe diferencia significativa, según el test Scott & Knott ($p \leq 0,05$).

Tabla 6

Análisis de varianza de la interacción de genotipos, enmiendas y cepas de Trichoderma, con respecto a la altura de planta de cacao. (F tabulado 0,05. 0,01).

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Enmienda	69,02	1	69,02	2,60	0,248 1 n.s.
Genotipo	697,50	3	232,50	19,49	0,000 1 **
Genotipo*Enmienda	89,11	3	29,70	2,49	0,110 1 n.s.
Cepa	18,12	3	6,04	0,25	0,862 4 n.s.
Cepa*Genotipo	198,40	9	22,04	0,90	0,528 8 n.s.
Enmienda*Cepa	45,26	3	15,09	0,62	0,606 n.s.
Genotipo*Enmienda*Cepa	205,21	9	22,80	0,94	0,503 5 n.s.
Error	1 169,58	48	24,37		
Total	2 693,04	95			

R² 57 %

CV 10,59 %

Fuente. Elaboración propia

En el gráfico 3 a muestra la AP, que la enmienda no es significativo, pero numéricamente el humus de lombriz tubo un mejor efecto con 47,44 cm, en tanto guano de isla obtuvo el menor resultado con 45,74 cm. Para las cepas de *Trichoderma* en el gráfico 3 b, no es significativo, pero numéricamente la TE-21 con 47,23 cm, seguidos de la TE-51 y TE-54 con 46,63 y 46,51 cm respectivamente. En tanto los genotipos muestra en el gráfico 3 c, que existe significancia, siendo el ICT-1189 que obtuvo el mejor resultado con 50,15, seguidos del ICS-95, ICT-2142 y CCN-51 con 47,61, 45,81 y 42,74 cm respectivamente.

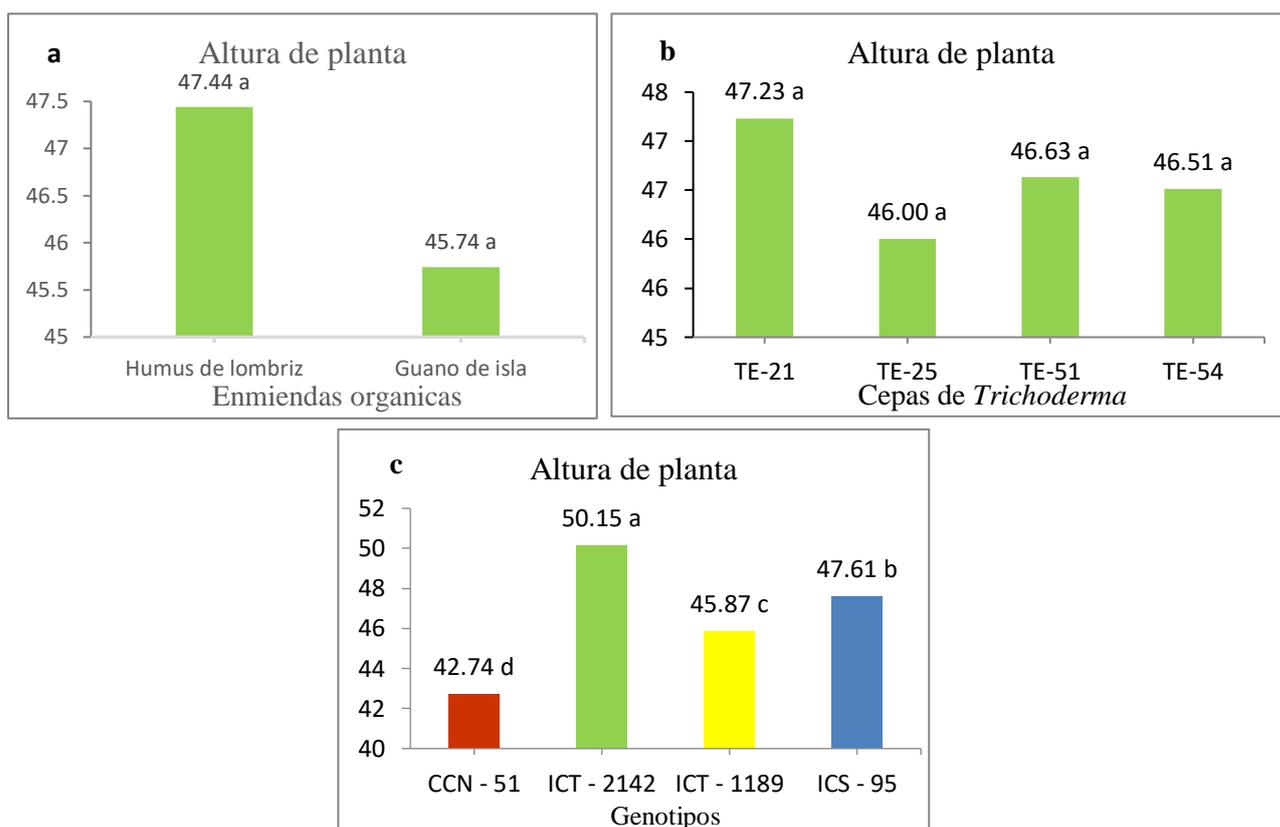


Gráfico 3. Variables agronómicas estudiadas de la planta de cacao con respecto a la altura de la planta, con enmiendas orgánicas, cepas de *Trichoderma* y genotipos.

c. Efecto del estrés hídrico en la planta de cacao en la variable número de hojas.

En la tabla 7, muestra el análisis de varianza de número de hojas (NH), para el caso del factor genotipo existe diferencias significativas, en tanto la enmienda y cepas no existe diferencia significativa, según el test Scott & Knott ($p \leq 0,05$).

Tabla 7

Análisis de varianza de la interacción de genotipos, enmiendas y cepas de *Trichoderma*, con respecto al número de hojas de la planta de cacao. (F tabulado 0,05. 0,01).

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Enmienda	612,57	1	612,57	5,15	0,151 2 n.s.
Genotipo	3 806,09	3	1 268,7	23,46	0,000 1 **
Genotipo*Enmienda	241,57	3	80,52	1,49	0,267 3 n.s.
Cepa	139,82	3	46,61	0,94	0,427 9 n.s.
Cepa*Genotipo	751,17	9	83,46	1,69	0,118 4 n.s.
Enmienda*Cepa	48,34	3	16,11	0,33	0,806 8 n.s.
Genotipo*Enmienda*Cepa	204,48	9	22,72	0,46	0,894 5 n.s.
Error	2 375,37	48	49,49		
Total	9 080,87	95			
R ²	74 %	CV	19,21 %		

Fuente. Elaboración propia

En el gráfico 4 a muestra el número de hojas, que la enmienda no es significativo, pero numéricamente el humus de lombriz tubo un mejor efecto con 39,15, en tanto guano de isla obtuvo el menor resultado con 34,09. Para las cepas de *Trichoderma* en el gráfico 4 b, no es significativo, pero numéricamente la TE-51 con 38,44, seguidos de la TE-54 y TE-21 con 36,67 y 36,31 respectivamente. En tanto los genotipos muestra en el gráfico 4 c, que existe significancia, siendo el CCN-51 que obtuvo el mejor resultado con 45,33, seguidos del ICT-1189 e ICT-2142 con 37,10 y 36,50 respectivamente, por último, el ICS-95 el que resulto con menor valor con 27,54.

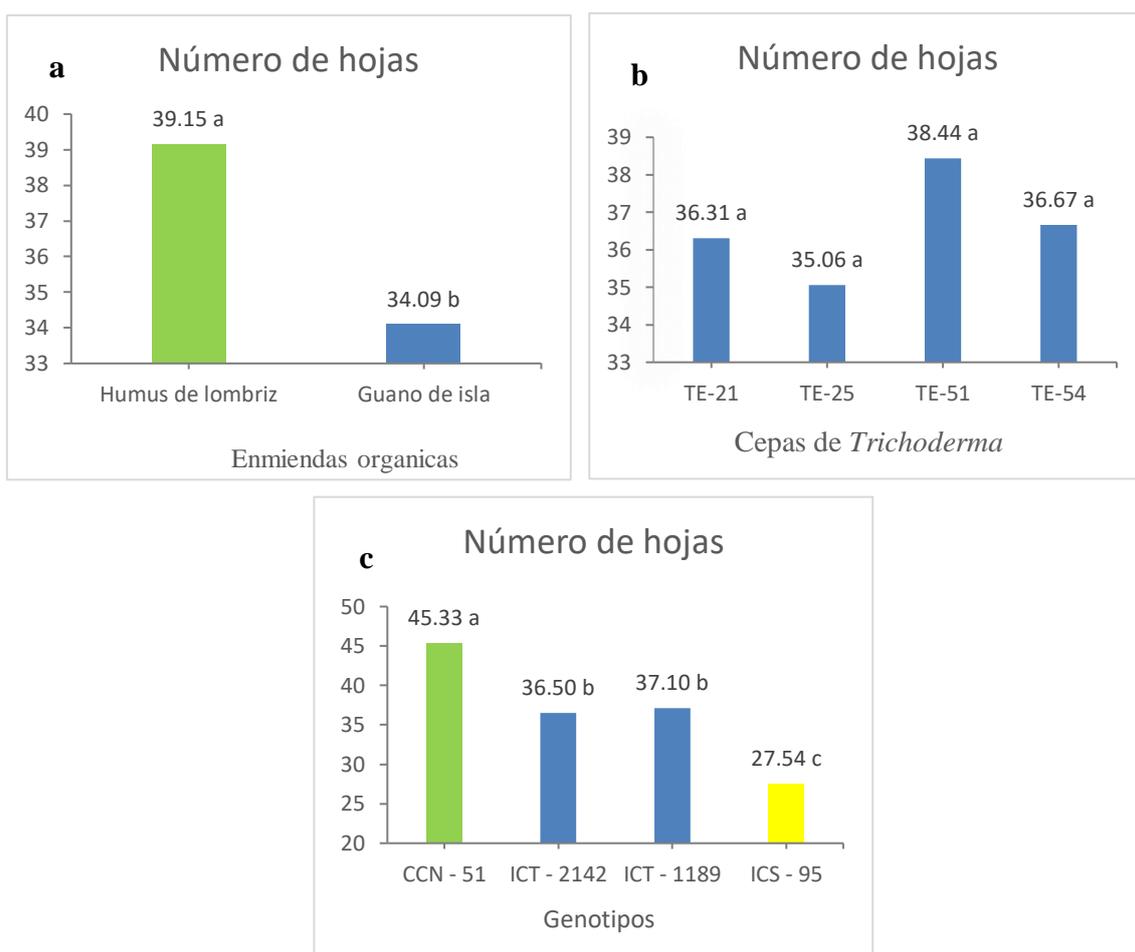


Gráfico 4. Variables agronómicas estudiadas de la planta de cacao con respecto al número de hojas, con enmiendas orgánicas, cepas de *Trichoderma* y genotipos.

d. Efecto del estrés hídrico en la planta de cacao en la variable número de ramas.

En la tabla 8, muestra el análisis de varianza de número de hojas (NR), para el caso del factor genotipo existe diferencias significativas, en tanto la enmienda y cepas no existe diferencia significativa, según el test Scott & Knott ($p \leq 0,05$).

Tabla 8

Análisis de varianza de la interacción de genotipos, enmiendas y cepas de Trichoderma, con respecto al número de ramas de la planta de cacao. (F tabulado 0,05. 0,01).

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Enmienda	2,67	1	2,67	1,18	0,390 9 n.s.
Genotipo	242,51	3	80,84	25,33	0,000 1 **
Genotipo*Enmienda	9,6	3	3,2	1	0,424 9 n.s.
Cepa	3,39	3	1,13	0,35	0,790 6 n.s.
Cepa*Genotipo	57,26	9	6,36	1,96	0,065 n.s.
Enmienda*Cepa	4,65	3	1,55	0,48	0,699 2 n.s.
Genotipo*Enmienda*Cepa	15	9	1,67	0,51	0,857 n.s.
Error	155,58	48	3,24		
Total	539,74	95			

R² 71 %

CV 28.29 %

Fuente. Elaboración propia

En el gráfico 5 a muestra el número de ramas, que la enmienda no es significativa, pero numéricamente el humus de lombriz tubo un mejor efecto con 6,53, en tanto guano de isla obtuvo el menor resultado con 6,20. Para las cepas de *Trichoderma* en el gráfico 5 b, no es significativo, pero numéricamente la TE-51 con 6,67, seguidos de la TE-54 y TE-21 con 6,38 y 6,23 respectivamente. En tanto los genotipos muestra en el gráfico 5 c, que existe significancia, siendo el CCN-51 que obtuvo el mejor resultado con 8,17, seguidos del ICT-2142 e ICT-1189 con 6,92 y 6,56 respectivamente, por último, el ICS-95 el que resulto con menor valor con 3,81.

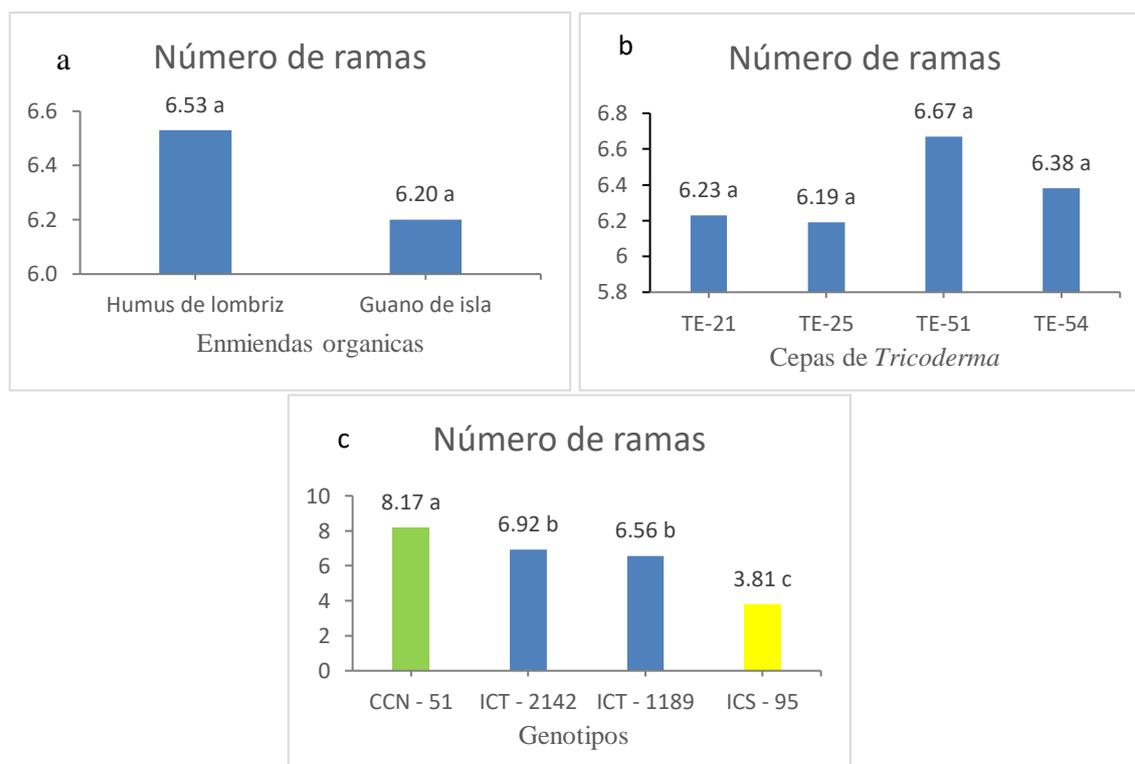


Gráfico 5. Variables agronómicas estudiadas de la planta de cacao con respecto al número de ramas, con enmiendas orgánicas, cepas de *Trichoderma* y genotipos.

e. Efecto del estrés hídrico en la planta de cacao en la variable conductancia estomatal.

En la tabla 9, muestra el análisis de varianza de la conductancia estomatal para el caso del factor enmienda y genotipo existe diferencias significativas, en tanto cepas no existe diferencia significativa, según el test Scott & Knott ($p \leq 0,05$).

Tabla 9

Análisis de varianza de la interacción de genotipos, enmiendas y cepas de Trichoderma, con respecto a la conductancia estomatal de la planta de cacao. (F tabulado 0,05. 0,01).

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Enmienda	7 693,06	1	7 693,06	33,73	0,028 4 *
Genotipo	40 235,16	3	13 411,72	97,18	0,000 1 **
Genotipo*Enmienda	9 606,87	3	3 202,29	23,2	0,000 1 **
Cepa	287,59	3	95,86	0,49	0,691 6 n.s.
Cepa*Genotipo	18 739,89	9	20 082,21	10,62	0,000 1 **
Enmienda*Cepa	5 878,55	3	1 959,52	10	0,000 1 **
Genotipo*Enmienda*Cepa	9 241	9	1 026,78	5,24	0,000 1 **
Error	9 409,75	48	196,04		
Total	104 007,18	95			
R ²	91 %	CV	13,12 %		

Fuente. Elaboración propia

En el gráfico 6 a muestra la conductancia estomatal, que la enmienda es significativa, siendo el humus de lombriz tubo un mejor efecto con $115,67 \text{ mmol/m}^2.\text{s}^{-1}$, en tanto guano de isla obtuvo el menor resultado con $97,76 \text{ mmol/m}^2.\text{s}^{-1}$. Para las cepas de *Trichoderma* en el gráfico 6 b, no es significativo, pero numéricamente la TE-25 con $108,13 \text{ mmol/m}^2.\text{s}^{-1}$, seguidos de la TE-51 con $108,01 \text{ mmol/m}^2.\text{s}^{-1}$. En tanto los genotipos muestra en el gráfico 6 c, que existe significancia, siendo el ICT-2142 que obtuvo el mejor resultado con $136,95 \text{ mmol/m}^2.\text{s}^{-1}$, seguidos del ICT-1189 y CCN-51 con $108,42$ y $101,89 \text{ mmol/m}^2.\text{s}^{-1}$ respectivamente, por último, el ICS-95 el que resulto con menor valor con $79,59 \text{ mmol/m}^2.\text{s}^{-1}$.

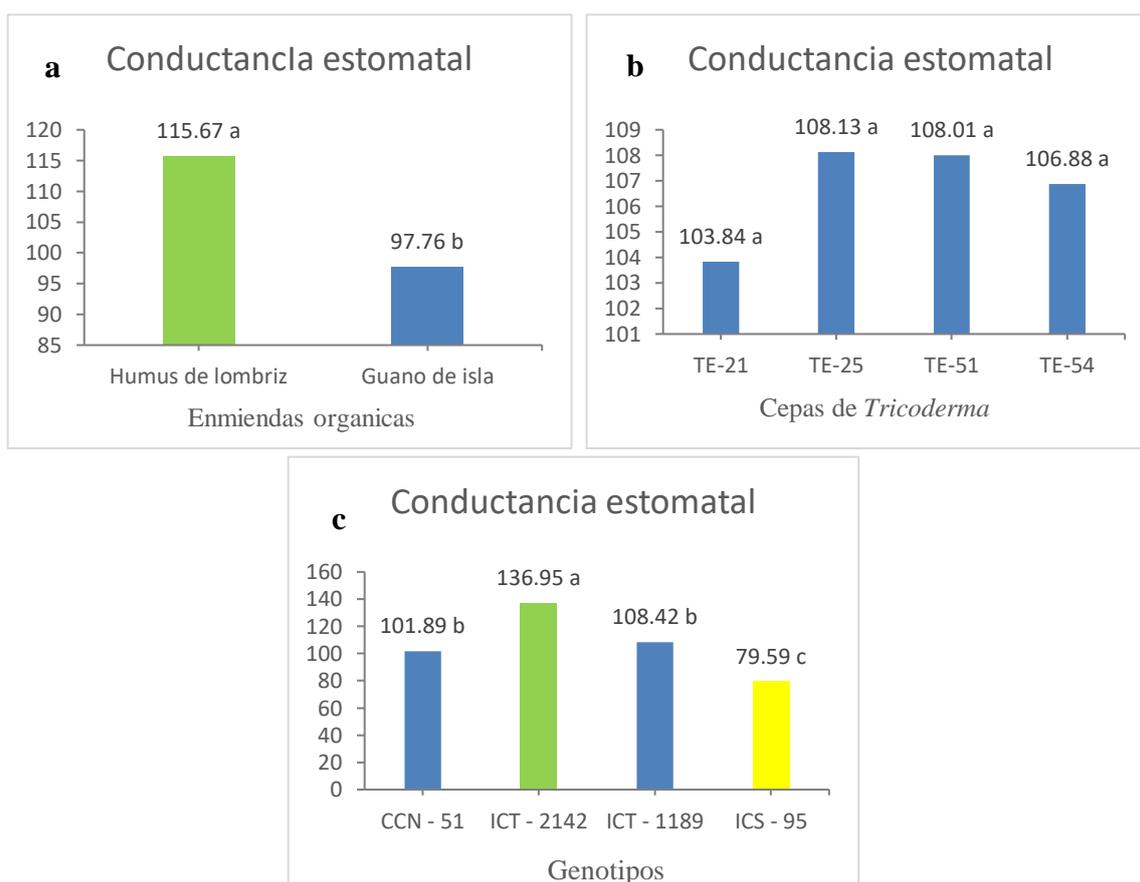


Gráfico 6. Variables agronómicas estudiadas de la planta de cacao con respecto a la conductancia estomatal, con enmiendas orgánicas, cepas de *Trichoderma* y genotipos.

f. Efecto del estrés hídrico en la planta de cacao en la variable longitud de la raíz.

En la tabla 10, muestra el análisis de varianza de la longitud de la raíz para el caso del factor genotipo y cepas existe diferencias significativas, en tanto enmienda no existe diferencia significativa, según el test Scott & Knott ($p \leq 0,05$).

Tabla 10

Análisis de varianza de la interacción de genotipos, enmiendas y cepas de Trichoderma, con respecto a la longitud de raíz de la planta de cacao. (F tabulado 0,05. 0,01).

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Enmienda	947 121,48	1	947 121,48	9,84	0,088 3 n.s.
Genotipo	3 083 246,64	3	1 027 748,88	18,17	0,000 1 **
Genotipo*Enmienda	533 059,13	3	177 686,38	3,14	0,065 2 n.s.
Cepa	2 947 276,47	3	982 425,49	9,7	0,000 1 **
Cepa*Genotipo	1 288 765,65	9	143 196,18	1,41	0,208 6 n.s.
Enmienda*Cepa	383 564,06	3	127 854,69	1,26	0,297 6 n.s.
Genotipo*Enmienda*Cepa.	1 835 407,14	9	203 934,13	2,01	0,058 n.s.
Error	4 859 116,63	48	101 231,6		
Total	17 018 533,3	95			

R² 71 %

CV 22,78 %

Fuente. Elaboración propia

En el gráfico 7 a muestra la longitud de la raíz, que la enmienda no es significativa, pero numéricamente el humus de lombriz tubo un mejor efecto con 1496,19, en tanto guano de isla obtuvo el menor resultado con 1297,54. Para las cepas de *Trichoderma* en el gráfico 7 b, es significativo, siendo la TE-21, TE-54 y TE-51 con 1541,71, 1494,17 y 1453,31 mm respectivamente, en tanto la TE-25 con 1098,26 mm que obtuvo menor valor. En tanto los genotipos muestra en el gráfico 8 c, que existe significancia, siendo el ICT-2142, CCN-51 y ICT-1189 con 1510,88, 1497,36 y 1492,56 mm que obtuvo los mejores resultados respectivamente, por último, el ICS-95 el que resulto con menor valor con 1086,68 mm.

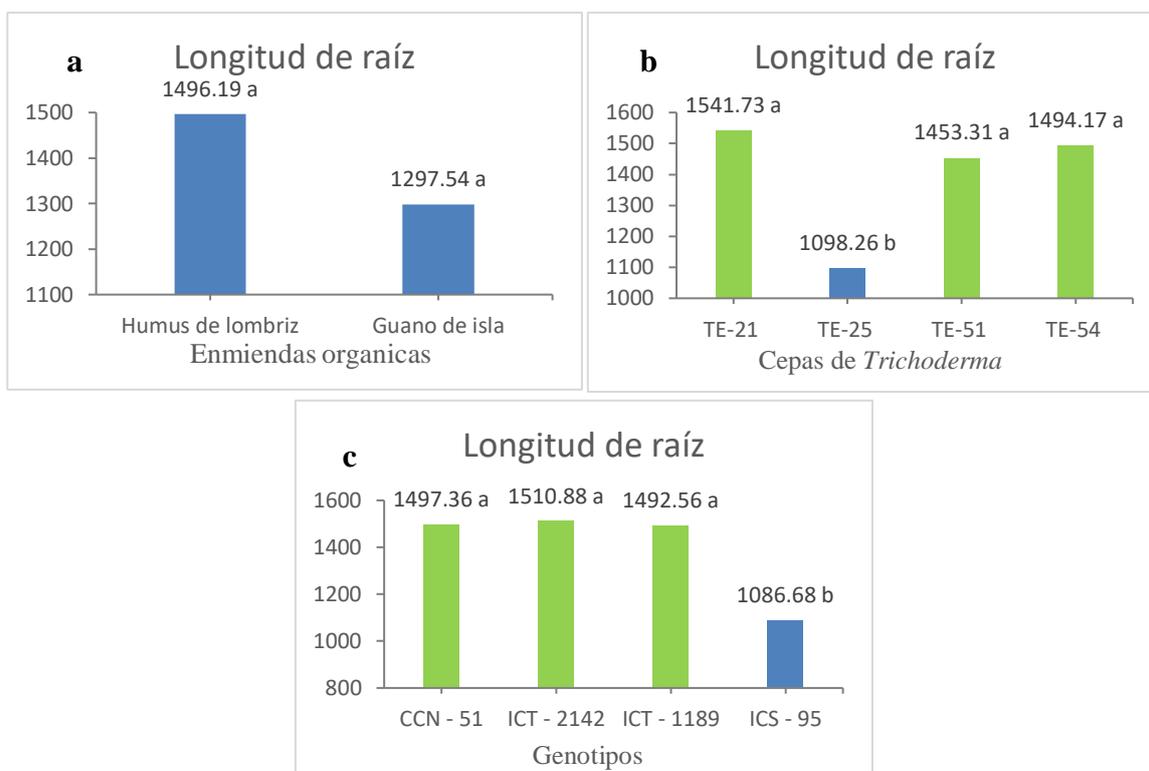


Gráfico 7. Variables agronómicas estudiadas de la planta de cacao con respecto a la longitud de la raíz, con enmiendas orgánicas, cepas de *Trichoderma* y genotipos.

g. Efecto del estrés hídrico en la planta de cacao en la variable índice de tolerancia a la sequía.

En la tabla 11, muestra el análisis de varianza índice de tolerancia a la sequía para el caso del factor enmienda, genotipo y cepas no existe diferencia significativa, según el test Scott & Knott ($p \leq 0,05$).

Tabla 11

Análisis de varianza de la interacción de genotipos, enmiendas y cepas de Trichoderma, con respecto al índice de tolerancia a la sequía (DTI) de la planta de cacao. (F tabulado 0,05. 0,01).

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Enmienda	359,06	1	359,06	4,74	0,161 3 n.s.
Genotipo	453,26	3	151,09	0,18	0,907 5 n.s.
Genotipo*Enmienda	1 384,04	3	461,35	0,55	0,656 7 n.s.
Cepa	563,13	3	187,71	1,25	0,303 7 n.s.
Cepa*Genotipo	2 641,68	9	293,52	1,95	0,067 3 n.s.
Enmienda*Cepa	819,41	3	273,14	1,81	0,157 5 n.s.
Genotipo*Enmienda*Cepa	4 048,6	9	449,84	2,98	0,006 7 **
Error	7 234,57	48	150,72		
Total	34 911,75	95			
R ²	79 %	CV	15,83 %		

Fuente. Elaboración propia

En el gráfico 8 a muestra índice de tolerancia a la sequía, que la enmienda no es significativa, pero numéricamente el humus de lombriz tuvo un mejor efecto con 79,47, en tanto guano de isla obtuvo el menor resultado con 75,60. Para las cepas de *Trichoderma* en el gráfico 8 b, no es significativa, pero numéricamente la TE-54 y TE-21 el que resultaron con mejores valores con 80,18 y 79,68 respectivamente. En tanto los genotipos muestra en el gráfico 8 c, que no existe significancia, pero numéricamente siendo el ICT-2142 e ICS-95 el que resultaron con mejores valores con 80,16 y 78,30 respectivamente.

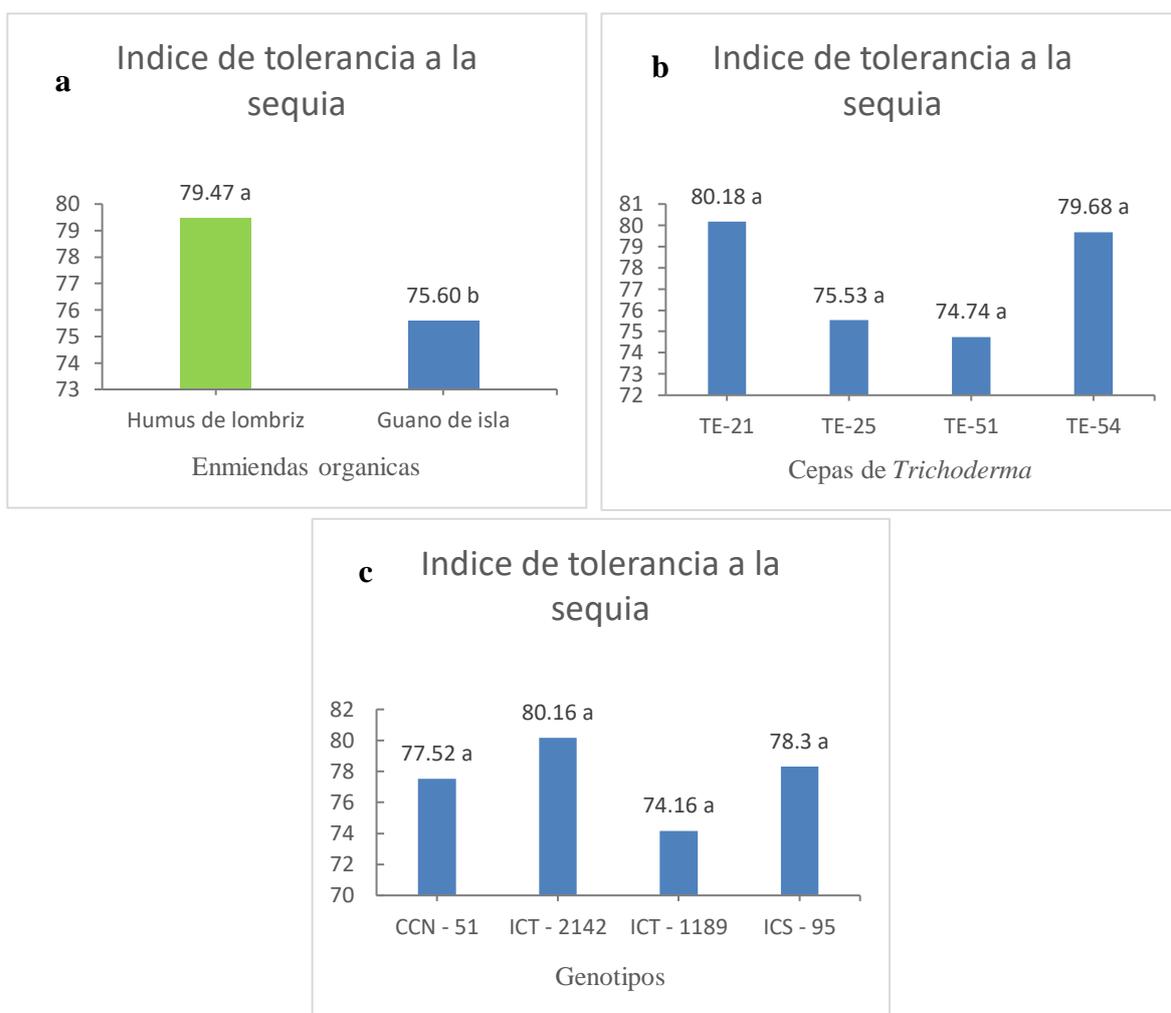


Gráfico 8. Variables agronómicas estudiadas de la planta de cacao con respecto al índice de tolerancia la sequía, con enmiendas orgánicas, cepas de *Trichoderma* y genotipos.

h. Efecto del estrés hídrico en la planta de cacao en la variable grado de marchitez.

En la tabla 12, muestra el análisis de varianza del grado de marchitez para el caso del factor genotipo existe diferencias significativas, en tanto enmienda y cepas no existe diferencia significativa, según el test Scott & Knott ($p \leq 0,05$).

Tabla 12

Análisis de varianza de la interacción de genotipos, enmiendas y cepas de Trichoderma, con respecto al grado de marchitez de la planta de cacao. (F tabulado 0,05. 0,01).

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Enmienda	17,51	1	17,51	7,75	0,108 5 n.s.
Genotipo	7,2	3	2,4	4,21	0,029 8 *
Genotipo*Enmienda	4,03	3	1,34	2,36	0,122 8 n.s.
Cepa	1,78	3	0,59	0,86	0,470 9 n.s.
Cepa*Genotipo	11,51	9	1,28	1,84	0,084 8 n.s.
Enmienda*Cepa	3,78	3	1,26	1,82	0,157 n.s.
Genotipo*Enmienda*Cepa	11,84	9	1,32	1,9	0,075 4 n.s.
Error	33,33	48	0,69		
Total	103,66	95			

R² 68 %

CV 24,92 %

Fuente. Elaboración propia

En el gráfico 9 a muestra el grado de marchitez, que la enmienda no es significativa, pero numéricamente guano de isla tubo un mejor efecto con 2,92, en tanto humus de lombriz obtuvo el menor resultado con 3,77. Para las cepas de *Trichoderma* en la gráfico 9 b, no es significativa, pero numéricamente la TE-21 el que resultado con mejor valor con 3,17. En tanto los genotipos muestra en la gráfico 9 c, que no existe significancia, pero numéricamente siendo el ICT-1189 el que resulto con el mejor valor con 2,92.

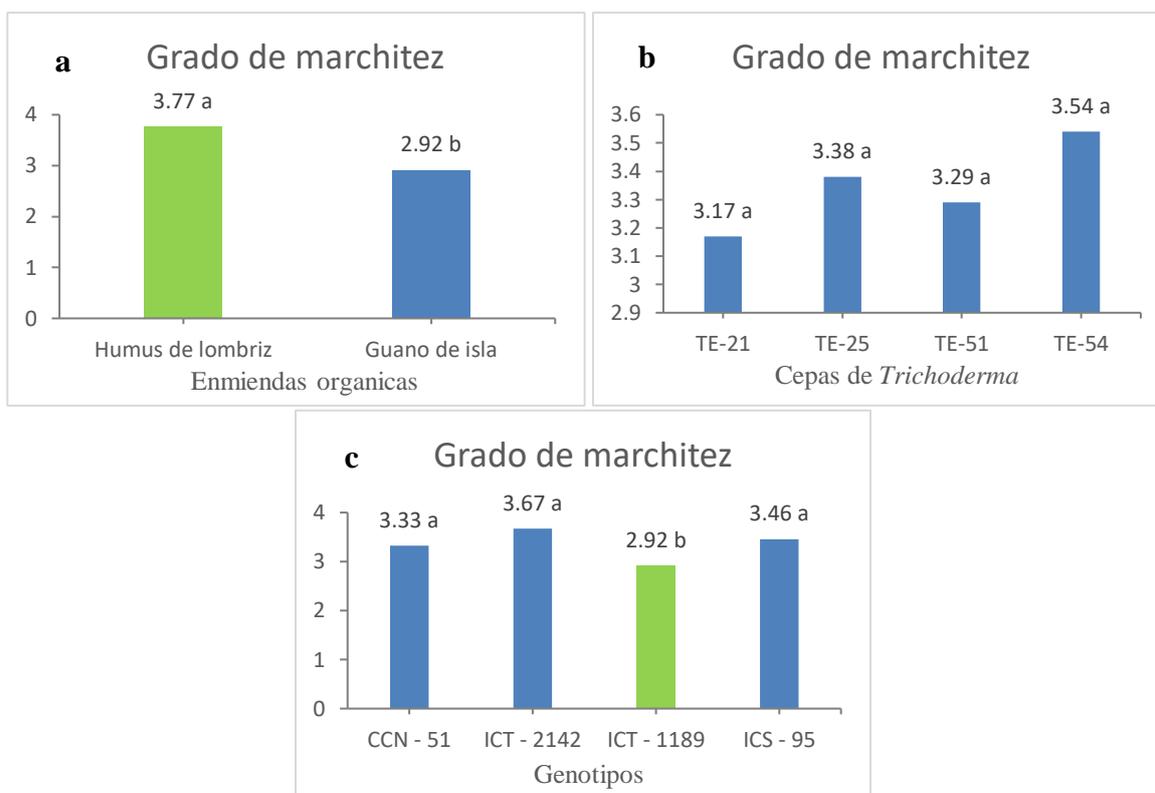


Gráfico 9. Variables agronómicas estudiadas de la planta de cacao con respecto al grado de marchitez, con enmiendas orgánicas, cepas de *Trichoderma* y genotipos.

i. Efecto del estrés hídrico en la interacción Genotipo*Enmienda en las variables agronómicas del cacao.

En la tabla 13, muestra el efecto de estrés hídrico de la interacción genotipo*enmienda de cacao, con las variables agronómicas estudiadas altura de planta (AP), número de hojas (NH), número de ramas (NR), conductancia estomatal (CE), longitud de la raíz (LR), índice de tolerancia a la sequía (DTI) y grado de marchitez (GM), al ser sometido al estrés hídrico, según el test Scott & Knott ($p \leq 0,05$).

Altura de planta (AP) de cacao con respecto a la interacción (genotipo*enmienda), al ser sometido al estrés hídrico, no existe diferencias significativas, pero numéricamente, en la interacción ICT-2142*E1 obtuvo el mejor efecto con 52,10 cm.

Conductancia estomatal (CE) de plantas de cacao con respecto a la interacción (genotipo*enmienda), al ser sometido al estrés hídrico, existe diferencias significativas, siendo la interacción ICT-2189*E1 que obtuvo el mejor valor promedio con 145,53

mmol/m².s⁻¹, seguida de las interacciones ICT-1189*E1, e ICT-1189*E2 con 133,04 y 128,38 mmol/m².s⁻¹ respectivamente.

Número de hojas (NH), Número de ramas (NR), longitud de la raíz (LR), índice de tolerancia a la sequía (DTI) y grado de marchitez (GM) de plantas de cacao con respecto a la interacción (genotipo*enmienda), al ser sometido al estrés hídrico, no existe diferencias significativas, siendo la interacción CCN-51*E1 el que obtuvo el mejor efecto, seguido de ICT2142*E2 e ICT-1189*E1.

Tabla 13

*Variables estudiadas de la planta de cacao con respecto a la interacción doble (genotipo*enmienda), en el estrés hídrico.*

Variables	Estrés hídrico							
	Humus de lombriz				Guano de isla			
	G1	G2	G3	G4	G1	G2	G3	G4
AP _(cm)	43,92 c	52,10 a	46,83 b	46,91 b	41,56 c	48,20 b	44,92 c	48,30 b
NH	48,75 a	41,17 b	38,33 b	28,33 c	41,92 b	31,83 c	35,88 b	26,75 c
NR	8,67 a	7,17 b	6,83 b	3,46 c	7,67 a	6,67 b	6,29 b	4,17 c
CE _(mmol/m².s⁻¹)	107,54 c	145,53 a	133,04 b	76,55 e	96,23 d	128,38 b	83,81 e	82,63 e
LR _(mm)	1 462,00 a	1 338,08 b	1 477,59 a	912,49 c	1 532,71 a	1 683,67 a	1 507,52 a	1 260,87 b
DTI	82,49 a	80,90 a	79,42 a	79,14 a	78,58 a	78,01 a	75,90 a	65,83 a
GM	2,83 b	3,58 a	2,42 b	2,83 b	3,83 a	3,75 a	3,42 a	4,08 a

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Fuente. Elaboración propia

j. Efecto del estrés hídrico en la interacción Cepa*Genotipo en las variables agronómicas del cacao.

En la tabla 14, muestra el efecto de estrés hídrico de la interacción cepa*genotipo de cacao, con las variables agronómicas estudiadas altura de planta (AP), número de hojas (NH), número de ramas (NR), conductancia estomatal (CE), longitud de la raíz (LR), índice de tolerancia a la sequía (DTI) y grado de marchitez (GM), al ser sometido al estrés hídrico, según el test Scott & Knott ($p \leq 0,05$).

Conductancia estomatal (CE) de plantas de cacao con respecto a la interacción (cepa*genotipo), al ser sometido al estrés hídrico, existe diferencias significativas, siendo las interacciones que mejor efecto son TE-51*ICT2142 y TE-25*ICT-2142 con 154,49 y

148,65 58 mmol/m².s⁻¹ respectivamente, seguido de las interacciones TE-54*ICT2142 y TE-21*ICT-1189 con 139,94 y 128,48 mmol/m².s⁻¹ respectivamente.

Altura de planta (AP), número de hojas (NH), número de ramas (NR), longitud de la raíz (LR), índice de tolerancia a la sequía (DTI) y grado de marchitez (GM) de plantas de cacao con respecto a la interacción (genotipo*enmienda), al ser sometido al estrés hídrico; no existe diferencias significativas, siendo las interacciones TE-25*ICT2142, TE-54*CCN-51, TE-25*CCN-51, TE-21*CCN-51, TE-21*ICT-1189 y TE-21*ICT-1189 respectivamente.

Tabla 14

*VARIABLES ESTUDIADAS DE LA PLANTA DE CACAO CON RESPECTO A LA INTERACCIÓN DOBLE (CEPA*GENOTIPO), EN EL ESTRÉS HÍDRICO.*

Cepa*Genotipo	Estrés hídrico						
	AP (cm)	NH	NR	CE (mmol/m ² .s ⁻¹)	LR (mm)	DTI	GM
TE-21*G1	41,95 b	40,83 a	6,33 b	101,47 c	1 820,21a	77,69 a	3,00 b
TE-25*G1	41,92 b	46,33 a	9,17 a	92,30 c	1 085,94 b	76,87 a	2,83 b
TE-51*G1	41,72 b	48,50 a	8,67 a	113,19 c	1 563,11 a	75,16 a	3,33 a
TE-54*G1	45,37 b	45,67 a	8,50 a	100,60 c	1 520,16 a	80,35 a	4,17 a
TE-21*G2	49,50 a	34,67 b	6,17 b	99,74 c	1 774,86 a	81,95 a	4,00 a
TE-25*G2	51,07 a	37,33 a	6,67 b	148,65 a	1 103,34 b	78,79 a	3,67 a
TE-51*G2	50,90 a	35,17 b	7,33 a	159,49 a	1 465,73 a	78,06 a	3,50 a
TE-54*G2	49,13 a	38,83 a	7,50 a	139,94 c	1 699,58 a	81,85 a	3,50 a
TE-21*G3	47,03 a	42,75 a	8,08 a	128,48 b	1 442,59 a	90,79 a	2,33 b
TE-25*G3	44,93 b	30,83 b	5,67 b	107,61 c	1 436,82 a	68,27 a	3,67 a
TE-51*G3	47,88 a	41,17 a	6,50 b	94,20 c	1 542,02 a	67,87 a	2,83 b
TE-54*G3	43,65 b	33,67 b	6,00 b	103,40 c	1 548,79 a	69,69 a	2,83 b
TE-21*G4	50,43 a	27,00 b	4,33 c	85,66 d	1 129,27 b	70,30 a	3,33 a
TE-25*G4	46,10 b	25,75 b	3,25 c	83,98 d	766,95 b	78,18 a	3,33 a
TE-51*G4	46,03 b	28,92 b	4,17 c	65,14 e	1 242,37 b	77,87 a	3,50 a
TE-54*G4	47,88 a	28,50 b	3,50 c	83,57 d	1 208,13 b	86,83 a	3,67 a

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Fuente. Elaboración propia

k. Efecto del estrés hídrico en la interacción Enmienda*Cepa en las variables agronómicas del cacao.

En la tabla 15, muestra el efecto de estrés hídrico de la interacción enmienda*cepa de cacao, con las variables agronómicas estudiadas altura de planta (AP), número de hojas (NH), número de ramas (NR), conductancia estomatal (CE), longitud de la raíz (LR), índice de tolerancia a la sequía (DTI) y grado de marchitez (GM), al ser sometido al estrés hídrico, según el test Scott & Knott ($p \leq 0,05$).

Conductancia estomatal (CE) de cacao con respecto a la interacción (cepa*genotipo), al ser sometido al estrés hídrico, existe diferencias significativas en dicha interacción, siendo las interacciones que mejor efecto son E1*TE-25, E1*TE-21, E1*TE-51 y E2*TE-54 con 126,22, 117,37, 114,92 y 109,60 $\text{mmol/m}^2.\text{s}^{-1}$ respectivamente.

Altura de planta (AP), número de hojas (NH), número de ramas (NR), longitud de la raíz (LR), índice de tolerancia a la sequía (DTI) y grado de marchitez (GM) de plantas de cacao con respecto a la interacción (genotipo*enmienda), al ser sometido al estrés hídrico, no existe diferencias significativas, siendo las interacciones E1*TE-54, E1*TE-51, E1*TE-51, E1*TE-21, E2*TE-21, E1*TE-21 y E1*TE-21 respectivamente.

Tabla 15

*Variables estudiadas de la planta de cacao con respecto a la interacción doble (enmienda*cepa), en el estrés hídrico.*

Enmienda*Cepa	Estrés hídrico						
	AP (cm)	NH	NR	CE (mmol/m ² .s ⁻¹)	LR (mm)	DTI	GM
E1*TE-21	47,73 a	38,79 a	6,08 a	117,37 a	1 397,38 b	86,86 a	2,42 b
E1*TE-25	47,31 a	36,75 b	6,29 a	126,22 a	1 015,09 c	77,53 a	3,00 b
E1*TE-51	46,54 a	42,08 a	7,13 a	114,92 a	1 449,89 b	74,48 a	2,92 b
E1*TE-54	48,18 a	38,96 a	6,63 a	104,15 b	1 327,80 b	79 ,00 a	3,33 a
E2*TE-21	46,72 a	33,83 b	6,38 a	90,30 c	1 686,08 a	73,51 a	3,92 a
E2*TE-25	44,70 a	33,38 b	6,08 a	90,05 c	1 181,43 c	73,52 a	3,75 a
E2*TE-51	46,72 a	34,79 b	6,21 a	101,09 b	1 456,72 b	75,00 a	3,67 a
E2*TE-54	44,83 a	34,38 b	6,13 a	109,60 a	1 660,54 a	80,36 a	3,75 a

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Fuente. Elaboración propia

1. Efecto del estrés hídrico en la interacción Genotipo*Enmienda*Cepa en las variables agronómicas del cacao.

Conductancia estomatal (CE) de cacao con respecto a la interacción (genotipo*enmienda*cepa), al ser sometido al estrés hídrico, se muestra en el gráfico 10, existe diferencias significativas en dicha interacción, siendo las interacciones que mejor efecto son ICT-2142*E1*TE-25, ICT-2142*E2*TE-51, ICT-2142*E2*TE-54 e ICT-2142*E1*TE-51 con 173,01, 169,39, 150,69 y 149,59 $\text{mmol/m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ respectivamente

Índice de tolerancia a la sequía (DTI) de cacao con respecto a la interacción (genotipo*enmienda*cepa), antes de someter al estrés hídrico; se muestra en el gráfico 11, existe diferencias significativas en dicha interacción, siendo las interacciones que mejor efecto son ICT-1189*E1*TE-21, ICS-95*E1*TE-54, ICT-2142*E2*TE-54 y ICT-1189*E1*TE-25 con 120,99, 94,23 y 86,64 y 85,29 respectivamente.

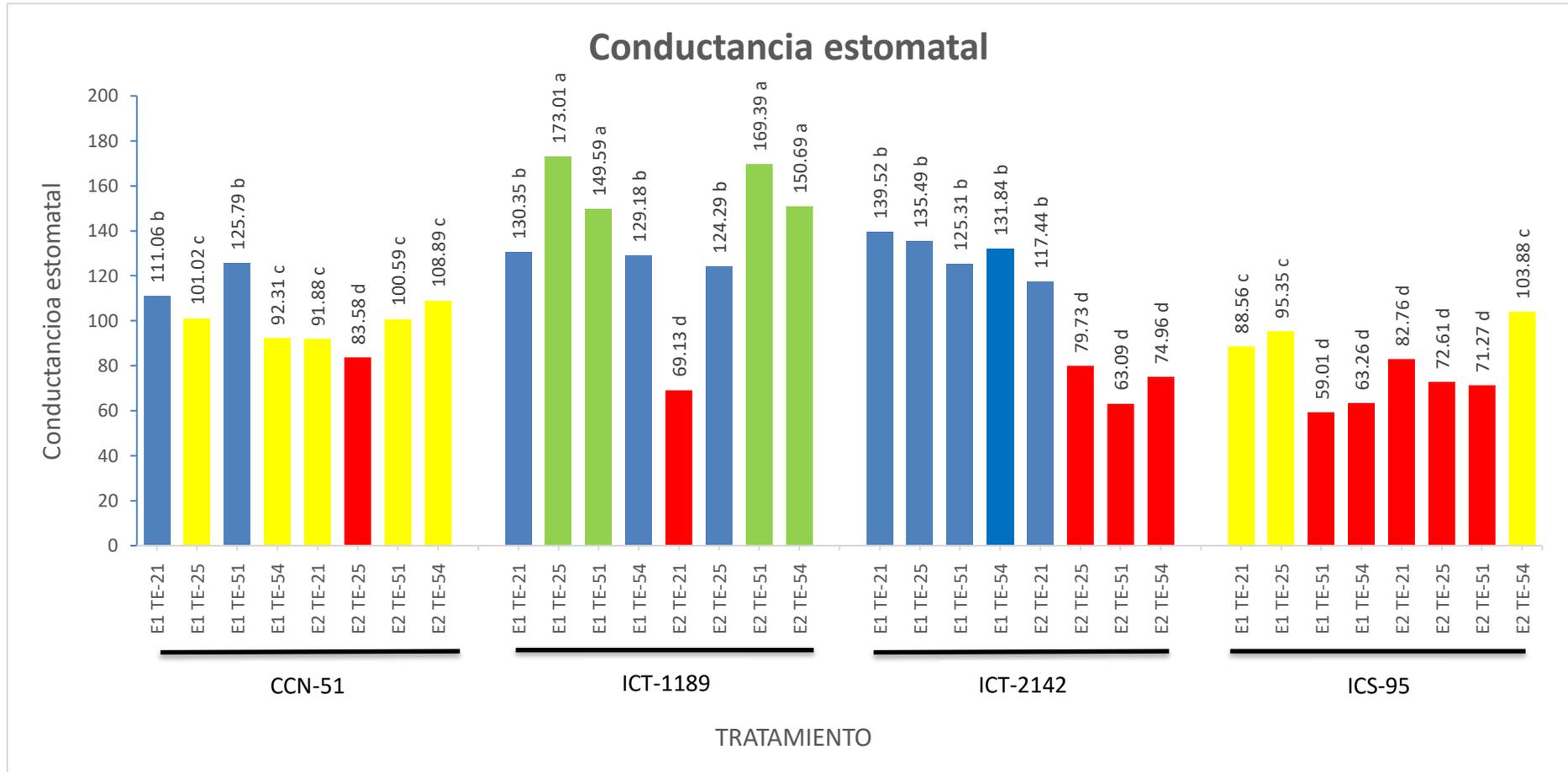


Gráfico 10. Interacción entre genotipos, enmiendas y cepas de *Trichoderma* con respecto a conductancia estomatal durante el proceso de estrés hídrico. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

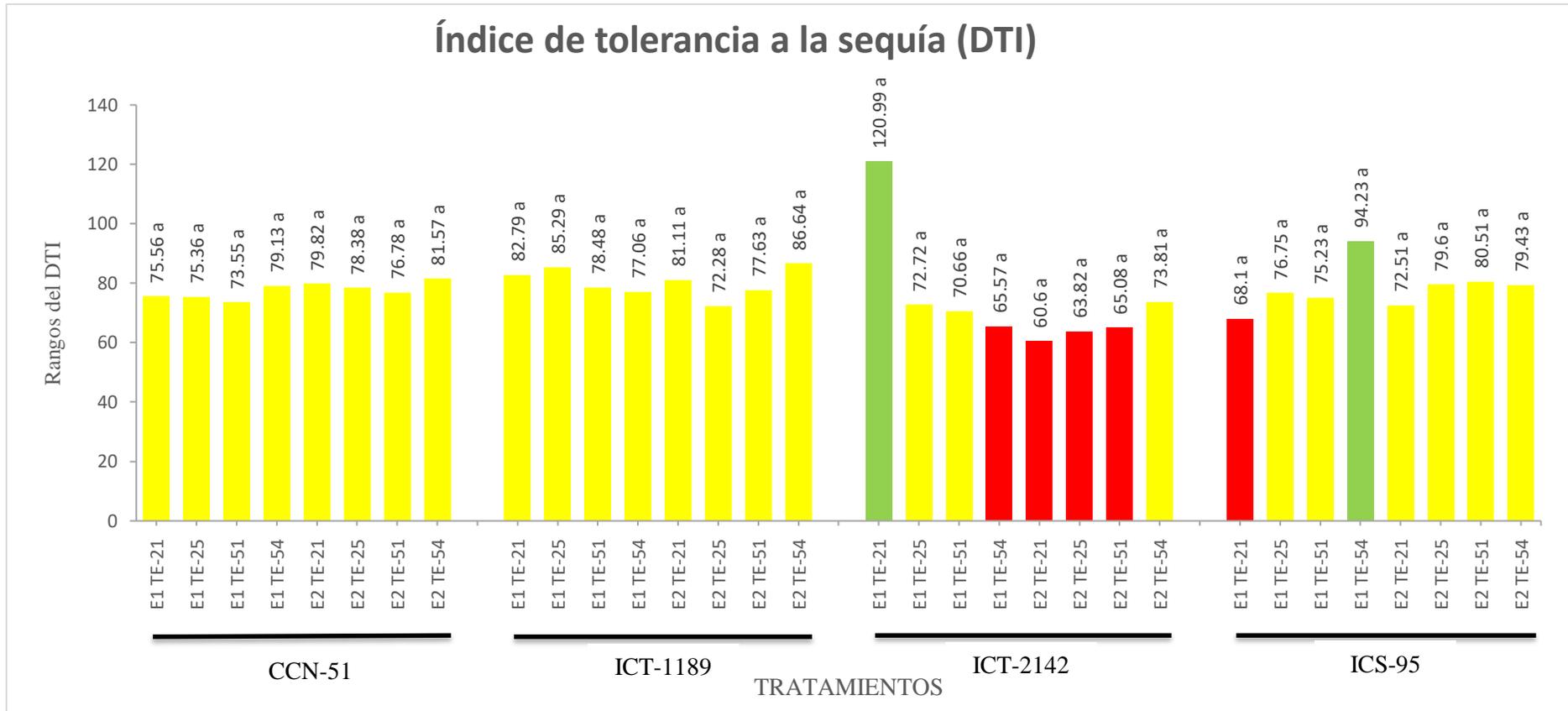


Gráfico 11. Índice de tolerancia a la sequía (DTI).

No tolerante	: <= 70	: Color rojo
Moderadamente tolerante	: >= 71 - <= 90	: Color ambarillo
Tolerante	: > 91	: Color verde

3.2. Discusión de resultados.

a. Porcentaje de colonización de *Trichoderma* en la raíz de cacao.

Estudios realizados por Harman, *et al.*, 2004; Bailey, *et al.*, 2008; Vinale, *et al.*, 2008 y Trigozo, 2012 confirman que *Trichoderma* son capaces de colonizar las raíces de cacao, de acuerdo a los resultados obtenidos todas las cepas de *Trichoderma* colonizaron la raíces con el método de infestación vía drench , siendo las cepas de *Trichoderma* TE-51 y TE-21 con 85,42 y 84,38 % respectivamente, seguida de las cepas TE-54 y TE-25 con 73,96 y 37,50 % respectivamente, el aporte de las enmiendas orgánicas son fuente de energía para las cepas de *Trichoderma* (Valencia, Sánchez, y Valero, 2005), favoreciendo el movimiento de *Trichoderma* en la rizósfera, su continuo crecimiento es por medio de sus hifas que exploran y penetran la corteza de las raíces, colonizando los tejidos de las plantas (Vinale, *et al.*, 2008), desencadenando una reacción biológica que activa la expresión de los genes de la planta respondiendo con un sistema de defensa, promoviendo el crecimiento de la planta, el sistema radicular y disponibilidad de nutrientes (Harman, *et al.*, 2004), beneficiándose por la protección de estos organismos endofíticos, (Compant, *et al.*, 2005) y otorgando resistencia a varios patógenos, por la producción de varios antibióticos y metabolitos secundarios, actuando como detonantes biológicos para activar los sistemas de defensa ante condiciones adversas bióticas y/o abióticas (Bandara, Seneviratne y Kulasooriya, 2006; Shi, Lou y Li, 2009).

b. De la altura de planta.

Diversas especies de *Trichoderma* están asociadas con la rizósfera de plantas o se relacionan de manera eneolítica (Harman, *et al.*, 2004), alterando las poblaciones de microorganismos patógenos del suelo por toxicidad o competencia (Benítez, *et al.*, 2004), la solubilización de nutrientes (Harman, *et al.*, 2004), la inducción de producción de fitohormonas (Ácido jasmónico y salicílico, auxinas, etc.) por las plantas, favorece el crecimiento y las defensas de estas (Shoresh, Yedidia y Chet, 2005; Contreras-Cornejo, *et al.*, 2009; Martínez-Medina, Roldan y Pascual, 2011). Altomare, *et al.*, (1999), sugirieron que la promoción del desarrollo se debe a que *Trichoderma* tiene la capacidad de solubilizar manganeso, sin importar el pH del medio, lo solubiliza constantemente, y como este micro elemento es requerido para funciones fisiológicas de las plantas, como

fotosíntesis, metabolismo del nitrógeno, síntesis de los compuestos aromáticos, y además, son precursores de aminoácidos y hormonas, fenoles y lignina, que asegura en parte el crecimiento y la resistencia a enfermedades en las plantas. Lo, *et al.*, (1998), *Trichoderma* incrementaba la absorción de nutrientes a través del mejoramiento del desarrollo radicular o promoviendo la disponibilidad de nutrientes necesarios. Los resultados obtenidos durante el estrés hídrico muestra que el genotipo ICT - 2142 obtuvo el mejor promedio con 50,15 cm de promedio, a comparación de los otros genotipos, mientras el genotipo ICS - 95 obtuvo una altura media con 47,51 cm, a comparación con los genotipos ICT - 1189 y CCN - 51 que obtuvieron los menores resultados con 45,87 y 42,74 cm respectivamente. La estimulación de crecimiento sería un proceso común en *Trichoderma*, ya que se ha reportado dicho efecto en varias especies, entre ellas: *Trichoderma harzianum* (Chang, *et al.*, 1986), *Trichoderma virens* (Ousley, Lynch y Whipps, 1994), y *Trichoderma koningii* (Windham y Baker, 1986).

c. Número de hojas.

La emisión de la hoja es bajo control endógeno (Vogel, 1975), pero está relacionado con los cambios climáticos, el efecto de la temperatura (Couprie, 1972), la radiación solar y precipitaciones (Snoeck, 1979) (Alvim y Alvim, 1977). Además, los hongos endófitos viven en asociación simbiótica con las plantas, en los espacios intercelular o intracelular en las hojas y tallos, utilizan los nutrientes que sintetiza la planta y ésta se beneficia de los metabolitos bioactivos que ellos producen (Salgado y Caridad, 2005). Los resultados obtenidos durante el estrés hídrico muestra que el genotipo CCN-51 obtuvo el mejor promedio de hojas con 45,33, asociada con la cepa TE-51 y la enmienda humus de lombriz estimularon el desarrollo de las plantas. De Almeida y Valle, (2010) demostraron que, durante el período de inactividad vegetativa, la falta de agua no desempeña un papel en la brotación; una vez que la latencia se rompe, la disponibilidad de agua ejercer un papel importante en la emisión de la hoja y su desarrollo. Estos resultados corroboran los estudios por Machado y Alvim, (1981).

d. Número de ramas.

El cultivo de cacao es considerado como hidroperiódico (Alvim, 1981), la precipitación influye en la apertura de brotes y estimula la floración (Balasimha, 1999). Los factores ambientales ejercen una influencia de aproximadamente 70% en el desarrollo de la planta de cacao (García, 1973). Linkies *et al.*, (2009) muestra que la auxina, citoquinina, ácido abscísico y etileno son los principales actores de crecimiento de las plantas. Estudio realizado por Martínez-Medina *et al.*, (2014), el ácido indolacético (IAA) es el más abundante de auxina natural en plantas vasculares, generando el desarrollo de brotes. Los períodos secos seguidos de lluvia sobre la actividad brote apical parecen ocurrir a través de modificaciones del ácido abscísico (ABA) y equilibrio citoquininas (Alvim, *et al.*, 1974). La eliminación de las hojas maduras produce modificaciones en el equilibrio; después de la defoliación, el nivel de ácido abscísico (ABA) en la yema apical disminuye, mientras que aumenta el contenido citoquininas (Alvim y Alvim, 1977). Los resultados durante el estrés hídrico, el genotipo CCN - 51 obtuvo el mejor promedio con 8.17 a comparación de los otros genotipos ICT-2142, ICT-1189 e ICS-95 con 6,92, 6,56 y 3,81 respectivamente, la enmienda humus de lombriz asociada con la cepa TE-51 influyeron en el desarrollo de la planta. La disminución del crecimiento aérea es causada por el cierre de estomas, que es regulado por ácido abscísico (ABA); al cerrarse, disminuye la pérdida de agua por transpiración, reduce la entrada de CO₂ disminuyendo la fotosíntesis (Azcón-Bieto y Talon, 2008; Benavides, 2002; Taiz y Zeiger, 2002). El crecimiento es afectado por la disminución de la presión de turgencia, que limita nuevos brotes (Skirycz e Inzé, 2010), estudios por Shinohara y Leskovar, (2014) consideran el ácido abscísico (ABA) como un antitranspirante metabólico para proteger las plantas bajo condiciones de estrés hídrico.

e. Conductancia estomatal.

Las plantas en su desarrollo están sometidas a condiciones ambientales no “óptimas”, estos factores inducen cambios en el metabolismo, los cuales pueden ser reversibles o permanentes (Taiz y Zeiger, 2002). El estrés por déficit hídrico produce que la tasa de transpiración excede a la toma de agua, estas condiciones disminuyen la disponibilidad de agua en el citoplasma de las células (Benavides, 2002; Mundree, Baker y Mowla, 2002; Yamaguchi, *et al.*, 2002). Dependiendo del tipo de estrés, condiciones de duración e

intensidad, genotipo y el estado fenológico de las plantas, muestran diversas respuestas, pueden ser rápidas y reversibles (aclimatación) o permanentes (adaptación). La aclimatación (tolerancia) a medida que se incrementa el estrés, se diferencia de la adaptación por “resistencia” adquirida genéticamente por selección (modificaciones morfofisiológicas de generaciones) (Benavides, 2002; Reigosa, Pedrol y Sánchez, 2004). Los resultados obtenidos durante el estrés hídrico muestran que el genotipo ICT-2142 obtuvo el mejor promedio con $136,95 \text{ mmol/m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ a comparación de los otros genotipos ICT-1189, CCN-51 e ICS-95 con $108,42, 101,89$ y $79,59 \text{ mmol/m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ respectivamente, la enmienda guano de isla asociada con las cepas TE-25 y TE-54. La interacción múltiple (genotipo*enmienda*cepa) fueron: el genotipo ICT-2142*E1*TE-25 y ICT-2142*E2*TE-51, ICT-2142*E2*TE54 y ICT-2142*E1*TE-51. En cacao se ha identificado como primer efecto del estrés hídrico, el aumento en la conductancia estomática y la disminución del potencial hídrico foliar al medio día, lo que afecta la floración y renovación de hojas en las plantas (Machado, Alvim y Milde, 1979).

f. Longitud de raíz.

Estos resultados coinciden con los descritos por López, *et al.*, 1999, el cual establece que *Trichoderma* produce sustancias estimulantes del crecimiento y desarrollo de las plantas, que actúan como catalizadores o aceleradores de los tejidos meristemáticos primarios (potencial de formar nuevas raíces en las partes jóvenes), acelerando su reproducción celular, logrando que las plantas alcancen un desarrollo más rápido que aquellas plantas que no han sido tratadas con dicho microorganismo. Benítez, *et al.*, 2004, establece que las cepas de *Trichoderma* colonizan raíces de plantas en crecimiento y proteger contra infecciones. La capacidad para absorber agua y nutrientes, depende de la dinámica de raíces finas (tasas de mortalidad y de raíces finas en crecimiento) Muñoz y Beer, (2001), los microorganismos y mejoradores de los sustratos, es un promotor de desarrollo radical y su contribución al incremento y capacidad de absorción de nutrientes (Martínez, *et al.*, 2011). Los resultados obtenidos muestran que los genotipos ICT -2142, CCN-51 e ICT-1189 obtuvieron el mejor promedio $1510,88, 1497,36$ y $1492,56 \text{ mm}$ respectivamente, a comparación con el genotipo ICS-95 con $1086,68 \text{ mm}$, la enmienda humus de lombriz asociados con las cepas TE-54 y TE-25 influyeron en el desarrollo de la planta; en tanto en la interacción triple (genotipo*enmienda**Trichoderma*) fueron ICT2142*E2*TE-54 y TE-21, y CCN-51*E1*TE-21.

g. Índice de tolerancia a la sequía (DTI).

El estrés, es cualquier factor ambiental sobre la planta que haga cambiar de su normal funcionamiento (fisiología), debido que esta genera una respuesta adversa a los procesos filológicos de la planta (Ball, Woodrow y Berry, 1987). Actividades beneficiosas atribuidas a las interacciones de *Trichoderma*/ planta incluyen la promoción del crecimiento vegetal, la tolerancia y resistencia al estrés abiótico como la sequía (Harman, *et al.*, 2004). Los resultados obtenidos muestran que el genotipo ICT-2142 obtuvo el mayor promedio con 80,16, la enmienda humus de lombriz asociadas con las cepas TE-21 y TE-54, que influyeron en el desarrollo de la planta, en tanto en la interacción triple (genotipo*enmienda**Trichoderma*) fueron, ICT-1189*E1*TE-21, ICS-95*E1*TE-54 e ICT.2142*E2*TE-54. En un estudio realizado por (Bailey, *et al.*, 2006), los cambios observados en los patrones de expresión génica en estas interacciones *Trichoderma*/cacao, mediante la caracterización de las interacciones entre las cuatro especies de *Trichoderma* y cacao a nivel molecular, plantea la posibilidad de que las especies de *Trichoderma* podría inducir la tolerancia a estrés abióticos, incluyendo posiblemente la sequía, en el cacao. Actividades beneficiosas atribuidas a las interacciones de *Trichoderma*/planta incluyen la promoción del crecimiento vegetal, la tolerancia y resistencia al estrés abiótico como la sequía (Harman, *et al.*, 2004).

h. Grado de marchitez.

Las condiciones de sequía en el ambiente de una planta proporcionan una fuerza a la pérdida de agua. Para resistir estas condiciones, las plantas han creado diferentes estrategias por medio de la evitación y de la tolerancia (Levitt, 1980). Dentro de las estrategias de aclimatación al déficit hídrico, está la inhibición de la expansión foliar, como consecuencia la abscisión foliar y cierre estomático. Los resultados obtenidos muestran que los genotipos ICT-2142, ICS-95 y CCN-51 obtuvieron el mayor promedio con 3,67, 3,33 y 3,46 respectivamente, sin embargo fue el genotipo ICT-1189 con 2,92 que obtuvo el menor grado de marchitez, como consecuente el mejor comportamiento y aprovechamiento del agua, la enmienda guano de isla asociada con la cepa TE-21 y TE-54 aportaron en el desarrollo de la planta, la interacción múltiple

(genotipo*enmienda*cepa) fueron ICT-1189*E1*TE-21, ICS-95*E1*TE-21 e ICT-1189*E1*TE-51.

CONCLUSIONES

Todas las cepas de *Trichoderma* endófitas tuvieron la capacidad de colonizar las raíces de cacao con el método de infestación vía drench. Las cepas de *Trichoderma* endófitas con mayor porcentaje de colonización fueron TE-51 y TE-21.

Las cepas de *Trichoderma* endófitas que influyeron en el desarrollo de los genotipos de cacao (longitud de la raíz) fue TE-21, así mismo, esta misma cepa contribuyó en respuesta al índice de tolerancia a la sequía y menor grado de marchites. La cepa TE-51 influyó en la emisión de hojas, ramas, mientras que la cepa TE-54 influyó en la longitud de raíz, la cepa TE-25 contribuyó en la conductancia estomatal.

Las interacciones cepas de *Trichoderma* endófitas y enmiendas orgánicas, influyó en el comportamiento de los genotipos tales como E1*TE-21 en conductancia estomatal y menor grado de marchites, E1*TE-51 influyó en número de hojas y número de ramas, E1*TE-54 influyó en altura de planta, mientras E2*TE-21 influyó en longitud de la raíz.

Todos los genotipos mostraron índice de tolerancia a la sequía moderadamente ($\geq 71 - \leq 90$), siendo el genotipo ICT-2142 con mayor DTI de 80,16, seguido de ICS-95 con 78,3, CCN-51 con 77,52 y por último ICT-1189 con 74,16, pero este último genotipo mostro que no es tolerante a la sequía en las interacciones con la enmienda guano de isla y las cepas TE-21, TE-25 y TE-51.

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar este experimento con interacción de otros genotipos (de alta productividad – valor comercial) y otras enmiendas orgánicas para determinar la respuesta al estrés hídrico.

La información obtenida en este trabajo debe servir de base a otros trabajos de investigación referentes a otros tipos de estrés hídrico como inundación, salinidad, entre otro; evaluando otros parámetros no vistos en esta investigación.

Con los mejores resultados (las cepas de *Trichoderma* TE-51 y TE-21) obtenidos en esta investigación se puede plantear una investigación, para evaluar las asociaciones con las cepas de *Trichoderma* endófitos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Altomare, C.; Norvell WA.; Bjorkman T. and Harman, G. (1999). *Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant growth-promoting and biocontrol fungus Trichoderma harzianum.*
- Alvim, R.; Alvim, P. T. and Lorenzi, R.; Saunders P. F. (1974). *The possible role of abscisic acid and cytokinins in growth rhythms of Theobroma cacao L.* Rev. Theobroma
- Alvim, P. D. T. (1981). *Recent studies on environmental physiology of cacao.* En "Proceedings of the 7th International Cacao Research Conference", Lagos, Kenya.
- Alvim, R. y Alvim, P. T. (1977). *Hydroperiodicity in cocoa tree.*
- Araque, O.; Jaimez, R. E.; Tezara, W.; Coronel, I.; Urich, R. and Espinoza, W. (2012). *Comparative photosynthesis, water relations, growth and survival rates in juvenile criollo cacao cultivars (Theobroma cacao) during dry and wet seasons.* Experimental Agriculture 48, 513-522.
- Astudillo, M. C. y Blanco, B. (1999). *Establecimiento de los parámetros semi-industrial del hongo T. harzianum, utilizado en control biológico.* Tesis de pregrado. Microbiología Industrial. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Pp. 7-11, 14, 20.
- Azcón-Bieto, J. y Talón, M. (2008). *Fundamentos de Fisiología Vegetal.* Capítulo 29: Fisiología de las plantas y el estrés (2nd ed.) Interamericana-McGraw-Hill, Madrid, pp. 577-597.
- Bae, H.; Kim, S. H.; Kim, M. S.; Sicher, R. C.; Lary, D.; Strem, M. D.; Natarajan, S., y Bailey, B. A. (2008). *La respuesta a la sequía de Theobroma cacao (cacao) y la regulación de genes implicados en la biosíntesis de poliaminas por la sequía y otros estreses.* Plant Physiology and Biochemistry 46, 174 - 88.
- Bailey, B. A.; Bae, H.; Strem, M. D.; Roberts, D. P.; Thomas, S. E.; Samuels, G. J.; Choi, I. Y. and Holmes, K. A. (2006). *Expresión génica de hongos y plantas durante la*

colonización de plántulas de cacao por aislados endofíticos de cuatro especies de Trichoderma. 224, 1449–1464.

Bailey, B.A.; Bae, H.; Stream, M.D.; Crozier, J.; Thomas, S.E.; Samuels, S.J.; Vinyard, B.T. and Holmes; K.A. (2008). *Antibiosis, micoparasitismo, y el éxito de la colonización Trichoderma endófitos aislados con potencial de control biológico en Theobroma cacao*. *Biological control* 46 (2008): 24-35.

Balásimha, D. (1999). *Stress physiology of cocoa*. *J. Plantation Crops* 27: 1-8.

Balásimha, D.; Rajagopal, V.; Daniel, E. V.; Nair, R. V. y Bhagavan, S. (1988). *Comparative drought tolerance of cacao accessions*. *Tropical Agriculture (Trinidad)* 65, 271-274.

Ball, J. T.; Woodrow, I. E. y Berry, J. A. (1987). *A Model Predicting Stomatal Conductance and its contribution to the control of Photosynthesis under Different Environmental Conditions, Progress in Photosynthesis Research, Vol. IV, Martinius Nijhoff Publishers, The Netherlands*.

Bandara, W.; Seneviratne, G. and Kulasoorya, S. A. (2006). *International among endophytic bacteria and fungi: effect and potentials*. *J. Biosci* 31:645-650.

Benavides, M. A. (2002). *"Ecofisiología y bioquímica del estrés en plantas. Departamento de Horticultura,"* Departamento de Horticultura. Universidad autónoma agraria Antonio Navarro, Buenavista, Saltillo. Mexico.

Barahona, J. (1987). *Manual del Cultivo del Cacao*. INIAP. Quevedo, Ecuador. Pg 109

Basurto, S. M.; Núñez, B. A.; Pérez, L. R. R. y Hernández, R. O. A. (2008). *"Fisiología del estrés ambiental en las plantas"*. Facultad de Ciencias Agrotecnológicas, Universidad Autónoma de Chihuahua - México. *Synthesis - Aventuras del pensamiento*, oct.-nov. 2008:1-5

Benítez, T.; Rincón, A. M.; Limón, M. C. and Codón, A. C. (2004). *Biocontrol mechanisms of Trichoderma strains*. *International Microbiology* 7(4):249-260.

- Bjorkman, T.; Harman G. E. and Blanchard L. (1995). *Root development in sweet- corn inoculated with the biocontrol fungus Trichoderma harzianum*. HortScience 30(4): 810 (Abstr.)
- Camargo, H. (2005). *Evaluación en campo de la incidencia de Rhizoctonia solani en arroz (Oriza sativa), luego de la inoculación en semilla de un formulado comercial a base de antagonista Trichoderma harzianum*.
- Carruthers, I. and Clark, C. (1981). *The economics of irrigation*. Liverpool University press. 300pp.
- Chang, Y. C.; Baker, R.; Kleifeld, O. and Chet, I. (1986). *Increased growth of plants in the presence of the biological control agent Trichoderma harzianum*. Plant Dis., 70: 145-148.
- Claussen, W. (2005). *Proline as a measure of stress in tomato plants*. Plant Sci. 168:241-248.
- Compant, S.; Reiter, B.; Sessitsch, A.; Nowak, J. and Clément, C. (2005). *Endophytic colonization of Vitis vinifera L. by plant growth-promoting bacterium Burkholderia sp. Strain Ps JN*. Applied and Environmental Microbiology 71(4):1685-1693.
- Contreras-Cornejo H.; Macias-Rodriguez L.; Corte´s-Penagos C and Lopez-Bucio J. (2009). *Trichoderma virens, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in Arabidopsis*. Plant Physiol.
- Cortes, S.; Vegas, N.; Sigarroa, A.; Moreno, L. y Cardenas, D. (2015). *Sustratos inoculados con microorganismos para el desarrollo de plantas de cacao (Theobroma cacao) en etapa de vivero*.
- Coupré, F. (1972). *Étude de certains aspects del ecophysiologie du cacaoyer liés a la productivité en Uganda*. Café Cacao.

- Cruz, L. (2007). *Estandarización del proceso de producción masiva del hongo Trichoderma koningii, mediante fermentación bifásica a escala piloto*. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias. Bogotá, D.C. 123 p.
- De Almeida, A. and Valle, R. R. (2010). *Cacao: Ecophysiology of growth and production*. En "*Ecophysiology of Tropical Tree Crops*" (F. U. O. V. Fabio Damatta (Dept. Of Plant Biology, Brazil), ed.), pp. 37-70 Vicosa, Brazil.
- De Almeida, A.; Brito, R. C.; Aguilar, M. and Valle, R. R. (2001). *Some water relations aspects of Theobroma cacao clones*. pp. 349-363 En "13th International Cocoa Research Conference," Kota Kinabalu, Malaysia, October.
- Di Rienzo J.; Fernandez P.; Soria M.; Peluffo, L.; Moschen, S. y González, S. (2012). *Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina*.
- Domsch, K.; Anderson, W. and Yersoon, T. H. (1980). *Compendium of soil fungi. Revision of the genus Trichoderma*. Academic Press, London. 136:794-810.
- Ehleringer, J.; Bjorkman, O. and Mooney, H.A. (1976). *Leaf pubescence: Effects on absorbance and photosynthesis in desert shrub*. Science 192: 376-377.
- Enríquez, A. (2010). *Curso sobre el cultivo de cacao*. CAITE. Costa Rica.
- Freire, M. D. (1993). *Efeitos da irrigacao complementar no rendimento do cacaueiro Theobroma cacao*, USP Tese de mestrado. ESALQ, Piracicaba, São Paulo – Brasil.
- Fonseca, A. (1998). *Estudio preliminar sobre la dinámica poblacional del bio-controlador Trichoderma spp. En el suelo*. Tesis de pregrado. Bacteriología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá-Colombia.
- Fuentez, S.O. (2011). *Desempeño fisiológico de tres genotipos de Theobroma cacao L. (Malvaceae) bajo diferentes regímenes hídricos en etapa de vivero*. Pp 28

- Gamboa, M. (2010). *Efecto de las condiciones hídricas del suelo sobre el intercambio gaseoso y el crecimiento en plantas de Theobroma cacao*. Pp 74
- García, J. R. (1973). *Estudo de alguns índices de crescimento e produtividade para seleção juvenil em híbridos de cacau*. Turrialba, IICA, M.Sc. dissertation.
- García, J. (2014) *Caracterización de las respuestas fisiológicas y bioquímicas en tres clones de cacao (Theobroma cacao L.) sometidos a diferentes niveles de déficit hídrico*. Pp 108. Tesis para optar grado de Doctor en Ciencias Agropecuarias.
- Harman, G. E. and Chet, I. K. (1981). *Factors affecting Trichoderma hamatum applied to seed of bio-control agent*. *Phytopatology* 71: 579-582.
- Harman, G. E.; Howell, C. R.; Viterbo, A.; Chet, I. and Lorito, M. (2004). *Especies de Trichoderma oportunistas, simbiosis de plantas avirulentas*. *Nature Review Microbiology* 2:43-56.
- Hata, K.; Atari, R. and Sone, K. (2002). *Isolation of endophytic fungi from leaves of Pasania edulis and their within-leaf distributions*. *Mycoscience* 43:369-373.
- Kramer, P. J. (1989). *Relaciones hídricas de suelos y plantas*. Una síntesis moderna. Versión al español por Leonor Tejada. Edit. EDUTEX. México. 538 p.
- Lambers, H.; Chapin, S. and Pons, T. (2008). *Plant physiological ecology*. Springer. New York. 604 p.
- Levitt, J. (1980). *Responses of plant to environment stress water, radiation, sold and other stresses*. New York: Academic Press. U.S.A. v. 2, 497 p.
- Linkies, A.; Müller, K.; Karl, M.; Turecková, V.; Wenk, M.; Cadman, C.; Corbineu, F.; Stmar, M.; Lynn, J.; Finch-Savage, W. and Leubner-Metzger, G. (2009). *Ethylene interacts with abscisic acid to regulate endosperm rupture during germination; a comparative approach using Lepidium sativum (cress) and Arabidopsis thaliana*.

- Lo, C.; Nelson, E.; Hayes, C. and Harman, G. (1998). *Ecological studies of transformed Trichoderma harzianum strain in the rhizosphere and on the phylloplane of creeping bentgrass. Phytopathology.*
- López, H.; Perez, M.; Llobel, A.; Vazquez, M. y Bonillas, Z. (1999). *Estudios in vivo de Trichoderma como agente de biocontrol contra Phytophthora cinamoni y Roselinia necatrix en aguacate.*
- Machado, R. C. R and Alvim P. T. (1981). *Effects of soil water deficit on the flushing, flowering and water status of cacao trees. Rev. Theobroma.*
- Machado, R. C. R.; Alvim, P. D. T. and Milde, L. C. E. (1979). *Reações fisiológicas do cacaueiro a deficiência de água no solo. En "7 International cocoa research conference", Douala Cameroun.*
- Malinowski, D. P. and Belesky, D. P. (2000). *Adaptation of endophyte-infected cool-season grasses to environmental stresses: mechanisms of drought and mineral stress tolerance. Crop Science. 40:923–940.*
- Martínez-Medina, A.; Alguacil, M. D. M.; Pascual, J. A. and Van Wees, S. C. (2014). *Phytohormone profiles induced by Trichoderma isolates correspond with their biocontrol and plant growth-promoting activity on melon plants. Journal of chemical ecology, 40(7), 804-815*
- Martínez-Medina, A.; Roldan A. and Pascual J.A. (2011). *Interaction between mycorrhizal fungi and Trichoderma harzianum under conventional and low input fertilization field condition in melon crops. Growth response and Fusarium wilt biocontrol. Applied Soil Ecology.*
- Moser, G.; Leuschner, C.; Hertel, D.; Hölscher, D.; Köhler, M.; Leitner, D.; Michalzik, B.; Prihastanti, E.; Tjitrosemito, S. and Schwendenmann, L. (2010). *Response of cacao trees (Theobroma cacao) to a 13-month desiccation period in Sulawesi, Indonesia. Agroforestry Systems 79, 171-187.*

- Mundree, S.; Baker, B. and Mowla, S. (2002). *Physiological and molecular insights into drought tolerance*. African Journal of Biotechnology.
- Muñoz, F. and Beer, J. (2001). *Fine root dynamics of shaded cacao plantations in Costa Rica*. Agrofor. Syst.
- Navarro, M. P. y Mendoza, I. A. (2006). *Guía técnica para promotores cultivo del cacao en sistemas agroforestales*. Programa para el desarrollo rural sostenible en el municipio El Castillo, Río San Juan, Nicaragua. 67 p.
- Ousley, M.; Lynch, J. and Whipps, J. (1994). *The effects of addition of Trichoderma inocula on flowering and short growth of bedding plants*. Scientia Horticulturae 59: 147- 155.
- Papavizas, G. (1985). *Trichoderma y Gliocladium. Biology, Ecology and potential for bio control*. Annual Review of Phytopathology 23: 23-54.
- Passioura, J. b. (1996). *Sequía y tolerancia a la sequía. Regulación de crecimiento vegetal*, 79-83. 121
- Pichis, R. (2013). *Influencia de cepas de Trichoderma sp endófito en el crecimiento, nutrición y resistencia foliar a Phytophthora palmivora en plantones de cacao (Theobroma cacao l.) en san Martín* pp. 65. Tesis para optar el grado de Ingeniero Agrónomo.
- Premachandra, G., and Joly, R. (1991). *Leaf water relations, net CO2 assimilation stomatal conductance and osmotic concentration as affected by water deficit in cacao seedlings*. pp. 1-8.
- Reigosa, M. J.; Pedrol, N. y Sánchez, A. (2004). *"La Ecofisiología vegetal una ciencia de síntesis."*

- Rodríguez, S. y Zanahoria, C. (1991). *Reguladores del crecimiento en fertilización NPK, método de aplicación, rendimiento*, Bibliografía comentada sobre hortalizas, p. 1189-1194.
- Salgado, C. S. y Caridad, M. C. (2005). *Aislamientos de hongos endófitos en rosa (Rosa híbrida) en Bogotá-Colombia*.
- Salisbury, F. y Ross, F. (2000). *Fisiología de las Plantas*. Thompson Editores Spain Paraninfo, S. A. España. 947 p.
- Santos, A. (2007). *Abonos orgánicos*. Instituto de Recursos Naturales Colegio de Postgraduados. México.
- Siqueira, P. R.; Sena G.; A., Dias, L. A. y Souza, C. A. (1996). *Efeito da irrigação na produtividade do cacauzeiro Theobroma cacao L. em Linhares Brasil*. En: Proceedings 12th International Coca Research Conference. Salvador, Bahía, Brasil. p. 867 – 877.
- Shi, Y.; Lou, K. and Li, C. (2009). *Promotion of plant growth by phytohormone producing endophytic microbes of sugar beet*. *Biol Fertil Soils*. 45:645-653.
- Shinohara, T. and Leskovar, D. I. (2014). *Effects of ABA, antitranspirants, heat and drought stress on plant growth, physiology and water status of artichoke transplants*. *Scientia Horticulturae*.
- Shoresh M.; Yedidia I. and Chet I. (2005). *Involvement of Jasmonic Acid/Ethylene Signaling Pathway in the Systemic Resistance Induced in Cucumber by Trichoderma asperellum T203*. *Phytopathology* 95: 76-84.
- Sivan, A. and Harman, G. E. (1991). *Improved rhizosphere competence in a protoplast fusion progeny of Thichoderma harzianum*. *J. Gen Microbiol*. 137: 23 -29.
- Skirycz, A. and Inzé, D. (2010). *More from less: plant growth under limited water*. *Current Opinion in Biotechnology* 21, 197-203.

- Snoeck, J. (1979). *Relations entre les récoltes mensuelles des cacaoyers et les facteurs du climat en Côte d'Ivoire*, Thé études préliminaires Cacao Café.
- Taiz, L. y Zeiger, E. (2002). "*Plant Physiology*," Tercera edición/Ed. Sinauer Associates, Inc., Publishers.
- Torrán, A. E. (2007). *Impacto de las plantaciones de Eucalyptus grandis sobre el contenido de humedad del suelo. Análisis de un caso en el noreste de la provincia de Entreríos*. Tesis de Maestría, Universidad Tecnológica Nacional, Concepción del Uruguay
- Tyree, M.; Vargas, G. B.; Engelbrecht, T. and Kusar. (2002). *Drought until death does us part: a case study of the dessication – tolerance of a tropical moist forest seeding – tree, Licania platypus (Hemsl.) Fritsch*. Journal Experimental of Botany.
- Trigozo, E. (2012). *Influencia de Trichoderma spp endófito sobre el crecimiento e inducción de resistencia al estrés hídrico en cacao (Theobroma cacao L.)*. pp. 110. Tesis para optar el grado de Ingeniero Agrónomo.
- Valencia, H.; Sánchez, J. y Valero, N. (2005). *Producción de ácido indolacético por microorganismos solubilizadores de fosfato presentes en la rizósfera de Espeletia grandiflora y Calamagrostis effusa del Páramo el Granizo*. p. 177-193. En: Bonilla, M. (ed.). Estrategias adaptativas de plantas de páramo y del bosque altoandino en la cordillera oriental de Colombia. Unibiblos, Bogotá.
- Vinale, F.; Sivasithamparam, K.; Ghisalberti, E. L.; Marra, R.; Woo, S. L. and Lorito, M. (2008). *Trichoderma-plant-pathogen interactions*. *Soil Biology & Biochemistry* 40:1-10.
- Vogel, M. (1975). *Recherche du déterminisme du rythme de croissance du cacaoyer*. Café, Cacao, Thé.
- Windham, M.; Elad, Y. and Baker, R. (1986). *A mechanism for increased plant growth induced by Trichoderma spp*. *Phytopathol.* 76, 518-521.

Yamaguchi, K.; Kasuga, M.; Liu, Q.; Nakashima, K.; Sakuma, Y.; Abe, H.; Shinwari, Z.;
Seki, M. and Shinozaki, K. (2002). *Biological mechanisms of drought stress response*.
JIRCAS Working Repor.

ANEXO

Análisis de suelo

Nº Solicitud **AS0030-14**
 SOLICITANTE **Asociación KALLPA (Att. Ing. Erick Trigozo)**
 PROCEDENCIA **San Antonio de Cumbuzá- San Martín- San Martín**
 Exprim./cultivo actual: **Cacao**

FECHA DE MUESTREO **10/12/2016**
 :
 FECHA DE RECEP. LAB **10/12/2016**
 :
 FECHA DE REPORTE **19/12/2016**
 :

Número de la muestra				pH	C.E dS/m	CaCO ₃ (%)	M.O (%)	N (%)	P (ppm)	K (ppm)	ANÁLISIS MECÁNICO			C.I.C. efectiva	C.I.C.	CATIONES CAMBIABLES					Suma de bases	% Sat. de bases	
Lab.		Campo	Arena								Limo	Arcilla	CLASE TEXTURAL			Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺	Al ³⁺ +H ⁺			
			%			meq/100																	
14	02	0052	M1	5.20	0.03	0.00	1.58	0.07	6.80	36	68.96	8.72	22.32	Fra-Arc-Are	3.57		2.45	0.43	0.09	0.00	0.61	2.96	83.04

METODO

S:

TEXTURA : HIDROMETRO
 pH : POTENCIOMETRO Suspensión Suelo-Agua relación 1:2.5
 CONduc. ELECTRICA : CONDUCTIMETRO Suspensión Suelo-Agua relación 1:2.5
 CARBONATOS : GAS - Volumétrico
 FOSFORO : OLSEN MODIFICADO EXTRACT. NaHCO₃ =0.5M , pH 8.5 Esp. Vis
 POTASIO : OLSEN MODIFICADO EXTRACT. NaHCO₃ 0.5M o Acetato de Amonio 1 N , pH 8.5 Esp. Absorción Atómica
 MATERIA ORGANICA : WALKLEY y BLACK y sobrelimite por gravimetría (>10%)
 CALCIO Y MAGNESO : EXTRACT. KCl 1N o Acetato de Amonio 1N Esp. Absorción Atómica
 ACIDES INTERC. : EXTRACT. KCl 1N, Volumetría

Ing. MSc. Luis Zúñiga Cernades
 Especialista Suelos ICT

La Banda de Shilcayo, 19 de Diciembre del 2016