

SELECCIÓN DE GENOTIPOS Y/O ACCESIONES DE CACAO SILVESTRES Y DOMESTICADOS TOLERANTES A LA RADIACIÓN SOLAR EN EL PERÚ

Arévalo-Gardini, E¹; Farfán-Pinedo, A¹; Tuesta-Pinedo, A¹; Arévalo-Hernández, C¹; Baligar-Virupax, C².

1. Instituto de Cultivos Tropicales, Tarapoto, Perú.

2. United States Department of Agriculture, USA.

Palabras claves: Estrés, índice, tolerancia, sensible, radiación solar, biomasa.

ABSTRACT

The most important climatic factors for the growth of plants are light, temperature and precipitation. Several studies have shown that there is a range of light intensity in which a particular species thrives and grows better, resulting in different behaviors in the growth pattern of species in their juvenile and adult stages. Two experiments were established under greenhouse conditions at the experimental stations of the Instituto de Cultivos Tropicales. location in the province and region San Martín, geographical coordinates 06°30'28 "south latitude and 76°00'18" west longitude, 333 m.s.n.m. altitude, to select tolerant cocoa genotypes at two levels of light. For six months, 57 genotypes and / or accessions of domesticated and wild cacao were grown in pots; were subjected to two treatments (Treatment 1: 50% light, PPFD from 850 to 900 mol m⁻² s⁻¹ and treatment 2: 20% light, PPFD from 400 to 450 mol m⁻² s⁻¹) to evaluate the effects of light quality on the growth, chemical composition and physiological stress of the seedlings. In both treatments, the soil was maintained at field capacity (33 Kpa) around the hydric potential of the plant.

Of the total genotypes studied, 18 % are considered tolerant to levels of 20 % light, stand out among them: ICT-2172, ICT-2173, ICT-1087 (ICT Collection), UF-613, ICS-1 (International collection) by higher dry biomass and better physiological activity; 54% have medium tolerance, stand out UNG-77 (Wild collection), ICT-1112, ICT-2171 (ICT Collection), CCN-51(International collection), PH-144 (Brazilian collection) and 28% of genotypes considered sensitive to 20 % light: ICT-1092, ICT-1292, ICT-2653 (ICT collection), PAS-91, UNG-73 (Wild collection), IPIRANGA-1(Brazilian collection).

Cacao genotypes responded better to the first treatment 50% light, PPFD from 850 to 900 mol m⁻² s⁻¹ in the biometric variables (plant height, stem diameter, number of branches, leaves and higher biomass dry weight). Therefore, these variables are plant characteristics, reliable in the selection of cacao genotypes and / or accessions tolerant to the quality sunlight.

RESÚMEN

Los factores climáticos más importantes para el crecimiento de las plantas son la luz, la temperatura y la precipitación. Diversos estudios han demostrado que existe un rango de intensidad de luz en el cual prospera y crece mejor una determinada especie, dando como resultado diferentes comportamientos en el patrón de crecimiento de las especies en su etapa juvenil y adulta. Se establecieron dos ensayos con la finalidad de seleccionar genotipos de cacao tolerantes a dos niveles de luz bajo condiciones de vivero en las estaciones experimentales del Instituto de Cultivos Tropicales, ubicado en la provincia y región San Martín, coordenadas geográficas 06°30'28" latitud sur y 76°00'18" longitud oeste, altitud de 333 m.s.n.m. Se cultivaron en macetas 57 genotipos y/o accesiones de cacao domesticados y silvestres, por un periodo de seis meses; siendo sometidas a dos tratamientos (Tratamiento 1: 50 % de luz, PPFD de 850 a 900 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y tratamiento 2: 20 % de luz, PPFD de 400 a 450 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), para evaluar los efectos de calidad de luz sobre el crecimiento, composición química y estrés fisiológico de las plántulas. En ambos tratamientos se mantuvo el suelo a capacidad de campo (33 Kpa) cercano al potencial hídrico. Del total de genotipos en estudio, el 18% son considerados tolerantes a niveles de 20 % de luz, destacan el ICT-2172, ICT-2173, ICT-1087 (colección ICT-Perú), UF-613, ICS-1 (colección internacional), por mayor biomasa seca y mejor actividad fisiológica; el 54% presentan tolerancia media, destacando UNG-77 (colección silvestre), ICT-1112, ICT-2171 (colección ICT-Perú), CCN-51 (colección internacional), y PH-144 (colección Brasil) y el 28% considerados sensibles a la luz entre ellos ICT-1092, ICT-1292, ICT-2653 (colección ICT-Perú), UNG-73 (colección silvestre), IPIRANGA-1 (colección Brasil). Los genotipos de cacao respondieron mejor al primer tratamiento 50 % de luz, PPFD de 850 a 900 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en las variables biométricas (altura de planta, diámetro tallo, número de ramas, hojas y mayor biomasa seca). Por lo tanto, estas variables son características de las plantas, confiables en la selección de genotipos y/o accesiones de cacao tolerantes a niveles de irradiancia (porcentaje de luz solar).

INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es originario de América del Sur tropical (Dapeng y Lambert 2016). Es un importante árbol de selva tropical, previamente clasificado en las Sterculiaceae y actualmente reconocido como miembro de la familia Malvaceae (Bayer and Kubitzki 2003). La luz es un factor ecológico esencial que facilita la fotosíntesis e influye en el crecimiento, la morfogénesis y la supervivencia de las plantas (Zhang et al., 2014). Tradicionalmente, el cacao se cultiva bajo la sombra de un bosque selectivamente raleado y representa uno de los sistemas agroforestales más antiguos de América tropical (Lobão et al., 2007). El cacao posee una diversidad de cultivares con respuestas o tolerancia a variaciones y fluctuaciones de los parámetros microclimáticos (Almeida y Valle, 2007). El cacao es un árbol tolerante a la sombra, pero no es específicamente un árbol de sombra. Se ha reportado que las plantas de cacao de los dos tipos fundamentales (Criollo y Forastero) y el híbrido entre estos dos tipos (Trinitario) se saturan a densidades de flujo fotónico comprendidas entre 400 a 600 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, intensidades que constituyen entre 25 y 30 % de la radiación máxima en un día despejado (Balasimha et al., 1991; Raja Harun y Hardwick 1987; Barrera, 2006; Vespa, 2008). Un aspecto relevante de la poca tolerancia del cacao a altas radiaciones, es el tiempo de vida promedio de las hojas que se ha estimado que es de 450 y 250 días en plantas bajo sombra o a plena exposición solar, respectivamente (Muller et al., 1992). El punto crucial en sombra es la intensidad que debe haber alrededor de las plantas de cacao y esto es importante ya que afecta otros factores microclimáticos como la temperatura, la humedad relativa, evaporación y disponibilidad de agua en el suelo además de factores que influyen en la fertilidad de la plantación como velocidades de incorporación de hojarasca que sumados afectan tanto el crecimiento del cacao como su producción (Beer et al., 1998). En contraste, el cacao también se cosecha bajo condiciones sin sombra. En Ghana y Costa de Marfil, por ejemplo, el 50% del área total de cacao está bajo sombra leve, mientras que un promedio de 10% en Ghana y 35% en Costa de Marfil se maneja sin sombra (Padi y Owusu, 1998). La aclimatación fotosintética es crítica para la supervivencia de las plantas del sotobosque (Chazdon 1988). En general, las hojas que crecen bajo luz intensa muestran las siguientes características: mayor ancho del mesófilo, cutícula y tasa fotosintética (Campostrini et al., 2001; Avalos and Mulkey, 1999; Oguchi et al., 2003). La condición de luz puede afectar la morfología de la planta al reducir la proporción de brote de raíz y el peso específico de la hoja, ampliar el área específica y cambiar el pigmento de la hoja. Por ejemplo, los ambientes con poca luz interfieren con la actividad fotosintética normal en las plantas al afectar la síntesis de pigmentos fotosintéticos y la relación de varios pigmentos (Zhao, Hao y Tao, 2012). Los estudios sobre el mecanismo de adaptación a la luz en las especies de plantas pueden proporcionar información útil para la conservación de la especie (Kim et al., 2011; Perrin y Mitchell, 2013). El objetivo de esta investigación es identificar genotipos y/o accesiones de cacao con fines de establecer posibles mecanismos de tolerancia a bajos niveles de radiación solar (20%) sin ver perjudicado en lo posible el normal desarrollo morfológico y fisiológico de los genotipos que toleran estos niveles de luz.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y condiciones de crecimiento:

Se seleccionó 57 genotipos y/o accesiones de cacao, pertenecientes a las colecciones: Instituto de cultivos tropicales, internacionales, brasileros y silvestres, el germoplasma fue propagado mediante enraizamiento por estacas en cámara húmeda por 60 días con la finalidad de obtener clones puros de progenitores promisorios en productividad, tolerancia a enfermedades y calidad organoléptica. El experimento se realizó en condiciones de vivero en el Instituto de cultivos tropicales – ICT (06°30'28" S y 76°00'18" O, 333 m.s.n.m.). se adicionó dolomita en los suelos para incrementar el pH of 4.7 to 5.8; se aplicó fertilizantes a base de nitrógeno, fósforo y potasio para un óptimo crecimiento. Se cultivaron tres plántulas por genotipo en macetas por un periodo de seis meses; se dividieron en dos grupos: plántulas del primer grupo (control) con calidad de luz al 50% (PPFD de 850 a 900 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) Modelo (MQ-200 Quantum flux Apogee instruments, EE.UU) y el segundo grupo de plántulas con calidad de luz al 20% (PPFD de 400 a 450 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) para evaluar los efectos de la radiación solar sobre las características morfológicas, fisiológicas y uso eficiente de nutrientes en las plántulas de cacao. En ambos tratamientos se mantuvo el suelo a capacidad de campo -33 Kpa (The model 2725 soil moisture tensiometer, EE.UU). Durante el tiempo del experimento se registró la temperatura diurna/nocturna en promedio de 33/25 °C with 78 % HR usando el termho-hidrómetro (Amarell AA-0150 EE.UU).

Parámetros de crecimiento

Antes del sacrificio de plántulas se midieron, altura de planta (AP), diámetro de tallo (DT), utilizando el vernier digital, número de ramas (NR) y hojas (NH). Después del sacrificio de las plántulas, las raíces fueron removidas del suelo y lavadas; se determinó el área foliar (AF $\text{cm}^2/\text{planta}$) y radicular (AR $\text{cm}^2/\text{planta}$), longitud de raíz (LR cm/planta) usando Assess 2.0 image analysis software). Las raíces, tallos y hojas se lavaron con agua destilada y ácido clorhídrico al 5 %. Las muestras de raíz, tallo + hojas se colocaron en sobres de papel y se secaron en estufa a 75 °C en una circulación de aire forzado para obtener la biomasa seca de raíz (BSR g/planta), biomasa seca de tallo+hojas (BST+H g/planta) y biomasa seca total (BsTg/plant).

Características fisiológicas

Durante el tiempo de evaluaciones se cuantificó el contenido de clorofila cada 15 días (capacidad de campo) y diariamente cuando las plántulas eran sometidas a sequía. Se seleccionaron tres hojas por planta, se utilizó el equipo portátil (The model CL-01 Chlorophyll content meter, Hansatech instruments, EE.UU), del mismo modo la conductancia estomática $\text{mmol}/\text{m}^2/\text{s}$ (Measured by Decagon Model SC-1 Leaf porometer EE.UU).

El uso eficiente total de agua (UEA), fue determinado de la siguiente fórmula:

UEA total = [(Biomasa de tallo + hoja, g/planta⁻¹)/(agua aplicado durante el crecimiento, g/planta⁻¹)].

Índice de tolerancia a radiación solar

A partir de los datos de biomasa seca de tallo + hojas (g/planta) y biomasa seca de raíz (g/planta) de ambos tratamientos; se determinó el índice de tolerancia a radiación solar (ITRS) para cada genotipo:

ITRS= [(Biomasa seca de tallo y hojas + biomasa seca de raíz, g/planta con 20% de radiación solar)/(Biomasa seca de tallo y hojas + biomasa seca de raíz, g/planta con 50% de radiación solar)] x 100.

La escala de clasificación al índice de tolerancia a sequía de los genotipos de cacao fue de la siguiente forma:

ITS ≤ 40% Sensible a radiación solar

ITS > 40% ≤ 60% Moderadamente tolerante a radiación solar

ITS > 60% Tolerante a radiación solar

Consumo y uso eficiente de Nutrientes

El contenido de macro y micro nutrientes en hojas y tallo fue determinado para todos los genotipos, muestra de aproximadamente 500 mg de biomasa seca molida, después de la digestión en ácido nítrico HNO₃ al 65% se determinaron los valores de K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn y Zn por espectrofotometría de absorción atómica (EAA Varian atomic spectrometers) la digestión para nitrógeno fue ácido sulfúrico HSO₄ al 0.05 N determinado por el método de Kjeldahl y la digestión para P y B fue ácido nítrico HNO₃ al 65% por el método de espectrofotometría molecular (Spectronic 20D a longitud de onda 420 NM).

el contenido de minerales en hojas y tallos fue expresado en g/planta para cada uno de los genotipos y tratamientos con los siguientes cálculos:

Consumo de nutrientes (CN):

CN= [Biomasa seca de tallo+ hojas g/planta x concentración de nutrientes (mg/g para macronutrientes y µg/g para micronutrientes)] (Baligar and Fageria, 1997).

Uso eficiente de nutrientes (UEN):

UEN= [(Biomasa seca de tallo+ hojas g/planta)/(contenido de nutrientes en tallo y hojas g/planta para macronutrientes y µg/planta para micronutrientes)] (Baligar and Fageria, 1997).

Análisis multivariado
Diseño experimental

El diseño experimental fue una parcela dividida con dos niveles de humedad como las parcelas principales y los genotipos como las subparcelas. Las unidades experimentales se repitieron tres veces.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

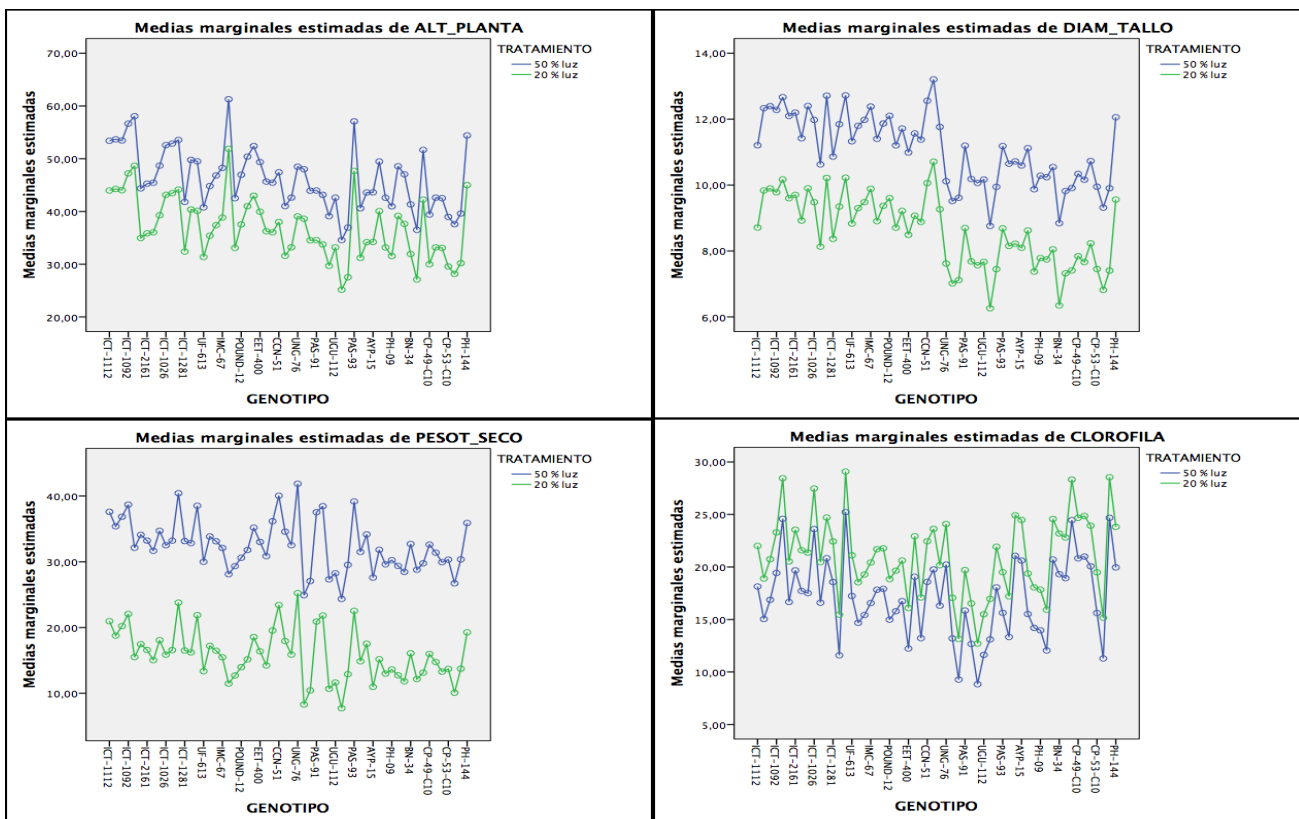


Figura. 1. Biometría de los genotipos y accesiones de cacao sometidos a dos niveles de irradiancia (Porcentaje de luz).

Los bajos niveles de irradiancia (luz solar) disminuyen la actividad fotosintética, afectando el crecimiento, la conductancia estomática, el contenido de clorofila y la biomasa de los genotipos y accesiones de cacao en estudio.

Al reducirse la irradiancia a niveles de 20% (PPFD de 400 a 450 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) el metabolismo de las plántulas se limita, el crecimiento (Altura de planta, diámetro de tallo) no va a generar mayor biomasa, afectando a la producción de clorofila bajo estas condiciones (líneas en color verde del gráfico) en comparación a las plántulas con niveles de irradiancia al 50% (PPFD de 850 a 900 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Los genotipos y accesiones de cacao usados en este estudio mostraron la diversidad genética en las variables estudiadas (altura de planta, diámetro de tallo, biomasa y contenido de clorofila) y tal diversidad podría ser explotada en programas de mejoramiento para desarrollar cultivares con tolerancia superior a diversos niveles de irradiancia.

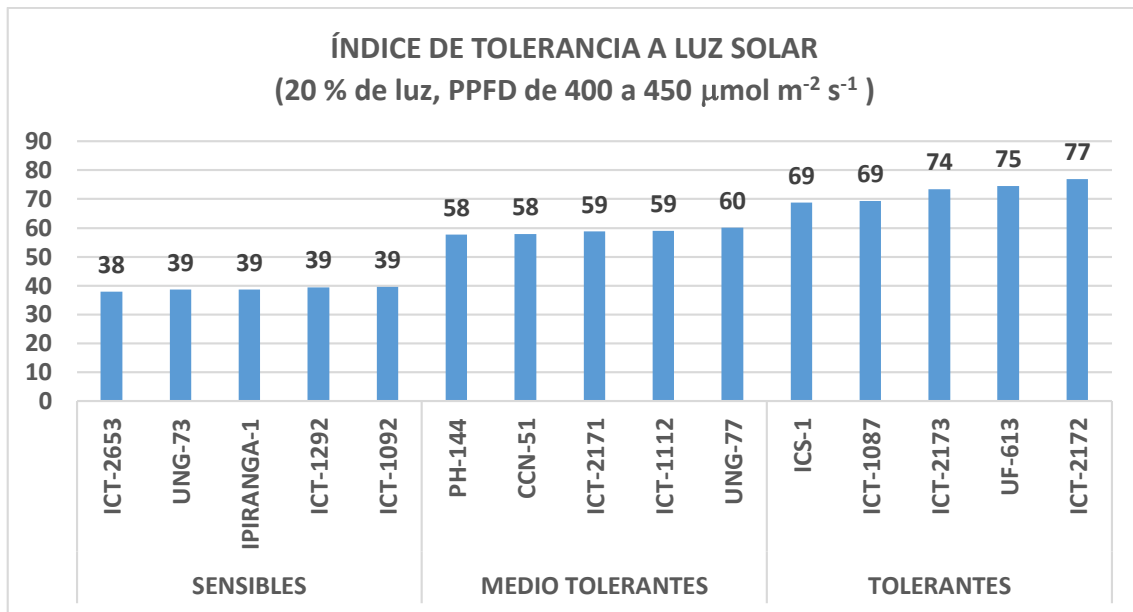


Figura. 2. Índice de tolerancia de genotipos y accesiones de cacao a dos niveles de irradiancia (Porcentaje de luz).

Mediante la relación del peso seco de la parte aérea (hojas y tallos) de los genotipos y accesiones en estudio sometidos a niveles de luz de 20% (PPFD de 400 a 450 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y niveles del 50% (PPFD de 850 a 900 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), multiplicados por una constante se obtiene la ecuación del índice de tolerancia a la luz (ITL) donde podemos clasificar a los genotipos en estudio en tolerantes, medio tolerantes y sensibles a niveles de irradiancia, de esta manera jerarquizamos según sus potenciales fisiológicos y genéticos.

Del total de genotipos en estudio, el 18% son considerados tolerantes a niveles de 20 % de luz, destacan el ICT-2172, ICT-2173, ICT-1087(colección ICT-Perú), UF-613, ICS-1 (colección internacional), por mayor biomasa seca y mejor actividad fisiológica; el 54% presentan tolerancia media, destacando UNG-77 (colección silvestre), ICT-1112, ICT-2171 (colección ICT-Perú), CCN-51 (colección internacional), y PH-144 (colección Brasil) y el 28% considerados sensibles a la luz entre ellos ICT-1092, ICT-1292, ICT-2653 (colección ICT-Perú), UNG-73 (colección silvestre), IPIRANGA-1 (colección Brasil). Los genotipos de cacao respondieron mejor al primer tratamiento 50 % de luz, PPFD de 850 a 900 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en las variables biométricas (altura de planta, diámetro tallo, número de ramas, hojas y mayor biomasa seca).



Figura. 3. Absorción de nutrientes parte foliar de genotipos con tratamientos de 50% y 20% de irradiancia (Porcentaje de luz).

La reducción de niveles de irradiancia (porcentaje de luz solar) altera significativamente la absorción de nutrientes y en consecuencia afecta el metabolismo de las plantas disminuyendo el contenido de clorofila, apertura estomática y el crecimiento, se observa una reducción significativa en la absorción de nutrientes promedio del 70 % de diferencia del contenido de nutrientes como el Nitrógeno (N), Fósforo (P), Potasio (K), Calcio (Ca) y Magnesio (Mg) de los genotipos sometidos a niveles de irradiancia de 50% (PPFD de 850 a 900 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) versus los genotipos sometidos a niveles de 20% (PPFD de 400 a 450 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

CONCLUSIONES

Los genotipos de cacao respondieron mejor al primer tratamiento 50 % de luz, PPFd de 850 a 900 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en las variables biométricas (altura de planta, diámetro tallo, número de ramas, hojas y mayor biomasa seca). Por lo tanto, estas variables son características de las plantas, confiables en la selección de genotipos y/o accesiones de cacao tolerantes a niveles de irradiancia (porcentaje de luz solar).

Los genotipos y accesiones de cacao usados en este estudio mostraron la diversidad genética en las variables estudiadas (altura de planta, diámetro de tallo, biomasa y contenido de clorofila) y tal diversidad podría ser explotada en programas de mejoramiento para desarrollar cultivares con tolerancia superior a diversos niveles de irradiancia.

Del total (57) genotipos en estudio, el 18% son considerados tolerantes a niveles de 20 % de luz, destacan el ICT-2172, ICT-2173, ICT-1087 (colección ICT-Perú), UF-613, ICS-1 (colección internacional), por mayor biomasa seca y mejor actividad fisiológica; el 54% presentan tolerancia media, destacando UNG-77 (colección silvestre), ICT-1112, ICT-2171 (colección ICT-Perú), CCN-51 (colección internacional), y PH-144 (colección Brasil) y el 28% considerados sensibles a la luz entre ellos ICT-1092, ICT-1292, ICT-2653 (colección ICT-Perú), UNG-73 (colección silvestre), IPIRANGA-1 (colección Brasil).

Existe una reducción significativa en la absorción de nutrientes promedio del 70 % de diferencia del contenido de nutrientes como el Nitrógeno (N), Fosforo (P), Potasio (K), Calcio (Ca) y Magnesio (Mg) de los genotipos sometidos a niveles de irradiancia de 50% (PPFD de 850 a 900 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) versus los genotipos sometidos a niveles de 20% (PPFD de 400 a 450 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Programa Nacional de Innovación para la Competitividad y Productividad (Innovate Perú), por el financiamiento de acuerdo al contrato 428-PNICP-PIAP-2014. Al Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de Norteamérica – Servicio de Investigación Agrícola (USDA-ARS) por el soporte técnico-financiero a este trabajo. Al Instituto de Cultivos Tropicales –ICT por las facilidades técnicas en el desarrollo de esta investigación y todas aquellas personas e instituciones que de una u otra manera han contribuido con el logro de los objetivos de este estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Almeida A-AF, Valle RR, Mielke MS, Gomes FP (2007) Tolerance and prospection of phytoremediator woody species of Cd, Pb, Cu and Cr. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 19, 83–98.
2. ALMEIDA, A. A. y R.VALLE. 2007. Ecophysiology of the cocoa tree. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 19(4): 425-448.
3. Avalos, G. e Mulkey, S. S. (1999), Photosynthetic acclimation of the liana *Stigmaphyllon lindenianum* to light changes in a tropical dry forest canopy. *Oecologia*, 120, 475-484.
4. BALASIMHA, D., E. DANIEL y P. BHAT. 1991. Influence of environmental factor son photosynthesis in cocoa tres. *Agricultural and Forest Meteorology* 55: 15-21.
5. BARRERA, G. 2006. Respuestas de la clorofila a y la fotosíntesis al déficit hídrico y diferentes condiciones de luz en dos variedades de cacao (*Theobroma cacao* L.). Trabajo especial de grado. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. 66 p.
6. Bayer, C., & Kubitzki, K. (2003). Malvaceae. In K. Kubitzki (Ed.), *The families and genera of vascular plants. Dicotyledons: Malvales, Capparales and non-betalain Caryophyllales* (Vol. 5, pp. 225–311). Berlin: Springer.
7. BEER, R., R. MUSCHLER, D. KASS y E. SOMARRIBA. 1998. Shade management in coffee and cocoa plantations *Agroforestry Systems* 38: 139 164.
8. Campostrini, E.; Yamanishi, O. K. e Martinez, C. A. (2001), Leaf gas exchange characteristics of four papaya genotypes during different stages of development. *Rev. Bras. Frutic.*, 23: (3), 522-528.
9. Chazdon, R.L. 1988. Sunflecks and their importance to forest understory plants. *Adv. Ecol. Res.* 18:2–54.
10. Dapeng Zhang, Lambert Motilal. 2016. Origin, Dispersal, and Current Global Distribution of Cacao Genetic Diversity. *International Publishing Switzerland*. Chapter 1. 3-4.
11. Effects of shade on plant growth and flower quality in the herbaceous peony (*Paeonia lactiflora* Pall.). *Zhao D, Hao Z, Tao J Plant Physiol Biochem.* 2012 Dec; 61():187-96.
12. Kim et al. (2011) Kim SJ, Yu DJ, Kim T-C, Lee HJ. Growth and photosynthetic characteristics of Blueberry (*Vaccinium corymbosum* cv. Bluecrop) under various shade levels. *Scientia Horticulturae*. 2011;129(3):486–492. doi: [10.1016/j.scienta.2011.04.022](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.04.022).

13. Lobão DE, Setenta WC, Lobão ESP, Curvelo K, Valle RR (2007) Cacao cabruca: sistema agrossilvicultural tropical. In: Valle RR (ed), Ciência, Tecnologia e Manejo do Cacaueiro, pp.290-323, Gráfica e Editora Vital Ltda, Ilhéus.
14. MULLER M., P. SERRANO MINAR y B. BIEHL. 1992. Photosynthetic characteristics during development of leaves of *Theobroma cacao* L. *Acta Physiologiae Plantarum* 85(3): 132- 140.
15. Oguchi, R.; Hikosaka, K. e Hirose, T. (2003), Does the photosynthetic light-acclimation need change in leaf anatomy? *Blackwell Publishing Ltd, Plant, Cell and Environment*, 26: 505-512.
16. Padi B, Owusu JK (1998) Towards an Integrated Pest Management for Sustainable Cocoa production in Ghana. Paper from workshop held in Panama, 3/30-4/2. Smithsonian Institution. Washington, D.C.
17. Perrin & Mitchell (2013) Perrin PM, Mitchell FJG. Effects of shade on growth, biomass allocation and leaf morphology in European yew (*Taxus baccata* L.) *European Journal of Forest Research*. 2013;132(2):211–218. doi: [10.1007/s10342-012-0668-8](https://doi.org/10.1007/s10342-012-0668-8).
18. RAJA, H. y K. HARDWICK. 1987. The effect of prolonged exposure to different light intensities on the photosynthesis of cocoa leaves. *Proc 10 th International Cocoa Research Conference*. Santo Domingo, República Dominicana.
19. VESPA, A. 2008. Relaciones hídricas e intercambio gaseoso en *Theobroma cacao* en dos tipos de suelos. Trabajo especial de grado. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. 69 p.
20. Zhang Y, Xia GH, Ma K, Li GY, Dai YC, Yan CX, Ying Yong Sheng Tai Xue Bao. Effects of shade on photosynthetic characteristics and chlorophyll fluorescence of *Ardisia violacea*. 2014 Jul; 25(7):1940-8.