



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y FORESTALES
CARRERA DE AGRONOMÍA

Trabajo de Integración
Curricular previa la obtención
del Grado Académico de
Ingeniero Agrónomo

Proyecto de Investigación:

INCIDENCIA DE INFECCIÓN DE *Phytophthora palmivora* EN *Theobroma cacao* BAJO
CONDICIONES DE ESTRÉS HÍDRICO Y PRESENCIA DE RIZOBACTERIAS.

Autor:

Tania Maricela Cando León

Director del Proyecto de Investigación:

Ing. Hayron Fabricio Canchignia Martínez, PhD.

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

2023



DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y SESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Tania Maricela Cando León**, declaro que la investigación aquí descrita es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este documento, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.

f. _____

Tania Maricela Cando León

C.C: 1207560374



CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

El suscrito, **Ing. Hayron Fabricio Canchignia Martínez, PhD.** Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que el estudiante **Tania Maricela Cando Leon**, realizó el Trabajo de Integración Curricular titulado “***Incidencia de infección de *Phytophthora palmivora* en *Theobroma cacao* bajo condiciones de estrés hídrico y presencia de Rizobacterias***”, previo a la obtención del Grado Académico de **Ingeniero Agrónomo**, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

.....

Ing. Hayron Fabricio Canchignia Martínez, PhD.
DIRECTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO

El suscrito, **Ing. Hayron Fabricio Canchignia Martínez, PhD.**, mediante el presente cumpro en presentar a usted, el informe de proyecto de Investigación titulado “**Incidencia de infección de *Phytophthora palmivora* en *Theobroma cacao* bajo condiciones de estrés hídrico y presencia de Rizobacterias**”, Presentado por la estudiante **Tania Maricela Cando León**, egresada de la Carrera de Agronomía, que fue revisado bajo mi dirección según resolución del Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, que se ha desarrollado de acuerdo al Reglamento de la Unidad de Integración Curricular de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo y cumple con el requerimiento de análisis de URKUND el cual avala los niveles de originalidad en un 93% y similitud 7%, del trabajo investigativo. Valido este documento para que el estudiante siga con los trámites pertinentes, de acuerdo como lo establece el Reglamento.



Document Information

Analyzed document	Copia de CANDO LEON TANIA 17-11-23 - URKUND.docx (D179152670)
Submitted	11/18/2023 12:54:00 AM
Submitted by	
Submitter email	hcanchignia@uteq.edu.ec
Similarity	7%
Analysis address	hcanchignia.uteq@analysis.orkund.com

Ing. Hayron Fabricio Canchignia Martínez, PhD.

DIRECTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y FORESTALES
CARRERA DE AGRONOMÍA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

“Incidencia de infección de *Phytophthora palmivora* en *Theobroma cacao* bajo condiciones de estrés hídrico y presencia de Rizobacterias”

Presentado al Consejo Directivo de Facultad como requisito previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo.

Aprobado por:

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. Favio Eduardo Herrera Eguea PhD.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Pablo Cesar Ramos Corrales PhD.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Carlos Luis Sánchez Fonseca PhD.

QUEVEDO – LOS RÍOS – ECUADOR

2023

AGRADECIMIENTO

La autora de la presente investigación quiere brindar sus agradecimientos a las personas que formaron parte de este proceso investigativo: a mis padres, amigos, docentes y aquellos que me brindaron su apoyo constante.

A la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, por forjar en nosotros valores de constancia perseverancia y una excelente preparación académica.

A las personas que me ayudaron en el laboratorio de Biotecnología, como lo es el Ing. Cristhian Macías, por su paciencia y apoyo.

Quiero brindar mi más sincero agradecimiento a mi director de tesis Ing. Hayron Fabricio Canchignia Martínez, PhD. por impartirme sus conocimientos, dedicación y apoyo en este proceso de investigación.

Agradezco a los miembros del tribunal designado conformado por: Ing. Favio Herrera Eguez PhD., Ing. Pablo Ramos Corrales PhD., Ing. Carlos Sánchez Fonseca PhD., por brindar las observaciones necesarias para que este documento final fuera un éxito.

DEDICATORIA

Este logro está dedicado principalmente a Dios por brindarme sabiduría y fortaleza para lograr este objetivo.

A mis padres Freddy Cando Cando, Irma León Tonato y a mi hermana Tatiana Cando, los cuales son mi fuente de inspiración diaria, les dedico principalmente a ustedes este logro por su motivación constante, amor y apoyo. A pesar de cada infortunio han sido la base para este exitoso logro, los quiero mucho, gracias por creer en su hija y brindarle todo su apoyo.

A mis compañeros de clases por siempre ser mi apoyo en este lapso estudiantil.

A mi enamorado Javier Alcívar, por brindarme su cariño incondicional y confianza.

Tania Maricela Cando León

RESUMEN

La producción de cacao se ve afectada principalmente por enfermedades fúngicas, entre las que se encuentran *Phytophthora palmivora*. Por otro lado, el estrés hídrico afecta negativamente al cacao, reduciendo la absorción de agua y nutrientes. Las rizobacterias, ofrecen unas estrategias efectivas para abordar las enfermedades fúngicas y condiciones de estrés hídrico. El objetivo del estudio fue determinar la incidencia de infección de *Phytophthora palmivora* en *Theobroma cacao* bajo condiciones de estrés hídrico y presencia de Rizobacterias. Se desarrollaron 3 experimentos con diseño completamente al azar DCA. En el primer experimento con rangos de restricción de riego mostro que la aplicación de riego continuo mantuvo el porcentaje de agua en hojas entre (78,08 y 95,84 %), mientras que la restricción de riego por 20 días (RR3), determinó una disminución de las variables: peso fresco radicular en 3,84 g.; longitud radicular 12,5 cm; peso seco radicular 1,13 g. y altura 78,78 cm. Al empleo del segundo experimento se evaluó la infección de *P. palmivora* en las restricciones de riego, donde la restricción de riego RR3, se observa disminución considerable en el peso fresco radicular: 2,16 g., longitud radicular 11 cm., peso seco radicular 0,64 g., altura de planta: 73,30 cm. Al desarrollar el tercer experimento de grado de protección se utilizaron dos consorcios (3 rizobacterias por consorcio), 1 cepa de *P. palmivora*, 2 condiciones de restricción de riego derivadas del primer y segundo experimento (escogiendo las restricciones con valores más bajos), la aplicación del consorcio (RR2 + *P. palmivora* + C2) incremento el peso fresco radicular con 8,08 g., longitud radicular de las plantas de 24 cm., peso seco 3,08 g. y altura 85,75 cm. La aplicación de consorcios PGPRs es beneficioso al promover la altura y longitud radicular

Palabras claves: PGPRs, enfermedades fúngicas, régimen de riego, estrés abiótico

ABSTRACT

Cocoa production is mainly affected by fungal diseases, including *Phytophthora palmivora*. On the other hand, water stress negatively affects cocoa, reducing water and nutrient uptake. Rhizobacteria offer effective strategies to address fungal diseases and water stress conditions. The objective of the study was to determine the incidence of *Phytophthora palmivora* infection in *Theobroma cacao* under water stress conditions and the presence of rhizobacteria. Three experiments were carried out with a completely randomized DCA design. In the first experiment with irrigation restriction ranges showed that the application of continuous irrigation maintained the percentage of water in leaves between (78.08 and 95.84 %), while the irrigation restriction for 20 days (RR3), determined a decrease in the variables: root fresh weight in 3.84 g.; root length 12.5 cm; root dry weight 1.13 g. and height 78.78 cm. The second experiment evaluated the infection of *P. palmivora* in the irrigation restrictions, where the RR3 irrigation restriction showed a considerable decrease in root fresh weight: 2.16 g., root length 11 cm, root dry weight 0.64 g., plant height: 73.30 cm. When developing the third experiment of degree of protection, two consortia were used (3 rhizobacteria per consortium), 1 strain of *P. palmivora*, 2 conditions of irrigation restriction derived from the first and second experiment (choosing those with the lowest values), the application of the consortium (RR2 + *P. palmivora* + C2) increased the fresh root weight with 8.08 g., root length of the plants 24 cm, dry weight 3.08 g. and height 85.75 cm. The application of PGPRs consortia is beneficial in promoting root height and length.

Keywords: PGPRs, fungal diseases, irrigation regime, abiotic stress

TABLA DE CONTENIDO

Portada.....	i
Declaración de autoría y sesión de derechos	ii
Certificación de culminación del proyecto de investigación.....	iii
Certificado del reporte de la herramienta de prevención de coincidencia y/o plagio académico	iv
Certificado de aprobación de tribunal de sustentación.....	v
Agradecimiento	vi
Dedicatoria.....	vii
Resumen	viii
Abstract.....	ix
Tabla de contenido.....	x
Código dublín	xvi
Introducción.....	1
CAPÍTULO I. CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	3
1.1. Problematización	4
1.1.1 Planteamiento del Problema	4
1.1.2 Formulación del Problema.....	5
1.1.3 Sistematización del Problema.....	5
1.2. Objetivos.....	6
1.2.1 Objetivo General.....	6
1.2.2 Objetivos Específicos	6
1.3. Justificación	7
CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN	8
2.1. Marco Conceptual.....	9
2.1.1 Cacao CCN-51.....	9
2.1.2 Estrés Hídrico	9

2.1.3	Enfermedades del cacao	9
2.1.4	Phytophthora palmivora en cacao.....	10
2.1.5	PGPRs.....	10
2.2.	Marco Referencial.....	10
2.2.1	Origen y distribución del cacao	10
2.2.2	Clasificación taxonómica	11
2.2.3	Morfología del cacao	11
2.2.4	Cacao CCN51	12
2.2.5	Enfermedades de Cacao.....	12
2.2.6	Factores Bióticos que afectan al cacao	13
2.2.7	Factores Abióticos que afectan al cacao.....	13
2.2.8	Estrés hídrico	14
2.2.9	Rizobacterias Promotoras del Crecimiento	15
2.2.10	Mecanismos Directos de la Promoción Vegetal.....	15
2.2.11	Revisión histórica del tema en estudio	16
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN		29
3.1.	Localización.....	30
3.2.	Tipo de investigación.....	30
3.3.	Método de Investigación.....	30
3.3.1	Método deductivo	31
3.3.2	Método Analítico.....	31
3.3.3	Método de observación.....	31
3.4.	Fuente de recopilación de información.....	31
3.5.	Diseño de la Investigación.....	31
3.5.1.	Factores de estudio.....	31
3.5.2	Tratamientos	31
3.5.3	Diseño experimental	33

3.6.	Instrumentos de Investigación	35
3.6.1	Manejo de Experimentos	35
3.6.2	Variables a evaluar.....	37
3.7.	Tratamiento de los datos	38
3.8.	Recursos humanos y materiales.....	38
3.8.1	Recursos humanos	38
3.8.2	Recursos materiales	39
3.8.3	Equipos de Laboratorio	39
3.8.4	Reactivos	40
3.8.5	Materiales de oficina	40
	CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
4.1.	Resultados.....	42
4.1.1	Establecer los rangos de tolerancia de cacao CCN51 bajo condición de estrés hídrico	42
4.1.2	Determinar el grado de infección de Phytophthora palmivora sobre las características agronómicas en cacao CCN51 bajo condición de estrés hídrico.....	46
4.1.3	Determinar el grado de protección de rizobacterias a cacao CCN51 en presencia de Phytophthora palmivora y estrés hídrico.	49
4.2.	Discusión	54
	CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	59
5.1.	Conclusiones.....	60
5.2.	Recomendaciones	61
	CAPÍTULO VI. BIBLIOGRAFÍA	62
6.1.	Bibliografía	63
	CAPÍTULO VII. ANEXOS.....	72
7.1.	Anexos	73

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de cacao.....	11
Tabla 2. Condiciones agroclimáticas del área de estudio.	30
Tabla 3. Descripción de los tratamientos a emplearse en el experimento 1	¡Error!
Marcador no definido.	
Tabla 4. Descripción de los tratamientos a emplearse en el experimento 2	34
Tabla 5. Descripción de los tratamientos a emplearse en el experimento 3	33
Tabla 6. Esquema de análisis de varianza (ADEVA) del primer experimento	34
Tabla 7. Esquema de análisis de varianza (ADEVA) del segundo experimento.....	33
Tabla 8. Esquema de análisis de varianza (ADEVA) del tercer experimento.....	35

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Contenido relativo de agua en hojas de plantas de cacao CCN-51 bajo condiciones de estrés hídrico.....	42
Figura 2. Peso y longitud Radicular de plantas de cacao CCN-51 bajo condiciones de estrés hídrico.....	43
Figura 3. Longitud Radicular de plantas de cacao CCN-51 bajo condiciones de estrés hídrico.....	44
Figura 4. Peso Seco Radicular de plantas de cacao CCN-51 bajo condiciones de estrés hídrico.....	45
Figura 5. Altura de plantas de cacao CCN-51 bajo condiciones de estrés hídrico.....	46
Figura 6. Peso y longitud Radicular de plantas de cacao CCN-51 bajo condiciones de estrés hídrico e inoculación de <i>Phytophthora palmivora</i>	47
Figura 7. Peso Seco Radicular de plantas de cacao CCN-51 bajo condiciones de estrés hídrico e inoculación de <i>Phytophthora palmivora</i>	48
Figura 8. Altura de plantas de cacao CCN-51 bajo condiciones de estrés hídrico e inoculación de <i>Phytophthora palmivora</i>	49
Figura 9. Peso y longitud radicular de plantas de cacao CCN-51 inoculadas con <i>P. palmivora</i> y bacterias seleccionadas.....	50
Figura 10. Longitud radicular de plantas de cacao CCN-51 inoculadas con <i>P. palmivora</i> y bacterias seleccionadas.....	51
Figura 11. Peso seco radicular de plantas de cacao CCN-51 inoculadas con <i>P. palmivora</i> y bacterias seleccionadas.....	52
Figura 12. Altura de plantas de cacao CCN-51 inoculadas con <i>P. palmivora</i> y bacterias seleccionadas.	53

INDICE DE ANEXOS

Anexo A. Obtención de sobrenadantes bacterianos	73
Anexo B. Preparación de suelo y plantas de cacao	73
Anexo C. Inoculación de P palmivora y aplicación de rizobacterias.....	74
Anexo D. ADEVA Primer experimento-Contenido relativo de agua DIA 0	74
Anexo E. ADEVA primer experimento- Contenido relativo de agua DIA 5	75
Anexo F. ADEVA primer experimento- Contenido relativo de agua DIA 10.....	75
Anexo G. ADEVA primer experimento- Contenido relativo de agua DIA 15.....	75
Anexo H. ADEVA primer experimento- Contenido relativo de agua DIA 20	76
Anexo I. ADEVA primer experimento- Contenido relativo de agua DIA 25	76
Anexo J. ADEVA primer experimento- Contenido relativo de agua DIA 30	76
Anexo K. ADEVA experimento 1: peso fresco	76
Anexo L. ADEVA experimento 1: longitud radicular	77
Anexo M. ADEVA experimento 1: peso seco	77
Anexo N. ADEVA experimento 1: altura de plantas	77
Anexo O. ADEVA experimento 2: peso fresco	77
Anexo P. ADEVA experimento 2: longitud radicular	78
Anexo Q. ADEVA experimento 2: peso seco.....	78
Anexo R. ADEVA experimento 2: altura de plantas	¡Error! Marcador no definido.
Anexo S. ADEVA experimento 3: peso fresco	79
Anexo T. ADEVA experimento 3: longitud radicular	79
Anexo U. ADEVA experimento 3: peso seco.....	79
Anexo V. ADEVA experimento 3: altura de plantas	79

CÓDIGO DUBLÍN

Título:	Incidencia de infección de <i>Phytophthora palmivora</i> en <i>Theobroma cacao</i> bajo condiciones de estrés hídrico y presencia de Rizobacterias
Autor:	Tania Maricela Cando León
Palabras Clave:	PGPRs, enfermedades fúngicas, régimen de riego, estrés abiótico
Fecha de publicación:	
Editorial:	Quevedo: UTEQ, 2023
Resumen:	La producción de cacao se ve afectada principalmente por enfermedades fúngicas, entre las que se encuentran <i>Phytophthora palmivora</i> . Por otro lado, el estrés hídrico afecta negativamente al cacao, reduciendo la absorción de agua y nutrientes. Las rizobacterias, ofrecen unas estrategias efectivas para abordar las enfermedades fúngicas y condiciones de estrés hídrico. El objetivo del estudio fue determinar la incidencia de infección de <i>Phytophthora palmivora</i> en <i>Theobroma cacao</i> bajo condiciones de estrés hídrico y presencia de Rizobacterias. Se desarrollaron 3 experimentos con diseño completamente al azar DCA
Abstract:	Cocoa production is mainly affected by fungal diseases, including <i>Phytophthora palmivora</i> . On the other hand, water stress negatively affects cocoa, reducing water and nutrient uptake. Rhizobacteria offer effective strategies to address fungal diseases and water stress conditions. The objective of the study was to determine the incidence of <i>Phytophthora palmivora</i> infection in <i>Theobroma cacao</i> under water stress conditions and the presence of rhizobacteria. Three experiments were carried out with a completely randomized DCA design..
Descripción:	97 hojas: dimensiones, 29 x 21 cm + CD-ROM 6162
URI:	

Introducción

El cacao (*Theobroma cacao*) es un cultivo neotropical perenne, originario de la región amazónica (Beg *et al.*, 2017), considerado como el medio principal de ingreso económico para los pequeños agricultores en varios países de América Central, África y Sudamérica (Osorio *et al.*, 2021). Superando económicamente a los cultivos de café, té y caña de azúcar (Suh y Molua, 2022).

Los granos de cacao son la principal materia prima de interés en el sector agrícola dado a la gran demanda de industrias chocolateras, cosméticas o farmacéuticas (Beg *et al.*, 2017). El cacao ecuatoriano o también llamado “pepa de oro” es reconocido a nivel mundial como uno de los mejores en cuestión de calidad y sabor (Camino, Andrade, y Pesantez, 2016). Actualmente el 86% de la producción del grano ecuatoriano se exporta a sitios como Estados Unidos y la Unión Europea (Ureta *et al.*, 2021).

Sin embargo, distintas circunstancias han limitado la producción de cacao, entre ellos el más predominante es la proliferación de enfermedades causadas por hongos, destacando a *Phytophthora palmivora* con nombre común enfermedad de la vaina negra siendo la de mayor incidencia y gravedad para los cultivos de *Theobroma cacao*, provocando daños en cualquier estadio de la planta (Delgadillo-Durán *et al.*, 2020).

La sintomatología que presenta *Phytophthora palmivora*, es la formación de necrosis en las hojas también llamado “tizón”, canchales en las ramas que pueden llegar a expandirse al tallo provocando la muerte de la planta, puede llegar a interferir con la xilema provocando signos de marchitez relacionado con el estrés hídrico (Akrofi *et al.*, 2003). Sin embargo, estas sintomatologías pueden cambiar dependiendo de los factores ambientales (Akrofi *et al.*, 2015).

El estrés abiótico es el producto de los cambios ambientales extremos como la salinidad, variaciones de temperatura, heladas, viento, granizo, exceso de agua y déficit hídrico (Méndez y Vallejo, 2019), siendo el déficit hídrico en el suelo el resultado de la reducción de aportes de agua, durante el déficit hídrico la tasa de transpiración supera la absorción de agua por las raíces, reduciendo así el contenido de agua en los tejidos de las plantas y afectando tanto a la absorción de nutrientes como a la fotosíntesis (Griffiths y Parry, 2002).

Para afrontar los periodos de déficit hídrico las plantas han desarrollado estrategias o mecanismos de defensa a nivel celular y molecular, para así poder afrontar las distintas condiciones ambientales (Rusconi y Conti, 2010). Los mecanismos de defensa se han desarrollado para mitigar los efectos negativos del estrés hídrico, siendo las bacterias del suelo las más importantes denominadas como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) (Adams *et al.*, 2016), las cuales estimulan el crecimiento vegetal bajo condiciones de estrés abiótico a través de mecanismos directos e indirectos.

Las bacterias simbióticas o de vida libre como *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Arthrobacter*, *Enterobacter*, *Azospirillum*, etc, son descritas como las más utilizadas para mejorar la producción de cultivos en todo el mundo, ya que son capaces de producir las principales fitohormonas (Heidari y Golpayegani, 2012). El ácido abscísico (ABA) es la hormona clave de señalización del estrés y se ha descrito que confiere tolerancia a las plantas, especialmente bajo estrés por sequía o salinidad (Rusconi y Conti, 2010). Bajo estrés hídrico, el ABA se sintetiza y se acumula en las raíces luego es transportado a los brotes con el aumento de las condiciones de estrés (Fuente *et al.*, 2015).

Este proyecto de investigación va ligado a evaluar la capacidad que tienen las plantas bajo condiciones de estrés hídrico y la incidencia que tiene *Phytophthora palmivora* en el desarrollo de los mecanismos de aclimatación a corto o largo plazo mediante la aplicación de rizobacterias promotoras de crecimiento (PGPR).

CAPÍTULO I:
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Problematicación

1.1.1. Planteamiento del Problema

En los últimos años el cacao (*Theobroma cacao* L.) ha luchado por mantener el ritmo de producción, a causa del déficit de recursos naturales como son el suelo, el agua y la biodiversidad, dando paso a periodos de sequías y temperaturas extremadamente altas causando pérdidas económicas agrícolas.

Phytophthora palmivora, es un patógeno causante de una de las enfermedades con mayor incidencia en cacao, los síntomas como la pudrición en mazorcas, cáncer en tejidos (leñoso y floral) y necrosis (plántulas y hojas), incrementando en situaciones de cambios ambientales.

Actualmente existen regiones donde los niveles de temperatura son cambiantes, que afecta la productividad en plantas, disminuyendo sus tasas de crecimiento, su metabolismo, fotosíntesis, transporte de solutos y entre otras características necesarias para el desarrollo productivo.

Diagnóstico

Los escasos de agua es un factor predominante en el mundo y se espera que el cambio climático no acelere la severidad de los episodios de déficit hídrico en la agricultura, que actualmente causa pérdidas importantes en los cultivos, reduciendo los rendimientos promedio en más de un 50%, este efecto en la agricultura se debe a que el déficit hídrico es el estrés abiótico que más afecta el crecimiento y desarrollo de las plantas.

El prolongado cambio medio-ambiental, las altas temperatura ha dado paso a la grave incidencia de *P.palmivora*, siendo una de las enfermedades con más predominancia en los cultivos de cacao, dado a que puede ser dispersado por la salpicadura de las gotas de agua, el viento, insectos y actividades humanas.

Pronóstico

Se espera lograr que la inoculación de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPRs) en *Theobroma cacao* a nivel in vitro alcance un aumento de porcentaje del desarrollo de plántulas de cacao, bajo las condiciones de infección de *P. palmivora* y estrés hídrico.

1.1.2. Formulación del Problema

¿Cómo afecta el estrés hídrico a la incidencia de infección por *Phytophthora palmivora* en *Theobroma cacao* y de qué manera la inoculación con rizobacterias puede modular esta interacción?

1.1.3. Sistematización del Problema

- ¿Cuáles son las características agronómicas que desarrollan las plantas de cacao al aplicar Rizobacterias Promotoras del Crecimiento?
- ¿Qué acción efectúan las rizobacterias en presencia de infección de *Phytophthora palmivora* en cacao?
- ¿La aplicación de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento producen cambios significativos en las plántulas de cacao, bajo la condición de estrés hídrico?

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo General

Determinar la incidencia de infección de *Phytophthora palmivora* en *Theobroma cacao* bajo condiciones de estrés hídrico y presencia de Rizobacterias.

1.2.2. Objetivos Específicos

- Establecer los rangos de tolerancia de cacao CCN51 bajo condición de estrés hídrico.
- Determinar el grado de infección de *Phytophthora palmivora* sobre las características agronómicas en cacao CCN51 bajo condición de estrés hídrico.
- Determinar el grado de protección de rizobacterias a cacao CCN51 en presencia de *Phytophthora palmivora* y estrés hídrico.

1.3. Justificación

El cacao es considerado como un cultivo de gran valor industrial, desempeñando un papel importante en los países productores y consumidores, contribuyendo a la subsistencia de más de 50 millones de personas. El continuo cambio climático y las limitaciones de disponibilidad de agua en diferentes regiones, amenazan especialmente a las plantaciones de cacao ya que es una de las más sensibles a la sequía.

El desarrollo y rendimiento del cacao se ven influidos por una serie de inconvenientes entre ellos está la propagación patogénica de *Phytophthora palmivora* siendo el agente causal de la enfermedad “Mazorca negra” beneficiada por los distintos factores medioambientales como son la pluviosidad, la temperatura y el estrés hídrico. La sequía es el estrés medioambiental más común presentada en distintos cultivos, principalmente en el de cacao dado a que tiene un sistema radicular poco profundo y solo le permite absorber agua únicamente de las capas superficiales del suelo.

En el microbioma vegetal, se encuentran bacterias mayormente conocidas como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), las cuales pueden colonizarse y proliferarse en torno a la rizósfera, definida como el área del suelo que rodea a la raíz. Las PGPR permiten reconocer las moléculas vegetales que van a permitir adquirir los nutrientes necesarios, ocupando espacios para inhibir directa e indirectamente cualquier canal que vaya en contra del bienestar de las plantas.

Actualmente existen un sin número de bacterias promotoras del crecimiento vegetal entre ellas sobresalen las siguientes *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Arthrobacter*, *Enterobacter*, *Azospirillum*, que son utilizadas para mejorar la producción de los cultivos de todo el mundo, ya que son capaces de sintetizar diferentes tipos de metabolitos secundarios y fitohormonas como son las auxinas, Giberelinas, Citoquininas y Ácido abscísico.

CAPÍTULO II
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Marco Conceptual

2.1.1. Cacao CCN-51

El CCN51 es una variedad de cacao destacado por su alta productividad, generando una gran cantidad de vainas y semillas por árbol, haciéndolo atractivo hacia los productores (Ramón *et al.*, 2008). Una de las características más influyentes en esta variedad es la tolerancia a enfermedades como escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa*) y la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) siendo las principales causantes de daños productivos e impacto económico (Boza *et al.*, 2014). Posee adaptabilidad a diferentes cambios agroclimáticos, y no tiene necesidad de realizar polinización cruzada (Almeida y Valle, 2007).

2.1.2. Estrés Hídrico

El estrés hídrico en las plantas se refiere a la falta de agua suficiente para mantener sus procesos fisiológicos normales, siendo una de las principales causas de disminución del rendimiento agrícola y puede tener efectos negativos significativos en el crecimiento y desarrollo de las plantas.(Chaves *et al.*, 2009). Cuando las plantas experimentan estrés hídrico, sufren una serie de respuestas fisiológicas y morfológicas para sobrevivir en condiciones de sequía, algunos de los cambios más comunes incluyen el cierre de los estomas, estructuras por donde las plantas pierden agua, para reducir la pérdida de agua por transpiración (Boyer J, 1982).

2.1.3. Enfermedades del cacao

Debido a las enfermedades las cosechas anuales de cacao se ven afectadas, los agentes causantes como *Phytophthora palmivora*, *Phytophthora megakarya*, *Moniliophthora perniciosa* y *Moniliophthora roreri* tienen una distribución mundial por ello aproximadamente el 38% de la producción cacaotera se ve afectada por pérdidas (Marelli *et al.*, 2019).

2.1.4. *Phytophthora palmivora* en cacao

P.palmivora o también conocida como “Cancro negro de la vaina y del tallo”, tiene una distribución que afecta aproximadamente del 20-30% de producción mundial cacaotera (Almeida y Valle, 2007). El primer síntoma de la vaina negra es una mancha marrón o negra en el fruto que crece rápidamente hasta cubrir toda la vaina, la infección profundiza y afecta a las semillas de cacao, decolorándolas y arrugándolas. Finalmente, la vaina se marchita, convirtiéndose en una momia negra y dura (Iwaro *et al.*, 1997).

2.1.5. PGPRs

Entre las bacterias de vida libre se encuentran las PGPR que ejercen efectos beneficiosos sobre las plantas a través de mecanismos directos e indirectos, las rizobacterias beneficiosas se han utilizado para mejorar la absorción de agua, nutrientes abiótico y biótico (Backer *et al.*, 2018).

Aunque se han descrito numerosas bacterias del suelo que promueven el crecimiento y desarrollo de las plantas por sus mecanismos de acción como son la solubilización de fosfatos, la producción de sideróforos, la fijación biológica del nitrógeno, la ingeniería de la rizosfera, la producción de 1-aminociclopropano-1-carboxilato desaminase (ACC), interferencia de señales de detección de quórum (QS) e inhibición de la formación de biopelículas, producción de fitohormonas, actividad antifúngica, producción de compuestos orgánicos volátiles (COV), inducción de resistencia sistémica, fomento de simbiosis planta-microbio beneficiosas, interferencia con la producción de toxinas patógenas, etc. (Bhattacharyya y Jha, 2012).

2.2. Marco Referencial

2.2.1. Origen y distribución del cacao

El género *Theobroma* se originó en las cuencas del Amazonas, y posteriormente se extendió a América Central, sobre todo a México, donde era conocido y utilizado por la población local, los olmecas y mayas, era considerado como el "alimento de los dioses"., *Theobroma* se divide en veintidós especies, de las cuales *Theobroma cacao* es la más conocida (Jürgen

y Pérez, 2010). Actualmente el cacao ecuatoriano a formado parte importante en la economía nacional, en especial en el concepto de exportación, actividad que inicio desde de la época colonial, además ocupa el tercer lugar con mayor exportación en el área agrícola, después del banano y las flores (Segarra, 2014).

Alrededor del 80% de la producción de cacao proviene de las provincias del Guayas, Los Ríos, Manabí, Esmeraldas, El Oro y Santa Elena, mientras que el restante se distribuye en las provincias de Chimborazo, Bolívar, Cotopaxi, Pichincha, Azuay, Sucumbíos, Orellana, Napo y Zamora Chinchipe (Bastos, 2020).

2.2.2. Clasificación taxonómica

Según (Dostert *et al.*, 2012), la clasificación taxonómica está dada de la siguiente manera:

Tabla 1

Clasificación taxonómica de cacao

Clasificación Taxonómica	
Orden:	Malvaes
Familia:	Sterculiaceae
Subfamilia:	Byttnerioideae
Tribu:	Theobromaeae
Genero:	<i>Theobroma</i>
Especie:	<i>Theobroma cacao</i>

Elaboración: Autor

2.2.3. Morfología del cacao

Theobroma cacao es un árbol o arbusto semicaducifolio de hasta 12 a 20 m de altura, y en cultivo se mantienen normalmente a 4 a 8 m, el tallo es glabro o parcialmente pubescente en ejes jóvenes. La corteza es oscura, gris-café. Las ramas son cafés y finamente vellosas. Las hojas son coriáceas (o cartáceas) simples, enteras (o ligera e irregularmente sinuadas), angostamente ovadas a obovado-elípticas, ligeramente asimétricas, 17 a 48 cm de largo y 7—10 cm de ancho, alternas y glabras o laxamente pubescentes en ambas caras (Dostert *et al.*, 2012).

La base de las hojas es redondeada a ligeramente cordada, ápice largamente apiculado, el fruto es una baya grande (mazorca), polimorfa, esférico a fusiforme, púrpura o amarillo en la madurez, glabro, 10 a 20cm de largo 7 cm ancho, 200 a 1000 gr de peso y con 5 a 10 surcos longitudinales. El endocarpio es de 4 a 8 mm de grosor, duro y carnososo, y leñoso (Dostert *et al.*, 2012).

2.2.4. Cacao CCN51

CCN51 (Colección Castro Naranjal), cuyos orígenes se iniciaron en nuestro país Ecuador, es considerada como una variedad que rinde un 80% de su fermentación, el peso en semillas está alrededor de 150 gramos en 100 granos, es más resistente a enfermedades y plagas, contiene mayor porcentaje de grasa que el cacao Nacional. (Jaimes *et al.*, 2016).

2.2.5. Enfermedades de Cacao

Las enfermedades más destructivas del árbol del cacao son las podredumbres de la vaina también llamada vaina negra está causada por un hongo (*Phytophthora*) que se propaga rápidamente en las vainas en condiciones de lluvia y humedad excesivas, insolación insuficiente y temperaturas inferiores a 21 °C (70 °F), la escoba de bruja (causada por *Moniliophthora perniciosa*) y la podredumbre helada de la vaina (causada por *M. roreri*) son enfermedades graves que afectan a los cultivos de América y las Indias Occidentales y preocupan mucho a los cultivadores de África y Asia, que tratan de evitar su propagación (Hebbbar, 2007).

2.2.5.1. *Phytophthora palmivora* en cacao.

Phytophthora, como oomiceto, forma parte de un grupo distinto de microbios eucariotas similares a los hongos, comparte una serie de rasgos morfológicos con los hongos, pero posee otras características exclusivas de las plantas, el principal componente de su pared celular es la celulosa, a diferencia de los hongos verdaderos, que consiste principalmente de quitina (Perrine-Walker, 2020). *P. palmivora* aparte de atacar las mazorcas del cacao causando pudrición, cáncer en tejidos leñosos y cojín floral, ataca a plántulas causando la

necrosis de las hojas (tizón), daños en el sistema radicular y su tallo principal, llegando hasta el punto de senescencia (Polanco *et al.*, 2015).

2.2.6. Factores Bióticos que afectan al cacao

Los factores bióticos corresponden a los elementos vivos o biológicos en un espacio verde entre ellos encontramos a los insectos, roedores, enfermedades, bacterias o parásitos, malezas, entre otros (Soto, 2022). Las plagas en el cultivo son un predominante para disminuir la productiva en época de cosecha, ya que los insectos utilizan las hojas de las plantas como alimento principal y así poder proliferarse, luego están las larvas que atacan las raíces y también en etapas tempranas están las hormigas que cortan los tallos, incluso existen insectos que extraen los fluidos vegetales de las plantas (Soto, 2022).

Las enfermedades son el factor biótico de mayor impacto para la producción de cacao en Latinoamérica y el mundo, en Centroamérica las bacterias, los virus y los nemátodos no causan problemas significativos, pero los hongos y dos especies de *Phytophthora* son responsables de graves pérdidas en la producción (Phillips y Cerda, 2009).

2.2.7. Factores Abióticos que afectan al cacao

Los factores abióticos que afectan a las plántulas de cacao solo los micro climáticos 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 (Jaimez *et al.*, 2008).

En los cultivares de cacao los factores abióticos resaltantes es la temperatura y luz y disponibilidad de agua, dando a resaltar que las plantas manifiesten ajustes osmóticos en el proceso de déficit de agua. Se resalta que las plántulas de cacao deben ser sembradas bajo sombra parcial, ya que así mantienen mayores concentraciones de clorofila que influye en mayores tasas de asimilación de CO₂ (Jaimez *et al.*, 2008).

2.2.8. Estrés hídrico

El estrés por déficit hídrico o por sequía se produce en las plantas en respuesta a un ambiente escaso en agua, en donde la tasa de transpiración excede a la toma de agua, el déficit hídrico no sólo ocurre cuando hay poca agua en el ambiente, sino también por bajas temperaturas y por una elevada salinidad del suelo (Cabrera, 2002).

La intensidad y duración del estrés hídrico influye en los efectos y la capacidad de las plantas para resistirlo, entre los principales efectos del estrés hídrico sobre el crecimiento está la reducción en la altura, tallo, raíces, área foliar, peso foliar específico y biomasa de la planta (Luna *et al.*, 2012).

Asimismo, la eficiencia de uso de agua en la productividad (EUAp) también es alterada debido a los cambios en la biomasa total y en la evapotranspiración. Durante el estado de plántula se experimenta mayor estrés hídrico porque los individuos aún no han desarrollado un sistema radicular extenso ni profundo y su acceso al agua del suelo es limitado (Luna *et al.*, 2012).

2.2.8.1. Mecanismos para tolerar el estrés hídrico.

- **Reducción del área foliar:** El déficit hídrico produce un descenso en la turgencia de las células, disminuyendo tanto la expansión foliar como la elongación radicular y por tanto, la tasa de crecimiento. Una menor área foliar transpirará menos, permitiendo conservar más agua.
- **Abscisión foliar:** En situación de déficit hídrico se produce la senescencia e incluso abscisión de las hojas, al disminuir el número de hojas, lo hará también la superficie de transpiración, lo que supone un ahorro en términos hídricos, para la planta.
- **Cierre estomático:** El cierre estomático supone uno de los mecanismos más rápidos para evitar la pérdida de agua en caso de déficit hídrico, la disminución del contenido hídrico de las células oclusivas disminuye su turgencia, produciendo el cierre estomático de forma rápida. Esta regulación estomática está más condicionada por el estado hídrico de la raíz y del suelo que por el de las hojas.

- **Cutícula gruesa:** El estrés hídrico induce la producción de una cutícula más gruesa mediante la deposición de ceras sobre la superficie foliar.

2.2.9. Rizobacterias Promotoras del Crecimiento

Las bacterias asociadas con la rizósfera de las plantas son capaces de generar varios mecanismos por los cuales afectan positivamente su crecimiento y desarrollo (Camelo *et al.*, 2011). Según (Ahmad *et al.*, 2006), se tiene conocimiento que los mecanismos directos se relacionan con la producción de fitohormonas de tipo Auxinas y Giberelinas o la regulación de la producción de hormonas por parte de la planta. Y así mismo pueden afectar la disponibilidad de nutrientes por la intervención directa en los ciclos biogeoquímicos. Las bacterias capaces de interactuar con las raíces de las plantas son atraídas por sustancias excretadas por la raíz, que ocasionan el movimiento de la bacteria hacia el rizoplaneo de la planta y de esta forma dar inicio a una relación de beneficio mutuo (Ahmad *et al.*, 2006).

2.2.10. Mecanismos Directos de la Promoción Vegetal

- **Producción de exopolisacáridos y biopelículas.**

Una amplia variedad de rizobacterias poseen la capacidad para liberar exopolisacáridos (EPS) y formar biopelículas en la raíz (Mohammed, 2018).

De esta manera, las comunidades de rizobacterias forman estructuras complejas de células microbianas que se adhieren a la superficie de la raíz, las cuales se encuentran rodeadas por una matriz polimérica extracelular (biopelículas) (Upadhyay *et al.*, 2011).

Las rizobacterias dentro de la biopelícula protegen significativamente a las plantas del estrés externo, debido a que mantienen una mayor adherencia a las superficies, mejorando el estado de agregación del suelo de la rizosfera, lo que aumenta la disponibilidad de agua y nutrientes, así mismo, la densidad microbiana aumenta, lo que mejora el crecimiento de la planta (Kasim *et al.*, 2016).

Además, los exopolisacáridos de las rizobacterias funcionan como moléculas señal que activan la respuesta de defensa durante el proceso de infección de patógenos. Algunos EPS se unen a cationes, incluido el Na^+ , lo que sugiere un papel en la mitigación del estrés por salinidad reduciendo el contenido de Na^+ disponible para consumo de plantas (Gupta *et al.*, 2017).

2.2.11. Revisión histórica del tema en estudio

Según, (García y Moreno, 2015) en un estudio determinado “Respuestas fisiológicas de *Theobroma cacao* L. en etapa de vivero a la disponibilidad de agua en el suelo”, se enfoca en cómo la cantidad de agua en el suelo afecta el crecimiento y desarrollo de las plantas de cacao en etapa de vivero, el estudio se realizó midiendo varias variables fisiológicas, como la fotosíntesis neta, la transpiración y la resistencia estomática, en plantas de cacao expuestas a diferentes niveles de agua en el suelo, los resultados del estudio mostraron que la cantidad de agua en el suelo afecta significativamente el crecimiento y desarrollo de las plantas de cacao.

En particular, se determinó que las plantas de cacao expuestas a niveles más bajos de agua en el suelo tenían una menor fotosíntesis neta y una mayor resistencia estomática, lo que indica que las plantas estaban experimentando estrés hídrico. En general, este estudio tiene implicaciones importantes para la producción de cacao a gran escala, ya que sugiere que es importante mantener niveles adecuados de agua en el suelo para asegurar un crecimiento y desarrollo saludable de las plantas de cacao (García y Moreno, 2015).

Una investigación sobre la “Dinámica hídrica del cacao (*Theobroma cacao* L.)”, se refirió a cómo el agua se mueve y se distribuye en el suelo y en las plantas. En este caso, se estudió cómo el agua afecta el crecimiento y la producción del cacao en condiciones de bosque húmedo tropical. La investigación utilizó diferentes herramientas para medir la humedad del suelo, la transpiración de las hojas y la asimilación de CO_2 por las plantas. Se encontró que la transpiración y la asimilación de CO_2 son más altas en la mañana, cuando la temperatura es más fresca y la humedad es más baja (Almeida y Valle, 2007).

También se encontró que la radiación solar y la temperatura del ambiente tienen un gran impacto en la evaporación del agua en las hojas. Los resultados de esta investigación pueden

ser útiles para el manejo del agua en el cultivo del cacao en condiciones similares. Por ejemplo, los agricultores pueden utilizar esta información para decidir cuándo regar las plantas y cómo manejar el riego en diferentes momentos del día. En general, esta investigación contribuye al conocimiento científico sobre el cultivo del cacao y puede ayudar a mejorar la producción y la sostenibilidad de este importante cultivo (Almeida y Valle, 2007).

El objetivo principal del estudio titulado “Respuesta del cacao (*Theobroma cacao* L.) al estrés hídrico: Caracterización fisiológica y perfiles de expresión de genes antioxidantes en clones comerciales” fue evaluar las respuestas fisiológicas y genéticas de siete clones comerciales de cacao al estrés hídrico. Para lograr esto, los investigadores sometieron las plantas de cacao a diferentes niveles de estrés hídrico y midieron una variedad de parámetros fisiológicos, como la tasa de fotosíntesis, la tasa de crecimiento y la acumulación de compuestos antioxidantes. Los resultados del estudio mostraron que el estrés hídrico tuvo un impacto significativo en la fisiología de las plantas de cacao. En particular, los investigadores encontraron que el estrés hídrico redujo la tasa de fotosíntesis y la tasa de crecimiento de las plantas de cacao (Osorio *et al.*, 2021).

Además, el estrés hídrico también llevó a la acumulación de compuestos antioxidantes en las plantas de cacao, se evaluaron las respuestas fisiológicas de las plantas de cacao al estrés hídrico, los investigadores también analizaron la expresión de ciertos genes antioxidantes en las plantas de cacao. Los resultados mostraron que la expresión de estos genes se vio afectada por el estrés hídrico, lo que sugiere que estos genes pueden desempeñar un papel importante en la respuesta del cacao al estrés hídrico (Osorio *et al.*, 2021).

En general, este estudio proporciona información valiosa para los productores de cacao que buscan mitigar los efectos negativos del estrés hídrico en sus cultivos, en base a estos resultados los estudios sugieren que la selección de clones de cacao resistentes al estrés hídrico y la manipulación genética de los genes antioxidantes pueden ser estrategias efectivas para mejorar la productividad del cacao en condiciones de estrés hídrico (Osorio *et al.*, 2021).

El estudio “Evaluación del impacto del estrés hídrico atmosférico y edáfico en un cultivo tropical: el caso de *Theobroma cacao* en condiciones de condiciones de Harmattan en el este

de Ghana”, se realizó en dos sub-parcelas con y sin riego durante una temporada de Harmattan en Ghana. Los resultados del estudio indican que el estrés hídrico atmosférico y del suelo tienen un impacto significativo en la transpiración del cacao y en la densidad del dosel (Dela *et al.*, 2021).

El estrés hídrico atmosférico redujo la densidad del dosel en un tercio, independientemente del riego, mientras que el estrés hídrico del suelo redujo la densidad del dosel en otro tercio en la parcela sin riego. Además, se encontró que la humedad del suelo y la presión de vapor del aire son los principales impulsores de la velocidad de la savia del cacao y se analizó que la transpiración del cacao parece estar más limitada por la absorción de raíces que por la conductividad del dosel (Dela *et al.*, 2021).

El estudio la respuesta al estrés hídrico en *Phaseolus vulgaris* L. (frijol común) en casa de cultivo. El objetivo del estudio fue evaluar los indicadores morfológicos seleccionados y cómo pueden ayudar a mejorar la producción de frijol común. El estudio se realizó en dos tratamientos: uno con riego normal y otro con riego limitado para simular el estrés hídrico. Se evaluaron líneas de grano marrón y un cultivar comercial llamado 'BAT 93'. Se midieron varios indicadores morfológicos, como la longitud de la raíz, el número de legumbres por planta y el ángulo de las raíces basales (Ramírez *et al.*, 2019).

Los resultados mostraron que las líneas seleccionadas presentaron una mejor respuesta al estrés hídrico en comparación con el cultivar comercial. Además, se encontró que la longitud de la raíz y el ángulo de las raíces basales son indicadores importantes para la selección de líneas de frijol común tolerantes al estrés hídrico, proporciona información valiosa sobre los indicadores morfológicos que pueden ayudar a mejorar la producción de frijol común en condiciones de estrés hídrico (Ramírez *et al.*, 2019).

Según (Vázquez *et al.*, 2017), el efecto del estrés hídrico y salino en los cultivos de cítricos, así como en las estrategias que se pueden utilizar para mitigar estos efectos adversos, se menciona que el agua es el recurso más importante y limitante para el crecimiento y desarrollo de las plantas, y que los cítricos son sensibles tanto al estrés por inundaciones como a la salinidad. Se presentan avances sobre los efectos que el estrés hídrico y salino causan en la producción y calidad de los frutos cítricos, así como las estrategias que se proponen para mitigar los efectos adversos que los mismos provocan en este cultivo.

Se mencionan varios estudios que se han realizado en diferentes partes del mundo para investigar cómo la selección del portainjerto adecuado, la posible inoculación del mismo con una cepa de HMA eficiente y la aplicación de la fertilización nitrogenada pueden ayudar a mitigar el efecto adverso que provoca el déficit hídrico en las plantas de cítricos. También se menciona que la aspersión foliar de posturas de *C. macrophylla* de dos meses de edad con KNO₃ al 2% aceleró la tolerancia de los árboles al déficit hídrico, incrementando los procesos de ajuste osmótico. En resumen, este artículo proporciona información valiosa sobre los efectos del estrés hídrico y salino en los cultivos de cítricos, así como en las estrategias que se pueden utilizar para mitigar estos efectos adversos (Vázquez *et al.*, 2017).

El artículo titulado "Caracterización de la biodiversidad de *Phytophthora* spp. y rizobacterias con potencial al biocontrol en la enfermedad de la mazorca negra en CCN-51", tuvo como objetivo principal del estudio fue caracterizar la biodiversidad de *Phytophthora* spp. y evaluar el potencial de las rizobacterias como agentes de biocontrol contra la enfermedad de la mazorca negra en el cacao variedad CCN-51. Para ello, se recolectaron nueve muestras vegetales con síntomas de la enfermedad de diferentes áreas productoras de cacao en Ecuador (Cedeño *et al.*, 2020).

Se realizaron análisis morfológicos e identificación por PCR para determinar la presencia de *Phytophthora* spp. en las muestras recolectadas, se observaron distintos morfotipos de colonias, incluyendo algodonosos, borde regular y estrellado, que son características de *Phytophthora* spp. los perfiles de electroforesis revelaron la presencia de *P. palmivora* en las nueve zonas evaluadas. Además, se evaluó la patogenicidad de *P. palmivora* en diferentes pisos altitudinales, y se encontró que la enfermedad de la mazorca negra es más prevalente en altitudes bajas (Cedeño *et al.*, 2020).

Se realizaron ensayos in vitro para evaluar la capacidad de diferentes cepas de rizobacterias para inhibir el crecimiento micelial de *P. palmivora*. Se identificaron dos cepas de rizobacterias que mostraron niveles altos de antagonismo contra *P. palmivora*. En conclusión, el estudio proporciona información valiosa sobre la biodiversidad de *Phytophthora* spp. y su impacto en el cultivo de cacao, así como sobre el potencial de las rizobacterias como agentes de biocontrol para combatir la enfermedad de la mazorca negra.

Los resultados del estudio pueden ser útiles para el desarrollo de estrategias de manejo integrado de plagas y enfermedades en el cultivo de cacao (Cedeño *et al.*, 2020).

Según (Syamsuddin *et al.*, 2021), el estudio se enfoca en el uso de rizobacterias indígenas para controlar enfermedades y promover el crecimiento de plántulas de cacao. Las rizobacterias son microorganismos que viven en la zona de las raíces de las plantas y pueden tener un efecto positivo en su crecimiento y salud. En este caso, se buscó identificar aislados de rizobacterias que pudieran inhibir el crecimiento de los patógenos fúngicos de *P. palmivora*, que es una enfermedad común en las plantaciones de cacao. El estudio encontró que cuatro aislados de rizobacterias (TRI 7/1, TRI 8/8, GM 7/9 y GM 7/10) demostraron la mayor capacidad para inhibir el crecimiento de los patógenos fúngicos de *P. palmivora*.

Además, se encontró que las plántulas de cacao tratadas con los aislados TRI 7/1 y TRI 8/8 tuvieron la menor severidad de enfermedad (20%), esto sugiere que estas rizobacterias pueden ser efectivas para controlar la enfermedad y mejorar la salud de las plantas de cacao. Además, el estudio también exploró cómo estos aislados de rizobacterias pueden actuar como Rizobacterias Promotoras del Crecimiento de las Plantas (PGPR). Las PGPR son microorganismos que pueden mejorar el crecimiento y la salud de las plantas al promover la absorción de nutrientes y la resistencia a enfermedades (Syamsuddin *et al.*, 2021).

Los resultados del estudio sugieren que los aislados de rizobacterias identificados también pueden actuar como PGPR y mejorar la viabilidad y el crecimiento de las plántulas de cacao. En resumen, este estudio muestra cómo las rizobacterias indígenas pueden ser una herramienta útil para proteger las plantas de cacao de enfermedades y mejorar su crecimiento. Además, sugiere que estos microorganismos pueden actuar como PGPR y mejorar la salud de las plantas de cacao. Esto tiene implicaciones importantes para la industria del cacao y la agricultura en general, ya que puede ayudar a reducir el uso de agroquímicos (Syamsuddin *et al.*, 2021).

En este estudio, enfocado en las propiedades promotoras del crecimiento vegetal de *Streptomyces* spp. y su impacto en plántulas de judía mungo microbioma de la rizósfera, los investigadores aislaron y caracterizaron 20 cepas de *Streptomyces* spp. de diferentes tipos de suelo en Tailandia. Luego, evaluaron sus propiedades promotoras del crecimiento de las plantas mediante pruebas in vitro y en macetas de plantas. En las pruebas in vitro, los

investigadores observaron que los aislados de *Streptomyces* spp. producían ácido indolacético y sideróforos, que son compuestos conocidos por promover el crecimiento de las plantas (Nonthakaew *et al.*, 2022).

Además, los aislados también mostraron actividad antifúngica contra patógenos de las plantas, en las pruebas en macetas de plantas, los investigadores encontraron que dos cepas de *Streptomyces* spp. (SNN087 y SNN289) mejoraron significativamente el crecimiento de las plántulas de frijol mungo en suelos estériles y no estériles. Además, la presencia de estas cepas en la rizosfera de las plántulas de frijol mungo también afectó positivamente la diversidad y composición del microbioma de la rizósfera (Nonthakaew *et al.*, 2022).

En general, los hallazgos de este estudio sugieren que los aislados de *Streptomyces* spp. tienen el potencial de ser utilizados como agentes promotores del crecimiento de las plantas en la agricultura, la presencia de estas cepas en la rizosfera de las plantas puede tener efectos beneficiosos en la salud y el crecimiento de las plantas al mejorar la diversidad y composición del microbioma de la rizósfera (Nonthakaew *et al.*, 2022).

En el estudio se determinó que los aislados de *Streptomyces* spp. tienen propiedades promotoras del crecimiento de las plantas, como la producción de ácido indolacético y sideróforos, que pueden mejorar la absorción de nutrientes por parte de las plantas. Además, la presencia de *Streptomyces* spp. en la rizósfera de las plántulas de frijol mungo afectó positivamente la diversidad y composición del microbioma de la rizósfera, lo que podría tener implicaciones importantes para la salud y el crecimiento de las plantas (Nonthakaew *et al.*, 2022).

El estudio denominado “Desarrollo de un tratamiento biológico de semillas compara el control de la podredumbre de la fruta (*Phytophthora palmivora* Butl. en plantas de cacao (*Theobroma cacao* L.)”, tuvo como objetivo a largo plazo el obtener métodos de control eficaces y respetuosos con el medio ambiente que puedan aplicarse a los cacaocultores de toda Indonesia en general y especialmente a los de la provincia de Aceh (Taslim, 2019).

Los métodos de análisis es la caracterización molecular de patógenos de *P. palmivora* y rizobacterias agentes de biocontrol, estudio del mecanismo de acción de los agentes mediante aproximaciones fisiológicas y análisis metabólico bioquímico de los agentes de

biocontrol utilizando métodos exploratorios y descripciones, mientras se prueba la eficacia de las rizobacterias como agentes de biocontrol en invernaderos y sobre el campo mediante métodos experimentales (Taslim, 2019).

Además, las actividades de investigación: incluyen experimentos de detección, identificación y aislamiento de hongos patógenos de *P. palmivora*, aislamiento de rizobacterias candidatas a agentes de biocontrol de la rizosfera de las plantas de cacao, evaluación de la eficacia de los inhibidores rizobacterianos candidatas para el control biológico del patógeno *P. palmivora in vitro*, y caracterización molecular de aislados patógenos y de rizobacterias de los agentes de biocontrol (Taslim, 2019).

Los resultados mostraron que los aislados rizobacterianos de cacao de cacao en el subdistrito de Tripa, regencia de Nagan Raya, tenían una actividad inhibidora muy alta (> 75%), RBT86, RBT88, and RBT89 rhizobacterial isolates, while rhizobacterial isolates had high inhibitory (61-75%) hay 7 aislados, a saber, RBT613, RBT614, RBT615, RBT71, RBT74, RBT84, y RBT810 aislados de rizobacterias. Aislamiento de rizobacterias de plantaciones de cacao de agricultores en el subdistrito de Glumpang Minyeuk, regencia de Pidie, que mostraron una actividad inhibidora muy alta (61-75%) en el crecimiento de colonias patógenas de prueba in vitro in vitro, a saber, los aislados RBGM82 y RBGMMS3 (Taslim, 2019).

Mientras que las rizobacterias aisladas RBGM36, RBGMS6, RBGM7IO, RBGM88, y los aislados RBGM36 tuvieron una alta actividad inhibitoria (61-75%), las rizobacterias aisladas de las zonas de plantación de los cacaocultores en el subdistrito de Tripa, en la regencia de Nagan Raya, y en el subdistrito de Glumpang Minyeuk Sub-district, Pidie Regency no mostraron un efecto significativo en los parámetros de la tasa inhibitoria sobre el crecimiento de las causas patógenas de la podredumbre del cacao (*P. palmivora*) (Taslim, 2019).

Según (Chandra *et al.*, 2021), el estudio realizado para evaluar los efectos de ciertas bacterias del suelo, llamadas rizobacterias, en el crecimiento de una planta llamada mijo bajo condiciones de estrés hídrico, el estrés hídrico ocurre cuando las plantas no tienen suficiente agua disponible para crecer y desarrollarse adecuadamente, se llevó a cabo en un invernadero, donde se cultivaron plantas de mijo en macetas con diferentes niveles de agua.

Algunas plantas se regaron regularmente, mientras que otras se sometieron a estrés hídrico al reducir la cantidad de agua disponible.

Además, se aplicaron diferentes tipos de rizobacterias a las plantas para evaluar su efecto en el crecimiento y la salud de las plantas, los resultados del estudio mostraron que las rizobacterias que producen ACC deaminasa, una enzima que ayuda a las plantas a tolerar el estrés hídrico, tuvo un efecto positivo en el crecimiento de las plantas de mijo bajo condiciones de estrés hídrico. Además, estas bacterias también mejoraron la concentración de nutrientes en las plantas y redujeron los efectos negativos del estrés hídrico en la salud de las plantas (Chandra *et al.*, 2021).

En general, este estudio sugiere que las rizobacterias que producen ACC desaminase pueden ser una herramienta útil para mejorar el crecimiento y la salud de las plantas bajo condiciones de estrés hídrico. Esto es especialmente importante en áreas donde el acceso al agua es limitado, ya que estas bacterias pueden ayudar a las plantas a crecer y desarrollarse incluso en condiciones de sequía (Chandra *et al.*, 2021).

El estudio sobre el papel de las bacterias productoras de ACC desaminase en la mejora de la productividad del maíz dulce bajo una disponibilidad limitada de agua de riego. El estudio explora el potencial de las rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas para mejorar el rendimiento del cultivo y la adaptabilidad contra el estrés osmótico, lo que contribuye a la seguridad alimentaria en el futuro (Moradi *et al.*, 2020).

El estudio se llevó a cabo en un campo de maíz dulce en el que se utilizaron tres niveles diferentes de riego. Se evaluaron las características fisiológicas del maíz dulce, como la altura de la planta, el diámetro del tallo, el número de hojas, la clorofila y la tasa de fotosíntesis. También se midió la cantidad de etileno producido por las plantas, ya que el estrés osmótico puede provocar una acumulación de etileno en las plantas, lo que puede afectar negativamente su crecimiento y desarrollo (Moradi *et al.*, 2020).

Los resultados del estudio mostraron que la inoculación de las cepas de *Pseudomonas fluorescens* mejoró significativamente las características fisiológicas del maíz dulce, especialmente en las plantas que recibieron menos agua de riego. La inoculación también redujo la cantidad de etileno producido por las plantas, lo que sugiere que las bacterias

productoras de ACC deaminasa pueden ayudar a reducir el estrés etileno en las plantas sometidas a estrés osmótico (Moradi *et al.*, 2020).

En resumen, este estudio sugiere que las rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas, especialmente las bacterias productoras de ACC desaminase, pueden ser una herramienta valiosa para mejorar la productividad del maíz dulce bajo condiciones de estrés osmótico. Esto tiene implicaciones importantes para la seguridad alimentaria en el futuro, ya que el cambio climático y la creciente demanda de alimentos están aumentando la presión sobre los recursos hídricos (Moradi *et al.*, 2020).

La investigación se centra en el papel de las bacterias promotoras del crecimiento de las raíces en el crecimiento y desarrollo de las plantas de pasto de switchgrass, comienza con una introducción a la importancia de las bacterias del suelo en la salud y el crecimiento de las plantas, y cómo las bacterias del suelo pueden ser utilizadas para mejorar la producción de cultivos y la sostenibilidad agrícola (Chen *et al.*, 2022).

Luego, los autores se centran en una enzima específica llamada ACC deaminasa, que se encuentra en ciertas cepas de bacterias del suelo y que se ha demostrado que tiene un efecto positivo en el crecimiento de las plantas. La ACC deaminasa es una enzima que descompone el precursor de la hormona vegetal etileno, lo que reduce los niveles de etileno en las plantas. El etileno es una hormona vegetal que regula el crecimiento y el desarrollo de las plantas, y altos niveles de etileno pueden inhibir el crecimiento de las raíces y las plántulas (Chen *et al.*, 2022).

Los autores describen los experimentos que realizaron para probar los efectos de las bacterias promotoras del crecimiento de las raíces en el crecimiento de las plantas de pasto de switchgrass. Estos experimentos incluyeron la medición del crecimiento de las raíces y las plántulas, así como la observación de los efectos de las bacterias en la expresión génica y la producción de hormonas de crecimiento en las plantas (Chen *et al.*, 2022).

Los resultados de los experimentos mostraron que las bacterias promotoras del crecimiento de las raíces con ACC deaminasa tuvieron un efecto positivo en el crecimiento de las raíces y las plántulas de switchgrass. Los autores también discuten la importancia de estos hallazgos para la agricultura sostenible y la producción de biocombustibles. En particular,

los autores sugieren que las bacterias promotoras del crecimiento de las raíces con ACC desaminasa pueden ser utilizadas para mejorar la producción de cultivos de switchgrass para la producción de biocombustibles (Chen *et al.*, 2022).

Según (Cedeño *et al.*, 2018), en este caso la alfalfa (*Medicago sativa* L. subsp. *sativa*) ha surgido como un cultivo de interés en zonas de secano mediterráneo en Chile debido a su capacidad para prosperar en suelos con niveles nutricionales deficientes. Sin embargo, estos suelos pueden afectar negativamente la nodulación de la alfalfa y la fijación de nitrógeno, un proceso crucial para el crecimiento de la planta, a través de la simbiosis con la bacteria *Ensifer meliloti*.

El objetivo principal de este estudio fue identificar y seleccionar rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) asociadas a la alfalfa y evaluar su impacto en el crecimiento y la nodulación de la planta. Las cepas bacterianas fueron aisladas de la rizosfera de la alfalfa cultivada en suelos de secano en zonas mediterráneas de Chile. Se realizaron diversas pruebas para caracterizar estas cepas, incluyendo la medición de la actividad de la enzima 1-aminociclopropano-1-ácido carboxílico (ACC) deaminasa, la producción de ácido indol acético (IAA), la capacidad de solubilización de fosfatos y su compatibilidad con *E. meliloti*, la bacteria simbiótica de la alfalfa (Cedeño *et al.*, 2018),

De las 32 cepas bacterianas aisladas, se encontró que 12 eran compatibles con *E. meliloti*, lo que sugiere que podrían trabajar en armonía con la alfalfa en condiciones de simbiosis. Además, ocho de estas cepas demostraron la capacidad de solubilizar fosfatos, un proceso importante para hacer que el fósforo sea más accesible para la planta, y 12 produjeron ácido indol acético (IAA), un regulador del crecimiento vegetal. Sorprendentemente, solo una cepa, denominada GN-8, mostró actividad ACC deaminasa (Cedeño *et al.*, 2018).

Las pruebas en plantas revelaron que la nodulación de la alfalfa fue más prominente cuando se co-inocularon las cepas con actividad ACC deaminasa y *E. meliloti*, tanto en condiciones de laboratorio como en invernadero. Este resultado sugiere que estas bacterias podrían mejorar significativamente la capacidad de la alfalfa para fijar nitrógeno en condiciones desafiantes (Cedeño *et al.*, 2018).

Además, se identificó que las bacterias seleccionadas GN-2 y GN-8 pertenecían al género *Bacillus*, mientras que GN-4 era de la especie *Pseudomonas*. Esto proporciona información valiosa sobre la diversidad de las PGPR asociadas a la alfalfa en estas zonas específicas de Chile, este estudio destacó la importancia de las PGPR en la promoción del crecimiento y la nodulación de la alfalfa en suelos marginales de zonas mediterráneas de Chile. Las bacterias seleccionadas mostraron actividad ACC desaminasa, producción de IAA y solubilización de fosfatos, y la coinoculación con *E. meliloti*, especialmente con *Bacillus* sp. GN-8, demostró ser una estrategia efectiva para mejorar la nodulación temprana en la alfalfa en estas condiciones específicas (Cedeño *et al.*, 2018).

La investigación “La ACC desaminasa producida por PGPR mitiga el efecto adverso del estrés osmótico y por salinidad en *Pisum sativum* a través de la modulación de las actividades antioxidantes.” se centra en un problema agrícola importante: cómo la salinidad del suelo puede afectar negativamente la productividad de los cultivos debido a la producción excesiva de etileno y especies reactivas de oxígeno (ROS), el etileno es una hormona vegetal que, en exceso, puede inhibir el crecimiento de las plantas y reducir su rendimiento (Gupta *et al.*, 2022).

Sin embargo, se ha descubierto que algunas bacterias poseen una enzima llamada ACC deaminasa (ACCD) que puede ayudar a mitigar este problema. Estas bacterias pueden utilizar el ácido aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) como fuente de nitrógeno y, al hacerlo, reducen la cantidad de ACC disponible para que la planta sintetice etileno. Esto a su vez mantiene los niveles de ROS en la planta en un rango saludable (Gupta *et al.*, 2022).

El estudio mencionado investigó la actividad de ACCD en cepas bacterianas previamente identificadas. Dos cepas en particular, GKP KS2_7 (*Pseudomonas aeruginosa*) y MBD 133 (*Bacillus subtilis*), demostraron una fuerte actividad de ACCD, lo que significa que podían degradar el ACC en α -ketobutyrate a una tasa significativamente alta. Además de esta actividad, estas cepas exhibieron otras características beneficiosas para el crecimiento de las plantas, como la producción de ácido indol acético, la solubilización de fosfatos, la producción de sideróforos y exopolisacáridos (Gupta *et al.*, 2022).

Estas cepas también mostraron una notable tolerancia a la salinidad, lo que las hace prometedoras para su uso en suelos afectados por la salinidad. Cuando se aplicaron a las

semillas de la planta *Pisum sativum*, estas cepas redujeron de manera significativa los niveles de etileno inducido por el estrés, lo que resultó en un aumento en la longitud de las raíces y los brotes, así como en la biomasa de las raíces y los brotes, la cantidad de azúcares, proteínas, clorofila y enzimas antioxidantes en las plantas (Gupta *et al.*, 2022).

En resumen, las cepas bacterianas GKP KS2_7 y MBD 133 muestran un gran potencial como biofertilizantes para contrarrestar los efectos negativos de la salinidad del suelo en la agricultura. Su capacidad para reducir la producción de etileno y promover el crecimiento de las plantas, incluso en condiciones adversas, sugiere que podrían ser una herramienta valiosa para aumentar la productividad de los cultivos en suelos salinos (Gupta *et al.*, 2022).

La evaluación aborda la agricultura actual como un denominante exponencial como es el: el aumento constante de la demanda de cultivos debido al crecimiento de la población mundial. Para satisfacer esta demanda, se ha considerado la posibilidad de utilizar tierras marginales, que generalmente tienen condiciones de suelo menos óptimas, como una fuente sostenible para aumentar la productividad de las plantas. Sin embargo, se plantea un desafío importante: el estrés por falta de humedad, que no solo afecta el crecimiento y la productividad de los cultivos, sino que también hace que las plantas sean más susceptibles a diversas enfermedades (Khan y Bano, 2019).

Destacando papel positivo del ácido salicílico (SA), una hormona de crecimiento de las plantas, en los sistemas de defensa de las plantas contra enfermedades. Esta hormona se ha estudiado en profundidad y se ha encontrado que desencadena respuestas de defensa en las plantas, fortaleciendo así su capacidad para resistir patógenos (Khan y Bano, 2019).

Para abordar estos desafíos, se llevó a cabo un estudio que exploró cómo una combinación de bacterias promotoras del crecimiento de las raíces (PGPR) y SA podría influir en el cultivo de trigo en condiciones de lluvia irregular, donde el promedio de humedad oscilaba entre el 10 y el 14%. Se seleccionaron cuidadosamente cepas bacterianas que exhibieron características promotoras del crecimiento, como la producción de prolina, ácido indol-3-acético (IAA), cianuro de hidrógeno (HCN), amoníaco (NH₃) y exopolisacáridos (EPS) (Khan y Bano, 2019).

El estudio implicó el tratamiento de las semillas de trigo de dos genotipos diferentes, uno conocido por su tolerancia a la sequía y otro sensible a la misma. Estas semillas se sumergieron en cultivos de 24 horas de las cepas bacterianas antes de la siembra, y además se aplicó SA en forma de un spray foliar a plántulas de trigo de un mes de edad (Khan y Bano, 2019).

Los resultados fueron significativos: se observó una marcada reducción en los parámetros fisiológicos de las plantas cultivadas en condiciones de lluvia irregular. Sin embargo, el tratamiento con PGPR y SA contrarrestó de manera efectiva los efectos adversos del estrés por falta de humedad. Las plantas de trigo tratadas con esta combinación mostraron aumentos significativos en el contenido de proteínas y azúcares en las hojas. Además, mantuvieron niveles más altos de clorofila, fluorescencia de clorofila (fv/fm) e índice de rendimiento (PI) en comparación con las plantas no tratadas. También se redujo el contenido de prolina en las hojas, así como la peroxidación de lípidos y la actividad de las enzimas antioxidantes en las plantas inoculadas de ambos genotipos (Khan y Bano, 2019).

Este estudio demuestra que la combinación de cepas de PGPR y SA es una estrategia prometedora y respetuosa con el medio ambiente para reducir el estrés por falta de humedad en las plantas de trigo. Esto podría tener importantes implicaciones para aumentar la resistencia de los cultivos a las condiciones climáticas cambiantes y mejorar la productividad agrícola, especialmente en áreas con lluvia irregular (Khan y Bano, 2019).

CAPÍTULO III
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización

Este Proyecto de investigación se realizó en el área de laboratorio e invernadero de Microbiología y Biología Molecular, localizados en el Campus Universitario “La María” propiedad de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), ubicada en el km 7.5 de vía Quevedo - Mocache, provincia de Los Ríos - Ecuador. Ubicada a 79° 25’ 24” longitud Oeste y 01° 03’ 18” de latitud Sur, altitud 67 m.

Tabla 2

Condiciones agroclimáticas del área de estudio

Parámetro	Promedio
Temperatura Promedio Anual	25.0°C
Humedad Relativa Promedio Anual	84%
Precipitación Promedio Anual	2286.60
Heliofanía (Horas luz año)	894.0
Topografía	Ondulado
Clima	Tropical Húmedo

Fuente: (Estación meteorológica INHAMI; Estación Tropical Pichilingue, 2008-2020).

Elaborado: Autor

3.2. Tipo de investigación

El proyecto de investigación es de tipo experimental, ya que las variables a evaluar son manipulables en cuestión de proceso de desarrollo morfológico de las plántulas frente a condiciones de estrés hídrico.

3.3. Método de Investigación

Para el desarrollo del proyecto investigativo se utilizó los siguientes métodos: Deductivo, Analítico y observación.

3.3.1. Método deductivo

Se empleó durante el proceso de evaluación y análisis de los efectos ocasionados por la aplicación de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento y *P. palmivora* en el desarrollo de las plántulas de cacao.

3.3.2. Método Analítico

Se empleó este método para la interpretación de los resultados que se obtuvieron bajo el estudio.

3.3.3. Método de observación

Se empleó este método implicando la recopilación sistemática y directa de información mediante la observación de eventos, comportamientos o fenómenos que se presenten a lo largo de la investigación.

3.4. Fuente de recopilación de información

Las fuentes de recopilación utilizadas fueron de tipo primaria, a través de la observación directa de las variables evaluadas, y de fuentes secundarias, mediante el uso de diferentes artículos científicos, informes, libros, boletines, etc.

3.5. Diseño de la Investigación

3.5.1. Factores de estudio

3.5.1.1. Experimento 1.

Se utilizaron cuatro condiciones de humedad edáfica (R: Riego Continuo, RR1: Restricción de Riego por 5 días; RR2: Restricción de Riego por 10 días; RR3: Restricción de Riego por 20 días)

3.5.1.2. Experimento 2.

Como factor de estudio se utilizó a *P.palmivora* en los cuatro condiciones de humedad edáfica (R: Riego Continuo, RR1: Restricción de Riego de 5 días; RR2: Restricción de Riego de 10 días; RR3: Restricción de Riego de 20 días).

3.5.1.3. Experimento 3.

Como factor se utilizó a *P.palmivora* en dos condiciones de humedad edáfica (condición con valores más bajos, RR2: Restricción de Riego de 10 días; RR3: Restricción de Riego de 20 días) y dos consorcios de rizobacterias (Consortio 1 (C1): (*Pseudomonas putida* BMR 2-4, *Enterobacter asburiae* BA 4-19, *Pseudomonas putida* PB 3-6), Consortio 2 (C2): *Pseudomonas fluorescens* CHA0, *Pseudomona veronii* R4, *Acinetobacter calcoaceticus* BMR2-12).

3.5.2. Tratamientos

3.5.2.1. Experimento 1.

Tabla 3

Descripción de los tratamientos a emplearse en el experimento 1

Tratamientos	Humedad Edáfica
T1	R
T2	RR1
T3	RR2
T4	RR3

Elaborado: Autor

3.5.2.2. Experimento 2.

Tabla 4

Descripción de los tratamientos a emplearse en el experimento 2escogiendo

Tratamientos	Humedad Edáfica
T1	R + <i>P. palmivora</i>
T2	RR1 + <i>P. palmivora</i>
T3	RR2 + <i>P. palmivora</i>
T4	RR3 + <i>P. palmivora</i>

Elaborado: Autor

3.5.2.3. Experimento 3.

Tabla 5

Descripción de los tratamientos a emplearse en el experimento 3

Tratamientos	Humedad Edáfica
T1	RR2+ <i>P. palmivora</i> + C1
T2	RR3 + <i>P. palmivora</i> + C1
T3	RR2 + <i>P. palmivora</i> + C2
T4	RR3+ <i>P. palmivora</i> + C2
T5	Control (RR2)
T6	Control (RR3)

Elaborado: Autor

3.5.3. Diseño experimental

3.5.3.1. Experimento 1. Establecer los rangos de tolerancia de cacao CCN51 bajo condición de estrés hídrico.

Se empleó un Diseño Bloques Completamente al Azar (DBCA), estableciendo 4 tratamientos con 4 repeticiones y 3 unidades experimentales.

Tabla 6*Esquema de análisis de varianza (ADEVA) del primer experimento*

Fuente de variación			Grados de libertad
Bloques	(r-1)	4-1	3
Tratamientos	(t-1)	4-1	3
Error experimental	(t-1) (r-1)	(4-1) (4-1)	9
Total	(tr-1)	(16-1)	15

Elaborado: Autor

3.5.3.2. Experimento 2. Determinar el grado de infección de *Phytophthora palmivora* sobre las características agronómicas en cacao CCN51 bajo condición de estrés hídrico

Se empleó un Diseño Bloques Completamente al Azar (DBCA), estableciendo 4 tratamientos con 4 repeticiones y 3 unidades experimentales.

Tabla 7*Esquema de análisis de varianza (ADEVA) del segundo experimento*

Fuente de variación			Grados de libertad
Bloques	(r-1)	4-1	3
Tratamientos	(t-1)	4-1	3
Error experimental	(t-1) (r-1)	(4-1) (4-1)	9
Total	(tr-1)	(16-1)	15

Elaborado: Autor

3.5.3.3. Experimento 3. Determinar el grado de protección de rizobacterias a cacao CCN51 en presencia de *Phytophthora palmivora* y estrés hídrico.

Se empleó un Diseño Bloques Completamente al Azar (DBCA), estableciendo 6 tratamientos con 4 repeticiones y 3 unidades experimentales.

Tabla 8*Esquema de análisis de varianza (ADEVA) del tercer experimento*

Fuente de variación			Grados de libertad
Bloques	(r-1)	6-1	5
Tratamientos	(t-1)	4-1	3
Error experimental	(t-1) (r-1)	(6-1) (4-1)	15
Total	(tr-1)	(24-1)	23

Elaborado: Autor

3.6. Instrumentos de Investigación

3.6.1 Manejo del Experimento

3.6.1.1. Preparación de semillas de cacao para la siembra en vasos de 32 onzas.

Para el proceso de germinación se utilizaron semillas de cacao CCN51, previamente escarificadas con el propósito de prevenir posibles contaminantes, posteriormente se sometieron a un proceso de desinfección. Inicialmente, se sumergieron en una solución al 5% de hipoclorito de sodio durante 3 minutos y luego se enjuagaron exhaustivamente con agua destilada estéril en tres ocasiones, luego se colocaron en bandejas de aluminio con papel absorbente que contenía 5ml de agua destilada estéril, las semillas se incubaron durante un periodo de 72 horas a una temperatura de 28°C, y finalmente sembrar 250 semillas pre-germinadas en vasos de 32 onzas. (Cedeño *et al.*, 2020). Se utilizaron en total 200 plantas con una altura de 70 cm.

3.6.1.2. Preparación de Sustrato.

El sustrato que se utilizó para los vasos de 32 onzas, fue preparado con tierra negra, biocompost y perlita en una proporción de 3 partes de tierra negra, 1 parte de biocompost y 1 parte de perlita., los componentes se mezclaron y se expuso al sol cubierto con plástico negro, como proceso de desinfección a través de la técnica de solarización, se realizó una segunda esterilización en autoclave a 121 °C / 20 min.

3.6.1.3. Evaluación de capacidad de campo de sustrato y aplicación de estrés hídrico.

Para la evaluación de capacidad de campo del sustrato utilizado se siguió la metodología de (Imakumbili,2019), se realizaron pequeños agujeros en el fondo de los recipientes, por consiguiente se llenó los recipientes con 500 g de sustrato seco al aire, posteriormente se adiciono el agua de forma rápida y uniforme, hasta visualizar que el recipiente comenzó a gotear dando indicativos que se encontraba totalmente mojada y saturada Se cubrió inmediatamente a los recipientes con plástico para evitar la evapotranspiración y finalmente se la dejo escurrir por 3 días en un lugar lejos de la luz solar, pasado los 3 días se pesó el suelo húmedo y luego se dejó secar en estufa a 105°C. para volverlo a pesar, y calcular el contenido de humedad y el agua necesario para que el sustrato llegue a capacidad de campo.

Las 200 plantas de CCN51 se mantuvieron en un rango de capacidad de campo óptima (60 -90% CC). La aplicación del estrés hídrico se lo realizo mediante restricción de riego 5,10 y 20 días respectivamente. Después de cada restricción de riego se realizó un periodo de rehidratación hasta el final del experimento (31 días).

3.6.1.4. Inoculación de *Phytophthora palmivora* en plántulas de cacao.

En el proceso de inoculación de *P. palmivora* se empleó la metodología de (Delgadillo *et al.*, 2020), se utilizaron plántulas de *Theobroma cacao* de 20 semanas de edad con una altura de 70 cm, se procedió a desinfectar con alcohol la sección basal del tallo cercano al meristemo apical, realizando un corte en forma de bisel con un bisturí esterilizado, posteriormente sobre la herida se colocó un disco micelial de 5mm de medio agar V8, con micelio de *P. palmivora* ,la herida y el disco miceliar fueron cubiertos con Parafilm, adherida a presión.

3.6.1.5. Obtención de sobrenadantes de Rizobacterias Promotoras del crecimiento vegetal.

Se utilizó la metodología de (Leyton *et al.*, 2015),. seleccionando 6 cepas de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (*P. putida* BMR 2-4, *E. asburiae* BA 4-19, *P. putida* PB 3-6, *P. fluorescens* CHA0, *P. veronii* R4, *A. calcoaceticus* BMR2-12), del Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo extensión “La María”, las

células bacterianas fueron reactivadas colocando 15 µl de cada rizobacteria en 50 ml de medio King B líquido (Peptona 20 g/L, Sulfato de Magnesio 1.5 g/L, Fosfato dipotásico 1.5 g/L), posteriormente se colocó en un agitador magnético (Elmi DOS-20L Digital Orbital Shaker) a 180 rpm por 48 h.

Para la obtención de los sobrenadantes se centrifugo la muestra de rizobacterias en medio King B líquido en tubos falcon de 15 ml a 6.000 rpm por 3 min, luego se recuperó el sobrenadante descartando el pellet, repitiendo el proceso tres veces, hasta obtener un 20% de concentración celular, posteriormente se procedió a realizar los dos consorcios (3 rizobacterias por cada consorcio), formulando una disolución en matraz de 200 ml de consorcio bacteriano en 800 ml H₂O.

Se realizaron 2 aplicaciones de 1 ml de suspensión celular de consorcios (C1- Consorcio1: (*Pseudomonas putida* BMR 2-4, *Enterobacter asburiae* BA 4-19, *Pseudomonas putida* PB 3-6), C2- Consorcio 2: (*Pseudomonas fluorescens* CHA0, *Pseudomona veronii* R4, *Acinetobacter calcoaceticus* BMR2-12) al suelo a la semana 26 y a la semana 27, las plántulas se las mantuvieron en un ambiente con humedad relativa de 70% a 28 ± 2 °C, por un fotoperiodo de (12 h luz / 12 h oscuridad), posteriormente después de 2 días de la inoculación de rizobacterias se aplicaron los discos miceliales *P. palmivora* en la sección basal del tallo. A 31 días después de la inoculación de *P. palmivora* se evaluó peso fresco y seco de raíz, longitud de raíz y grado de protección

3.6.2. Variables a evaluar

3.6.2.1. Contenido Relativo de agua en las hojas (%).

Esta variable se la evaluó cada 5 días hasta el final del experimento (31 días), se pesaron trozos de hojas frescas, secas y turgentes de 3 cm² de todas las plantas (64 unidades experimentales), el peso fresco se lo registro pesando las piezas en el momento de toma de muestra, el peso turgente se determinó después de hidratar las piezas 24 horas, el peso seco se registró secando las piezas en estufa a 70°C hasta obtener un peso constante. Luego se utilizó la siguiente fórmula para saber el contenido relativo del agua en las hojas:

$$RWC\% = \frac{\text{Peso Fresco} - \text{Peso Seco}}{\text{Peso Turgente} - \text{Peso Seco}} \times 100$$

3.6.2.2. *Peso fresco radicular (g).*

Esta variable se evaluó al final del experimento (31 días), pesando en una balanza digital (grado de exactitud 0.1 g.) las raíces frescas. Se evaluaron 168 plantas.

3.6.2.3. *Longitud radicular (cm).*

Esta variable se evaluó al final del experimento (31 días) utilizando una cinta métrica, la longitud radicular se midió desde el cuello de la raíz hasta la cofia. Se evaluaron 168 plantas.

3.6.2.4. *Peso seco radicular (g).*

Esta variable se verifico pesando las raíces en una balanza digital (grado de exactitud 0.1 g.) después de colocar las muestras en estufa durante 24 h, Se evaluaron 168 plantas.

3.6.2.5. *Altura de planta (cm).*

Esta variable se verifico al final del experimento (31 días), se midió con una cinta métrica desde el base de la planta hasta el ápice. Se evaluaron 168 plantas.

3.7. Tratamiento de los datos

El análisis estadístico de los resultados obtenidos de las variables de estudio, se realizó mediante un análisis de varianza (ADEVA) para determinar la diferencia significativa entre los tratamientos se aplicó la prueba de significación al 5% este análisis se lo realizó en el programa estadístico Infostat

3.8. Recursos humanos y materiales

3.8.1. *Recursos humanos*

- Docente director del Proyecto de Investigación.

- Responsable del Laboratorio de Biología y Microbiología
- Estudiante responsable de la investigación.

3.8.2. Recursos materiales

- Agua destilada
- Alcohol 75%
- Bisturí
- Botellas esterilizables de 500 ml
- Cajas Petri
- Cloro
- Cubreobjetos
- Embudos simples de vidrio
- Frascos Chopp de vidrio (500 ml)
- Fundas de polipropileno
- Gasa estéril
- Guantes Quirúrgicos
- Jugo vegetal V8
- Matraces (500 ml)
- Papel Toalla
- Piseta de 500 ml
- Tijeras Quirúrgicas
- Tubos de Eppendorf (1.5 ml)
- Tubos Falcón

3.8.3. Equipos de Laboratorio

- Agitador
- Autoclave
- Balanza digital (grado de exactitud 0.1 g.)
- Cámara de flujo Laminar
- Centrífuga

- Destilador de agua
- Estufa
- Incubadora
- Nevera
- Vórtex
- Estereoscopio
- Microondas

3.8.4. *Reactivos*

- Fosfato de potasio
- Peptona
- Sulfato de magnesio

3.8.5. *Materiales de oficina*

- Computador
- Cuaderno
- Lapicero
- Pendrive

CAPÍTULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

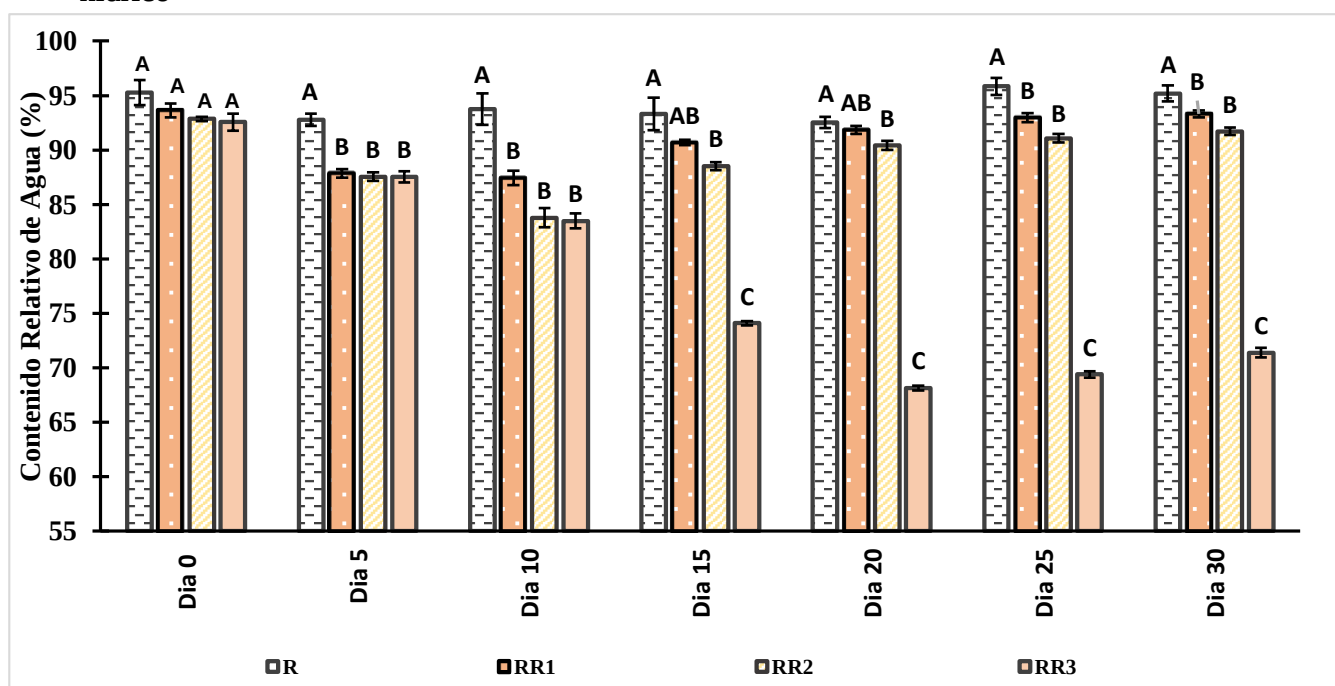
4.1.1. Establecer los rangos de tolerancia de cacao CCN51 bajo condición de estrés hídrico

4.1.1.1. Contenido Relativo de Agua en las hojas.

El porcentaje de agua en hojas se evaluó cada 5 días, demostrando diferencias significativas entre los tratamientos durante los periodos de estrés hídrico. Los contenidos de agua en las hojas oscilaron entre (92,08 y 95,84 %), en presencia de riego continuo (R). El grado de tolerancia de CCN51 a condiciones de estrés hídrico, con restricción de riego de 10 días (RR2), mantuvo tolerancia con un contenido de agua en hojas entre (83,5 y 91,71 %) hasta los 30 días. La restricción de riego por 20 días (RR3) se observaron pérdidas considerables de agua en hojas (68,13%) experimentando una menor presión de turgencia, a comparación del riego a 5 días (87,85 %) y 10 días (83,78%) que mantuvieron la presión de turgencia en hojas (Figura 1).

Figura 1

Contenido relativo de agua en hojas de plantas de cacao CCN-51 bajo condiciones de estrés hídrico



Nota: Se muestra los tratamientos Riego Continuo (R), Restricción de Riego de 5 días (RR1); Restricción de Riego de 10 días (RR2), Restricción de Riego de 20 días (RR3). En la variable contenido Relativo de Agua en

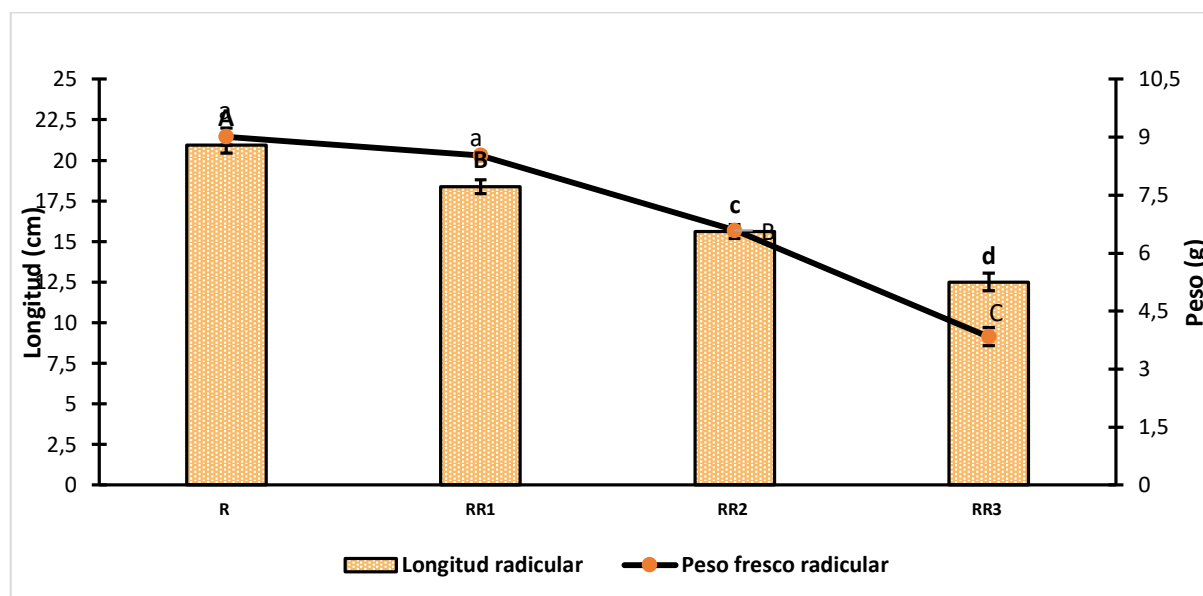
las hojas. Las barras de error indican $\pm$ Error estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a $p < 0.05$ (test de Tukey).

4.1.1.2. *Peso y Longitud Radicular.*

La restricción de riego afectó directamente sobre las características agronómicas de CCN51, encontrando diferencias significativas entre los tratamientos. La falta de disponibilidad de agua en lapsos de restricción de riego de 20 días (RR3), disminuyó el peso y longitud radicular (3,84 g y 12,5 cm), (Figura 2; Figura 3D). La restricción de riego a 10 días RR2, se llegaría a considerar el grado de tolerancia moderado por estrés hídrico de CCN51, donde la disponibilidad de agua disminuye levemente las variables agronómicas, observándose un peso y longitud de (6,59 g. y 15,63 cm.) respectivamente. (Figura 2; Figura 3C). Mientras que la restricción de riego de 5 días (RR1), mantiene un grado de tolerancia bajo con peso y longitud radicular de (8,53 g. y 18,38 cm.) (Figura 2; Figura 3b). Por lo tanto, el tratamiento R de riego continuo demostró valores de peso y longitud radicular altos (9,01 g. y 20,95 cm.) (Figura 2; Figura 3. A) respectivamente.

Figura 2

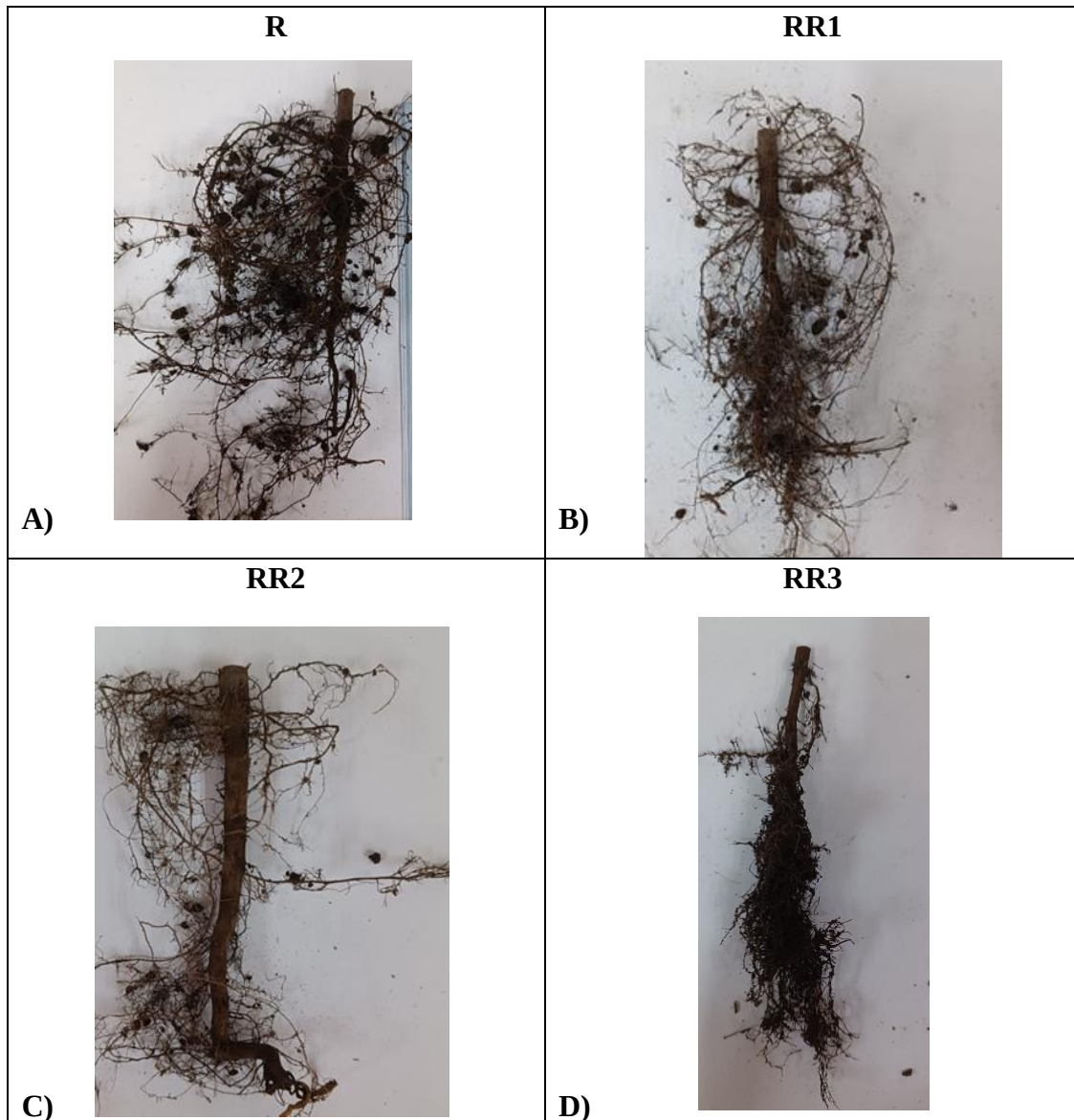
Peso y longitud Radicular de plantas de cacao CCN-51 bajo condiciones de estrés hídrico



Nota: Se muestra los tratamientos: Riego Continuo (R), Restricción de Riego de 5 días (RR1); Restricción de Riego de 10 días (RR2), Restricción de Riego de 20 días (RR3). En la variable de peso fresco radicular y longitud radicular. Las barras de error indican $\pm$ Error estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a $p < 0.05$ (test de Tukey).

Figura 3

Longitud Radicular de plantas de cacao CCN-51 bajo condiciones de restricción de riego



Nota: Se muestra los tratamientos Riego Continuo (R), Restricción de Riego de 5 días (RR1); Restricción de Riego de 10 días (RR2); Restricción de Riego de 20 días (RR3).

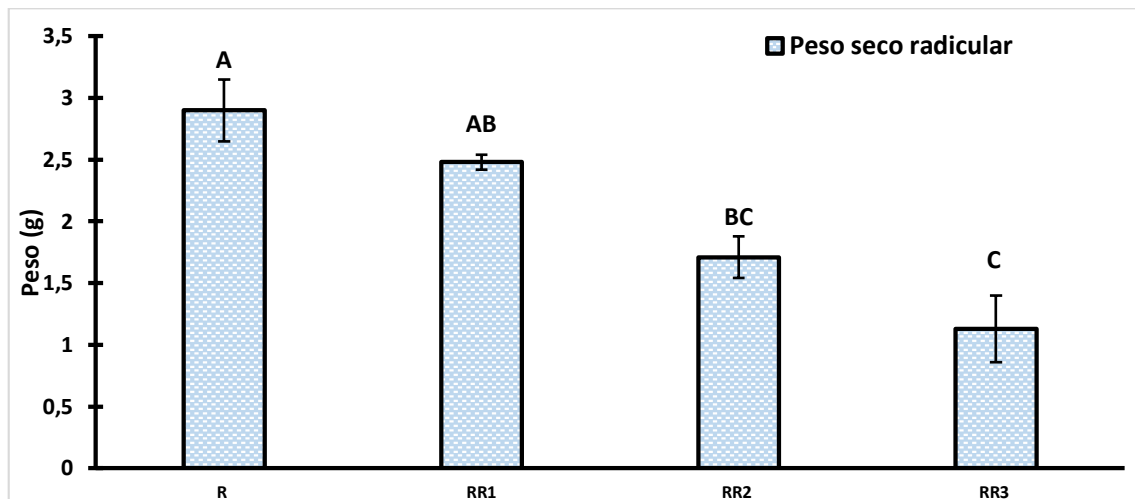
4.1.1.3. Peso Seco Radicular.

El peso seco radicular se evaluó a los 31 días. Se encontró diferencias significativas entre los tratamientos por la restricción de riego. El tratamiento de restricción de riego (RR3) provocó una disminución del peso radicular seco (1,13 g.) dado a la falta de disponibilidad hídrica reduciendo así hasta el 50% de la elongación y peso de las raíces. El tratamiento RR2 a restricción de riego 10 días mostro un peso radicular (1,71 g.). A diferencia del nivel de

restricción de riego (RR1) presentó un mayor rango de tolerancia y menos sensibilidad al estrés hídrico con un peso de raíz de (2,78 g.). El aumento de severidad de condiciones hídricas ha demostrado variaciones morfométricas en el desarrollo radicular de CCN51, evidenciando en tratamiento (R) con el mayor peso seco promedio de 2,90 g. (Figura 4).

Figura 4

Peso Seco Radicular de plantas de cacao CCN-51 bajo condiciones de estrés hídrico



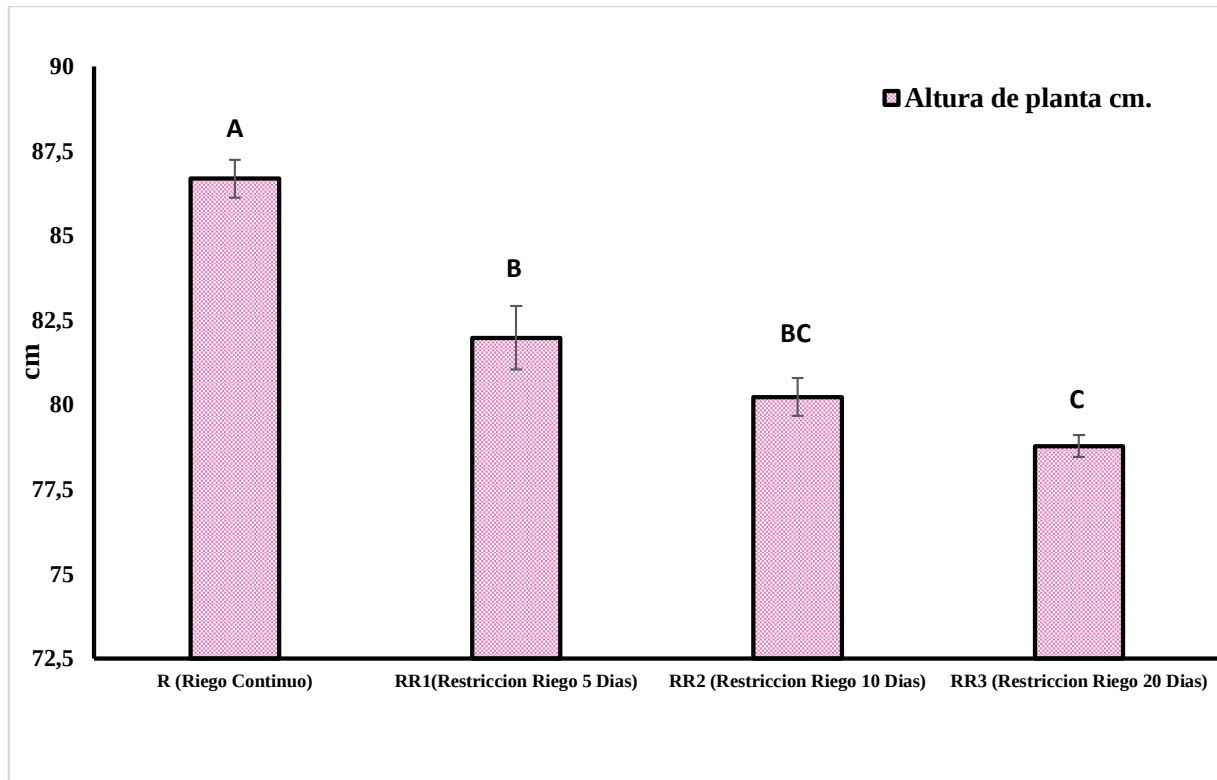
Nota: Se muestra los tratamientos: Riego Continuo (R), Restricción de Riego de 5 días (RR1); Restricción de Riego de 10 días (RR2), Restricción de Riego de 20 días (RR3). En la variable peso seco radicular. Las barras de error indican $\pm$ Error estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a $p < 0.05$ (test de Tukey).

4.1.1.4. Altura de Planta.

La altura de planta se evaluó a los 31 días. Se evidencian diferencias significativas entre los tratamientos de restricción de riego. La tolerancia de CCN51 en base a tasa de crecimiento, se representó en el tratamiento de restricción de riego (RR3) provocando una disminución de la altura (78,78 cm.) dado a falta de disponibilidad hídrica. Por otra parte, el tratamiento RR2 a restricción de riego 10 días mostró una altura de planta (80,23 cm.), mientras que la restricción de riego (RR1) presentó un mayor rango de tolerancia y menos sensibilidad al estrés hídrico (81,98 cm.). Por lo tanto, el tratamiento (R) mostró la mayor altura en planta (86,68 cm.) (Figura 5).

Figura 5

Altura de plantas de cacao CCN-51 bajo condiciones de estrés hídrico



Nota: Se muestra los tratamientos: Riego Continuo (R), Restricción de Riego de 5 días (RR1); Restricción de Riego de 10 días (RR2), Restricción de Riego de 20 días (RR3). En la variable de altura de plantas. Las barras de error indican $\pm$ Error estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a $p < 0.05$ (test de Tukey).

4.1.2. Determinar el grado de infección de *Phytophthora palmivora* sobre las características agronómicas en cacao CCN51 bajo condición de estrés hídrico

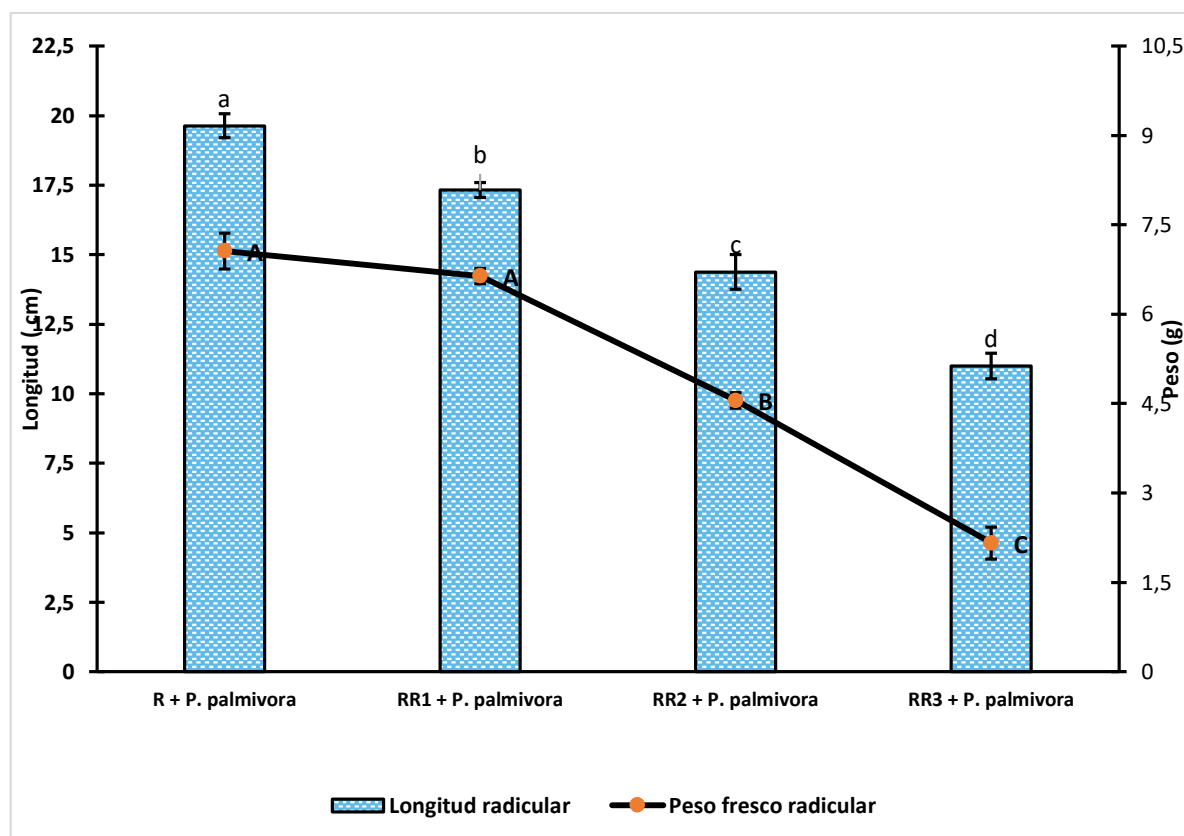
4.1.2.1. Peso y Longitud Radicular.

La incidencia de los dos factores biótico y abióticos que influyen sobre los caracteres agronómicos de peso fresco y longitud radicular en CCN51 se evaluaron al final del experimento (31 días). Evidenciando diferencias significativas entre los tratamientos. La sensibilidad a la tolerancia de CCN51 por la falta de disponibilidad de agua en el lapso de riego de 20 días (RR3 + *P. palmivora*), disminuyó el peso y longitud radicular (2,16 g. y 11 cm). Por consiguiente, el tratamiento RR2 + *P. palmivora* perdió peso y longitud radicular obteniendo (4,55 g. y 14,38 cm.). Es considerable mencionar que las presencias de los dos factores incidieron sobre la pérdida de peso y longitud del sistema radicular. La restricción

de riego se disminuía cada 5 días (RR1 + *P. palmivora*), presento bajo estrés hídrico con peso y longitud radicular (6,64 g. y 17,33 cm.). Esto demuestra que, aumentando los tiempos de restricción de riego, el peso y longitud radicular disminuyen considerablemente. De tal manera el tratamiento de riego continuo (R) presento un peso y longitud radicular (7,06 g. y 19,63 cm.) mayor (Figura 6).

Figura 6

Peso y longitud Radicular de plantas de cacao CCN-51 bajo condiciones de estrés hídrico e inoculación de Phytophthora palmivora



Nota: Se muestra los tratamientos: Riego Continuo(R) + *P. palmivora*, Restricción de Riego 5 días (RR1) + *P. palmivora*, Restricción de Riego 10 días (RR2) + *P. palmivora*, Restricción de Riego 20 días (RR3) + *P. palmivora*. En la variable de peso y longitud radicular. Las barras de error indican $\pm$ Error estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a $p < 0.05$ (test de Tukey).

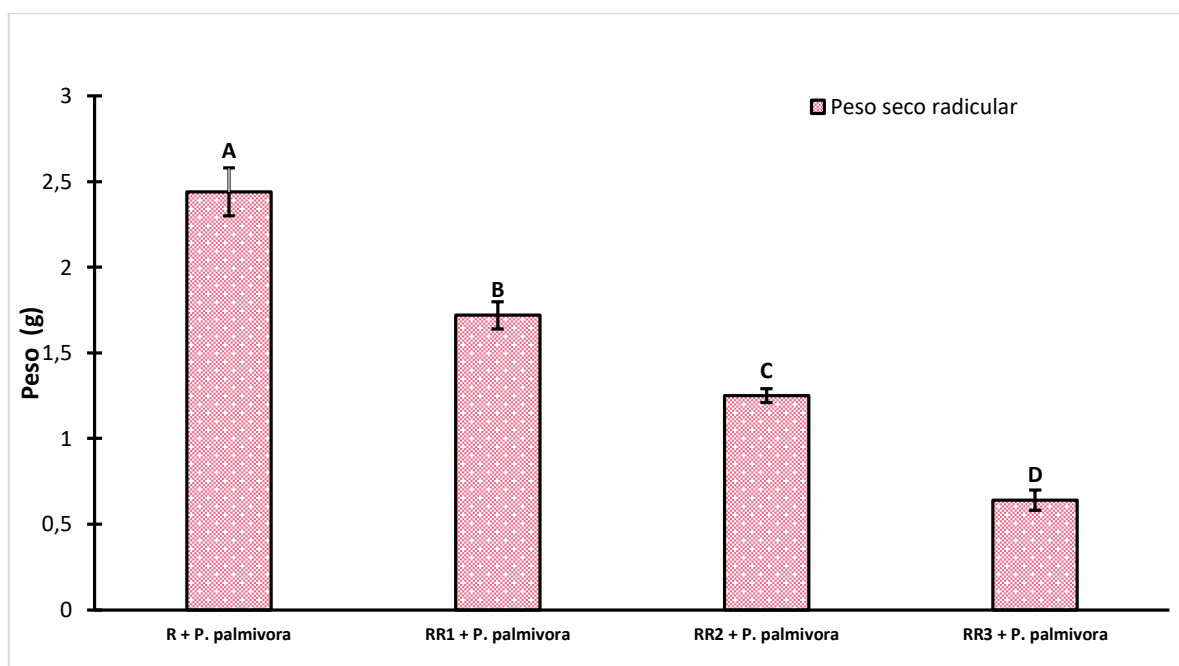
4.1.2.2. *Peso Seco Radicular.*

El peso seco radicular se evaluó a los 31 días. Se encontró diferencias significativas entre la restricción de riego más el patógeno. El tratamiento de restricción de riego (RR3 + *P. palmivora*) provocó un déficit de peso radicular seco (0,64 g.) dado a la falta de

disponibilidad hídrica reduciendo así hasta el 50 % de la elongación y peso de las raíces. Por consiguiente, el tratamiento a restricción de riego 10 días (RR2 + *P. palmivora*) presentó valores bajos de peso (1,25 g.). A medida que se disminuye la restricción de agua (RR1 + *P. palmivora*) se verifica mayor tolerancia y menos sensibilidad al estrés biótico y abiótico (1,72 g.). El aumento de severidad de condiciones hídricas ha demostrado variaciones morfométricas en el desarrollo radicular de CCN51, evidenciando en tratamiento (R + *P. palmivora*) con el mayor peso seco promedio de 2,40 g. (Figura 7).

Figura 7

Peso Seco Radicular de plantas de cacao CCN-51 bajo condiciones de estrés hídrico e inoculación de Phytophthora palmivora



Nota: Se muestra los tratamientos: Riego Continuo(R) + *P. palmivora*, Restricción de Riego 5 días (RR1) + *P. palmivora*, Restricción de Riego 10 días (RR2) + *P. palmivora*, Restricción de Riego 20 días (RR3) + *P. palmivora*. En la variable de peso seco radicular. Las barras de error indican $\pm$ Error estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a $p < 0.05$ (test de Tukey).

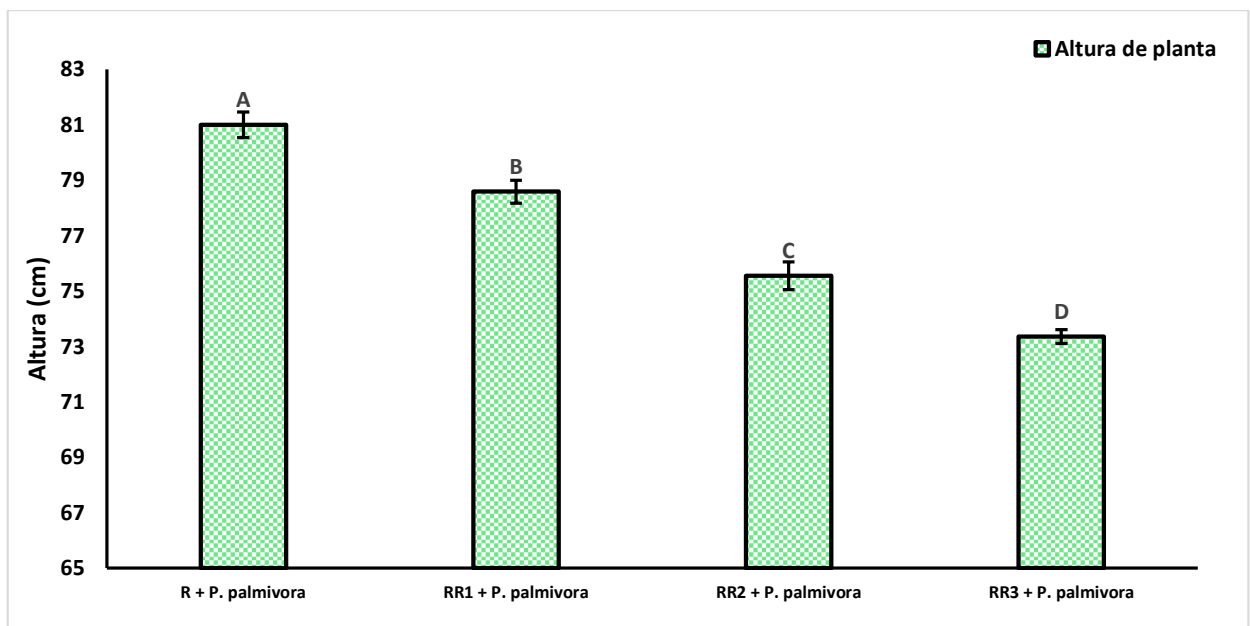
4.1.2.3. Altura de Planta.

La altura de planta se evaluó a los 31 días. Se evidencio diferencias significativas entre los tratamientos de restricción de riego conjuntamente con la aplicación de patógeno. El grado de susceptibilidad de CCN51 en base a tasa de crecimiento es comprometida en presencia de dos factores, bióticos y abióticos. Representado en la falta de disponibilidad de agua en

el lapso de 20 días (RR3 + *P. palmivora*) provocando la disminución de la altura (73,30 cm.). Por otra parte, el tratamiento (RR2 + *P. palmivora*) a restricción de riego 10 días mostró pérdida de altura (75,55 cm.), a medida que la restricción de riego disminuye la incidencia de los dos factores causa menores efectos en la altura de planta. Demostrado en la restricción de riego (RR1 + *P. palmivora*) presento mayor tolerancia y menos sensibilidad al estrés hídrico (78,55 cm.). Seguidamente, el tratamiento (R + *P. palmivora*) mostro la mayor altura en planta (81 cm.) (Figura 8).

Figura 8

Altura de plantas de cacao CCN-51 bajo condiciones de estrés hídrico e inoculación de Phytophthora palmivora



Nota: Se muestra los tratamientos: Riego Continuo(R) + *P. palmivora*, Restricción de Riego 5 días (RR1) + *P. palmivora*, Restricción de Riego 10 días (RR2) + *P. palmivora*, Restricción de Riego 20 días (RR3) + *P. palmivora*. Las barras de error indican $\pm$ Error estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a $p < 0.05$ (test de Tukey).

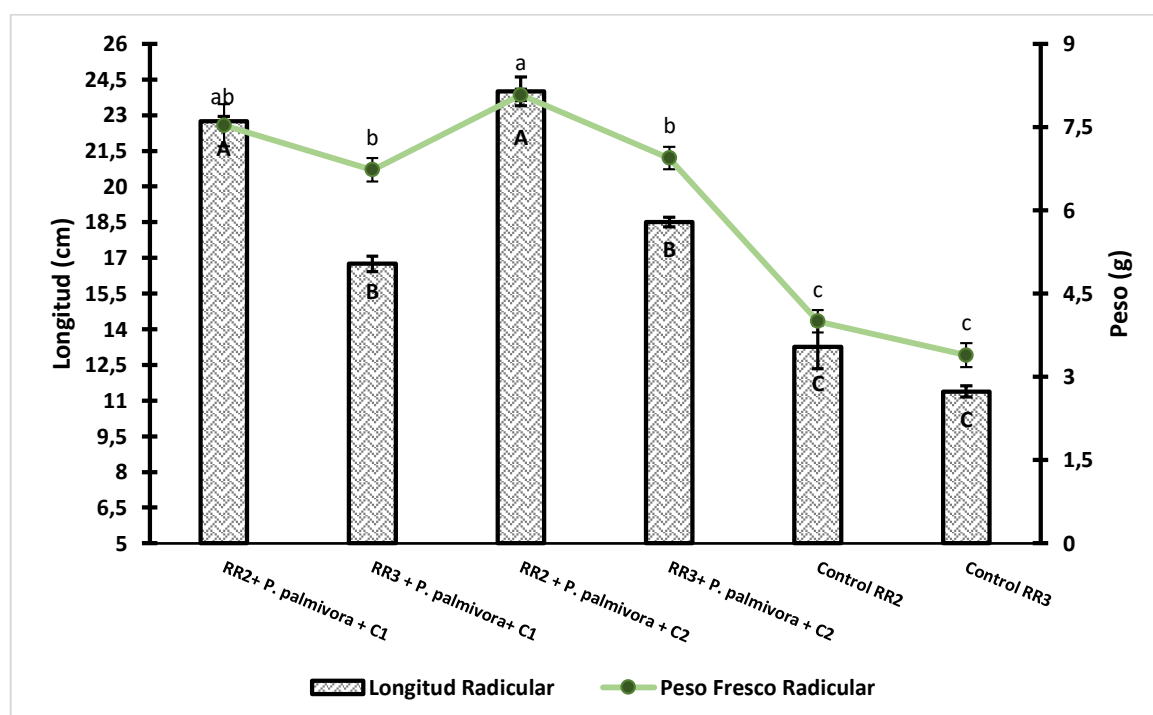
4.1.3. Determinar el grado de protección de rizobacterias a cacao CCN51 en presencia de *Phytophthora palmivora* y estrés hídrico.

4.1.3.1. Peso y Longitud Radicular.

La inoculación de rizobacterias pueden generar protección cuando CCN51 es afectada por estrés biótico y abiótico, se logró evidenciar diferencias significativas entre los tratamientos. La aplicación de bacterias PGPRs indujo al aumento del peso fresco y longitud del sistema radicular a distintas restricciones de riego en comparación a los tratamientos control (RR2 y RR3). La aplicación del consorcio C2 en restricción de riego 10 días (RR2 + *P. palmivora*) indujo un incremento en longitud y peso radicular con promedio (24 cm. y 8,08 g.) indicando superioridad ante los demás tratamientos (Figura 9.; Figura 10. C). De igual manera en consorcio C1 (RR2 + *P. palmivora*) estimuló el desarrollo radicular obteniendo valores promedio (22,75 cm. y 7,53 g.) (Figura 9.; Figura 10. A). Sin embargo, el promedio más bajo se evidencio en lapsos de restricción de riego a 20 días (*P. palmivora* + C2) presentando valores de peso y longitud (6,73 g. y 16,70 cm) (Figura 9.; Figura 10. D).

Figura 9

Peso y longitud radicular de plantas de cacao CCN-51 expuestas a restricción hídrica e inoculadas con P. palmivora y rizobacterias seleccionadas

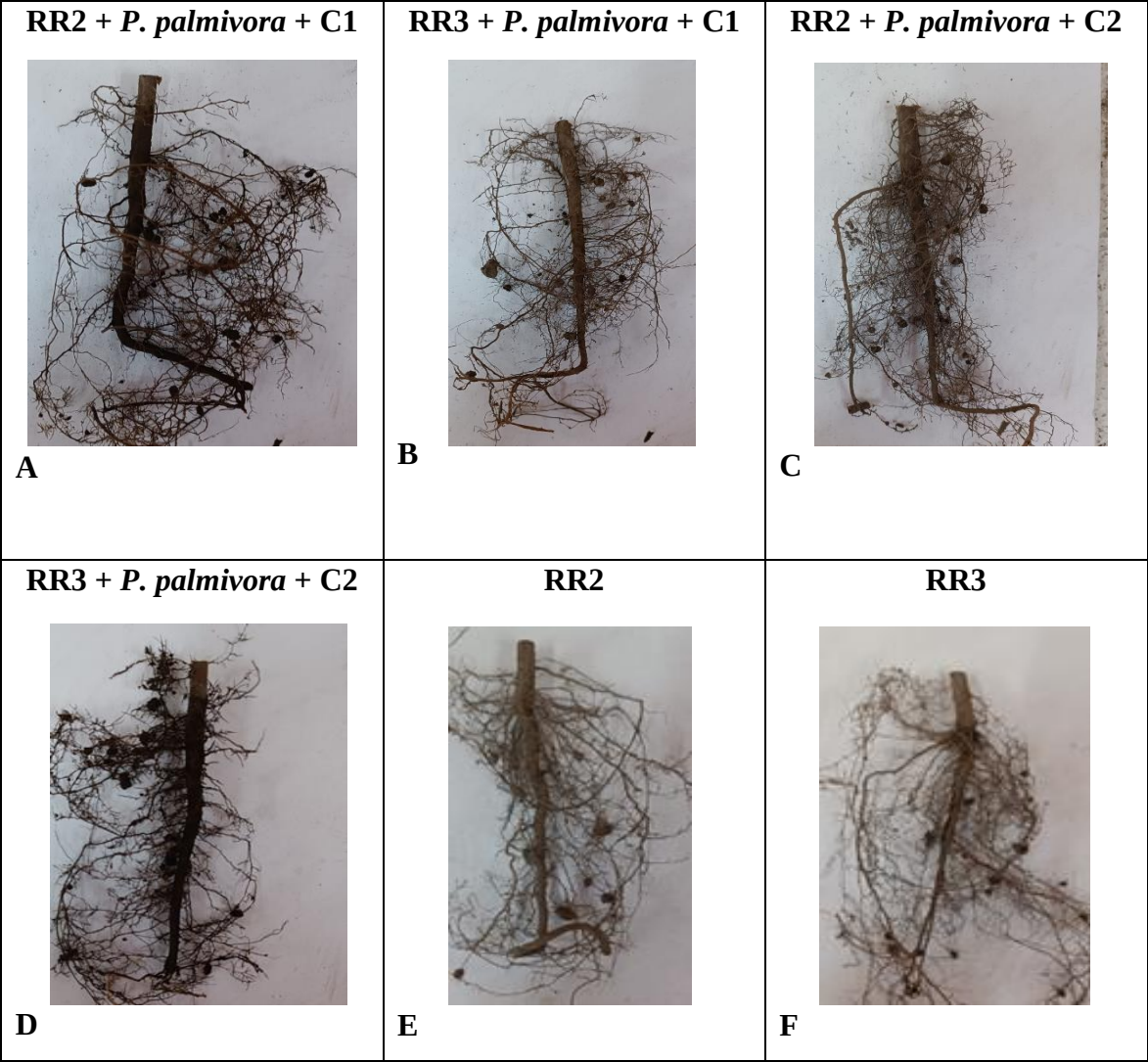


Nota: Se muestra los tratamientos: Restricción de Riego 10 días (RR2) + *P. palmivora* + C1 , Restricción de Riego 20 días (RR3) + *P. palmivora* + C1, Restricción de Riego 10 días (RR2) + *P. palmivora* + C2, Restricción de Riego 20 días (RR3) + *P. palmivora* + C2, Control (RR2), Control (RR3); Consorcio1 (C1): (*Pseudomonas putida* BMR 2-4, *Enterobacter asburiae* BA 4-19, *Pseudomonas putida* PB 3-6), Consorcio 2 (C2):

(*Pseudomonas fluorescens* CHA0, *Pseudomona veronii* R4, *Acinetobacter calcoaceticus* BMR2-12). En la variable de peso y longitud. Las barras de error indican $\pm$ Error estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a $p < 0.05$ (test de Tukey).

Figura 10

Longitud radicular de plantas de cacao CCN-51 inoculadas con P. palmivora y bacterias seleccionadas



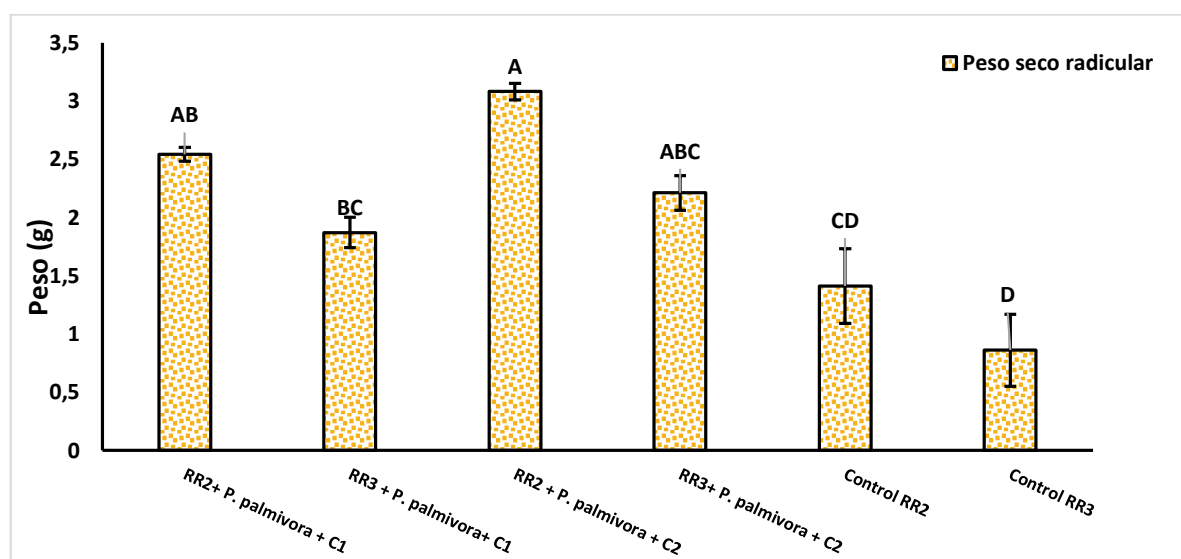
Nota: Se muestra los tratamientos: Restricción de Riego 10 días (RR2) + *P. palmivora* + C1 , Restricción de Riego 20 días (RR3) + *P. palmivora* + C1, Restricción de Riego 10 días (RR2) + *P. palmivora* + C2, Restricción de Riego 20 días (RR3) + *P. palmivora* + C2, Control (RR2), Control (RR3); Consorcio1 (C1): (*Pseudomonas putida* BMR 2-4, *Enterobacter asburiae* BA 4-19, *Pseudomonas putida* PB 3-6), Consorcio 2 (C2): (*Pseudomonas fluorescens* CHA0, *Pseudomona veronii* R4, *Acinetobacter calcoaceticus* BMR2-12).

4.1.3.2. Peso seco radicular

El proceso de verificación de las PGPR en generar protección cuando CCN51 es afectada por estrés biótico y abiótico, se logra evidenciar diferencias significativas entre los tratamientos. La aplicación de bacterias PGPRs induce el aumento del peso seco radicular a distintas restricciones de riego en comparación con el control. El consorcio C2 (RR2+ *P. palmivora*) presento los mejores resultados de peso seco en comparación con el control cuando las plantas se ven expuestas a restricción de riego extrema 3,08 g. En cuanto a las plantas que se encontraban en restricción de riego 10 días con consorcio C1 (RR2+*P. palmivora*) mostro un aumento de altura con un promedio de 2,54 g., mientras que la aplicación de consorcio C2 (RR3 + *P. palmivora*) genero una minoría en peso seco (2,21 g.) Sin embargo, el consorcio C1 (RR3 + *P. palmivora*) mostro cifras más bajas presentando promedio de 1,87 g. (Figura 11).

Figura 11

Peso seco radicular de plantas de cacao CCN-51 inoculadas con P. palmivora y bacterias seleccionadas



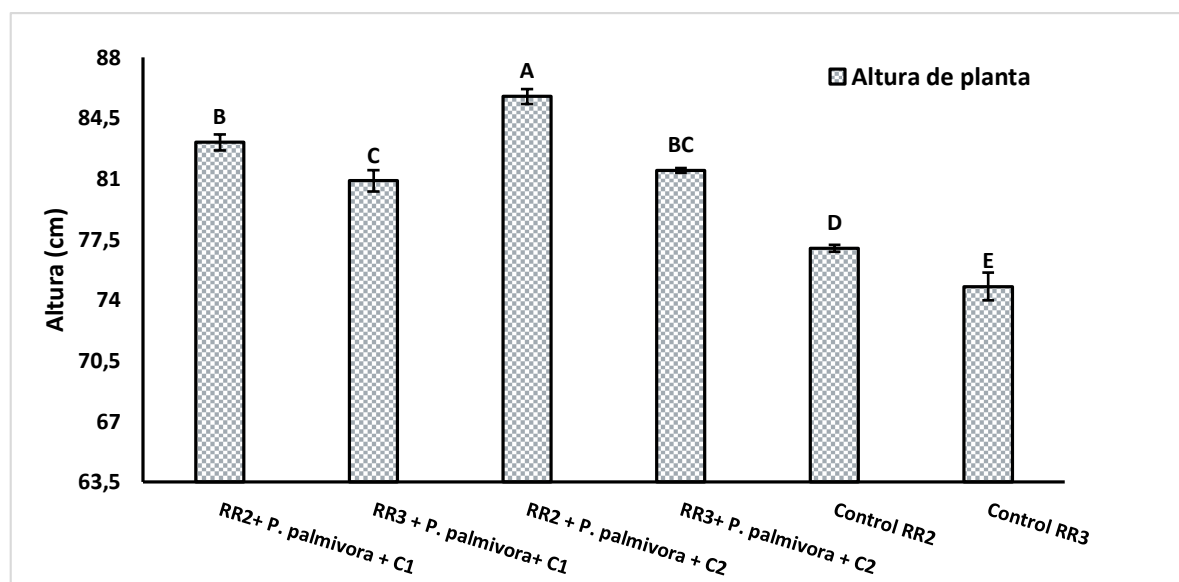
Nota: Se muestra los tratamientos: Restricción de Riego 10 días (RR2) + *P. palmivora* + C1 , Restricción de Riego 20 días (RR3) + *P. palmivora* + C1, Restricción de Riego 10 días (RR2) + *P. palmivora* + C2, Restricción de Riego 20 días (RR3) + *P. palmivora* + C2, Control (RR2), Control (RR3); Consorcio1 (C1): (*Pseudomonas putida* BMR 2-4, *Enterobacter asburiae* BA 4-19, *Pseudomonas putida* PB 3-6), Consorcio 2 (C2): (*Pseudomonas fluorescens* CHA0, *Pseudomona veronii* R4, *Acinetobacter calcoaceticus* BMR2-12). En la variable peso seco radicular. Las barras de error indican $\pm$ Error estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a $p < 0.05$ (test de Tukey).

4.1.3.3. Altura de Planta.

El proceso de verificación de las PGPR en generar protección cuando CCN51 es afectada por estrés biótico y abiótico, se logra evidenciar diferencias significativas entre los tratamientos. La aplicación de bacterias PGPRs en CCN-51 presentaron diferencias de altura en cada una de las restricciones de riego. El consorcio C2 (RR2+ *P. palmivora*) presento los mejores resultados de altura en comparación con el control cuando las plantas se ven expuestas a restricción de riego extrema 87,75 cm. En cuanto a las plantas que se encontraban en restricción de riego 10 días con consorcio C1 (RR2+*P. palmivora*) mostro un aumento de altura con un promedio de 83,10 cm., a diferencia de restricción de riego C2 (RR3+*P. palmivora*) genero plantas con altura 81,48 cm. Sin embargo, el consorcio C1 (RR3 + *P. palmivora*) mostro cifras más bajas de altura presentando promedio de 80,88 cm. (Figura12).

Figura 12

Altura de plantas de cacao CCN-51 inoculadas con P. palmivora y bacterias seleccionadas



En la figura 12 se muestra los tratamientos: Restricción de Riego 10 días (RR2) + *P. palmivora* + C1 , Restricción de Riego 20 días (RR3) + *P. palmivora* + C1, Restricción de Riego 10 días (RR2) + *P. palmivora* + C2, Restricción de Riego 20 días (RR3) + *P. palmivora* + C2, Control (RR2), Control (RR3); Consorcio1 (C1): (*Pseudomonas putida* BMR 2-4, *Enterobacter asburiae* BA 4-19, *Pseudomonas putida* PB 3-6), Consorcio 2 (C2): (*Pseudomonas fluorescens* CHA0, *Pseudomona veronii* R4, *Acinetobacter calcoaceticus* BMR2-12). En la variable de altura de plantas. Las barras de error indican $\pm$ Error estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a $p < 0.05$ (test de Tukey).

4.2. Discusión

4.2.1. Establecer los rangos de tolerancia de cacao CCN51 bajo condición de estrés hídrico

Los resultados obtenidos son indicativos de cómo diferentes regímenes de riego afectan significativamente las características fisiológicas y de desarrollo del cacao CCN51 bajo estrés hídrico. El monitoreo del contenido de agua en las hojas a lo largo del tiempo reveló que los intervalos más largos de restricción de riego mantuvieron niveles de agua más bajos, lo que resultó en una significativa pérdida de agua y disminución de la presión de turgencia. Esto resalta la importancia de una gestión adecuada del riego para mantener condiciones óptimas para el crecimiento de las plantas. La evaluación del peso fresco, longitud y peso seco radicular muestra claramente que el riego continuo fue fundamental para el mantenimiento del desarrollo radicular, observando una relación directa entre la falta de disponibilidad de agua y la disminución significativa del peso fresco, longitud y peso seco radicular. Varios estudios aportan valiosa información sobre cómo el estrés hídrico afecta el crecimiento y desarrollo de diferentes cultivos, especialmente enfocados en el cacao, *Theobroma cacao*, y cítricos, así como los enfoques para mitigar sus efectos adversos. García y Moreno (2015) y Almeida y Valle (2007) revelan que la cantidad y disponibilidad de agua en el suelo son críticas para el desarrollo del cacao. Niveles bajos de agua afectan la fotosíntesis y aumentan la resistencia estomática, lo que indica estrés hídrico. También se destaca cómo la temperatura, humedad y radiación solar influyen en la absorción de agua y la fisiología del cacao.

Además, las diferencias significativas en la altura de las plantas de cacao entre los distintos tratamientos refuerzan la influencia directa del régimen de riego en el crecimiento de las plantas. El riego continuo favoreció al crecimiento de plantas más altas en comparación con los tratamientos de sequía, lo que subraya la importancia del suministro constante de agua para el desarrollo óptimo de las plantas. Estos resultados concuerdan con los reportados por Osorio *et al.* (2021) donde indica que el estrés hídrico disminuye la tasa de fotosíntesis y el crecimiento del cacao, pero induce la acumulación de compuestos antioxidantes. Los genes antioxidantes parecen desempeñar un papel crucial en la respuesta del cacao al estrés hídrico. La investigación sugiere que la selección de clones resistentes y la manipulación genética de estos genes podrían mejorar la productividad del cacao en condiciones de estrés hídrico, así

mismo, Dela *et al.* (2021) indicó que el estrés hídrico atmosférico como el del suelo reducen la densidad del dosel en cacaotales, destacando cómo la humedad del suelo y la presión de vapor afectan la velocidad de la savia y la transpiración de las plantas.

Como parte del sistema de defensa, las plantas, incluido el cacao CCN51, responden al estrés hídrico cerrando las estomas para reducir la pérdida de agua a través de la transpiración (Dela *et al.*, 2021). Sin embargo, este cierre estomático puede disminuir la entrada de dióxido de carbono necesario para la fotosíntesis, lo que afecta la capacidad de la planta para producir nutrientes y energía (Ramírez *et al.*, 2019). La disponibilidad de agua influye en el desarrollo del sistema radicular. Bajo condiciones de estrés hídrico, las raíces tienden a crecer más superficialmente en busca de humedad, lo que las hace más vulnerables a condiciones extremas y limita la capacidad de absorber nutrientes esenciales para el crecimiento y desarrollo óptimos (Vázquez *et al.*, 2017).

4.2.2. Determinar el grado de infección de *Phytophthora palmivora* sobre las características agronómicas en cacao CCN51 bajo condición de estrés hídrico

Los resultados presentados indican que el régimen de riego continuo (R) resultó en un significativo aumento en el peso fresco y longitud radicular, así como en el peso seco radicular. Asimismo, la altura de las plantas de cacao mostró una relación directa con el régimen de riego, donde el tratamiento de riego continuo (R) generó las plantas más altas. Esto sugiere que el suministro constante de agua puede ser crucial para el desarrollo de las raíces en condiciones de estrés hídrico. Estos hallazgos resaltan la importancia del suministro constante de agua para mantener un adecuado crecimiento radicular y altura en las plantas de cacao, especialmente en presencia de estrés hídrico y la influencia de patógenos como *P. palmivora*. Las estrategias que mantengan un suministro continuo de agua podrían ser esenciales para el óptimo desarrollo y la resistencia de las plantas de cacao en condiciones adversas, como la presencia de patógenos y situaciones de sequía. El efecto observado se debe a que la infección por este hongo debilita la planta al dañar las raíces y los tejidos, lo que a su vez limita su capacidad para absorber agua y nutrientes, empeorando el efecto del estrés hídrico (Nonthakaew *et al.*, 2022). Esta combinación afecta el crecimiento general de la planta, reduciendo la altura, el desarrollo de brotes y la formación de nuevas hojas, impactando negativamente en la capacidad de la planta para llevar a cabo la fotosíntesis y la

producción de frutos, lo que la hace más susceptible a futuros ataques de patógenos y condiciones estresantes (Cedeño *et al.*, 2020).

Otros autores concuerdan que *Phytophthora palmivora* afecta negativamente la producción de cacao cuando se combina con el estrés hídrico, se agrava. La enfermedad provoca la caída prematura de las flores, destruye las almendras en desarrollo y afecta la calidad de las que logran madurar (Cedeño *et al.*, 2020). El estrés hídrico disminuye la capacidad de la planta para defenderse de la infección, lo que resulta en una mayor pérdida de rendimiento y calidad (Syamsuddin *et al.*, 2021). Esto crea un ciclo de vulnerabilidad continua que puede dificultar la recuperación y la salud a largo plazo de las plantas de cacao, pudiendo reducir la longevidad de la plantación de cacao, disminuyendo su productividad a largo plazo y amenazando la sostenibilidad de la producción (Syamsuddin *et al.*, 2021; Dela *et al.* 2021)

4.2.3. Determinar el grado de protección de rizobacterias a cacao CCN51 en presencia de *Phytophthora palmivora* y estrés hídrico.

Los resultados indican que la aplicación del tratamiento (RR2 + *P. palmivora* + C2), que consiste en la inoculación de *P. palmivora* junto con PGPRs, reflejó el mayor peso fresco y seco radicular, así como una longitud radicular. Además, en cuanto a la altura de las plantas fue mayor cuando se combinó PGPRs e inoculación de *P. palmivora*. Esto sugiere que la presencia de *P. palmivora* junto con PGPRs puede estar relacionada con un mayor crecimiento de las plantas. Estos hallazgos sugieren un efecto positivo en el desarrollo radicular del cacao CCN51 al combinar la presencia de *P. palmivora* con PGPRs. Estos resultados resaltan la posible influencia positiva de la combinación de *P. palmivora* con PGPRs en el desarrollo radicular y la altura de las plantas de cacao, lo que podría indicar una prometedora estrategia para mejorar el rendimiento y la resistencia de estas plantas ante condiciones adversas. Diversas investigaciones sobre el uso de rizobacterias como agentes de biocontrol y promotores del crecimiento vegetal (PGPR) ofrecen una visión amplia de su potencial y aplicación en la agricultura. Las rizobacterias, al ser microorganismos que habitan la rizosfera de las plantas, desempeñan un papel crucial en la salud y el crecimiento de los cultivos, destacado su efectividad en el control de patógenos, la mejora del crecimiento de las plantas y la resistencia al estrés, lo que sugiere su importancia en el desarrollo de estrategias agrícolas sostenibles y respetuosas con el medio ambiente.

En el estudio de Cedeño *et al.*, (2020), se destaca la importancia de entender la biodiversidad de *Phytophthora* spp. y cómo afecta al cultivo de cacao, junto con el potencial de las rizobacterias para combatir la enfermedad de la mazorca negra. Los resultados resaltan la eficacia de ciertas rizobacterias para inhibir el crecimiento micelial del patógeno y, por ende, mejorar la salud de las plantas de cacao. En una línea similar, el estudio de Syamsuddin *et al.* (2021) profundiza en cómo ciertas rizobacterias pueden actuar como promotoras del crecimiento de las plantas, no solo controlando enfermedades como la *P. palmivora* en el cacao, sino también mejorando la viabilidad y el crecimiento de las plántulas. Esto sugiere un potencial significativo para reducir el uso de agroquímicos y mejorar la sostenibilidad de los cultivos. El trabajo sobre las propiedades promotoras del crecimiento de *Streptomyces* spp. en judía mungo, Nonthakaew *et al.*, (2022) refuerza la importancia de estos microorganismos en la agricultura. Además de mejorar el crecimiento de las plantas, se destaca su actividad antifúngica y su impacto en la diversidad y composición del microbioma de la rizósfera, lo que podría tener implicaciones significativas para la salud y el crecimiento de las plantas. (Taslim, 2019) resalta cómo los aislados de rizobacterias muestran diferencias en su actividad inhibitoria, lo que subraya la importancia de la identificación de cepas efectivas para el control biológico de patógenos.

Además, estudios como los de Chandra *et al.* (2021), Moradi *et al.* (2020), y Chen *et al.* (2022) exponen el potencial de las rizobacterias para mitigar el estrés hídrico y osmótico en diferentes cultivos, como el mijo, el maíz dulce y el switchgrass, respectivamente. La capacidad de estas bacterias para mejorar la absorción de nutrientes y reducir la acumulación de etileno destaca su importancia para la resistencia de las plantas en condiciones adversas. La producción de ACC desaminasa por las PGPR también es un punto clave, como se evidencia en el estudio de Gupta *et al.* (2022), donde estas cepas mostraron una capacidad significativa para reducir la producción de etileno y promover el crecimiento de plantas de *Pisum sativum* en suelos salinos. Khan y Bano (2019) resalta el potencial de la combinación de PGPR y ácido salicílico para contrarrestar los efectos adversos del estrés por falta de humedad en el trigo, lo que podría ser vital para aumentar la resistencia de los cultivos a las condiciones climáticas cambiantes. En cuanto a la resistencia las rizobacterias han demostrado capacidad para inhibir el crecimiento de *P. palmivora*. Algunas cepas de rizobacterias tienen la habilidad de secretar sustancias que son antagonistas contra estos patógenos fúngicos. Estas sustancias pueden ser antibióticos, enzimas o compuestos que afectan el crecimiento y desarrollo del hongo patógeno (Cedeño *et al.*, 2020).

Las rizobacterias pueden competir con los patógenos por nutrientes y espacio en la rizósfera del cacao. Al poblar el suelo y la zona de las raíces de la planta, las rizobacterias pueden reducir la disponibilidad de recursos necesarios para el crecimiento y desarrollo de *Phytophthora palmivora* (Syamsuddin *et al.*, 2021). Al interactuar con las raíces del cacao, pueden desencadenar respuestas de defensa en la planta, activando su sistema inmunológico (Taslim, 2019). Esto puede hacer que la planta sea más resistente a las infecciones fúngicas y reducir el impacto de la enfermedad de la mazorca negra causada por *P. palmivora* (Chandra *et al.*, 2021). Las rizobacterias sobre la tolerancia al estrés están ligada a la producción de enzimas como la ACC desaminasa, que ayuda a reducir los niveles de etileno, una hormona del estrés, y metabolitos protectores que ayudan a la planta a lidiar con la falta de agua (Moradi *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2022). Pueden mejorar la capacidad de la planta de cacao para absorber nutrientes y agua del suelo, lo que le permite resistir mejores condiciones de estrés hídrico, ayudando a mantener su turgencia y estructura celular incluso en condiciones de sequía, lo que puede resultar en una mejor adaptación al estrés hídrico (Chandra *et al.*, 2021).

CAPITULO V
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- El régimen de restricción de riego a intervalos largos (cada 10 y 20 días) presentaron valores más bajos en peso fresco, longitud radicular, peso seco radicular y altura de planta, afectando negativamente al desarrollo de las características agronómicas de las plantas de cacao
- Los valores alcanzados en los ensayos demostraron que la infección de *P.palmivora* y las restricciones de riego afectan negativamente al desarrollo de CCN51 donde (RR2 y RR3 + *P.palmivora*) demuestran promedios bajos de en peso fresco, longitud radicular, peso seco radicular y altura de planta.
- La inoculación de rizobacterias y *P. palmivora* ejercieron frente a restricción de riego ejercieron un efecto estimulante en las plantas de CCN51, evidenciado en las variables estudiadas, el consorcio C2 de rizobacterias presento resultados significativamente altos en restricción de riego a 10 días en peso radicular, longitud radicular, peso seco y altura demostrando adaptabilidad a restricciones de riego.

5.2. Recomendaciones

- Considerar el riego continuo para conservar el peso fresco y la longitud radicular, fundamentales para el crecimiento óptimo de las plantas. Evaluar el riego como medida para contrarrestar la pérdida de peso fresco y longitud radicular durante el estrés hídrico.
- Analizar cómo el estrés hídrico aumenta la vulnerabilidad del cacao CCN51 a la infección por *P. palmivora*. Implementar estrategias para mitigar estos riesgos y fortalecer la resistencia a la enfermedad en condiciones de estrés hídrico.
- Considerar el uso de rizobacterias para mejorar la altura y el desarrollo general de las plantas de cacao CCN51, incluso en condiciones de estrés hídrico y presencia de *P. palmivora*. Establecer estrategias que potencien la acción protectora de las rizobacterias.

CAPÍTULO VI
BIBLIOGRAFÍA

6.1. Bibliografía

- Adams H., Friedel G., Knoke C., y Moraz I. (18 de Enero de 2012). *Strengthening the cocoa sector in Ecuador*. Rikolto.org. Recuperado el 16 de febrero de 2023, de <https://www.rikolto.org/en/project/strengthening-cocoa-sector-ecuador>
- Aguilar R., Carrasco C., Morales A., Yovera F., y Maldonado E. (2020). Etiology of regressive dieback by *Phytophthora palmivora* in the crop of cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Manglar (Tumbes)*, 17(3), 187–192. <https://doi.org/10.17268/manglar.2020.028>
- Ahemad M., y Kibret M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University. Science*, 26(1), 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>
- Ahmad F., Ahmad I., y Khan M. S. (2008). Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological Research*, 163(2), 173–181. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.04.001>
- Akrofi A., Amoako I., Assuah M., y Asare E. (2015). Black pod disease on cacao (*Theobroma cacao*, L) in Ghana: Spread of *Phytophthora megakarya* and role of economic plants in the disease epidemiology. *Crop Protection (Guildford, Surrey)*, 72, 66–75. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.01.015>
- Akrofi A., Appiah A. y Opoku I. (2003). Management of Phytophthora pod rot disease on cocoa farms in Ghana. *Crop Protection (Guildford, Surrey)*, 22(3), 469–477. [https://doi.org/10.1016/s0261-2194\(02\)00193-x](https://doi.org/10.1016/s0261-2194(02)00193-x)
- Almeida A. y Valle R. (2007). Ecophysiology of the cacao tree. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 19(4), 425–448. <https://www.icco.org/wp-content/uploads/T2.237.DINAMICA-HIDRICA-DEL-CACAO-Theobroma-cacao-L.pdf>
- Backer R., Rokem J., Ilangumaran G., Lamont J., Praslickova D., Ricci E., Subramanian S., y Smith D. (2018). Plant growth-promoting rhizobacteria: Context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in plant science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01473>
- Bastos V. (2020). Evolución de la industria de cacao en Colombia y Ecuador entre los años 2009 al 2019 (Vol. 1, Número 1). Universidad Privada del Norte. <https://repositorio.upn.edu.pe/handle/11537/25158>

- Beg M., Ahmad S., Jan K., y Bashir K. (2017). Status, supply chain and processing of cocoa - A review. *Trends in food science y technology*, 66, 108–116.
- Bhattacharyya P., y Jha D. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4), 1327–1350. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0979-9>
- Boyer J. (1982). Plant productivity and environment. *Science (New York, N.Y.)*, 218(4571), 443–448. <https://doi.org/10.1126/science.218.4571.443>
- Boza E., Motamayor J., Amores F. Cedeño S., Tondo C., Livingstone, D., Schnell, R., y Gutiérrez O. (2014). Genetic characterization of the cacao cultivar CCN 51: Its impact and significance on global cacao improvement and production. *Journal of the American Society for Horticultural Science. American Society for Horticultural Science*, 139(2), 219–229. <https://doi.org/10.21273/jashs.139.2.219>
- Cabrera H. (2002). Respuestas ecofisiológicas de plantas en ecosistemas de zonas con clima mediterráneo y ambientes de altamontaña. *Revista Chilena de Historia Natural (Valparaíso, Chile: 1983)*, 75(3), 625–637.
- Camelo, M., Vera S., y Bonilla R. (2011). Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Corpoica ciencia y tecnología agropecuaria*, 12(2), 159–166.
- Camino M., Andrade D., y Pesantez V. (2016). Posicionamiento y eficiencia del banano, cacao y flores del Ecuador en el mercado mundial. *Ciencia Unemi*, 9, 48–53.
- Canchignia H., Pinargote C., Peñafiel M., Carranza S., Prieto O., y Gaibor R. (2016). Respuesta de poblaciones microbianas que lideran el crecimiento en raíces y resistencia sistémica inducida. *Ciencia y tecnología*, 8(2), 1–11. <https://doi.org/10.18779/cyt.v8i2.150>
- Cedeño, A., Ricardo, R., Auhing, J., Mendoza, A., Abasolo, F., y Canchignia, H. (2020). Characterization of *Phytophthora spp.* and application of rhizobacteria with biocontrol potential in black pod disease in *Theobroma cacao* variety CCN-51. *Scientia agropecuaria*, 11(4), 503–512. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.04.05>
- Cedeño G., Gerding M., Moraga G., Inostroza L., Fischer S., Sepúlveda M., Oyarzúa P. (2018). *Plant growth promoting rhizobacteria with ACC deaminase activity isolated from Mediterranean dryland areas in Chile: Effects on early nodulation in alfalfa*. Researchgate.net. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392018000300370>

- Chandra D., Srivastava R., Glick B., y Sharma A. (2020). Rhizobacteria producing ACC deaminase mitigate water-stress response in finger millet (*Eleusine coracana* (L.) Gaertn.). *3 Biotech*, 10(2). <https://doi.org/10.1007/s13205-019-2046-4>
- Chang J., Vallejo C., Párraga D., Morales W., Veliz J., y Ramos R. (2014). Atributos físicos-químicos y sensoriales de las Almendras de quince clones de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.) en el Ecuador. *Universidad: Ciencia y Tecnología*, 7(2), 21–34.
- Chaves M., Flexas J., y Pinheiro C. (2009). Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany*, 103(4), 551–560. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn125>
- Chen Z., Zhou W., Sui X., Xu N., Zhao T., Guo Z., Niu J., y Wang Q. (2022). Plant growth-promoting rhizobacteria with ACC deaminase activity enhance maternal lateral root and seedling growth in Switchgrass. *Frontiers in plant science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.800783>
- Costacurta, A., y Erleyden, J. (2015). Synthesis of phytohormones by plant-associated bacteria. *Journal of Agricultural Science and Food Research*. <https://www.indexindex.com/journal-of-agricultural-science-and-food-research/synthesis-of-phytohormones-by-plantassociated-bacteria-198220.html>
- Delgadillo P., Soto M., Rodríguez L., Carrero M., Torres E., y Yockteng R. (2020). A new method for the inoculation of *Phytophthora palmivora* (Butler) into cacao seedlings under greenhouse conditions. *Plant Methods*, 16(1), 114. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32831896>
- Della P., Cilas C., Gimeno T., Wohl S., Opoku S., Găinușă A., y Ribeyre, F. (2021). Assessment of atmospheric and soil water stress impact on a tropical crop: the case of *Theobroma cacao* under Harmattan conditions in eastern Ghana. *Agricultural and Forest Meteorology*, 311(108670), 108670. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2021.108670>
- Dodd I., Egea G., Watts C. W., y Whalley R. (2010). Root water potential integrates discrete soil physical properties to influence ABA signalling during partial rootzone drying. *Journal of Experimental Botany*, 61(13), 3543–3551. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq195>
- Dostert N., Roque J., Cano A., Torre I., Weigend M., y Federico L. (2012). Hoja botánica: Cacao. *Theobroma cacao* L. *Biblioteca Nacional de Perú* N° 2012-06345, 1(1), 15–30.

- Fuente M., Vidal J., Leyton A., Alarcón M., Sossa K., González R., Aroca G., y Urrutia H. (2015). Actividad inhibitoria del sobrenadante de la bacteria Antártica *Pseudomonas* sp. M19B en la formación de biopelículas de *Flavobacterium psychrophilum* 19749. *Revista de biología marina y oceanografía*, 5(2), 375–381.
- García J., y Moreno P. (2015). Respuestas fisiológicas de *Theobroma cacao* L. en etapa de vivero a la disponibilidad de agua en el suelo. *Acta agronomica*, 65(1). <https://doi.org/10.15446/acag.v65n1.48161>
- Glick B., Cheng Z., Czarny J., y Duan J. (2015). Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. *Journal of Agricultural Science and Food Research*. <https://www.indexindex.com/journal-of-agricultural-science-and-food-research/promotion-of-plant-growth-by-acc-deaminase-producing-soil-bacteria-198222.html>
- Griffiths H., y Parry M. (2002). Plant responses to water stress. *Annals of Botany*, 89 Spec No (7), 801–802.
- Guo H., Li C., Shi T., Fan C., y Huang, G. (2012). First report of *Phytophthora palmivora* causing root rot of cassava in China. *Plant Disease*, 96(7), 1072–1072. <https://doi.org/10.1094/pdis-09-11-0780-pdn>
- Gupta A., Rai S., Bano A., Sharma S., Kumar M., Binsuwaidan R., Suhail M., Upadhyay K., Alshammari N., Saeed M., y Pathak N. (2022). ACC deaminase produced by PGPR mitigates the adverse effect of osmotic and salinity stresses in *Pisum sativum* through modulating the antioxidants activities. *Plants*, 11(24), 3419. <https://doi.org/10.3390/plants11243419>
- Gupta K., Dubey K., Singh P., Kheni K., Gupta S., y Varshney A. (2021). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Current and future prospects for crop improvement. En *Environmental and Microbial Biotechnology* (Vol. 3, pp. 203–226). Springer Singapore.
- Hayat R., Ali S., Amara U., Khalid R., y Ahmed I. (2010). Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Annals of Microbiology*, 60(4), 579–598. <https://doi.org/10.1007/s13213-010-0117-1>
- Hebbar P. (2007). Cacao diseases: a global perspective from an industry point of view. *Phytopathology*, 97(12), 1658–1663. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18943730>
- Heidari M., y Golpayegani A. (2012). Effects of water stress and inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant status and photosynthetic

- pigments in basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 11(1), 57–61.
- Hiscox, J., y Israelstam F. (1979). A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Canadian journal of botany. Journal canadien de botanique*, 57(12), 1332–1334.
- Imakumbili, M. (2019). *Making water stress treatments in pot experiments: An illustrated step-by-step guide*. <https://www.protocols.io/view/making-water-stress-treatments-in-pot-experiments-dm6gp8m9jlzp/v1>
- Iwaro D., Sreenivasan N., y Umaharan P. (1997). *Phytophthora* resistance in cacao (*Theobroma cacao*): Influence of pod morphological characteristics. *Plant Pathology*, 46(4), 557–565. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.1997.d01-47.x>
- Jaimes Y., Guerrero R., y Castrillo L. (2017). Caracterización fisicoquímica, microbiológica y funcional de harina de cáscara de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad CCN-51. *Cuaderno activa*, 9(1), 65–75.
- Jaimez E., Barragan L., Fernández M., Wessjohann A., Cedeño G., Sotomayor Cantos, I., y Arteaga, F. (2022). *Theobroma cacao* L. cultivar CCN 51: a comprehensive review on origin, genetics, sensory properties, production dynamics, and physiological aspects. *PeerJ*, 10(e12676), e12676. <https://doi.org/10.7717/peerj.12676>
- Jaimez E., Tezara W., Coronel I., y Urich R. (2008). Ecophysiology of cocoa (*Theobroma cacao*): its management in agro forestry system. Suggestions for improvement in Venezuela. *Repositorio Institucional de la Universidad de Los Andes*, 2(1), 20–25.
- Juby, B., Minimol, J. S., Suma, B., Santhoshkumar, A. V., Jiji, J., y Panchami, P. S. (2021). Drought mitigation in cocoa (*Theobroma cacao* L.) through developing tolerant hybrids. *BMC Plant Biology*, 21(1), 594.
- Jürgen A., y Perez V. (2010). Growth and Production of Cacao. *Plant Growth and Crop Production Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*, 3, 10–25.
- Kasim A., Gaafar M., Abou R., Mohamed N., y Hewait M. (2016). Effect of biofilm forming plant growth promoting rhizobacteria on salinity tolerance in barley. *Annals of Agricultural Science*, 61(2), 217–227.
- Khan N., y Bano A. (2019). Exopolysaccharide producing rhizobacteria and their impact on growth and drought tolerance of wheat grown under rainfed conditions. *PloS One*, 14(9), e0222302. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222302>
- Lema M. (2019). Variedad CCN - 51: ¿Una Amenaza Para la Industria Del Cacao? *Perfect Daily Grind Español*. Recuperado el 16 de febrero de 2023, de

<https://perfectdailygrind.com/es/2019/07/19/variedad-ccn-51-una-amenaza-para-la-industria-del-cacao/>

- Leyton, A., Urrutia, H., Vidal, J. M., Fuente, M., Alarcón, M., Aroca, G., González, G., y Sossa, K. (2015). Actividad inhibitoria del sobrenadante de la bacteria Antártica *Pseudomonas* sp. M19B en la formación de biopelículas de *Flavobacterium psychrophilum* 19749. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 50(2), 375–381.
- Luna W., Estrada H., Jiménez M., y Pinzón L. (2012). Efecto del estrés hídrico sobre el crecimiento y eficiencia del uso del agua en plántulas de tres especies arbóreas caducifolias. *Terra Latinoamericana: órgano científico de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C*, 30(4), 343–353.
- Luna W., Estrada H., Jiménez L., Pinzon L. (2012). Effect of Water Stress on Growth and Water use Efficiency of Tree Seedlings of Three Deciduous Species. *SciELO Mexico*, 1(1), 1–11.
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792012000400343
- Marelli P., Guest I., Bailey A., Evans C., Brown K., Junaid M., Barreto W., Lisboa O., y Puig S. (2019). Chocolate under threat from old and new cacao diseases. *Phytopathology*, 109(8), 1331–1343. <https://doi.org/10.1094/phyto-12-18-0477-rvw>
- Meinhardt W., Rincones, J., Bailey A., Aime C., Griffith W., Zhang, D., y Pereira G. (2008). *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of witches' broom disease of cacao: what's new from this old foe? *Molecular Plant Pathology*, 9(5), 577–588.
<https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2008.00496.x>
- Méndez E, y Vallejo R. (2019). Mecanismos de respuesta al estrés abiótico: hacia una perspectiva de las especies forestales. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 10(56), 33–64. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i56.567>
- Mohammed A. (2018). Effectiveness of exopolysaccharides and biofilm forming plant growth promoting rhizobacteria on salinity tolerance of faba bean (*Vicia faba* L.). *African Journal of Microbiology Research*, 12(17), 399–404.
- Moradi A., Kazemeini A., Akhgar A., y Rahi A. (2020). The role of ACC deaminase producing bacteria in improving sweet corn (*Zea mays* L. var *saccharata*) productivity under limited availability of irrigation water. *Scientific Reports*, 10(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77305-6>

- Nonthakaew N., Panbangred W., Songnuan W., y Intra B. (2022). Plant growth-promoting properties of *Streptomyces* spp. isolates and their impact on mung bean plantlets' rhizosphere microbiome. *Frontiers in microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.967415>
- Okey N., Duncan J., Sirju G., y Sreenivasan N. (1996). Factors affecting the susceptibility of six cocoa clones to *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butler bark canker in Trinidad. *Plant Pathology*, 45(1), 84–91.
- Ordoñez M., Juan S., Jesus C., y David M. (2021). Los sistemas agroforestales y la incidencia sobre el estatus hídrico en árboles de cacao. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 19(1), 256–267. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(19\)256-267](https://doi.org/10.18684/bsaa(19)256-267)
- Osorio A., Castillo A., Rodríguez L., y Terán W. (2021). Cacao (*Theobroma cacao* L.) response to water stress: Physiological characterization and antioxidant gene expression profiling in commercial clones. *Frontiers in Plant Science*, 12, 700855.
- Osorio A., Castillo A., Rodríguez L., y Terán W. (2021). Cacao (*Theobroma cacao* L.) response to water stress: Physiological characterization and antioxidant gene expression profiling in commercial clones. *Frontiers in plant science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.700855>
- Osorio A., Berdugo A., Coronado A., Baez E., Jaimes Y., y Yockteng R. (2020). Genome-wide association study reveals novel candidate genes associated with productivity and disease resistance to *Moniliophthora* spp. In cacao (*Theobroma cacao* L.). *Genetics (Bethesda, Md.)*, 10(5), 1713–1725.
- Perrine, F. (2020). *Phytophthora palmivora*–cocoa interaction. *Journal of Fungi (Basel, Switzerland)*, 6(3), 167. <https://doi.org/10.3390/jof6030167>
- Phillips W., y Cerda R. (2009). *Catálogo de enfermedades del cacao en Centroamérica* (3a ed., Vol. 1). Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE).
- Polanco R., Gicela A., y Rodríguez V. (2015). *Identificación y manejo de la pudrición parda de la mazorca (Phytophthora sp.) en cacao*. Agrosavia.co.
- Ramírez A., Veitía N., Torres D., Rivero L., García R., Collado R., y López R. (2019). Longitud de la raíz: indicador morfológico de la respuesta al estrés hídrico en *Phaseolus vulgaris* L. en casa de cultivo. *Biotecnología vegetal*, 19(3), 225–233. <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/649>

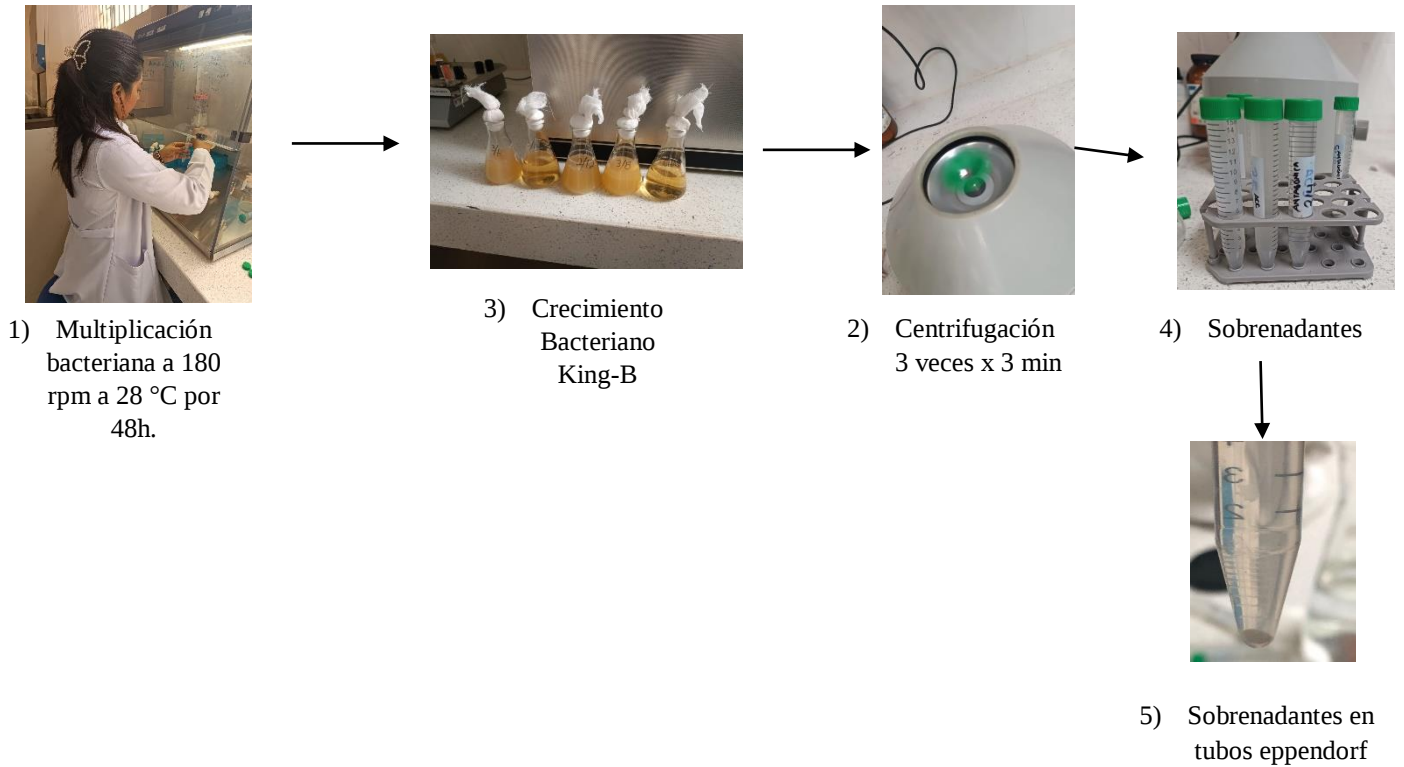
- Rusconi M., y Conti A. (2015). *Theobroma cacao, the food of the gods*. Barry-callebaut.com. <https://www.barry-callebaut.com/en/group/media/press-kit/theobroma-cacao-food-gods>
- Schippers B., Bakker A., y Bakker P. (1987). Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. *Annual Review of Phytopathology*, 25(1), 339–358. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.25.090187.002011>
- Segarra P. (2019). *Sinergias entre Degradación de la Tierra y Cambio Climático en los Paisajes Agrarios del Ecuador*. Edu.ec. Recuperado el 16 de febrero de 2023, de <https://biblio.flacsoandes.edu.ec/libros/digital/57189.pdf>
- Soto A. (2014). *Factores bióticos y abióticos: ¿Cómo afectan mis cultivos?* Extensión en español. Recuperado el 17 de febrero de 2023, de <https://extensionesp.umd.edu/2022/08/15/factores-bioticos-y-abioticos-como-afectan-mis-cultivos/>
- Suh N., y Molua E. (2022). Cocoa production under climate variability and farm management challenges: Some farmers' perspective. *Journal of Agriculture and Food Research*, 8(100282), 100282.
- Syamsuddin S., Marlina M., Chamzurni T., y Maulidia V. (2021). Indigenous Rhizobacteria treatment in controlling diseases *Phytophthora palmivora* and increasing the viability and growth of cocoa seedling. *Jurnal Natural*, 21(2), 105–113. <https://jurnal.usk.ac.id/natural/article/view/21216>
- Taslim S. (2019). *Development of biological seed treatment utilization using indigenous rhizobacteria to control pod rot disease (Phytophthora palmivora) on cacao (Theobroma cacao L.)*. <https://doi.org/10.9790/2380-1309030108>
- Upadhyay, S, Singh S., y Singh P. (2011). Exopolysaccharide-producing plant growth-promoting rhizobacteria under salinity condition. *Pedosphere*, 21(2), 214–222.
- Ureta M., Santos L., y Palacios R. (2021). Factors which Favor the exports of cocoa grains from Ecuador. *Interciencia*, 46, 272–279.
- Vázquez M., Rodríguez J., Pérez M., y Betancourt M. (2017). Estrés hídrico y salino en cítricos. Estrategias para la reducción de daños. *Cultivos Tropicales*, 38(4), 65–74.
- Wehner F., Olsen H., Tinel H., Kinne E., y Kinne H. (2003). Cell volume regulation: osmolytes, osmolyte transport, and signal transduction. En *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology* (Vol. 148, pp. 1–80). Springer Berlin Heidelberg.

- White W., y Castillo A. (1989). Relative effect of root and shoot genotypes on yield of common bean under drought stress. *Crop Science*, 29(2), 360–362.
<https://doi.org/10.2135/cropsci1989.0011183x002900020026x>
- White W., y Castillo A. (1992). Evaluation of diverse shoot genotypes on selected root genotypes of common bean under soil water deficits. *Crop Science*, 32(3), 762–765.
<https://doi.org/10.2135/cropsci1992.0011183x003200030037x>

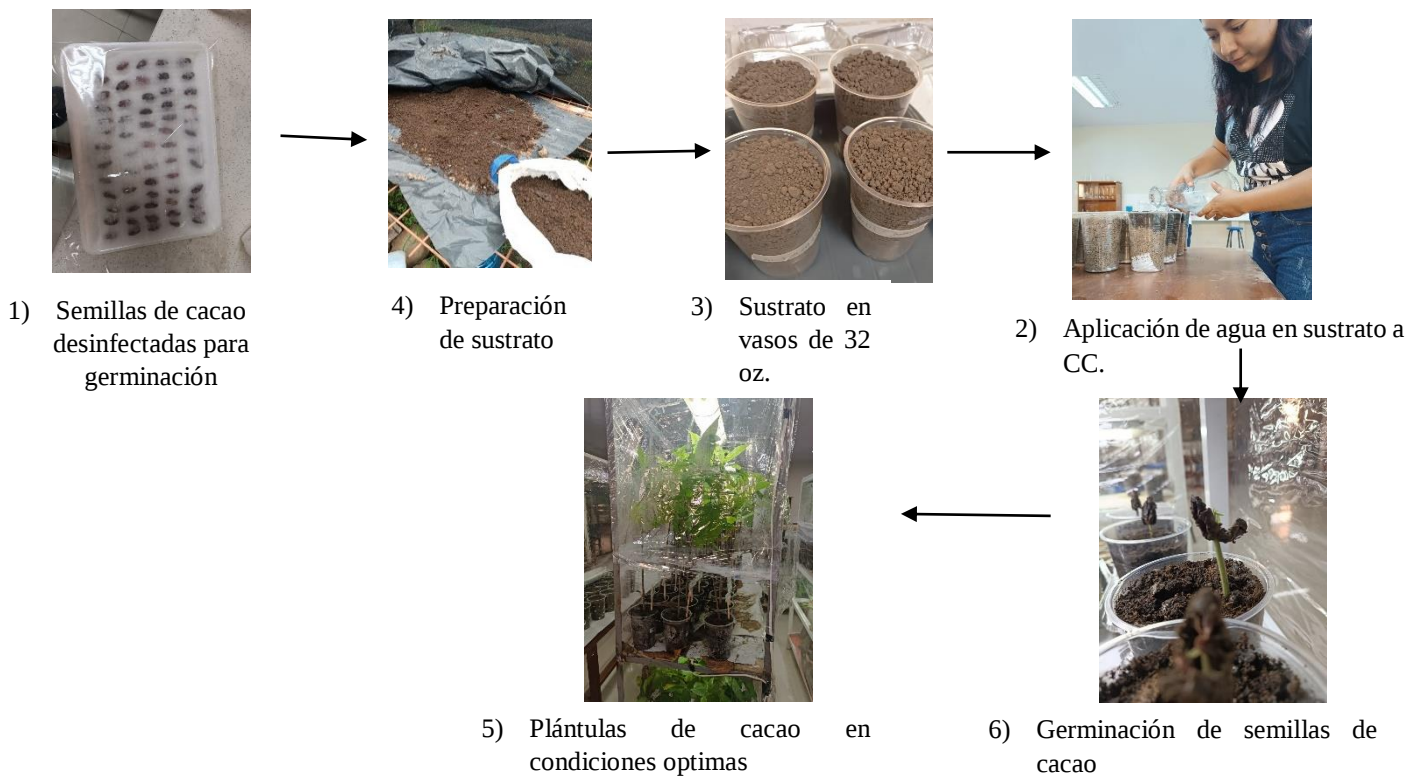
CAPÍTULO VII
ANEXOS

7.1. Anexos

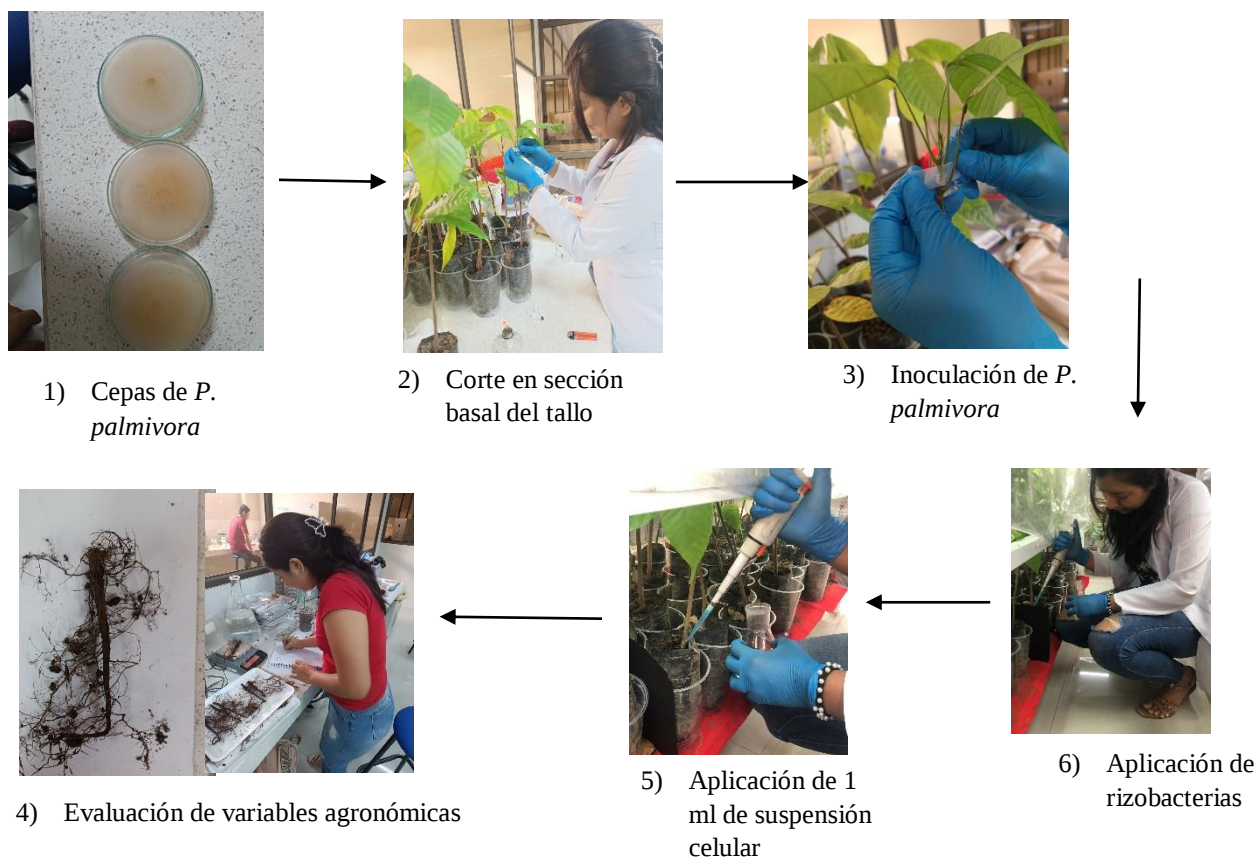
Anexo A. Obtención de sobrenadantes bacterianos.



Anexo B. Preparación de suelo y plantas de cacao.



Anexo C. Inoculación de *P. palmivora* y aplicación de rizobacterias.



Anexo D. ADEVA Primer experimento-Contenido relativo de agua DIA 0.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ²	Aj
CV Dia 0	16	0,62	0,37	
				<u>1,49</u>

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-
valor	Modelo			28,78	6
4,80	2,46	0,1088			
TRATAMIENTOS	17,61	3	5,87	3,01	0,0872
Repetición	11,17	3	3,72	1,91	0,1988
Error	17,56	9	1,95		
Total	46,34	15			

Anexo E. ADEVA primer experimento- Contenido relativo de agua DIA 5.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
Día 5	16	0,92	0,86	1,01	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	82,35	6	13,72	16,87	0,0002
TRATAMIENTOS	78,84	3	26,28	32,31	<0,0001
Repeticion	3,51	3	1,17	1,44	0,2953
Error	7,32	9	0,81		
Total	89,67	15			

Anexo F. ADEVA primer experimento- Contenido relativo de agua DIA 10.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
Día 10	16	0,89	0,82	2,26	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	283,57	6	47,26	12,21	0,0007
TRATAMIENTOS	273,42	3	91,14	23,55	0,0001
Repeticion	10,15	3	3,38	0,87	0,4896
Error	34,83	9	3,87		
Total	318,41	15			

Anexo G. ADEVA primer experimento- Contenido relativo de agua DIA 15.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
Día 15	16	0,98	0,97	1,61	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	899,40	6	149,90	77,44	<0,0001
TRATAMIENTOS	887,48	3	295,83	152,83	<0,0001
Repeticion	11,91	3	3,97	2,05	0,1771
Error	17,42	9	1,94		
Total	916,82	15			

Anexo H. ADEVA primer experimento- Contenido relativo de agua DIA 20.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
Día 20	16	1,00	0,99	0,95	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1662,49	6	277,08	416,13	<0,0001
TRATAMIENTOS	1660,81	3	553,60	831,42	<0,0001
Repeticion	1,68	3	0,56	0,84	0,5044
Error	5,99	9	0,67		
Total	1668,49	15			

Anexo I. ADEVA primer experimento- Contenido relativo de agua DIA 25.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
Día 25	16	1,00	0,99	1,08	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1766,31	6	294,38	330,79	<0,0001
TRATAMIENTOS	1762,22	3	587,41	660,05	<0,0001
Repeticion	4,08	3	1,36	1,53	0,2727
Error	8,01	9	0,89		
Total	1774,32	15			

Anexo J. ADEVA primer experimento- Contenido relativo de agua DIA 30.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
Día 30	16	0,99	0,99	1,22	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1540,78	6	256,80	223,80	<0,0001
TRATAMIENTOS	1539,98	3	513,33	447,38	<0,0001
Repeticion	0,80	3	0,27	0,23	0,8722
Error	10,33	9	1,15		
Total	1551,10	15			

Anexo K. ADEVA experimento 1: peso fresco

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
Peso fresco rad	16	0,99	0,98	4,29	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	66,84	6	11,14	123,67	<0,0001
TRATAMIENTOS	66,24	3	22,08	245,11	<0,0001
REPETICIONES	0,60	3	0,20	2,23	0,1535
Error	0,81	9	0,09		
Total	67,65	15			

Anexo L. ADEVA experimento 1: longitud radicular.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
long	16	0,97	0,95	4,60

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	163,62	6	27,27	45,26	<0,0001
TRATAMIENTOS	158,23	3	52,74	87,54	<0,0001
REPETICIONES	5,38	3	1,79	2,98	0,0891
Error	5,42	9	0,60		
Total	169,04	15			

Anexo M. ADEVA experimento 1: peso seco.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Peso Seco	16	0,82	0,70	21,05

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	7,81	6	1,30	6,97	0,0054
TRATAMIENTOS	7,49	3	2,50	13,37	0,0012
REPETICIONES	0,32	3	0,11	0,57	0,6515
Error	1,68	9	0,19		
Total	9,49	15			

Anexo N. ADEVA experimento 1: altura de plantas.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Altura	16	0,78	0,64	1,83

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	71,71	6	11,95	5,38	0,0127
TRATAMIENTOS	67,35	3	22,45	10,11	0,0031
REPETICIONES	4,36	3	1,45	0,65	0,5999
Error	19,99	9	2,22		
Total	91,70	15			

Anexo O. ADEVA experimento 2: peso fresco.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Peso fresco rad1	16	0,96	0,94	9,77

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	60,93	6	10,16	40,87	<0,0001
TRATAMIENTOS	60,77	3	20,26	81,53	<0,0001
REPETICIONES	0,16	3	0,05	0,22	0,8802
Error	2,24	9	0,25		
Total	63,17	15			

Anexo P. ADEVA experimento 2: longitud radicular.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
long	16	0,95	0,91	6,44

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	168,51	6	28,08	27,85	<0,0001
TRATAMIENTOS	167,34	3	55,78	55,32	<0,0001
REPETICIONES	1,17	3	0,39	0,39	0,7660
Error	9,08	9	1,01		
Total	177,58	15			

Anexo Q. ADEVA experimento 2: peso seco.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
peso seco1	16	0,95	0,92	13,44

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6,94	6	1,16	28,05	<0,0001
TRATAMIENTOS	6,91	3	2,30	55,89	<0,0001
REPETICIONES	0,03	3	0,01	0,22	0,8826
Error	0,37	9	0,04		
Total	7,31	15			

Anexo R. ADEVA experimento 2: altura de plantas.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
ALTURA1	16	0,95	0,92	1,16

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	136,59	6	22,76	28,47	<0,0001
TRATAMIENTOS	135,40	3	45,13	56,45	<0,0001
REPETICIONES	1,19	3	0,40	0,50	0,6935
Error	7,20	9	0,80		
Total	143,78	15			

Anexo S. ADEVA experimento 3: peso fresco.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Peso fresco	24	0,96	0,93	7,93

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	75,82	8	9,48	40,40	<0,0001
TRATAMIENTOS	75,26	5	15,05	64,16	<0,0001
REPETICIONES	0,56	3	0,19	0,80	0,5122
Error	3,52	15	0,23		
Total	79,34	23			

Anexo T. ADEVA experimento 3: longitud radicular.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LONG	24	0,97	0,95	5,90

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	507,00	8	63,38	57,65	<0,0001
TRATAMIENTOS	506,05	5	101,21	92,07	<0,0001
REPETICIONES	0,95	3	0,32	0,29	0,8337
Error	16,49	15	1,10		
Total	523,49	23			

Anexo U. ADEVA experimento 3: peso seco.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Peso seco	24	0,82	0,73	21,52

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	12,69	8	1,59	8,61	0,0002
TRATAMIENTOS	12,58	5	2,52	13,66	<0,0001
REPETICIONES	0,10	3	0,03	0,19	0,9026
Error	2,76	15	0,18		
Total	15,45	23			

Anexo V. ADEVA experimento 3: altura de plantas.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
ALTURA DE PLANTA	24	0,96	0,94	1,13

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	327,65	8	40,96	49,19	<0,0001
TRATAMIENTOS	322,46	5	64,49	77,46	<0,0001
REPETICIONES	5,19	3	1,73	2,08	0,1461
Error	12,49	15	0,83		
Total	340,14	23			