

## Innovación tecnológica en cacao andino

### Producto 4. Informe sobre absorción de cadmio y manejo agronómico y su validación en vivero.

Carlos Patiño Torres Ph D

Alberto Julca Otiniano Ph D

2021





Códigos JEL: Q16

FONTAGRO (Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria) es un mecanismo único de cooperación técnica entre países de América Latina, el Caribe y España, que promueve la competitividad y la seguridad alimentaria. Las opiniones expresadas en esta publicación son de los autores y no necesariamente reflejan el punto de vista del Banco Interamericano de Desarrollo (BID), del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), FONTAGRO, de sus Directorios Ejecutivos ni de los países que representan.

El presente documento ha sido preparado por Carlos Patiño Torres, Alberto Julca Otiniano, con la colaboración Segundo Bello Amez, Noel Bello Medina, Viviana Castro Cepero, Leonel Alvarado Huamán, Ricardo Borjas Ventura.

Copyright © 2021 Banco Interamericano de Desarrollo. Esta obra se encuentra sujeta a una licencia Creative Commons IGO 3.0 Reconocimiento-NoComercial-SinObrasDerivadas (CC-IGO 3.0 BY-NC-ND) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/igo/legalcode>) y puede ser reproducida para cualquier uso no comercial otorgando el reconocimiento respectivo al BID. No se permiten obras derivadas. Cualquier disputa relacionada con el uso de las obras del BID que no pueda resolverse amistosamente se someterá a arbitraje de conformidad con las reglas de la CNUDMI (UNCITRAL). El uso del nombre del BID para cualquier fin distinto al reconocimiento respectivo y el uso del logotipo del BID no están autorizados por esta licencia CC-IGO y requieren de un acuerdo de licencia adicional. Note que el enlace URL incluye términos y condiciones adicionales de esta licencia.

Esta publicación puede solicitarse a:

**FONTAGRO**

Correo electrónico: [fontagro@fontagro.org](mailto:fontagro@fontagro.org)

[www.fontagro.org](http://www.fontagro.org)



## CONTENIDO

<b>RESUMEN EJECUTIVO .....</b>	<b>3</b>
<b>Evaluación de estrategias de manejo agronómico para la disminución de la absorción de cadmio por plantas de cacao crecidas en suelos contaminados. ....</b>	<b>5</b>
<b>I. Evaluación de estrategias biológicas y químicas para reducir la absorción de cadmio por plantas de cacao .....</b>	<b>5</b>
INTRODUCCIÓN.....	5
LOCALIZACIÓN .....	6
METODOLOGÍA.....	6
Pregerminación y siembra de plántulas de cacao .....	6
Crecimiento de las plantas de cacao bajo condiciones de invernadero.....	7
Diseño experimental y análisis estadístico.....	8
RESULTADOS.....	8
Variables asociadas al crecimiento y desarrollo de las plantas .....	8
Efecto de los tratamientos sobre el contenido de cadmio foliar .....	13
CONCLUSIONES .....	19
<b>II. Efecto de dosis crecientes de cadmio en el comportamiento de cinco genotipos de <i>Theobroma cacao</i> L. bajo condiciones de invernadero en San Ramón – Chanchamayo, selva central del Perú .....</b>	<b>20</b>
INTRODUCCION.....	20
REVISIÓN DE LITERATURA.....	21
El cultivo de Cacao .....	21
Portainjerto, patrón o pie de planta .....	22
Cadmio.....	22
Cadmio en las plantas.....	24
Cadmio en el cultivo de cacao .....	25
METODOLOGÍA.....	27
RESULTADOS.....	29
Efecto de las dosis crecientes de cadmio en el crecimiento de cinco genotipos de cacao.....	29
Altura de planta .....	29
Número de hojas.....	30

Diámetro de tallo.....	32
Efecto de las dosis crecientes de cadmio en la biomasa fresca y seca de cinco genotipos de cacao.....	34
Efecto de las dosis crecientes de cadmio en la concentración de este elemento en el tejido vegetal de cinco genotipos de cacao.....	38
Características fisicoquímicas del sustrato y contenido de cadmio residual al final del experimento .....	41
CONCLUSIONES .....	43
RECOMENDACIONES.....	43
BIBLIOGRAFÍA .....	44
ANEXOS.....	50



## ABSTRACT

Cacao producers in Colombia and Peru work under conditions that make them uncompetitive, even at the regional level, however, they can take advantage of some comparative advantages, such as very high-quality materials, which are in great demand in international market. There is a recent regulations in the European Union which reduce cadmium permissible concentrations in cocoa powder and its derivatives, the situation seems to become more complicated, since it is considered that cocoas from Latin America tend to present higher rates of cadmium accumulation in its fruits, which poses health risks for consumers, both internal and external.

In order to find solutions to the presence of soils contaminated with cadmium in the southern area of Tolima department results are presented in this document. It was experimentally evaluate possible management strategies for contaminated soils, through the application of chemical amendments or through inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi, since in both cases, there is abundant evidence of their positive effects with this objective. The experiments were carried out during the second half of 2019 and early 2020. They showed that the application of mycorrhizal fungi decreased the concentration of cadmium at the foliar level. When the sowing substrate was also added with dolomite lime, the effect was synergistic. The application of dolomite lime alone or agricultural lime alone were not effective in reducing the concentration of cadmium in the leaves, and on the contrary, the opposite effect was observed.

In Peru, experiments were carried out to evaluate the effect of high cadmium concentrations on the growth and development dynamics of five cocoa genotypes CCN 51, ICS 60, ICS 95, POUND-7 and VRAE 99 with four doses of cadmium: 0, 50, 100 and 150 ppm, which are important within the producing areas of this country. In fact, materials like CCN51 are also widely distributed in Colombia. The results showed that the genotypes studied had a variable response to the different doses of cadmium tested. There was no significant effect on growth and the values reached in the variables evaluated correspond to the genetic potential of each one of them. POUND-7 was the most vigorous cultivar. Cadmium absorption capacity varied from one genotype to another. POUND-7 absorbed more cadmium and CCN-51 much less. Generally, the highest concentration of this element was found in the roots; but in no case, symptoms of phytotoxicity were observed. The high pH > 6.5 of the substrate did not affect the absorption of cadmium in cocoa plants. Furthermore, the residual available cadmium remained at a relatively high level.

### Key words

Cadmium, clones, mycorrhizae, dolomite lime, adsorption, vigor



## RESUMEN

Los productores de cacao en Colombia y Perú trabajan en condiciones que los hacen poco competitivos, incluso a nivel regional, sin embargo, pueden aprovechar algunas ventajas comparativas, como es el hecho de contar con materiales de muy alta calidad, de gran demanda en el mercado internacional. Con la expedición reciente en la Unión Europea de normas que reducen las concentraciones permisibles de cadmio en el cacao en polvo y sus derivados, la situación parece complicarse más, pues se considera que los cacaos provenientes de Latinoamérica tienden presentar mayores tasas de acumulación de cadmio en sus frutos, lo cual plantea riesgos de salud para los consumidores, tanto internos como externos.

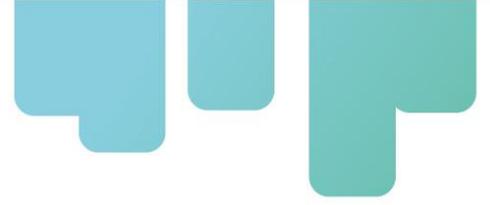
Con el fin de buscar soluciones a la presencia de suelos contaminados con cadmio en la zona sur del departamento del Tolima, el paso siguiente, cuyos resultados se presentan en este documento, fue evaluar experimentalmente posibles estrategias de manejo de estos suelos, a través de la aplicación de enmiendas químicas o a través de la inoculación con hongos micorrízico arbusculares, pues en los dos casos, hay abundante evidencia de sus efectos positivos con este objetivo.

Los experimentos, llevados a cabo durante el segundo semestre de 2019 y principios de 2020, demostraron que la aplicación de hongos micorrízicos disminuyó la concentración de cadmio a nivel foliar. Cuando el sustrato de siembra fue además adicionado con cal dolomita, el efecto fue sinérgico. La aplicación de cal dolomita sola o de cal agrícola sola no fueron efectivas en disminuir la concentración del cadmio en las hojas, y por el contrario, se observó el efecto contrario.

En Perú, se llevaron a cabo experimentos tendientes a evaluar el efecto de concentraciones elevadas de cadmio sobre la dinámica de crecimiento y desarrollo de cinco genotipos de cacao (CCN 51, ICS 60, ICS 95, POUND-7 y VRAE 99 con cuatro dosis de cadmio: 0, 50, 100 y 150 ppm), los cuales son importantes dentro de las zonas productoras de este país. De hecho, materiales como el CCN51 son también de amplia distribución en Colombia. Los resultados mostraron que los genotipos estudiados tuvieron una respuesta variable a las diferentes dosis de cadmio probadas. No hubo efecto significativo sobre el crecimiento y los valores alcanzados en las variables evaluadas corresponden al potencial genético de cada uno de ellos. El POUND-7 fue el cultivar más vigoroso. La capacidad de absorción de cadmio varió de un genotipo a otro. POUND-7 absorbió más cadmio y el CCN-51, mucho menos. Generalmente, la mayor concentración de este elemento se presentó en las raíces; pero en ningún caso, se observaron síntomas de fitotoxicidad. El alto pH > 6.5 del sustrato, no afectó la absorción del cadmio en las plantas de cacao. Además, el cadmio disponible residual se mantuvo en un nivel relativamente alto.

### Palabras clave

Cadmio, clones, micorrizas, cal dolomita, adsorción, vigorosidad



# Evaluación de estrategias de manejo agronómico para la disminución de la absorción de cadmio por plantas de cacao crecidas en suelos contaminados.

## I. Evaluación de estrategias biológicas y químicas para reducir la absorción de cadmio por plantas de cacao<sup>1</sup>

**Carlos Patiño Torres**, M. Sc. Dr. C. Ag.

### INTRODUCCIÓN

El cadmio es un metal pesado no esencial en la nutrición vegetal, clasificado como cancerígeno clase I, pero que puede ser absorbido por las plantas. Es uno de los elementos más móviles y con mayor concentración relativa de formas biodisponibles en los suelos, por cuanto puede ser fácilmente absorbido por las raíces de los cultivos, desde donde se trasfiere a los eslabones superiores de la cadena trófica, causando serios problemas en la salud humana, animal y de los ecosistemas.

De origen litogénico y antrópico, las concentraciones de cadmio en los suelos del mundo y Colombia se han incrementado de forma notable en las últimas décadas, debido a que las acciones humanas relacionadas con la aplicación de biocidas y fertilizantes a los suelos agrícolas, irrigación con aguas contaminadas, deposición de residuos y desechos orgánicos e inorgánicos, y las actividades de minería, entre otras, han incrementado de manera sustancial las entradas externas del metal a los suelos. Esta nueva condición edáfica ha conllevado a que las regulaciones mundiales relativas a la presencia de contaminantes en los alimentos se hayan hecho más estrictas, disminuyendo los valores de los contenidos permisibles de cadmio en los alimentos, lo cual obliga a buscar alternativas de manejo para disminuir los contenidos de cadmio en el suelo o las tasas de absorción y acumulación del elemento por las plantas de cultivo.

En los informes previos del proyecto, se advirtió que, en el caso de los suelos del departamento del Tolima, se encontraron puntos de muestreo, ubicados en la zona sur, que mostraron altos niveles de cadmio disponible, superiores en algunos casos a 10 ppm, lo cual plantea la necesidad de encontrar alternativas de manejo agronómico que ayuden a disminuir su absorción.

Mientras la fitorremediación con plantas hiperacumuladoras de cadmio y la biorremediación con microorganismos tolerantes constituyen una solución sostenible y eficaz para reducir los contenidos del metal en los suelos, mucha evidencia experimental demuestra que la inoculación de las plantas con microorganismos PGPR y/o con hongos micorrizógenos ha demostrado ser

---

<sup>11</sup> Este informe sirvió de base para el artículo enviado para revisión y publicación: Patiño Torres, C. In press. "Aplicación de micorrizas arbusculares y enmiendas químicas al suelo, como estrategia para la disminución de la absorción de cadmio en cacao".



una alternativa viable y sostenible para reducir las tasas de absorción o acumulación de cadmio en los tejidos vegetales de diferentes cultivos. Además, resultados previos de este proyecto, sugieren que la aplicación de enmiendas químicas al suelo, basadas en magnesio, podrían igualmente, ser estrategias eficientes para este mismo fin. El presente experimento buscó evaluar la eficacia de estas aproximaciones, bajo condiciones controladas de invernadero.

## LOCALIZACIÓN

Los ensayos de invernadero se llevaron a cabo entre los meses de agosto de 2019 y enero de 2020, en el invernadero de la sede Santa Helena de la Universidad del Tolima, en la ciudad de Ibagué, en Colombia (gráfica 1). La ciudad cuenta con un ambiente tropical húmedo, con régimen térmico templado a cálido, temperatura media anual de 23°C en los sectores bajos y 21°C en los elevados; una humedad relativa media de 72% y una precipitación que varía entre 1500 y 2000 mm/año en el perímetro urbano (Vergara Sánchez et al., 2007)<sup>2</sup>.



**Gráfica 1.** Plántulas de cacao sembradas sobre sustratos tratados con diferentes enmiendas para la absorción reducida de cadmio.

## METODOLOGÍA

### Pregerminación y siembra de plántulas de cacao

Dado que la presencia del mucílago que cubre las semillas del cacao normalmente genera inhibiciones en el proceso germinativo, las semillas de cacao del clon CCN51 utilizadas en el presente ensayo se lavaron profusamente con agua de grifo antes de la siembra, con el fin de eliminarlo manualmente.

---

<sup>2</sup> Vergara Sánchez, H. et al. 2007. Ibagué. En: Hermelin, M. (ed). Entorno natural de 17 ciudades de Colombia. Fondo Editorial Universidad EAFIT.



Una vez germinadas, las semillas se sembraron en bolsas de polietileno negro de aproximadamente 5 kg, que contenían sustratos tratados de forma diferencial, de acuerdo con la siguiente tabla, que detalla los factores sometidos a estudio.

Tabla 1. Tratamientos en estudio en vivero

Factor y categorías	
Dosis de cadmio (ppm)	Enmienda*
0	Suelo sin tratamiento
1.0	Suelo + cal agrícola
2.5	Suelo + cal dolomita
5.0	Suelo + MgSO <sub>4</sub>
10.0	Suelo + micorrizas
	Suelo + micorrizas+ cal dolomita

La cal dolomita y la cal agrícola se aplicaron en dosis de 1.5 ton/ha y los hongos micorrízico arbusculares en dosis de 1 g/planta

La combinación de los dos factores de estudio (dosis de cadmio y enmiendas) produjeron 30 tratamientos, para cada uno de los cuales se dispusieron de 10 repeticiones. En el caso de los tratamientos que se adicionó cadmio al suelo, éste se aplicó como una solución de cloruro de cadmio (CdCl<sub>2</sub>), un mes antes de la siembra. Esta misma dosis se aplicó en forma periódica mensual, de acuerdo con el tratamiento.

Las dosis de las enmiendas empleadas, es decir, la cal agrícola o la dolomita, se agregaron y mezclaron con el suelo un mes antes de la siembra de las semillas de cacao. El experimento se diseñó en una distribución completamente aleatoria, con diez repeticiones por tratamiento. El análisis químico del suelo obtenido de una finca cacaotera, utilizado como sustrato, arrojó los siguientes resultados: pH, 5,1; materia orgánica, 2,1%; CIC, 24 meq 100 g<sup>-1</sup>; fósforo (Bray II), 39 mg kg<sup>-1</sup>; Ca, 4,3; Mg, 1,5; Na, 0,1; K (K<sub>2</sub>O), 0,5 meq 100 g<sup>-1</sup>; Fe, 12; Cu, 0,3; Zn, 3,1; Mn, 5,2; B, 0,19; S, 39 mg kg<sup>-1</sup>; Al, 0,4 meq 100 g<sup>-1</sup>, saturación de aluminio, 5,9%; relación Ca/Mg, 2,9; textura, FA.

### Crecimiento de las plantas de cacao bajo condiciones de invernadero

Las plántulas permanecieron por seis meses en condiciones de vivero bajo regímenes de riego adecuados, período en el que se aplicó fertilizante sólido NPK, en una única dosis, de acuerdo con los resultados del análisis de suelos.

Se llevó un registro quincenal de las variables: altura de plantas, número de hojas y diámetro del tallo. Las variables medidas al final de los ensayos fueron: materia fresca del tallo (MFT), materia fresca de la raíz (MFR), altura de planta (AP) y materia seca por hoja (MFH), como variables de crecimiento y desarrollo de las plántulas. Se determinó también, una vez cosechadas las plantas, el contenido de cadmio foliar utilizando espectrofotometría de absorción atómica en horno de grafito. En este último caso, los análisis se hicieron en el laboratorio Láserex de la Universidad



del Tolima.

### Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño utilizado correspondió a un diseño completamente aleatorizado con 30 tratamientos (6 tipos de enmiendas x cinco dosis de cadmio) y 10 repeticiones por tratamiento. Para el análisis de cadmio foliar en laboratorio, se mezclaron las hojas de las 10 plantas en cada tratamiento, y se dividieron aleatoriamente en tres muestras, cada una de las cuales se tomó como una repetición.

Los datos de los resultados se analizaron a través de un análisis multivariado de varianza; y las medias producidas por los tratamientos para las diferentes variables de estudio se compararon a través de una prueba de Tukey, en los dos casos con un nivel de significancia del 0.05. El procesamiento de los datos se efectuó con el software IBM SPSS 25.

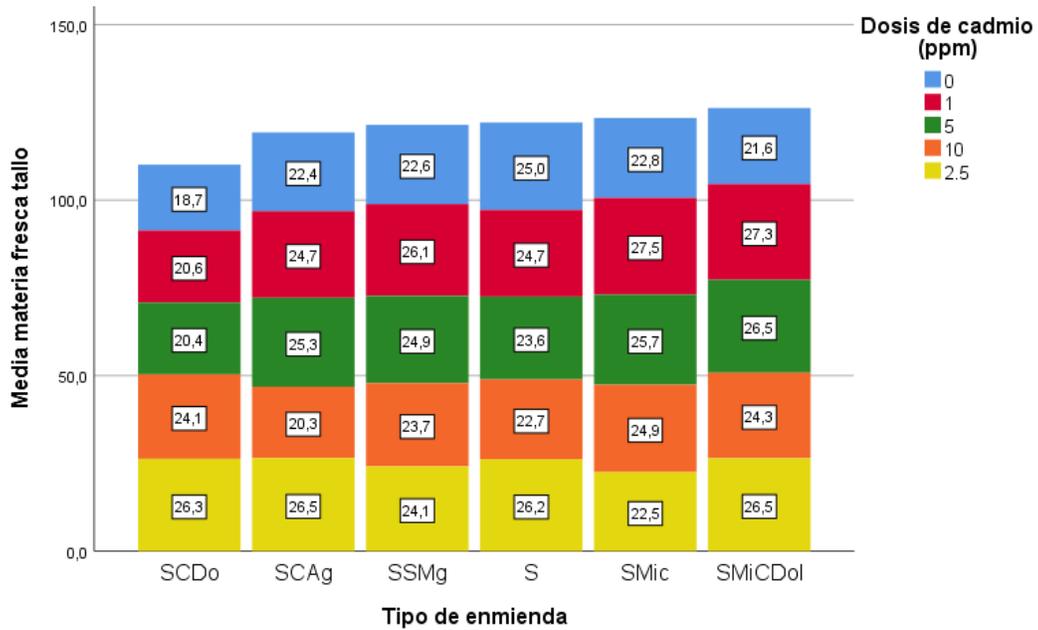
## RESULTADOS

### VARIABLES ASOCIADAS AL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE LAS PLANTAS

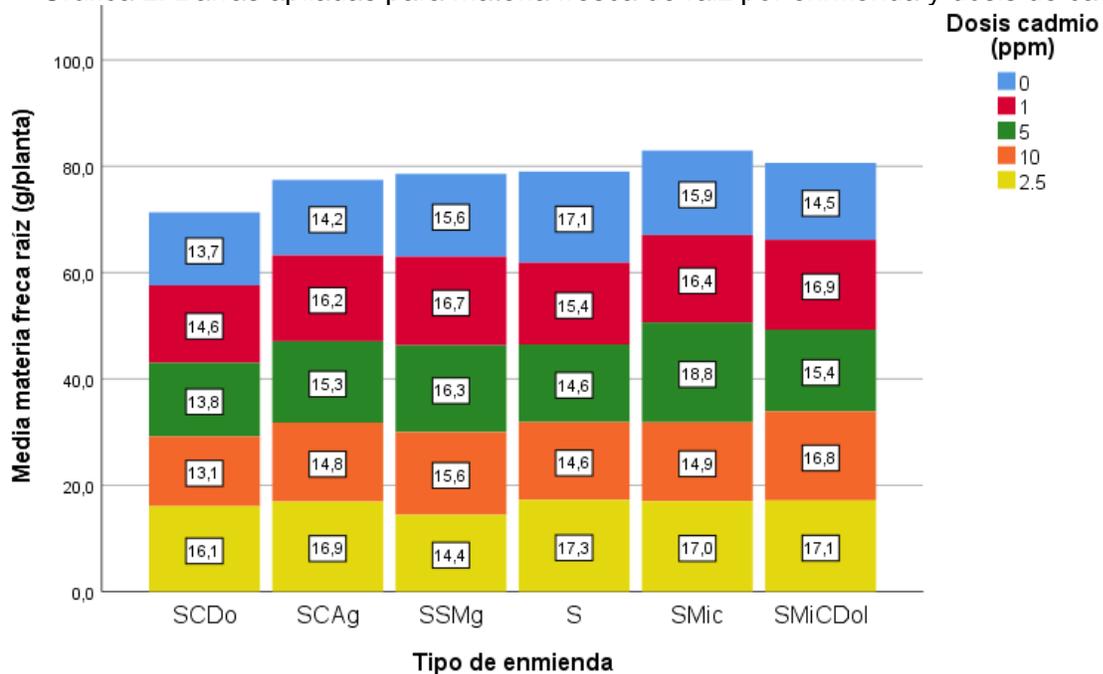
El análisis de varianza multivariado no arrojó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos aplicados sobre las variables MFR, MFT, MFH y AP, no obstante, en términos absolutos, la aplicación de micorrizas, solas o en combinación con cal dolomita, parece tener un efecto positivo sobre la MFT y la MFR, independientemente del nivel de cadmio en el sustrato (gráficas 1 a 4), lo cual es coherente con el efecto benéfico que estos organismos producen en muchos cultivos y que son ampliamente reconocidos. De manera sorprendente, la aplicación de cal dolomita redujo la masa fresca de raíz, tallo y hojas y la altura de la planta, sin importar la dosis de cadmio aplicada al suelo.

Como se esperaba, aunque tampoco se encontraron efectos estadísticamente diferentes, la dosis de cadmio más alta fue la que en términos absolutos produjo los efectos más drásticos, al reducir los parámetros vegetales evaluados (Gráficas 5 a 8 y tabla 2).

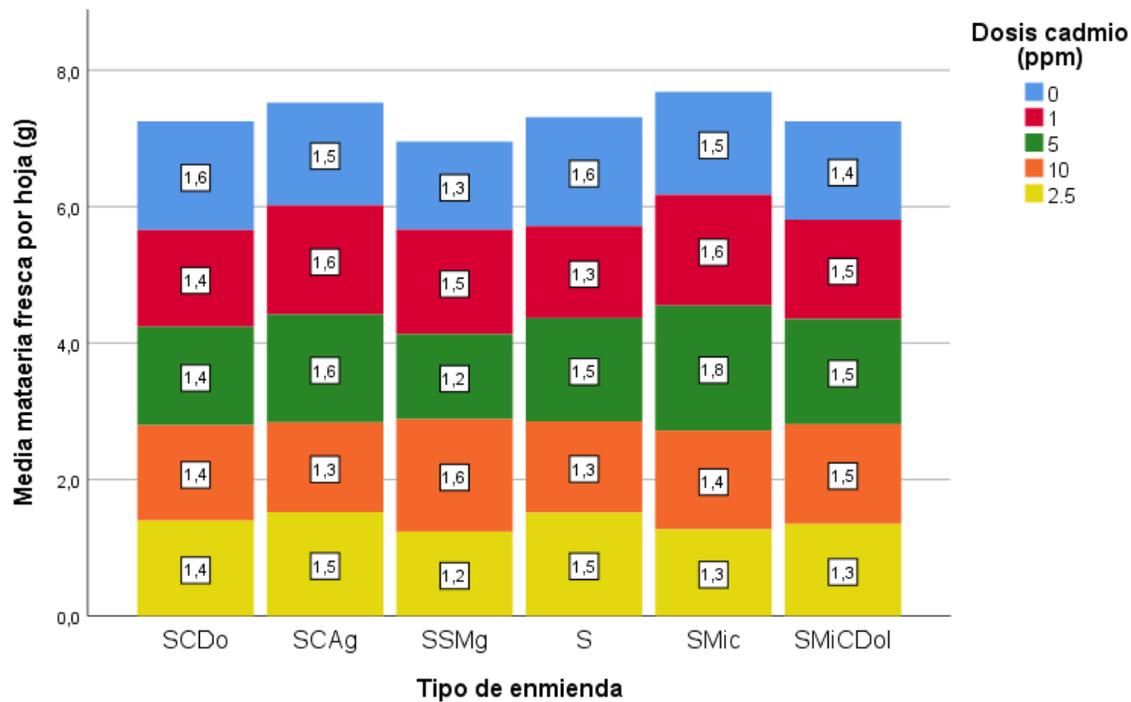
Gráfica 1. Barras apiladas para materia fresca de tallo por enmienda y dosis de cadmio.



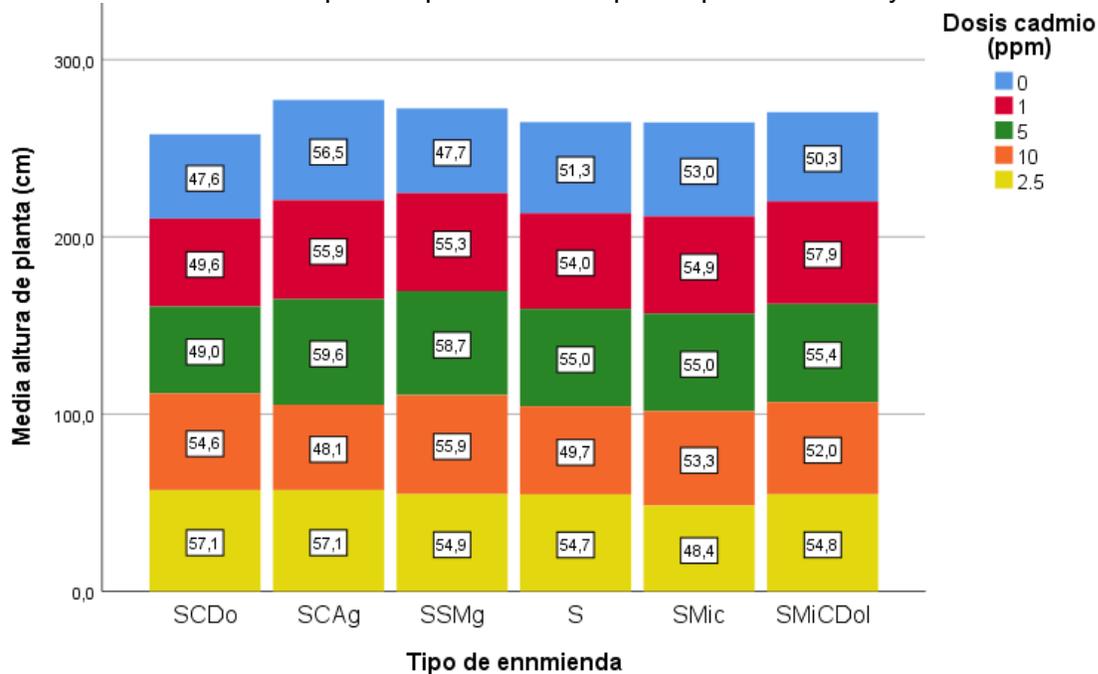
Gráfica 2. Barras apiladas para materia fresca de raíz por enmienda y dosis de cadmio.



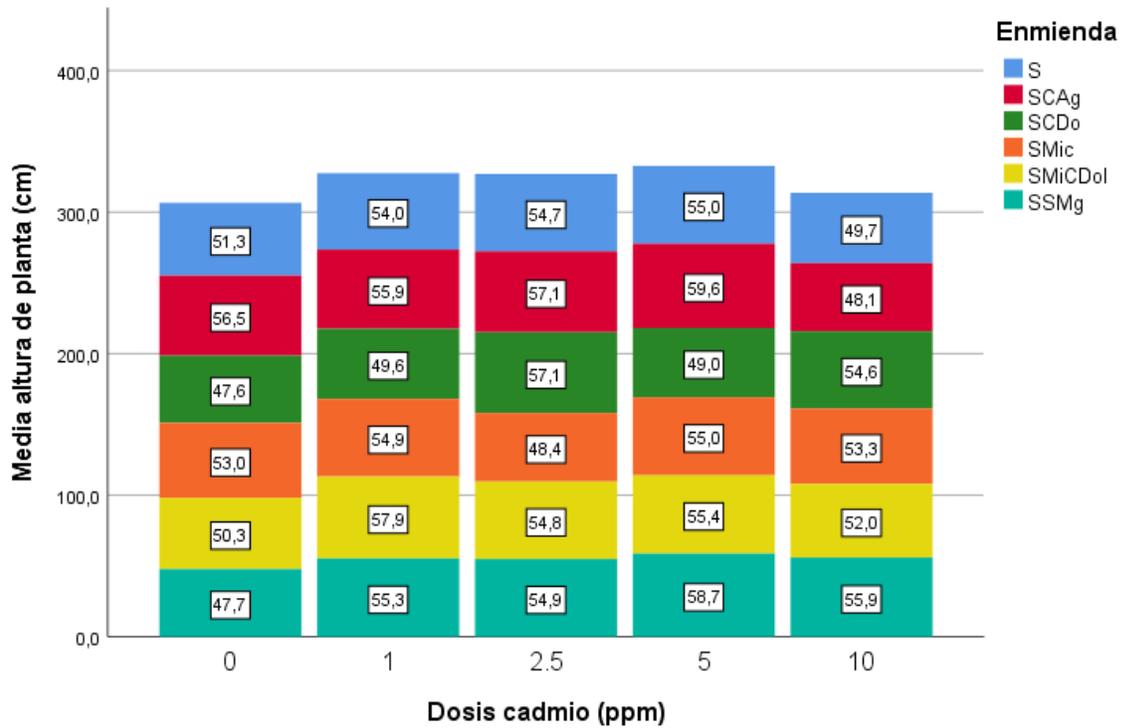
Gráfica 3. Barras apiladas para materia seca de hoja por enmienda y dosis de cadmio.



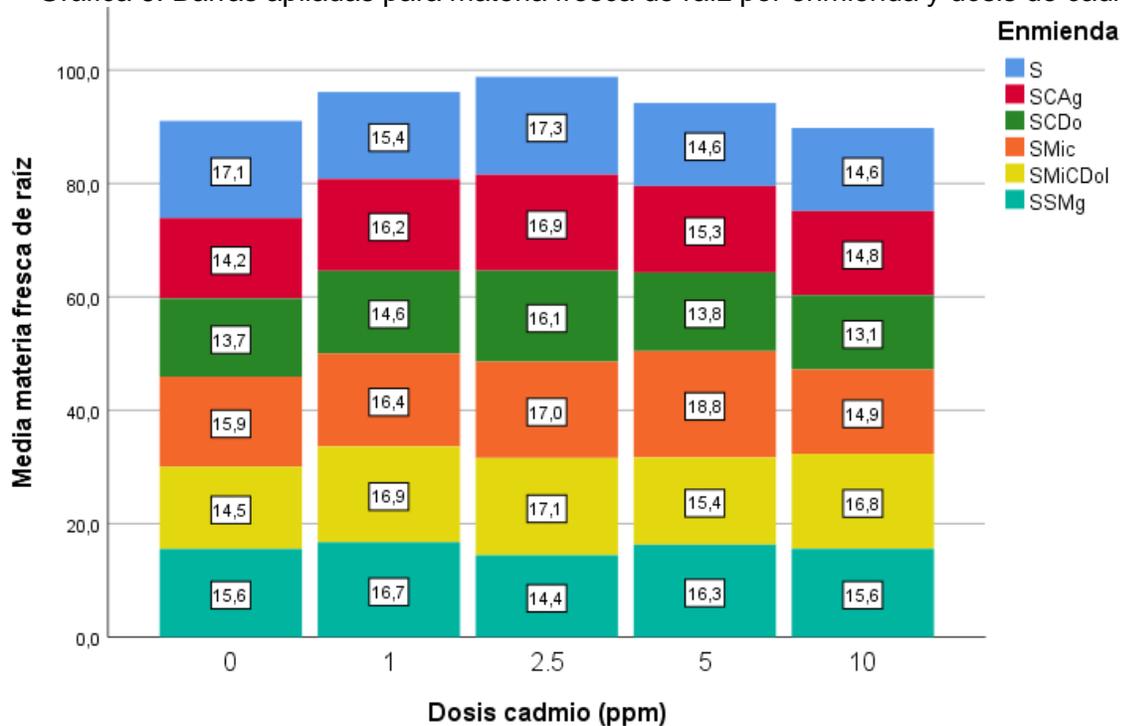
Gráfica 4. Barras apiladas para altura de planta por enmienda y dosis de cadmio.



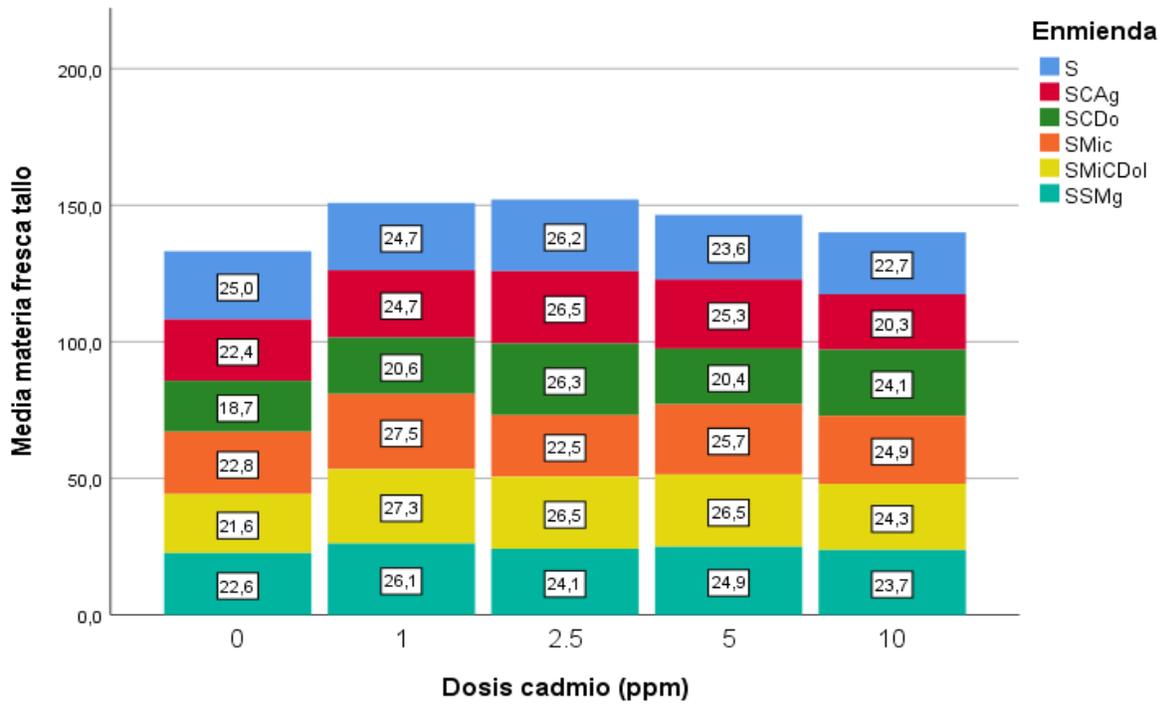
Gráfica 5. Barras apiladas para altura de planta por enmienda y dosis de cadmio.



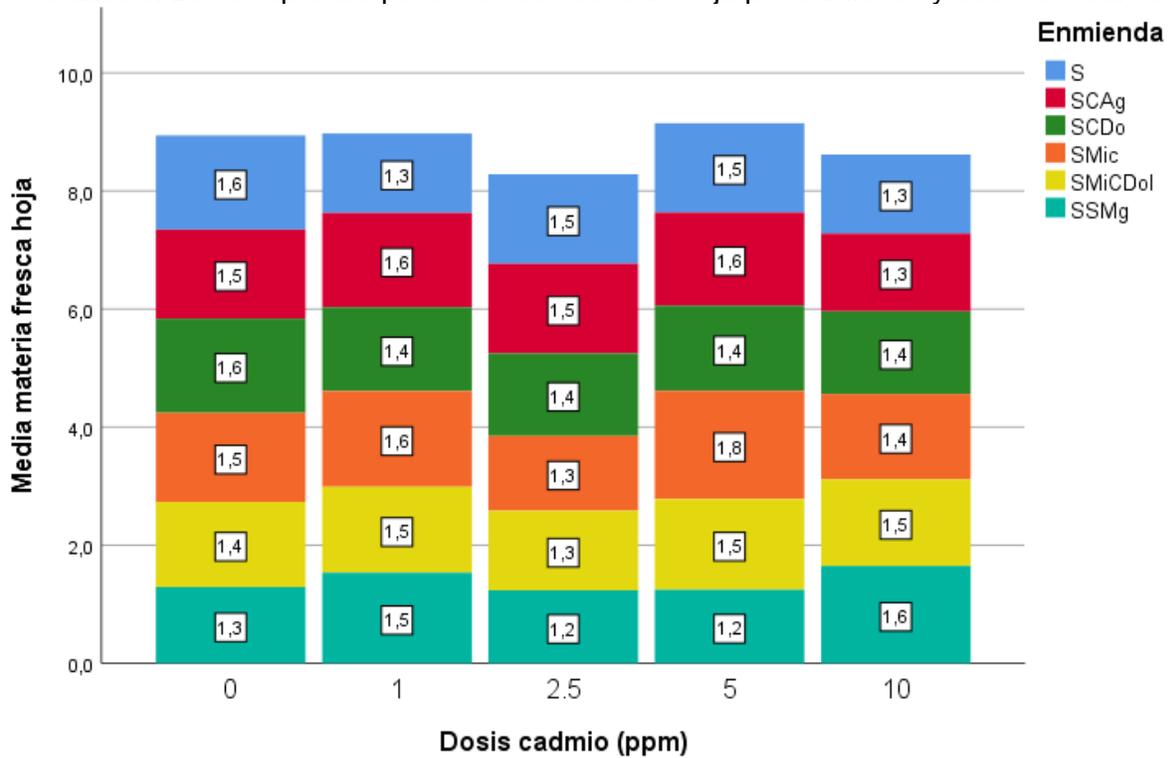
Gráfica 6. Barras apiladas para materia fresca de raíz por enmienda y dosis de cadmio.



Gráfica 7. Barras apiladas para materia fresca de tallo por enmienda y dosis de cadmio



Gráfica 8. Barras apiladas para materia fresca de hoja por enmienda y dosis de cadmio





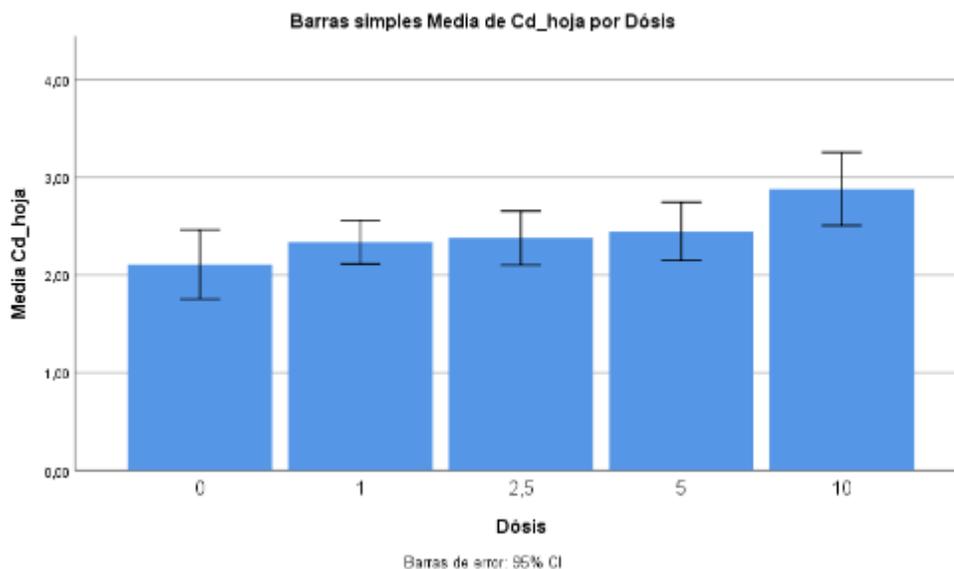
## Efecto de los tratamientos sobre el contenido de cadmio foliar

En lo que corresponde al contenido foliar de cadmio, los tratamientos produjeron efectos estadísticamente diferentes. De una parte, la dosis de cadmio aplicada al sustrato produjo medias estadísticamente diferentes ( $p < 0,03$ ) sobre los contenidos de cadmio en los tejidos foliares, atendiendo una relación directa: a mayor concentración de cadmio en el sustrato, mayor contenido de cadmio foliar (gráfica 9).

Los tratamientos aplicados como enmiendas al sustrato (SN: suelo sin enmienda; Mic: inoculación con hongos micorrícicos; MgO: adición de óxido de magnesio; Cdol: adición de cal dolomita; Cagr: adición de cal agrícola.) produjeron, también, diferencias estadísticas significativas ( $p < 0,01$ ) en cuanto a su efecto en la acumulación de cadmio foliar.

De otra parte, la aplicación de hongos micorrícicos solos o en combinación con cal dolomita (1,5 ton/ha) redujo los niveles de cadmio foliar hasta valores estadísticamente equivalentes a los obtenidos en el caso de los tratamientos testigo sin cadmio y sin aplicación de enmiendas, mientras, la aplicación de cal dolomita o cal agrícola solas, o de sulfato de magnesio solo, produjeron las mayores acumulaciones de cadmio en los tejidos foliares de las plantas (gráfica 10).

**Gráfica 9.** Efecto de la aplicación de diferentes niveles de cadmio al sustrato de siembra sobre los contenidos de cadmio foliar en plántulas de cacao de seis meses de edad.

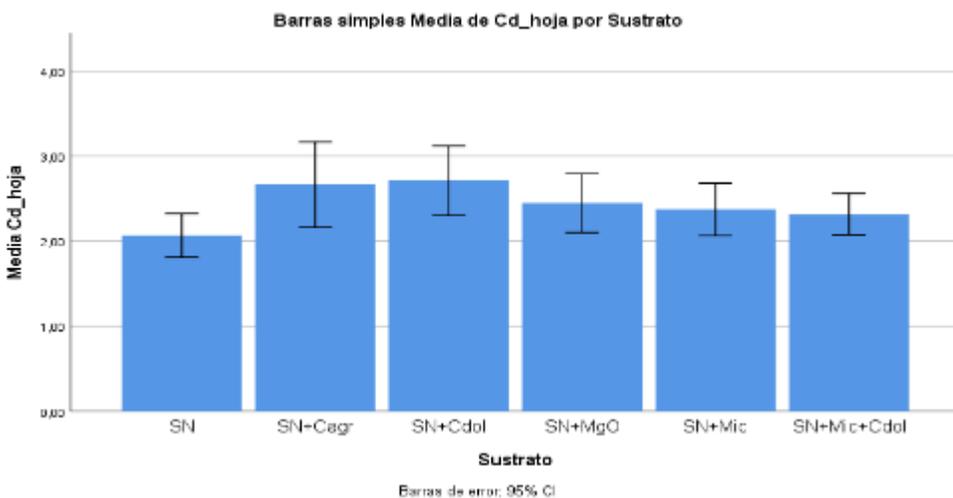


Las estrategias para reducir la absorción de cadmio por las plantas de cacao se pueden clasificar en aquellas que se basan en utilizar materiales vegetales con menores tasas de absorción del elemento, debido a diferentes mecanismos fisiológicos dependientes del genotipo, y aquellas que se enfocan en disminuir la biodisponibilidad del cadmio en el suelo, haciéndolo inaccesible para



su toma por parte de las raíces de las plantas. Los tratamientos aplicados en el presente ensayo se incluyen en esta última categoría.

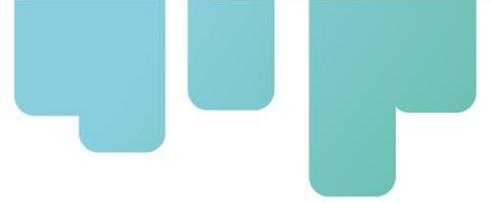
**Gráfica 10.** Efecto de la aplicación de diferentes tipos de enmiendas al sustrato de siembra sobre los contenidos de cadmio foliar en plántulas de cacao de seis meses de edad.



**Tabla 2.** AMOVA para variables de crecimiento de plantas de cacao sometidas a varias enmiendas químicas y biológicas.

Origen		Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F
Modelo corregido	Altura	2534,189 <sup>a</sup>	29	87,386	0,75
	MFT	1084,640 <sup>b</sup>	29	37,401	0,96
	MFR	344,457 <sup>c</sup>	29	11,878	0,53
	MFHU	3,754 <sup>d</sup>	29	0,129	0,79
Intersección	Altura	613525,063	1	613525,063	5289,73
	MFT	123848,864	1	123848,864	3197,96
	MFR	52326,845	1	52326,845	2369,55
	MFHU	457,788	1	457,788	2792,83
Enmienda	Altura	326,135	5	65,227	0,56
	MFT	228,203	5	45,641	1,17
	MFR	112,140	5	22,428	1,01
	MFHU	0,465	5	0,093	0,56
Dosis_Cd	Altura	656,422	4	164,105	1,41
	MFT	314,612	4	78,653	2,03
	MFR	64,736	4	16,184	0,73
	MFHU	0,560	4	0,140	0,85
Enmienda * Dosis_Cd	Altura	1558,920	20	77,946	0,67
	MFT	546,463	20	27,323	0,70
	MFR	165,495	20	8,275	0,37
	MFHU	2,893	20	0,145	0,88
Error	Altura	21805,008	188	115,984	
	MFT	7280,742	188	38,727	
	MFR	4151,597	188	22,083	
	MFHU	30,816	188	0,164	
Total	Altura	651953,000	218		
	MFT	134552,864	218		
	MFR	57872,572	218		
	MFHU	502,652	218		
Total corregido	Altura	24339,197	217		
	MFT	8365,382	217		
	MFR	4496,055	217		
	MFHU	34,570	217		

Según He *et al.*, (2017), las plantas no tolerantes al cadmio pueden exhibir síntomas de toxicidad cuando las concentraciones del cadmio total en el suelo superan los 8 mg kg<sup>-1</sup>, o cuando la



fracción de cadmio disponible está arriba de  $0,001 \text{ mg kg}^{-1}$ ; Ferreira y Barbosa (2019), señalan, además, que, en los tejidos vegetales, la presencia de 5 a  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  de cadmio en materia seca, es tóxico para la mayoría de las plantas. La toxicidad por cadmio induce una reducción en la tasa fotosintética y en la concentración de clorofila, una disminución de la conductancia estomatal, en la tasa de transpiración, en el contenido relativo de agua foliar y en el número de cloroplastos en las hojas, entre otros efectos (Ferreira and Barbosa, 2019).

La revisión de literatura no encontró reportes de daños fisiológicos en plantas de cacao que hayan crecido de forma natural o artificial en suelos con niveles altos de cadmio disponible, muy superiores a los valores de referencia previos, lo cual concuerda con los hallazgos de la presente investigación. En la dosis más alta de cadmio aplicada al suelo en el que se sembraron las semillas de cacao ( $10 \text{ mg kg}^{-1}$ ), no se evidenciaron diferencias estadísticas en las medias de las variables MFR, MFT, MFH y AP, en relación con los que presentaron las plantas testigo, crecidas en suelos no contaminados con cadmio.

La falta de respuesta de las plantas de cacao a niveles relativamente altos de cadmio podría deberse entonces a una posible capacidad de tolerancia relativamente alta a este metal pesado, lo cual podría apoyarse en los factores de transferencia reportados previamente para el cacao. La relación entre los contenidos de cadmio total en los tejidos vegetales y el cadmio disponible en el suelo se denomina factor de transferencia (o factor de bioacumulación), el cual es un indicativo de la preferencia de una especie vegetal por un ion particular (Gramlich *et al.*, 2018). En un estudio previo (Patiño Torres, in press), se encontró que el factor de transferencia en plantas de cacao varió entre 0,44 y 24,4; con una media de 3,93, la cual es muy superior para el factor de transferencia registrado para otros cultivos (grano de trigo = 0,055, tubérculo de papa = 0,19, zanahoria = 0,08) (Smolders, 2001), lo que podría indicar una mayor aptitud relativa del cacao para absorber el cadmio.

De otra parte, las plantas pueden formar asociaciones con varios microorganismos del suelo en grados variables de dependencia, en particular, se estima que al menos el 80% de las plantas forman simbiosis con hongos micorrícicos (Ferreira and Barbosa, 2019). Es bien conocido que estas asociaciones micorrícicas mejoran la toma de nutrientes por las plantas, pero también se ha demostrado que cuando se trata de elementos tóxicos, estos pueden ser inmovilizados en el cuerpo del micelio del hongo, o secuestrados en el sistema radical de las plantas, cuando la simbiosis es efectiva. De hecho, hay varios estudios que demuestran que los hongos micorrícico arbusculares pueden reducir sustancialmente la concentración de cadmio en los tejidos aéreos de las plantas crecidas en condiciones de altos niveles de este elemento, mitigando o eliminando sus efectos fitotóxicos.

Rask *et al.*, (2019), investigaron los efectos de diferentes concentraciones de cadmio (de 0 a  $100,35 \text{ mg kg}^{-1}$  de suelo) sobre el crecimiento de seis especies vegetales, las cuales presentaban diferentes niveles de colonización micorrícica natural. Los resultados mostraron que niveles moderados de cadmio estimularon la colonización micorrícica, hasta cierto nivel, a partir del cual la colonización ya no se producía. El grado de colonización fue dependiente del genotipo evaluado. Los autores concluyeron que la combinación de genotipo y el grado de colonización micorrícica son las variables que determinan la toma de cadmio en las plantas. Sus resultados demostraron que los hongos micorrícico arbusculares tienen un efecto protector contra los efectos nocivos del cadmio, dado que la colonización fungosa reduce la traslocación de cadmio a los



tallos, especialmente en plantas con muy alto grado de colonización. *Hordeum*, la especie con mayor nivel de colonización micorrícica, mostró la menor acumulación de cadmio en los tallos, 10 a 20 veces menor que la vista en las demás especies, de menor colonización.

En los suelos contaminados con altos niveles de cadmio se ha reportado, de hecho, altas tasas de colonización de las raíces vegetales (Ferreira and Barbosa, 2019). Sandoval et al., (2019) encontraron que los suelos contaminados con altos niveles de cadmio presentaban menor grado de abundancia, riqueza y diversidad de morfoespecies de hongos micorrícico arbusculares que los suelos con bajos niveles. Estos autores reportaron que los dos tipos de suelos presentaron cinco géneros en común de siete registrados, pero solo cuatro de las 23 morfoespecies descritas se encontraron en ambas comunidades.

Entre los mecanismos que se señalan como responsables de que las plantas micorrizadas tengan una mayor tolerancia a la toxicidad por cadmio están: producción de sustancias quelatantes, adsorción del metal por las paredes celulares fungosas, compartimentalización vacuolar, acumulación del metal en esporas y micelio extraradical y retención en la glomalina (Ferreira and Barbosa, 2019).

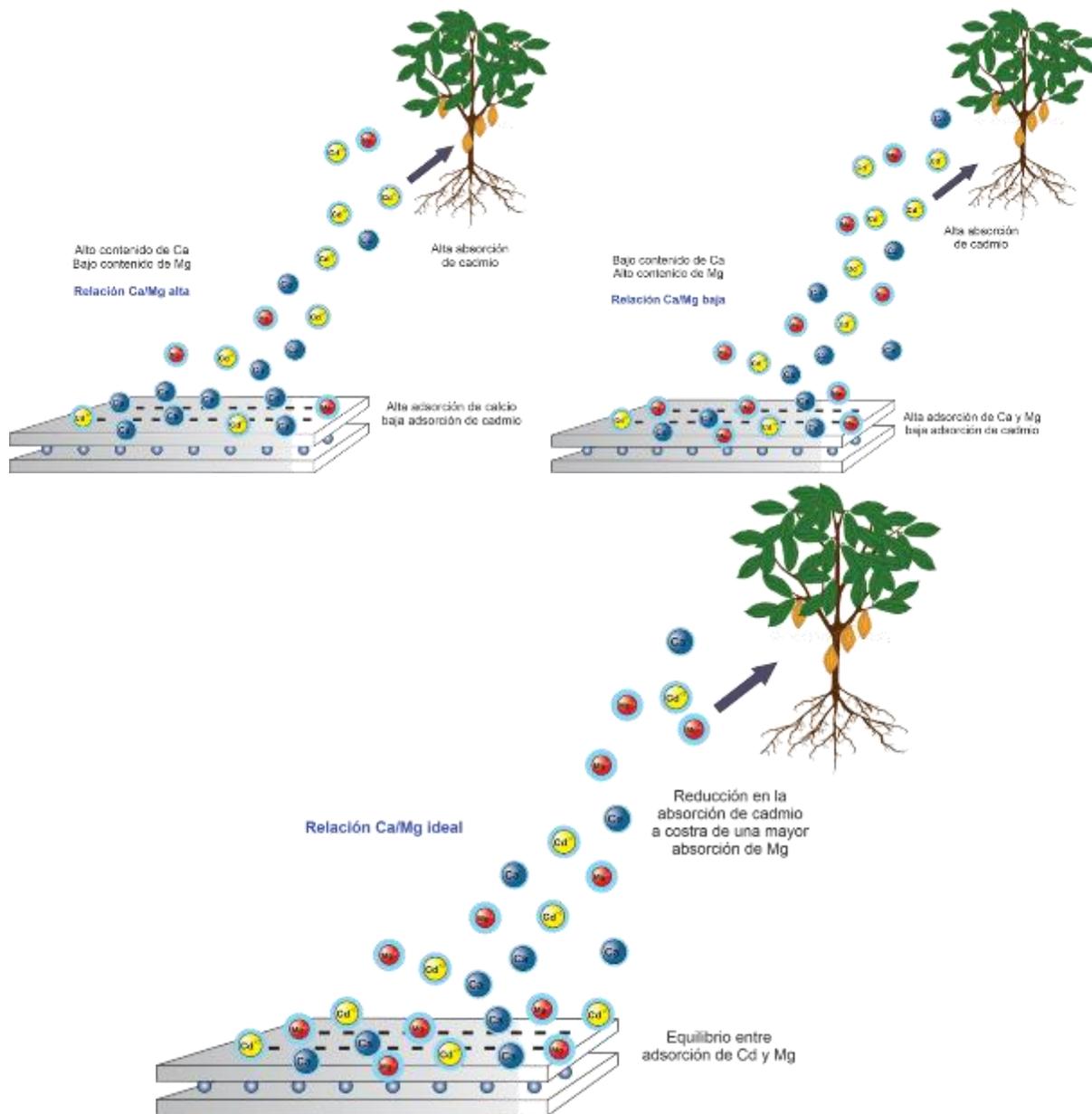
De otra parte, Patiño, (In press) propuso como valores que determinan una baja disponibilidad de cadmio en los suelos cacaoteros del sur del departamento del Tolima, los siguientes: relación Ca/Mg menor a 2,8, saturación de magnesio mayor a 26% y contenidos de materia orgánica menores a 2,3%. El suelo utilizado en el presente ensayo tuvo las siguientes propiedades: relación Ca/Mg 2,9, saturación de magnesio 6,25% y contenido de materia orgánica 2,1%. Los resultados demostraron que la aplicación de la cal dolomita junto con la inoculación de los hongos micorrícicos disminuyó los contenidos de cadmio foliar, sin embargo, cuando se aplicó sola los incrementos, al igual que ocurrió con la adición de cal agrícola solamente. Este comportamiento podría comprenderse considerando la fuerza con que se adsorben los elementos químicos sobre las superficies de las arcillas y de la materia orgánica en el suelo.

De acuerdo con consideraciones teóricas, el calcio tiene mayor fuerza de adsorción que el cadmio, y éste mayor que la del magnesio. Cuando las concentraciones de calcio son altas, es decir, las relaciones Ca/Mg tienen valores altos, el calcio desplaza completamente al cadmio de los sitios de intercambio, y si las concentraciones de cadmio disponible son altas, llevaría a una mayor tasa de absorción por las plantas. Igual ocurre cuando las concentraciones de magnesio son altas, normalmente muy superiores a las que presenta el cadmio. Pese a que el cadmio se adsorbe con mayor fuerza sobre las superficies sólidas del suelo, por simple acción de masas y por competencia, el cadmio será desplazado de los sitios de intercambio por los átomos de magnesio, y tomado por las plantas. Se propone que sólo cuando se logra un equilibrio Ca/Mg, dentro de un rango muy estrecho de variación, el cadmio puede adsorberse en cantidad suficiente para evitar ser absorbido por las raíces de las plantas de cacao (gráfica 11). Esta hipótesis debe evaluarse con experimentos posteriores.

Cabe señalar, por último, que el manejo agronómico se considera la forma más económica y eficiente de mitigar el estrés por cadmio, y, por tanto, con base en los resultados de los presentes ensayos, la aplicación de hongos micorrícicos solos o en conjunto con ciertos niveles de cal dolomita podrían ayudar a reducir la absorción y acumulación de cadmio en el cultivo del cacao. Para fines prácticos y como apoyo a la toma de decisiones, podrían considerarse como referentes los valores de relación Ca/Mg, saturación de Mg y contenido de materia orgánica ya descritos

(Patiño, in press). En cuanto a la materia orgánica, es claro que una disminución en sus contenidos disminuye la posibilidad de almacenamiento del cadmio en el perfil del suelo, debido a una menor posibilidad de interacción del metal con los grupos funcionales propios del coloide orgánico.

**Gráfica 11.** Posibles interacciones iónicas en suelos con altos contenidos de cadmio.



Fuente: autor.



## CONCLUSIONES

El análisis de varianza multivariado no arrojó diferencias estadísticas significativas entre los efectos de los tratamientos aplicados sobre las variables MFR, MFT, MFH y AP, ni en el caso de las interacciones ni tampoco en el caso de los factores principales.

Independiente del tratamiento aplicado al suelo en el que crecieron las plantas de cacao bajo condiciones de invernadero, el crecimiento de las mismas no se vio afectado por la dosis de cadmio adicionado al suelo, incluso cuando se alcanzó  $10 \text{ mg kg}^{-1}$ , no obstante, la inoculación con hongos micorrízico arbusculares, solos o en combinación con cal dolomita, disminuyó la concentración del cadmio a nivel de las hojas, lo que permite proponer esta práctica como una estrategia agronómica para reducir la absorción de este elemento en suelos con altos niveles de contaminación.



## II. Efecto de dosis crecientes de cadmio en el comportamiento de cinco genotipos de *Theobroma cacao* L. bajo condiciones de invernadero en San Ramón - Chanchamayo, selva central del Perú

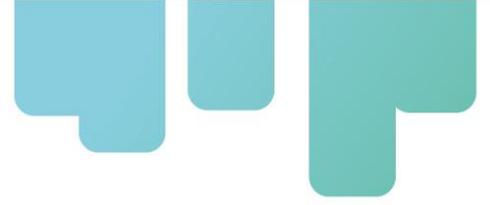
Alberto Julca Otiniano  
Segundo Bello Amez  
Noel Bello Medina  
Viviana Castro Cepero  
Leonel Alvarado Huamán  
Ricardo Borjas Ventura

### INTRODUCCION

El cacao (*Theobroma cacao*), es un cultivo de importancia a nivel mundial y, según la ICCO (2019), para el año 2018 los países que productores más importantes fueron Costa de Marfil (43 %), Ghana (20 %), Indonesia (6 %) y Ecuador (6%), solo estos cuatro países tienen el 75 % del total. Otro 20% es producido por Brasil, Nigeria, Camerún y Papúa Nueva Guinea.

En el Perú, el cacao es un cultivo que ha cobrado gran importancia económica, en el 2014 generó ingresos por 220 millones de dólares. En el mundo es reconocido como uno de nuestros productos bandera por la fina calidad del grano, que se produce en las tierras altas de la Amazonía; en zonas de pobreza y ausencia de los servicios del estado. En los últimos años está siendo usado como cultivo alternativo al de la coca, en los programas de desarrollo y de lucha contra este cultivo ilícito. En la actualidad, existen más 150 mil hectáreas cultivadas y se ha sobrepasado las 80 mil toneladas de producción anual. Las exportaciones de cacao durante la última década representan el 90 %, especialmente a los países Bajos, Alemania, Bélgica, Italia y Estados Unidos.

Pero, la presencia de cadmio en los granos del cacao se ha convertido en un tema de preocupación en el comercio mundial; el alto contenido de este elemento se refleja directamente en el consumo de chocolate y su acumulación en el organismo humano puede ser responsable de enfermedades graves para la salud humana. Por ello, la Unión Europea (UE Reglamento No 488/2014) modificó el reglamento (CE) No 1881/2006) respecto al contenido máximo de cadmio en los productos alimenticios que en el caso del cacao es de 0.1 mg/kg en productos de cacao importados, medida que se aplican a partir del 2019. Estas regulaciones son una amenaza para la comercialización del cacao y por lo tanto para el sustento de muchos pequeños productores. Por la importancia de este cultivo en América Latina y en particular en la Amazonía peruana; la presencia del cadmio en granos, en niveles superiores a los permitidos por la normatividad internacional en productos transformados, ha generado alertas de monitoreo a fin de garantizar la inocuidad del producto. La única manera de dar respuestas a la preocupación por la presencia del cadmio en el cacao es investigando los diversos factores que explican la acumulación de cadmio en los granos y encontrar medidas de mitigación para reducir su concentración hasta



niveles permisibles. La FAO/OMS (2019) recomienda que las medidas de mitigación disponibles para reducir los niveles de cadmio en alimentos deben ser puesta en práctica por los agricultores y los operadores de negocios alimentarios.

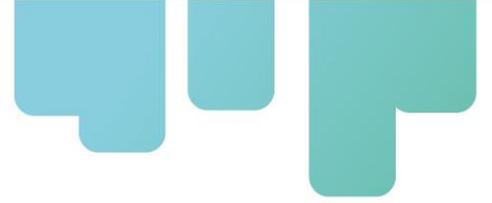
En la actualidad, el problema del cadmio y otros metales pesados se investiga en los países andinos incluidos el Perú. DalCorso et al. (2008), señalan que es necesario identificar los mecanismos genéticos y fisiológicos de las plantas para la absorción y translocación del cadmio. Para Retamal-Salgado et al. (2017), comprender el mecanismo de acumulación de cadmio en las partes vegetativas de las plantas es crucial y ayudará a que, en el mediano plazo, se pueda identificar y seleccionar material genético de baja acumulación de cadmio que contribuirá a reducir su extracción. En este sentido, este trabajo de investigación se realizó con el objetivo de: Conocer el efecto de las dosis crecientes de cadmio en el comportamiento de cinco genotipos de *Theobroma cacao* L. bajo condiciones de invernadero en San Ramón – Chanchamayo, selva central del Perú.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### El cultivo de Cacao

Las plántulas inicialmente muestran un crecimiento ortotrópico, la fase de maduración se inicia con la emisión de ramas plagiotrópicos que forman una copa. En esta fase, los factores ambientales ejercen gran influencia en el desenvolvimiento de la planta. El crecimiento y desenvolvimiento del cacao son dependientes de la temperatura, que afecta principalmente el crecimiento vegetativo, floración y desarrollo del fruto. El cacao produce flores caulescentes que inician su dehiscencia en tarde y se abren completamente al inicio de la mañana siguiente con liberación de polen para un estigma receptivo. Flores no polinizadas sufren abscisión 24-36 h después de la anthesis. El porcentaje de flores que se transforma en frutos es de 0,5 - 5%. Los parámetros más importantes que determinan el rendimiento están relacionados a la intercepción de luz, fotosíntesis, capacidad de distribución de fotoasimilados, respiración, morfología de fruto y fermentación de semillas, eventos que pueden ser modificados por factores abióticos (Almeida & Valle, 2007). El sistema tradicional de clasificación de los genotipos de cacao que aún se emplea está conformado por tres tipos de cacao denominados criollos, forasteros y trinitarios a partir de los cuales se han generado variedades, híbridos y clones que hoy se cultivan a nivel mundial.

El Perú aparece en otros países productores junto a Colombia, México y República Dominicana que concentran solo el 6 % de la producción mundial. A pesar de ello, en los últimos años se han generado cambios importantes como aumento de las áreas plantadas, aumento de la producción/hectárea, uso de variedades con alto rendimiento, uso de injertos y variedades tolerantes y/o resistentes a la escoba de bruja, entre otros. Además, es considerado como un cultivo alternativo frente a la coca, y el manejo mayormente es orgánico, rubro en el cual somos los líderes. Las variedades cultivadas en el Perú son muchas entre ellas destacan: CCN-51, ICS-95, ICS-1, ICS-6, ICS-39, ICS-60, TSH-565, EET400, UF-221, UF-296, UF-613, UF-650, UF-667, UF-676, SCA-6, POUND-7, IMC-67, NA-33, PA-150, PA-169, VRAE-99 (M&O Consulting, 2008; García, 201; Arvelo et al., 2017).



El genotipo CCN-51 (IMC-67 x ICS-95) x Forastero desconocido, se caracteriza por presentar un fruto inmaduro de color rojo, de tamaño muy grande, semilla de color morado, con número de semillas/fruto 44 de tamaño intermedio, buen rendimiento de 937 - 2,812 kg/ha (M&O Consulting, 2008; García, 2010; Avendaño et al., 2011; MINAGRI, 2018; Arvelo et al., 2017). Los genotipos ICS-60 y ICS-95 pertenecen al tipo de cacao Trinitario y son híbridos generados por el cruce de cacaos “criollos” x “forasteros”, son muy heterogéneos genética y morfológicamente, con árboles robustos. El ICS-60 tiene fruto de color verde, semillas de color violeta, grande, con número de semillas/fruto 32, de buen rendimiento. El ICS-95, presenta frutos de color rojo, semillas de color morado, grande, con número de semillas/fruto 35. Sus reconocidos en el mercado por su calidad interior (M&O Consulting, 2008; García, 2010; Avendaño et al., 2011; MINAGRI, 2018; Arvelo et al., 2017). El genotipo POUND-7 es originario del Perú, fruto de color verde grisáceo, color de semillas morado, tamaño de fruto mediano, con número de semillas/fruto 44, de tamaño pequeño, rendimiento de 600 a 1800 kg/ha (M&O Consulting, 2008; García, 2010; Avendaño et al., 2011; MINAGRI, 2015; Arvelo et al., 2017).

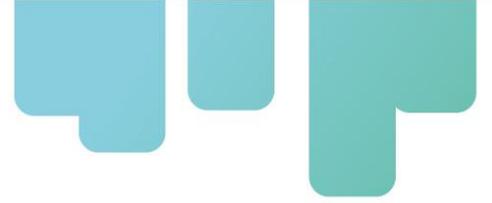
### Portainjerto, patrón o pie de planta

Se conoce como porta injerto o patrón la planta que se usa como soporte de una variedad o clon y cuya función es desarrollar el sistema radicular. El patrón puede haber sido propagado por semilla botánica, por estaca o acodo, pero en especies en donde todos los métodos son eficientes es preferible la propagación por semilla botánica, debido al mejor desarrollo radicular que se logra con éstos frente a la propagación vegetativa.

En el caso del cacao el portainjerto debe provenir de una semilla sexual, su uso es reproducir clones, variedades o cultivares para mantener sus características genéticas otras ventajas son: rusticidad, vigor, resistencia a enfermedades radiculares, tolerancia a sales, suelos de pobre textura, resistente al frío, suelos pobres y pedregosos; cambiar o renovar la copa de árboles injertados por otros cultivares. En Colombia por ejemplo usan los clones IMC 67, PA 46, PA 121, PA 150 (). En Ecuador recomiendan usar clones del INIAP como EET-399, EET-400, Pound-12, IMC-67 y de polinización libre del CCN-51 (Paredes, 2009). Con esta finalidad se han evaluado genotipos como: CCN-51, IMC-67, SCA-6, EET-400 y POUND-12 y un cacao común (Chupillon-Cubas et al., 2017); COCA 3370/5, MO-20, MO-125, NA 435, NA-845 y POUND-10 (Cryer & Hadley, 2012).

### Cadmio

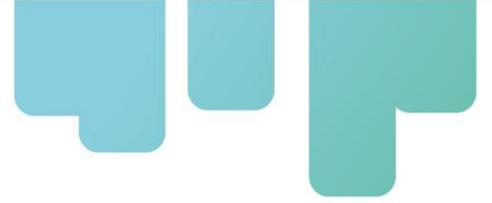
El cadmio es poco abundante en la corteza terrestre (0.1 a 0.2 ppm) es un elemento no esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas. La absorción por medio de las raíces es la ruta más importante para el ingreso de los metales pesados a la planta. El cadmio es un el elemento muy activo en la solución suelo y cuando las condiciones son favorables las raíces pueden tomar cantidades importantes de este elemento. En el suelo el cadmio está presente principalmente como Cd<sup>++</sup>; se combina fácilmente con Cl<sup>-</sup> y SO<sub>4</sub><sup>--</sup> para formar complejos solubles, precipita como CdS en suelos reducidos, la solubilidad depende del pH - más soluble y móvil en suelos ácidos (Eriksson et al., 1996; Mench et al.; 1996). Presenta de radio iónico similar al Ca<sup>++</sup>, por lo que puede sustituir a Ca<sup>++</sup> en el complejo de cambio y al Zn<sup>++</sup> en la absorción por las raíces (McLaughlin, 2014).



El cadmio está presente casi exclusivamente en suelos como el catión divalente  $Cd^{++}$  y en complejos orgánicos asociados (carbono orgánico disuelto en Cd) e inorgánicos ( $CdCl_2$ ,  $CdSO_4$ ,  $CdHCO_3^+$ ) (Stacey et al., 2010). Al ser catiónico, la solubilidad del cadmio es mayor en suelos ácidos, aquellos de baja CIC y suelos que tienen altas concentraciones de ligandos aniónicos complejantes, ya sean orgánicos o inorgánicos (Chubin & Street, 1981). El cadmio es uno de los oligoelementos que se acumula en las plantas en concentraciones que podrían potencialmente causar toxicidad animal pero que no tienen ningún efecto sobre el crecimiento de las plantas, a diferencia del Cu y Zn para los cuales la fitotoxicidad ocurre en concentraciones en plantas mucho más bajas que las que afectan a los humanos o animales en pastoreo (Stacey et al., 2010). El cadmio se encuentra en el suelo en forma soluble, (soluble en agua y ácido) e intercambiabile las cuales se relacionan con el cadmio disponible para la planta (Kashem et al., 2007, Sungur et al. 2014; Rodríguez, 2017) y la fracción residual está relacionada a los materiales parentales y no es una forma disponible (Kashem et al., 2011; Aikpokpodion et al. 2012). La movilidad del cadmio de la solución suelo es alto (Maier et al., 1997; Kashem et al., 2007).

Roberts (2014) menciona que el comportamiento del cadmio en el suelo y su acumulación por los cultivos es complejo, numerosos factores (pH del suelo, contenido de materia orgánica, salinidad, fertilizantes macro y micronutrientes, especies de cultivos y cultivares y labranza) influyen en la biodisponibilidad y la absorción de cadmio por los cultivos. El cadmio es un metal pesado tóxico sin función biológica definida. La tendencia de concentración de cadmio en el suelo es evidente; múltiples causas conjugan en su incorporación al suelo; principalmente a través de fuentes naturales y antropogénicas como: efluentes orgánicos, estiércoles, minería, quema, industrias, fertilización fosfatados, alto uso de combustibles asociado con el rápido crecimiento urbano y los agroquímicos (Mann et al., 2002; Mendes et al., 2006; Nicholson & Chambers, 2008; Rodríguez et al., 2008; Grant et al., 2010; Wuana & Okieimen, 2011; Xu et al., 2015; Xu et al., 2018). La cantidad de cadmio aportado por cada fuente varía según la ubicación debido a las diferencias en la formación del suelo, las prácticas de manejo y la exposición a las fuentes de contaminación, pero el nivel de cadmio en el suelo parece aumentar con el tiempo (Xu et al., 2018). Aunque las plantas no requieren cadmio para su crecimiento y desarrollo, el índice de bioacumulación de cadmio en las plantas cultivadas supera a todos los demás elementos traza (Kabata-Pendias & Pendias, 2000). Las plantas pueden acumular niveles relativamente altos de cadmio, sin efectos adversos sobre el crecimiento (Bingham et al. 1975; Kuboi et al. 1986).

Varios estudios indican que la absorción de cadmio por las plantas depende de la biodisponibilidad de cadmio más que del contenido total de metales (Li et al., 2005; Lyubka et al., 2008). La absorción y distribución de cadmio dentro de la planta depende del tipo de suelo, así, la movilidad del cadmio en el suelo aumenta constantemente con la disminución del pH; pero el bajo pH del suelo no siempre reduce la absorción de Cd por las plantas (Eriksson, 1989; Das et al., 1997; McLaughlin et al., 1996; Chlopecka et al., 1996; Maier et al., 1997; Grant et al., 2010; Tran & Popova, 2012); también, la presencia de iones competitivos Fe y Zn (Chaney et al., 1996; Kikuchi et al., 2007) y las especies de plantas (Cui et al., 2008; Wu et al., 2005; Xu et al., 2015). La movilidad del cadmio en los suelos es alta en comparación con otros metales pesados y las plantas pueden absorberla fácilmente (Gramlich et al., 2017; Gramlich et al., 2018), como señalan Rebekic & Loncaric, (2016) la contaminación del suelo con cadmio aumentó la concentración de cadmio en granos de trigo en 70 veces. En consecuencia, este metal pesado es reconocido como extremadamente contaminante de los suelos agrícolas (Afolayan, 2018; Xu et al., 2015). Se considera contenidos “normales” para suelos agrícolas un máximo de 2 mg/kg de cadmio total;



para la Unión Europea es de 3 mg/kg (Miranda et al., 2008). En general, la presencia de más de 5–10 mg/kg de cadmio en el suelo agrícola tiene efectos adversos en los cultivos (Siedlecka, 1995; Singh & Tuteje, 2011).

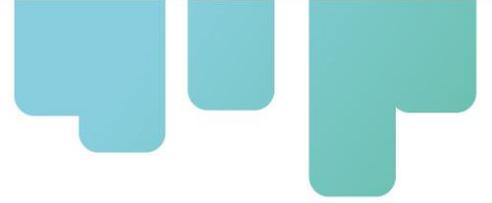
### Cadmio en las plantas

La principal fuente de contaminación de cadmio en el ser humano es a través de la ingesta de vegetales contaminados con este metal. La biodisponibilidad del cadmio para la planta depende de numerosos factores físicos, químicos y biológicos que modifican su solubilidad y el estado del metal en el suelo (Rodríguez et al., 2008). Las concentraciones de cadmio en los cultivos suelen estar relacionadas negativamente con el pH del suelo, pero los efectos suelen ser pequeños o incluso insignificantes y los efectos del pH sobre la absorción de Cd por los cultivos son menos consistentes (Eriksson et al., 1996; Mench et al., 1996). Así las concentraciones de cadmio en grano de trigo a largo plazo disminuyeron aproximadamente 4 veces entre pH 4.9 y pH 6.2, pero no mostraron ninguna tendencia adicional a pH > 6.2 (Sauvé et al., 2000). El encalado a menudo no ha mostrado ningún efecto, o incluso estimulante, sobre las concentraciones de Cd de los cultivos (Chaudri et al., 1995). La deficiencia de Zn inducida por la cal puede ser una de las razones del aumento de la absorción de Cd<sup>++</sup> por las raíces.

Varios efectos fitotóxicos directos e indirectos causados por el exceso de cadmio en las plantas han sido bien documentados. El cadmio genera radicales libres y especies reactivas de oxígeno (ROS), que pueden oxidar proteínas, ADN, lípidos y carbohidratos, perturbando así una serie de procesos físicos y biológicos en las plantas (Rodríguez et al., 2008; Fernández et al., 2013). La absorción de elementos nutritivos como Fe, Mn, Cu y Zn se ve afectada por el estrés de Cd, afectando el transporte de estos elementos desde las raíces hasta las partes aéreas, lo que conduce a una reducción del transporte de electrones en el transporte del fotosistema I debido a la falta de síntesis de clorofila (Aravind & Prasad, 2005; Wu et al., 2005; Lopes et al., 2014; Wu et al., 2016). Stritsis & Claassen, (2013) observaron que las concentraciones de cadmio en las raíces de maíz y girasol aumentó casi linealmente al aumentar la concentración de Cd en la solución, pero en el lino y las espinacas el aumento fue más que proporcional y fueron de tres a cuatro veces más altas en la raíz que en el brote, lo que indica una posible retención de Cd en la raíz.

Grant et al. (1998) señalan que la cantidad de cadmio acumulada y traslocada en las plantas varía con las especies y con los cultivares dentro de las especies, esta misma opinión lo muestran Stritsis & Claassen, (2013). Los factores del suelo, ambientales y de manejo impactan en la cantidad de cadmio acumulado en las plantas (Shacklette, 1972). Las plantas presentan varios mecanismos de respuesta frente al cadmio, como: exclusión activa, el secuestro vacuolar, la retención en las raíces, la inmovilización por las paredes celulares y complejación mediante la unión del metal a proteínas de bajo peso molecular (Ramos et al., 2002; Clemens et al., 2002; Wu et al., 2005; Rodríguez et al., 2008; Seth et al., 2012; Xu et al., 2012; Lai, 2015).

Se ha informado que las plantas presentan una serie de mecanismos celulares que pueden estar participando en la tolerancia al cadmio. Estos mecanismos determinados son secuestro del metal en la pared celular de la planta, precipitación con exudados radicales, la reducción de la absorción del metal por la membrana plasmática y la quelación del metal en el citosol. Así la exclusión en las raíces confiere una mayor tolerancia a cadmio (Rodríguez et al., 2008; González & Zapata,



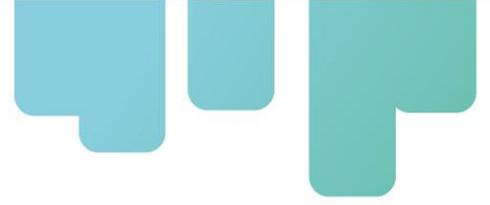
2008) y el contenido regulado por incremento de tioles no proteicos y ácidos orgánicos (Seth et al., 2012; Xu et al., 2012; Fernández et al., 2014;) unión del cadmio al grupo de azufre formando complejos cadmio-fitoquelatinas precursores de la cisteína, reduciendo el  $Cd^{2+}$  libre en el citosol, y los complejos cadmio-fitoquelatinas a su vez son transportados a la vacuola o fuera de la célula (Clemens, 2006; Gonzáles & Zapata, 2008).

Se sabe que los iones absorbidos por las células de la raíz en el que se incluye el cadmio se unen inicialmente a la pared celular (Clemens et al., 2002). El apoplasto es fácilmente permeable a los solutos, pero, las paredes celulares de la capa celular endodérmica actúan como una barrera para la difusión apoplástica. Por lo tanto, los iones pasan a través del simplasma de la raíz antes de entrar en el xilema (Williams et al., 2000). En plántulas expuestas a Cd, se presenta una reubicación de Cd y P en el apoplasto de la corteza de la raíz; en el simplasma se presenta una reubicación citosolar y vacuolar entre Cd y S (Vanbelleghem et al., 2007; Sing & Tuteje, 2011, Lux et al., 2011); indicando sistemas de transporte y sitios de unión intracelular de alta afinidad que facilitan la captación de ion a través de la membrana plasmática, después del movimiento de los metales en el xilema se produce secuestro de metales dentro de las células de la raíz, transporte simplástica en la estela y la liberación en el xilema (Seth et al., 2012). Por otro lado el cadmio compiten y obtienen acceso a la célula de la planta a través de los mismos portadores transmembrana utilizados para absorber  $Ca^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  y  $Zn^{2+}$  (Roth et al., 2006; Papoyan et al., 2007) debido a su alta movilidad y solubilidad en agua, el Cd ingresa fácilmente a las raíces a través del tejido cortical y puede llegar al xilema a través de una vía apoplástica y/o simplástica, formando complejos con ácidos orgánicos o fitoquelatinas (Salt et al., 1995; DalCorso et al., 2008). Pero, como señala Kirkham (2006) la mejor solución para mantener suelos y plantas no contaminados es eliminar las fuentes de cadmio en el medio ambiente. Dado que eso es esencialmente imposible en este momento, es necesario realizar más investigaciones para determinar cómo los factores del suelo y las plantas afectan la disponibilidad de cadmio en suelos contaminados.

El cribado de genotipos (variedades, clones, cultivares, etc.) es otra forma de encontrar mecanismos evolucionados en las plantas debido a diferentes ambientes y variaciones naturales. Esto se ha llevado a cabo para evaluar la tolerancia y acumulación de cadmio en varias especies como girasol (Li et al., 1997), soya (Arao et al., 2003), cáñamo (Shi et al., 2012), mostaza india (Gill et al., 2011), cebada (Sghayar et al., 2014), ricino (Zhang et al., 2014), tomate (Hussain et al., 2015), espinaca, lino, maíz (Stritsis & Claassen, 2013) revelando que la tolerancia al Cd está relacionada con las características de la morfología de la planta, las cantidades de síntesis de fitocromo, la absorción de Cd y los niveles de tiol.

### Cadmio en el cultivo de cacao

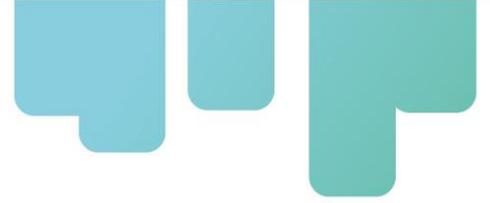
La absorción de cadmio por el cacao ha atraído recientemente la atención, después de que la Unión Europea (UE) decidió poner en vigencia valores máximos de 0.1 mg/kg para las concentraciones de cadmio en productos de cacao; que serían superados en muchos casos por los productos actuales de diversos orígenes de América Latina; comparado con los registros de países de África que reportan bajas concentraciones de cadmio en granos de cacao (Aikpokpodion et al., 2012).



En el suelo el cadmio disponible está en forma de  $Cd^{++}$  (McLaughlin, 2014) y su actividad aumenta con la disminución del pH del suelo de esta manera existen correlaciones positivas entre la concentración de cadmio en el suelo y en los granos de cacao (Fauziah et al. 2001; Ramtahal et al. 2016; Gramlich et al., 2018; Laila Marie Zug et al. 2019). En cambio, Florida et al., (2018) obtuvieron una correlación negativa entre el pH del suelo y el contenido de cadmio en almendras de cacao, no encontrándose dependencia entre ellas. Por su parte Crozier (2015) señala que el pH tiene un efecto sobre la disponibilidad de cadmio en el suelo. Estudios de los suelos cacaoteros en el Perú muestran un contenido variable de cadmio disponible; al respecto, Huauya & Huamaní (2014) y Huamaní et al., (2012) para las regiones de Huánuco y Ucayali registraron concentraciones de cadmio en el suelo 0.53 ppm considerados niveles bajos. Arévalo et al., (2017a) y Arévalo (2017b) para el norte, centro y sur del Perú muestran valores de metales pesados por debajo de los niveles críticos de contaminación; Florida et al (2018) reportan pH promedio del suelo fue de 5.68; el cadmio disponible de 0.32  $\mu\text{g g}^{-1}$ . Por su parte Tantalean & Huayhua (2017) reportan mayor contenido de cadmio disponible en suelo aluvial que en residual y en horizontes superficiales. Recientemente Scaccabarozzi et al., (2020) informaron que el cadmio se correlacionó positivamente con el pH y fue mayor en sedimentos aluviales y Leptosoles y las concentraciones de cadmio fueron más altas en sitios en elevaciones más altas, en un clima templado y seco.

Casos similares han sido reportados por Chávez et al., (2015) para las condiciones de Ecuador donde las fracciones de cadmio oxidables y solubles en ácido representaron el 59 y el 68% del cadmio recuperable total para la profundidad del suelo de 0–5 y 5–15 cm y está unido a la materia orgánica, por tanto, relacionada con el pH del suelo y el contenido de materia; además contenidos variables de cadmio según las localidades (Mite et al., 2015; Mite et al., 2016). Argüello et al., (2019) informaron que el cadmio total del suelo en promedio fue 0.44 mg/kg; además, las concentraciones de cadmio del grano aumentaron al aumentar el cadmio total del suelo y al disminuir el pH del suelo y solubilidad del cadmio en el suelo afecta principalmente la absorción de cadmio.

Los contenidos de cadmio reportados para las diferentes estructuras son también variables; Gramlich et al., (2018) para las condiciones de Honduras encontraron una alta absorción de cadmio ( $2.6 \pm 0.4$  mg/kg) en hojas y en granos de  $1.1 \pm 0.2$  mg/kg; la variación del contenido de cadmio en el grano se encontró en sustratos aluviales, esta tendencia ha sido corroborado por Tantalean & Huayhua (2017) y Scaccabarozzi et al., (2020). En Perú Huauya & Huamani (2014) y Huamaní et al., (2012) registraron contenidos de cadmio de 0.21 ppm en hojas de cacao, para Huánuco y Ucayali; Arévalo et al., (2017a) y Arévalo (2017b) también reportan bajas concentraciones de metales pesados en hojas y granos, para la mayoría de plantaciones evaluados con excepción de la zona norte (Amazonas, Piura y Tumbes). Pero, Florida et al., (2018), Florida et al., (2019), Tantalean & Huayhua y Zug et al., (2019) informan contenido de cadmio en granos de cacao valores superiores al nivel máximo permitido por la unión europea; así Tantalean & Huayhua, (2017) determinaron contenidos de cadmio total en tejidos de 1.22, 2.29, 1.44, 0.84 y 0.77 ppm en suelos residual y 1.14, 2.97, 2.84, 1.08 y 0.75 ppm en suelo aluvial, en raíces, ramas, hojas, almendras y cáscaras respectivamente, mostrando el mayor contenido de cadmio total en las ramas, tanto en suelo residual como en el aluvial. Florida et al., (2018) y Florida et al., (2019), reportan contenido de cadmio en las almendras de cacao 0.98  $\mu\text{g g}^{-1}$  y Zug et al., (2019) concentraciones de cadmio en polvo de cacao desgrasado de semillas no fermentadas un rango de 0.2–12.56 mg/kg. El contenido máximo medido fue el más alto reportado



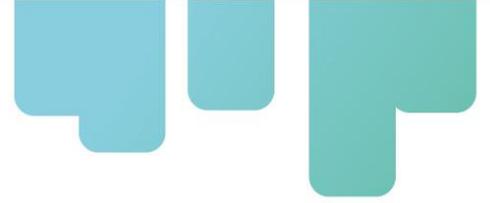
hasta ahora en la literatura. En Ecuador Argüello et al., (2019) informaron que la concentración media en granos pelados fue 0.90 mg/kg y el 45% de las muestras excedió el umbral de 0.60 mg/kg. Así mismo indican que la concentración de cadmio en el grano disminuyó un factor de 1.4 a medida que la edad de la plantación aumentó de 4 a 40 años. Similar contenido fue observado por Chávez et al., (2015) reportan que el cadmio en los tejidos de cacao disminuyó en el orden decreciente en los granos>cáscara>hojas. Para Venezuela, Lanza et al., (2016) reportan concentraciones de cadmio entre 0,95 y 2,09 mg/kg. Castro et al (2015) informan mayor acumulación de cadmio en las partes aéreas de plántulas de ambas progenies (CCN-10 x SCA-6 y 'Catongo 'x' Catongo'), mientras que la acumulación más pronunciada se observó en 'Catongo 'x' Catongo'.

El manejo del cacaotal es importante, pero, Gramlich et al., (2017) y Scaccabarozzi et al., (2020) indican que los factores de manejo (variedad de cacao, año de cultivo, prácticas de manejo) y la agroecología no afectaron directamente las concentraciones de cadmio. Chupillon-Cubas et al., (2017) evaluaron CCCN-51, IMC-67, SCA-6, EET-400 y POUND-12 y un cacao común (Híbrido) en sustrato de tierra negra y arena (3:1), contaminado con cloruro de cadmio a 25 mg kg<sup>-1</sup>, El cacao común presentó mayor acumulación de materia seca, en POUND 12 y EET 400 en la parte aérea y IMC67 y POUND 12 en las raíces. El clon EET-400, acumuló más cadmio tanto en la parte aérea como en la raíz, en comparación a los otros clones y cacao común (control). El clon IMC67, presentó el menor contenido de cadmio tanto en la parte aérea como en la raíz.

Cryer & Hadley (2012) informan la existencia de una variación significativa en la absorción de cadmio entre variedades de cacao; además señalan que el portainjerto influye en la cantidad de cadmio en las hojas por lo que es posible seleccionar portainjertos para su uso en suelos con alto contenido de cadmio. La selección de plantas con característica de baja absorción de cadmio se ha desarrollado con éxito en varios cultivos. En este sentido varios mecanismos celulares pueden estar participando en la tolerancia a elementos tóxicos; tales como: la formación de micorrizas, el secuestro del metal en la pared celular de la planta, así como la precipitación con exudados radicales, la reducción de la absorción del metal por la membrana plasmática y la quelación del metal en el citosol (González & Zapata, 2008). Castro et al., (2015) Observaron un aumento de la actividad peroxidasa de guayacol en las raíces de CCN-10 x SCA-6, así como en las hojas 'Catongo 'x' Catongo'. En presencia de cadmio, CCN-10 x SCA-6 mostró una mayor expresión de los genes asociados con la biosíntesis de fitoquelatina (PCS-1) y peroxidasas de clase III (PER-1) en hojas, y metalotioneína (MT2b), en raíces. En 'Catongo' x 'Catongo', se ha observado un aumento en la expresión de genes asociados a la biosíntesis de PER-1 y superóxido dismutasa citosólica dependiente de cobre y zinc (Cu-Zn SODCyt) en hojas y de MT2b y PCS- 1 y raíces.

## METODOLOGÍA

Este estudio se realizó en el vivero del fundo 'La Bretaña' de la empresa Agrícola La Bretaña localizada en San Ramón – Chanchamayo - Junín, selva central del Perú; geográficamente ubicada a una altitud de 840 msnm, entre las siguientes coordenadas: latitud sur 11° 7' 29" y longitud oeste 75° 21' 25"; en decimal: -11.124722°, -75.356944°; UTM: 8770206 461022 18L. Donde las condiciones climáticas corresponden al clima tropical húmedo. De acuerdo con Köppen y Geiger (1900) el clima se clasifica como Af., siendo la temperatura máxima promedio de 32 o C, la mínima de 17 o C y una media de 24.8 o C; la precipitación está alrededor de 1850 mm



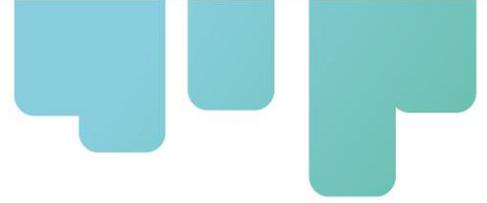
anuales distribuidas irregularmente a lo largo del año con excesos de precipitación en los meses de diciembre, enero, febrero y marzo, y con déficits de agua en los meses de junio, julio y agosto, principalmente.

Los tratamientos correspondieron a cinco genotipos de cacao CCN-51, ICS-60, ICS-95, POUND-7 y VRAE-99 (Figura 7 del Anexo II); cuatro dosis de cadmio: 0, 50, 100 y 150 ppm, haciendo un total de 20 tratamientos (ver Tabla 1). La fuente de cadmio usado fue sulfato de cadmio ( $3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ); compuesto por: 98.0 % de Cd, pH 3.0-6.0, Cl  $\leq$  0.001%, N  $\leq$  0.0005%, Ca  $\leq$  0.005%, Cu  $\leq$  0.0005 %, Fe  $\leq$  0.0005%, K  $\leq$  0.01%, Na  $\leq$  0.005%, Pb  $\leq$  0.002% y Zn  $\leq$  0.002%. Las semillas de cacao, provenientes del Banco de Germoplasma de Cacao del Instituto de Cultivos Tropicales (ICT) de Tarapoto (Región San Martín) y de la estación experimental del INIA – Pichanaki (mazorcas de cacao Figura 7 del Anexo II) se pre-germinaron en arena pura de río durante cinco días (Figura 7A, B del Anexo II). Luego se repicaron en un sustrato compuesto por: suelo procedente de una plantación de cacao, guano de ovino y arena en la proporción 3:2:1, respectivamente. Las características químicas del sustrato se presentan en la Tabla 10 del anexo. El cadmio fue aplicado en solución, preparado en agua desionizada y según las dosis previamente determinadas (Tabla 3). El proceso de instalación del experimento y crecimiento inicial de las plantas se aprecia en la Figuras 7A, B y C del anexo II.

Tabla 3. Genotipos de cacao y dosis de cadmio usados para la contaminación del sustrato

FACTORES		NIVELES	GENOTIPOS
GENOTIPOS	A	a1	CCN-51
		a2	ICS-60
		a3	ICS-95
		a4	POUND-7
		a5	VRAE - 99
DOSIS	B		<b>DOSIS (mg/kg)</b>
		b0	0
		b1	50
		b2	100
		b3	150

Después de repicadas las plántulas y durante la duración del experimento se realizaron riegos complementarios con agua desionizada, para mantener el sustrato en capacidad de campo, ya que la mayor humedad del sustrato fue consecuencia de las lluvias ocurridas durante el periodo de estudio. La fertilización se realizó con la dosis de: 200 – 100 – 200 – 50 ppm de N,  $\text{P}_2\text{O}_5$ ,  $\text{K}_2\text{O}$  y MgO respectivamente. A la preparación del sustrato, se aplicó toda la dosis de fósforo ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ), a los 15 días el 50% de la dosis total de fertilización y la otra mitad, 2.5 meses después. Las fuentes de fertilizantes fueron urea, fosfato di-amónico, cloruro de potasio y sulfato de potasio, a partir de los dos meses de crecimiento y cada 15 días se aplicó micronutrientes comerciales a la dosis de 2 ‰ de producto comercial con la finalidad de prevenir posibles deficiencias de macro y micronutrientes. El control de plagas y enfermedades se realizó en forma preventiva mediante la aplicación de insecticidas y fungicidas de uso común en el cultivo de cacao. También se realizaron labores de mantenimiento como deshierbo constante cuando se observaba la presencia de malezas. El ensayo estuvo bajo un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) con 20 tratamientos, tres repeticiones haciendo un total de 60 unidades experimentales (u.e), cada u.e



estuvo conformada por cuatro plantas.

Para determinar el efecto de los tratamientos sobre el crecimiento de la planta de cacao, se evaluó la altura (cm), número de hojas, diámetro de tallo (cm), en tres oportunidades (15/11/2019, 15/01/2020 y 25/02/2020). Al final del experimento se determinó el peso fresco y peso seco de la parte aérea (hojas y tallos) y raíces (Figura 10A, C del Anexo II) y la longitud de la raíz más larga (Figura 10B del Anexo II).

Para conocer el efecto de los tratamientos en la absorción del cadmio por la planta, se analizó el contenido de cadmio en las hojas y en las raíces, al final del ensayo (Figuras 9B y 10 del Anexo II). En el caso de las raíces, se usaron todas por unidad experimental; mientras que para las hojas se tomaron muestras de cada unidad experimental, siguiendo los lineamientos propuestos por el MINAGRI (2018) y MINAGRI (2019), para la determinación de cadmio, en suelos, hojas y granos y productos derivados del cacao, tal como se muestra en la Figura 9B del Anexo II. También se tomaron muestras referenciales del sustrato para cada tratamiento. Todas las muestras fueron enviadas al Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Facultad de Agronomía-Departamento de Suelos de la UNALM, para los análisis respectivos.

## RESULTADOS

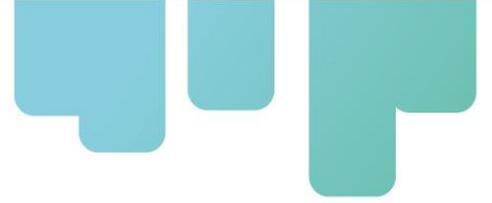
El crecimiento de las plantas es afectado por muchos factores, algunos de ellos propios del genotipo, otros del ambiente y otros de las condiciones de manejo. Estos factores ejercen sus efectos a través de cambios en la diferenciación y expansión de órganos, en la captación de recursos por parte de ellos, y también en la distribución de esos recursos entre los distintos órganos de la planta. En las plantas cultivadas, el crecimiento reviste singular importancia, porque de esto depende el rendimiento que alcance, y esto no solo está influenciado por el comportamiento del genotipo de la planta y factores abióticos, sino también por la superficie de suelo que puede llegar a ocupar cada planta. Entonces, el crecimiento es definido generalmente como un incremento irreversible en las dimensiones de la planta.

Por otra parte, a pesar del amplio conocimiento del efecto adverso y tóxico del cadmio en las plantas, los mecanismos de su toxicidad aún no se conocen completamente. Se sabe que el cadmio interfiere en la entrada, transporte y utilización de elementos esenciales (Ca, Mg, P y K) y del agua, provocando desequilibrios nutricionales e hídricos en la planta (Miranda et al., 2008); modificación en la apertura estomática y transpiración (Rodríguez et al., 2008), y además, pueden sustituir al ion  $Mg^{+2}$  en la molécula clorofílica, lo que imposibilita la captación de fotones, generando como consecuencia una disminución de la actividad fotosintética (Pernía et al., 2008). También reduce la absorción de nitratos y su transporte de la raíz al tallo, afectando el crecimiento y desarrollo de la planta.

### Efecto de las dosis crecientes de cadmio en el crecimiento de cinco genotipos de cacao

#### Altura de planta

Los resultados muestran un efecto variable del cadmio sobre esta variable; donde cada genotipo mostró una altura propia de su potencial genético. La mayor altura correspondió al genotipo POUND-7, seguido por los genotipos ICS-60, ICS-95, CCN-51 y VRAE- 99.



El genotipo CCN-51 mostró un incremento en la altura de planta conforme la dosis de cadmio fue en aumento, observándose el menor crecimiento en el tratamiento testigo (Gráfica 12, Tabla 5 del Anexo I). La altura de planta del genotipo ICS-60 fue afectada por el tratamiento con la dosis más alta de cadmio, obteniéndose comportamientos similares en los tres momentos de evaluación entre los tratamientos testigo y los tratamientos que llevaron 50 y 100 mg/kg de Cd, (Figura 1, Tabla 5 del Anexo I). La altura de planta del genotipo ICS-95 mostró una respuesta más esperada, disminuyó conforme aumentó la dosis de cadmio, aunque los menores tamaños de planta en orden creciente correspondieron a 100, 50 y 150 mg/kg de cadmio, respectivamente (Figura 1, Tabla 5 del Anexo I). El genotipo POUND-7 mostró un crecimiento similar entre el tratamiento testigo y los tratamientos con dosis crecientes de cadmio, solo en la tercera evaluación la altura de planta aumentó ligeramente con la dosis 50 mg/kg de. La altura de planta del genotipo VRAE-99 muestra el mejor crecimiento con el tratamiento 100 mg/kg de cadmio en los tres momentos de evaluación, comparado con el tratamiento control y las dosis de 50 y 100 mg/kg de cadmio. En cambio, estos tres tratamientos tuvieron un crecimiento similar durante la primera y segunda evaluación, en la tercera evaluación; los tratamientos con 50 y 100 mg/kg de cadmio mejoraron respecto al testigo. En general, cada genotipo parece responder de manera diferente a una determinada dosis de cadmio; pero las plantas del genotipo POUND-7, se mostraron más vigorosas y con mejor aspecto, comparadas con los otros genotipos, a pesar de la contaminación con cadmio.

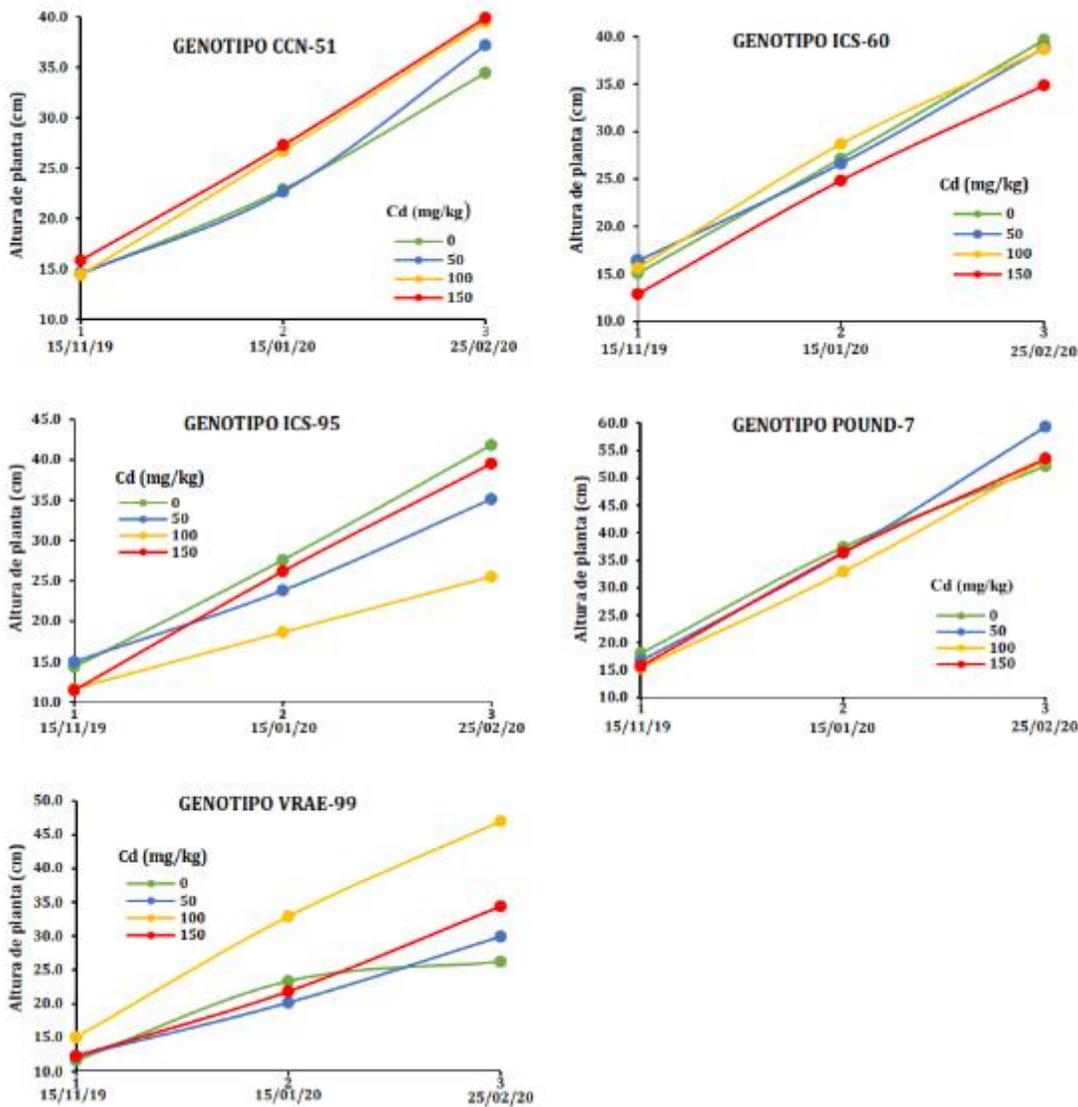
### Número de hojas

Las hojas son los órganos fotosintéticos por excelencia de las plantas, debido a la enorme cantidad de cloroplastos que poseen sus células. Además, las hojas son las principales responsables de controlar la transpiración para evitar la pérdida excesiva de agua. El número de hojas en la estructura de la planta pueden cambiar como resultado del efecto del medio en las que crecen y desarrollan. En la Figura 2 y Tabla 6 del Anexo I, se observa que el número de hojas varía en función de los genotipos, mostrando el mayor número de hojas/planta el POUND-7, tal como ocurrió con la altura de planta, la misma tendencia se encontraron en los otros genotipos. El número de hojas en el genotipo CCN-51 mostró la misma tendencia de la altura de planta; es decir el tratamiento control (testigo) fue el que presentó menor número de hojas y fueron los tratamientos 100 y 150 mg/kg de cadmio los que presentaron el mayor número de hojas (gráfica 13, Tabla 6 del anexo I). En el caso del genotipo ICS-60 es afectado con la aplicación de dosis creciente de cadmio, obteniéndose la menor cantidad de hojas con la dosis más alta de cadmio; en cambio, el número de hojas encontrados fueron similares en el tratamiento control y los tratamientos con 50 y 100 mg/kg de cadmio.

El número de hojas encontradas en el genotipo ICS-95 fue similar en todos los tratamientos de la primera evaluación; el mismo comportamiento se observó en la segunda evaluación, a excepción del tratamiento con la dosis de 100 mg/kg que registró la menor cantidad de hojas, tendencia que se mantuvo hasta el final del experimento. En los otros tratamientos, la última evaluación registró un incremento ligero del número de hojas en el tratamiento control (testigo) con respecto a los otros tratamientos (gráfica 13, Tabla 6 del anexo I). En el genotipo POUND-7, el número de hojas durante los tres momentos de evaluación siguió la misma tendencia, siendo el tratamiento testigo el que mostró el menor número de hojas/planta. El genotipo VRAE-99 mostró el menor número de hojas/planta en los tres momentos de evaluación, los tratamientos que recibieron 50, 100 y 150 mg/kg mostraron una tendencia similar durante la primera y segunda evaluación, en la tercera



evaluación el número de hojas tiende a disminuir con el tratamiento más alto de cadmio (Figura 2, Tabla 6 del anexo I).

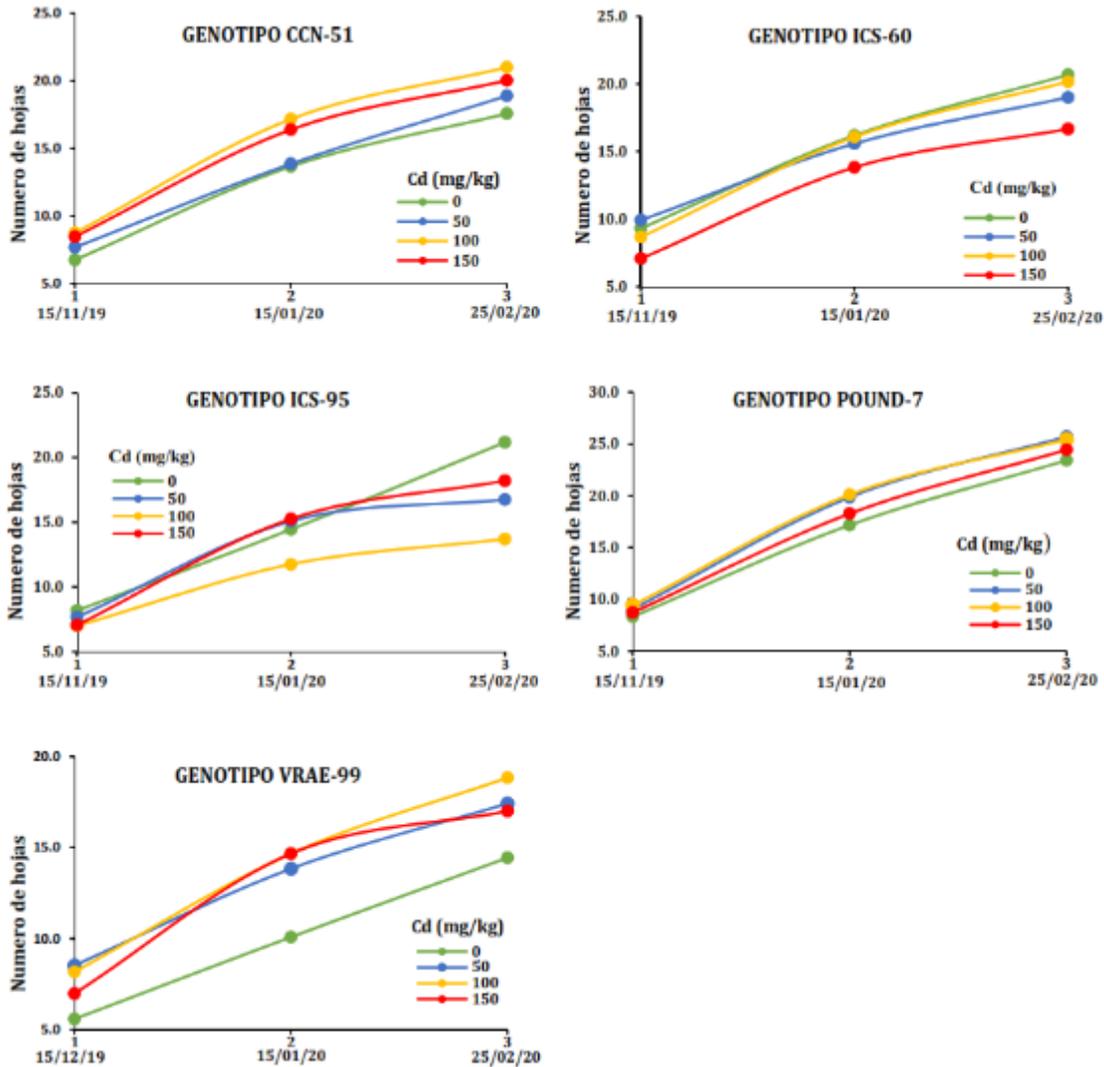


**Grafica 12.** Altura promedio de planta (cm) de cinco genotipos de cacao en respuesta a dosis creciente de cadmio en condiciones de Vivero

En general, los resultados, sugieren que el ritmo de emisión foliar y el número de hojas, no es afectada significativamente por la dosis creciente de cadmio. A pesar de que las plantas no requieren cadmio para su crecimiento, pueden acumular niveles relativamente altos sin mostrar efectos adversos sobre el crecimiento (Bingham et al. 1975; Kuboi et al. 1986), tal como se muestra en este estudio para el caso del cacao (Tabla 3), siempre y cuando tenga un sustrato adecuado para su crecimiento de las plantas (Tabla 10 del Anexo II), además de la adecuada



fertilización con elementos mayores y menores.

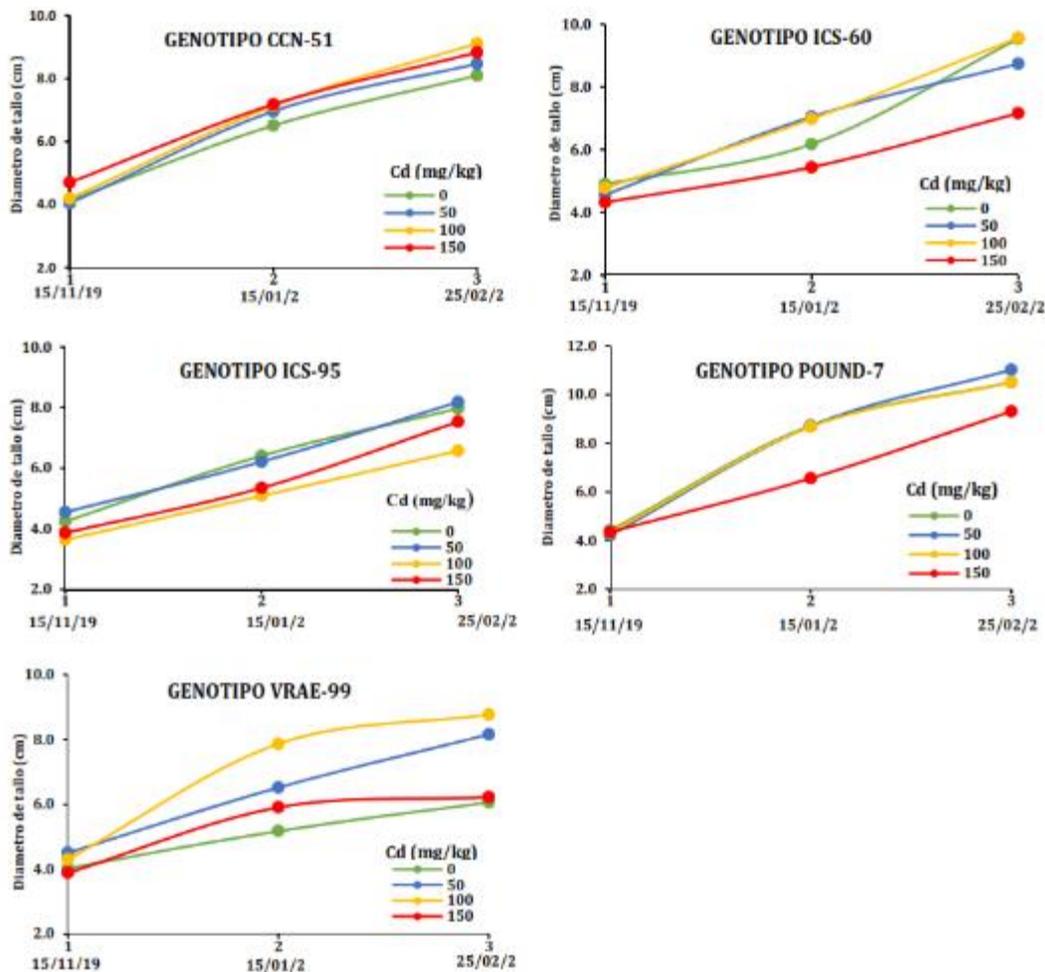


**Grafica 13.** Número de hojas promedio (cm) de cinco genotipos de cacao en respuesta a dosis crecientes de cadmio en condiciones de Vivero.

### Diámetro de tallo

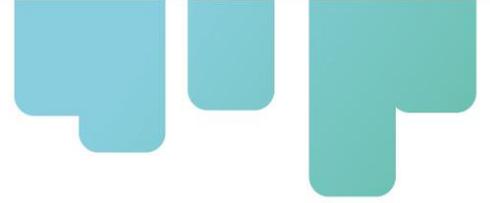
En la grafica 14 y Tabla 7 del Anexo I, también se observa un comportamiento variable entre los genotipos. El CCN-51 mostró el menor diámetro del tallo en el tratamiento sin adición de cadmio, en cambio se observó una ligera tendencia en el aumento del diámetro en los tratamientos que llevaron 50, 100 y 150 mg/kg de cadmio (Figura 3 y Tabla 7 del Anexo I). En el genotipo ICS-60 el menor diámetro de tallo correspondió al tratamiento alto de cadmio (150 mg/kg); en cambio, los otros tratamientos fueron similares y mostraron la misma tendencia. Pero el testigo, mostró una mejor performance en la tercera evaluación, de manera muy similar al tratamiento con 100

mg/kg de cadmio. En el genotipo ICS-95 los diámetros de tallo obtenidos fueron similares en los tratamientos con 0 y 50 mg/kg de cadmio en todos los momentos de evaluación y se encontró una disminución del diámetro con los tratamientos 100 y 150 mg de Cd/kg de sustrato, registrándose el menor diámetro de tallo con la dosis más alta de cadmio (Tabla 7 del Anexo I). En el caso de POUND-7, se observó una respuesta similar en la primera evaluación en todos los tratamientos; en la segunda y tercera evaluación el diámetro del tallo fue similar en el testigo y los tratamientos de 50 y 100 mg/kg de cadmio; en cambio, el tratamiento con 150 mg/kg de cadmio registró el menor diámetro en la segunda y tercera evaluación. Para el VRAE-99 el testigo, mostró el menor diámetro de tallo y fue similar al tratamiento 150 mg/kg de cadmio en la última evaluación, en este genotipo los mayores diámetros de tallo se obtuvieron con los tratamientos 50 y 100 mg/kg de cadmio, pero se observa una ligera tendencia a disminuir (Figura 3 y Tabla 7 del Anexo I).



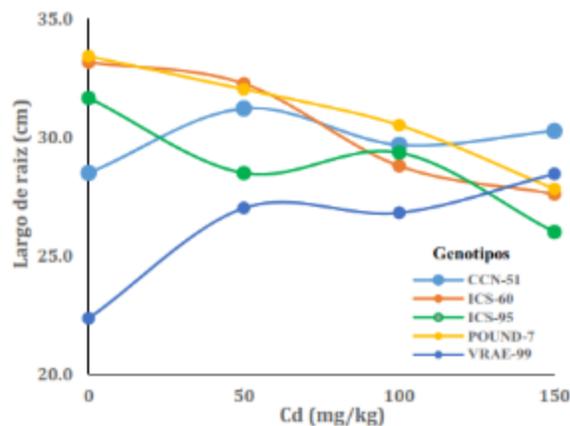
**Gráfica 14.** Diámetro de tallo promedio (cm) de cinco genotipos de cacao en respuesta a dosis crecientes de cadmio en condiciones de vivero

De manera general, las curvas de crecimiento son lineales puesto que las mediciones corresponden a un periodo relativamente corto y no el ciclo de vida completo de la planta, la que



nos daría una curva sigmoidea (Benedetto & Tognetti, 2016). Se encontró un comportamiento diferenciado de los cinco genotipos obteniéndose efectos diferentes sobre el crecimiento de la planta de cacao. En todos los casos, los genotipos evaluados no mostraron una respuesta significativa a los niveles de cadmio estudiados, con excepción del genotipo ICS-60 que mostró la menor altura de planta, menor número de hojas y el menor diámetro de tallo cuando se usó 150 mg/kg de Cd. Por el contrario, los genotipos CCN-51, POUND-7 y VRAE-99 se mostraron altamente tolerantes a esos niveles de cadmio y el ICS-95, tuvo un comportamiento intermedio. Además, las plantas como todos los demás organismos vivos han desarrollado una red compleja de mecanismos para minimizar los daños causados por la exposición a iones metálicos no esenciales. Para evitar la toxicidad del Cd, las plantas tienen estrategias activas y pasivas de exclusión del ion del entorno celular.

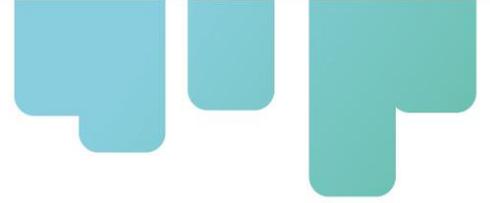
Cuando se evaluó la longitud de la raíz más larga (grafica 15 y Tabla 7 del Anexo I), se encontró que esta variable, en los genotipos ICS-60, ICS-95 y POUND-7, mostró una tendencia a disminuir conforme aumentó las dosis de cadmio y comparado con el tratamiento testigo. En cambio, en CCN-51 y VRAE-99, aumentó con el incremento de las dosis de cadmio; poco en CCN-51 y más en el VRAE-99. A estos genotipos, les correspondió los menores valores de altura, número de hojas y diámetro de tallo, como se observa de las Figuras 1, 2 y 3 Tablas 5, 6 y 7 del Anexo I. Estudiar estas variables de crecimiento, es importante porque permite cuantificar en términos estadísticos los mecanismos ecofisiológicos que determinan la acumulación de biomasa (Benedetto & Tognetti, 2016).



**Grafica 15.** Longitud promedio de la raíz más larga (cm) de cinco genotipos de cacao en respuesta a dosis crecientes de cadmio en condiciones de vivero

### Efecto de las dosis crecientes de cadmio en la biomasa fresca y seca de cinco genotipos de cacao

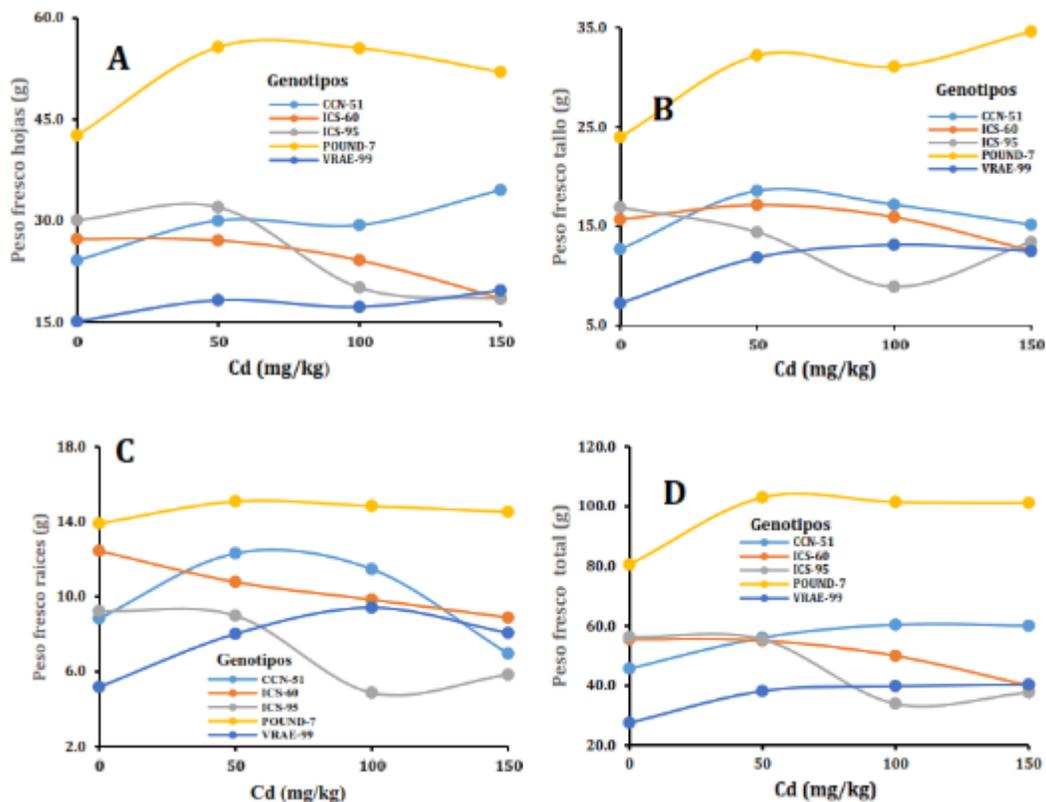
Según Benedetto & Tognetti (2016), el crecimiento es definido generalmente como un incremento irreversible de las dimensiones de la planta y en condiciones de turgencia plena, el peso fresco es un buen estimador del volumen, ya que, en general las variaciones en el peso específico de los tejidos vegetales son bajas (Benedetto & Tognetti, 2016), esto sucede debido a que el agua es el principal componente en casi todos los órganos y tejidos. Sin embargo, el análisis clásico del crecimiento se centra en la acumulación de peso seco, pero este no estima bien el volumen,



debido a que los tejidos pueden experimentar variaciones en su contenido porcentual de materia seca, ya que una proporción importante de los foto-asimilados almacenados en una célula pueden ser transitorios. Pero en contrapartida, el peso seco es un muy buen indicador del carbono total de la planta, lo que permite analizar importantes aspectos de su fisiología. Por eso, se puede decir, estrictamente hablando, que el análisis clásico del crecimiento es en realidad, un análisis de la fijación y partición del carbono. Los mismos autores señalan que la biomasa fresca y seca de una planta u órgano, se incrementa inicialmente a una La acumulación de biomasa fresca del tallo (BFT), se presenta en grafico 16B y Tabla 8 del Anexo I. En CCN-51, se encontraron valores ligeramente superiores al testigo, cuando los niveles de cadmio aumentaron, obteniéndose la mayor acumulación con 50 mg/kg y una ligera disminución cuando se usó 100 y 150 mg/kg. En el genotipo ICS-60 la acumulación de la BFT aumentó ligeramente en los tratamientos 50 y 100 mg/kg de cadmio y disminuyó con el tratamiento de 150 mg/kg de cadmio, todos respecto al testigo. El genotipo ICS-95 mostró una menor acumulación de BFT cuando se aplicó cadmio al sustrato, por lo tanto, la acumulación de BFT fue mayor en el tratamiento testigo. Sin embargo, con la dosis más alta de cadmio la biomasa del tallo aumentó respecto al tratamiento con 100 mg/kg de cadmio (grafico 16 B y Tabla 8 del Anexo I). El genotipo POUND-7, mostró los máximos valores de acumulación de la BFT, aumentando conforme los niveles de cadmio subieron y fueron superiores al testigo. El genotipo VRAE-99, también mostró una mayor acumulación del BFT conforme se incrementó el cadmio, pero es el genotipo que tuvo la menor BFT.

La biomasa fresca de raíces (BFR), se muestra en el grafico 16 5C y Tabla 8 del Anexo I. Donde se observa de manera general en todos los genotipos, una tendencia a la disminución de la BFR con el aumento del cadmio, con excepción del POUND-7. El genotipo CNN-51 mostró un aumento de acumulación de la BFR con los tratamientos 50 y 100 mg/kg de sustrato siendo ligeramente superior al testigo y sufrió una disminución con la dosis más alta de cadmio (150 mg/kg de Cd), siendo esta menor que el tratamiento testigo. El genotipo ICS-60 muestra una disminución sostenida de la BFR cuando los niveles de cadmio aumentaron. El genotipo ICS-95 mostró la misma tendencia que el genotipo ICS-60. El genotipo POUND-7 mostró un aumento ligero de la BFR con el incremento de la concentración de cadmio; sin embargo, al final el valor de la BFR fue casi similar al del tratamiento testigo. En el genotipo VRAE-99, se reportó un aumento de la BFR conforme aumentó los niveles de cadmio; pero disminuyó ligeramente con 150 mg/kg de cadmio. En este caso, todos los tratamientos con cadmio fueron superiores al tratamiento control. tasa exponencial, luego sigue un crecimiento lineal y finalmente crece a una tasa decreciente hasta alcanzar un nivel máximo ("plateau"), lo que se asemeja a una curva sigmoidea. La importancia del análisis de la biomasa fresca en los cultivos radica en la determinación cuantitativa del contenido de agua presente en la planta (Benedetto & Tognetti, 2016).

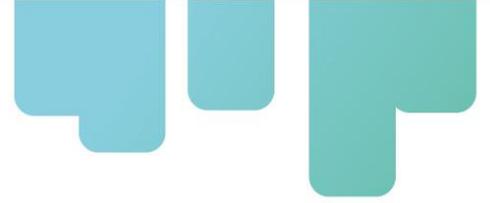
En este trabajo, la acumulación de biomasa fresca de hojas (BFH), se presenta en el grafico 16 A y Tabla 8 del Anexo I, ahí se observa que los máximos valores correspondieron al POUND-7, confirmando el buen vigor de este genotipo respecto a los otros genotipos. En este genotipo, los tratamientos con 50, 100 y 150 mg/kg tuvieron mayor BFH, con respecto al tratamiento testigo; pero en los tratamientos con 100 y 150 mg/kg de cadmio, los valores del peso fresco tienden a disminuir ligeramente. En CCN-51, la acumulación de la BFH aumentó conforme se incrementaron los niveles de cadmio; lo mismo ocurrió con el genotipo VRAE-99; sin embargo, la BFH fue bajo comparado con los otros genotipos. En cambio, los valores obtenidos de BFH en los genotipos ICS-60 y ICS-95 disminuyeron ligeramente conforme aumentaron los niveles de cadmio, comparados con el tratamiento testigo que tuvo los valores más altos.



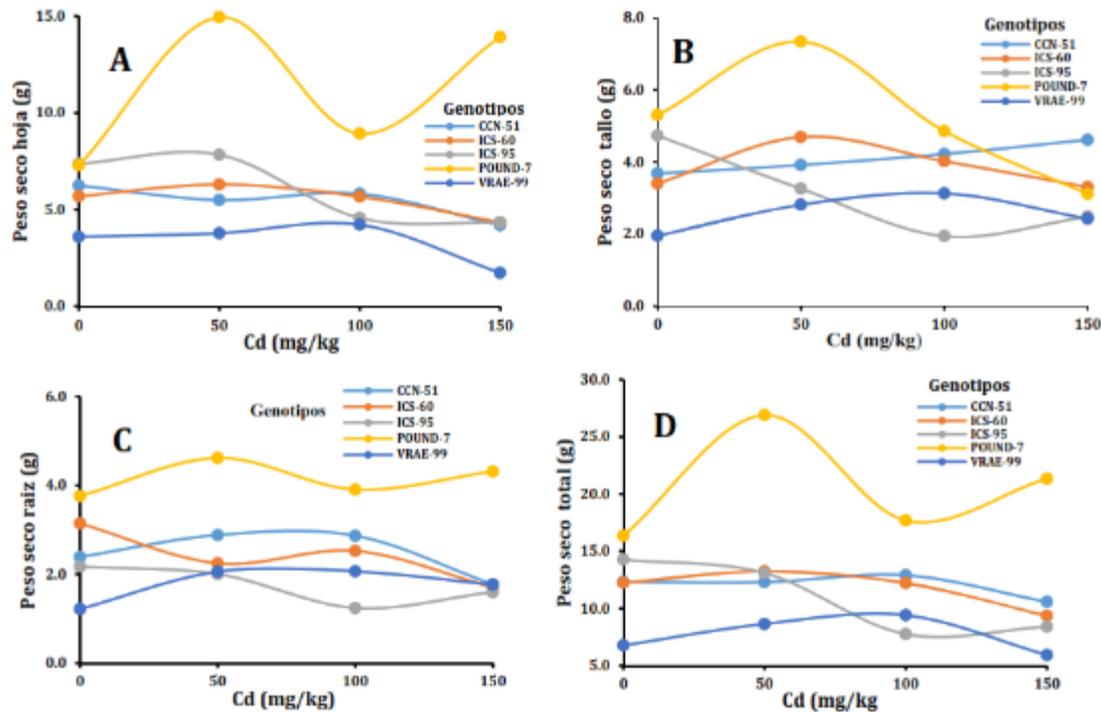
**Gráfico 16.** Biomasa fresco promedio de hojas (A), tallo (B), raíz (C) y peso fresco total (D) de cinco genotipos de cacao en respuesta a dosis crecientes de cadmio en condiciones de vivero

Los resultados del peso fresco total (PFT) que viene a ser la suma de la biomasa fresca de hojas + tallos + raíces, y se presenta en el gráfico 16 D y Tabla 8 del anexo I. En este caso, los genotipos CCN-51, POUND-7 y VRAE-99 muestran ligeros aumentos del PFT cuando se incrementan las dosis de cadmio. Por el contrario, en ICS-60 y ICS-90, esta variable disminuyó cuando las dosis de cadmio aumentaron, comparados con el testigo. La acumulación de biomasa aérea y radicular; está en función de la oferta agroclimática sobre la planta-cultivo que determina la producción de fotoasimilados. Luego, la distribución dentro de la planta, son procesos modificados por el funcionamiento endógeno de la planta y que pueden ser adecuadamente cuantificados por los estimadores de crecimiento (Benedetto & Tognetti, 2016).

La acumulación de la materia seca de hojas (MSH), tallos (MST), raíces (MSR) y el total (MST) se presenta en el gráfico 17 y Tabla 9 del Anexo I. Se observa que, en cada uno de los genotipos de cacao estudiados, los parámetros que más influyeron sobre la materia seca (MS) de las plantas fueron las hojas y el tallo, un incremento de estas dos variables conlleva a un aumento de la MS de las plantas. También existen un conjunto de factores inherentes a la planta que influyen notablemente en la producción de materia seca entre los que se encuentran la edad, la distribución de foto-asimilados, la variedad, los contenidos hídricos y nutritivos. Aunque las plantas no requieren cadmio para su crecimiento y desarrollo, el índice de bioacumulación de



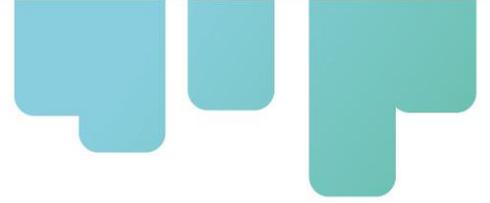
cadmio en las plantas cultivadas supera a todos los demás elementos traza (Kabata-Pendias & Pendias, 2000; Bingham et al. 1975; Kuboi et al. 1986).



**Grafico 17.** Peso seco promedio de hoja (A), tallo (B), raíz (C) y peso seco total (D) de cinco genotipos de cacao en respuesta a dosis creciente de cadmio en condiciones de vivero

El peso de la materia seca de hojas (MSH), se presenta en el gráfico 17A y Tabla 9 del Anexo I y se observa que en la mayoría de los genotipos (CCN-51, ICS-60, ICS-95 y VRAE-99) hubo una disminución de la MSH cuando los niveles de cadmio aumentaron. Los pesos del tratamiento testigo, fueron muy similares a los encontrados con 50 mg/kg de cadmio y menores a los reportados con 100 y 150 mg/kg de cadmio. La excepción fue el POUND-7, que tuvo una respuesta diferente, en este caso, los pesos de MSH fueron mayores cuando se aplicó cadmio, alcanzando un mayor peso con 50 mg/kg, disminuyó con 100 mg/kg y aumentó con 150 mg/kg de cadmio.

El peso de la materia seca del tallo (MST) se presenta en el gráfico 17 B y Tabla 9 del Anexo I. En este caso, el genotipo CCN-51 mostró un ligero aumento de la MST cuando los niveles de cadmio aumentaron y presenta una respuesta lineal. Un comportamiento similar mostró el genotipo ICS-60, pero con la dosis más alta de cadmio, disminuyó ligeramente respecto a las dosis de 50 y 100 mg/kg y en comparación con el tratamiento control. Por el contrario, el ICS-95 mostró una disminución de la MST con las tres dosis de contaminación con cadmio (50, 100 y 150 mg/kg) en comparación con el tratamiento control, pero con la dosis más alta de cadmio, la MST aumentó ligeramente respecto a los niveles bajo y medio de cadmio (50, 100 mg/kg). El genotipo POUND-7, mostró un aumento de la MST con 50 mg/kg de cadmio respecto al testigo, para disminuir con los tratamientos de 100 y 150 mg/kg, pero con una tendencia a aumentar con



la última dosis. Finalmente, el genotipo VRAE-99 aumentó la MST con las primeras dosis de cadmio; pero bajó con 150 mg/kg. Un comportamiento similar al observado en el genotipo ICS-60.

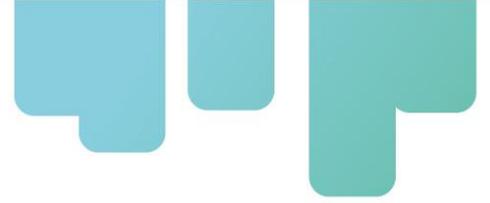
El peso de la materia seca de las raíces (MSR), se presenta en la Figura 6C y Tabla 9 del Anexo I. El genotipo CCN-51 mostró un ligero aumento de la MSR en los tratamientos 50 y 100 mg/kg de cadmio; pero disminuyó con la dosis más alta, llegando a tener un MSR menor al testigo. El genotipo ICS-60 tuvo una disminución del peso de la MSR con los tres niveles de cadmio (50, 100, 150 mg/kg), respecto al tratamiento control. El genotipo ICS-95 mostró los menores pesos de MSR respecto a los otros genotipos y el peso disminuyó con el aumento del cadmio, respecto al tratamiento control. El POUND-7, alcanzó los mayores pesos de MSR con 50 y 150 mg/kg de cadmio, pero con la dosis intermedia, el peso de la MSR fue prácticamente similar al del tratamiento testigo. El genotipo VRAE-99 mostró una tendencia similar al genotipo CCN-51, pero alcanzó pesos menores de MSR (grafico 17C y Tabla 9 del Anexo I.)

El peso de la materia seca total (PST) es la suma de las materias secas de hojas + tallos + raíces y los resultados se presentan en el grafico 17D y Tabla 9 del Anexo I. Aquí se observa con mayor claridad el efecto de las dosis crecientes de cadmio sobre el crecimiento de los genotipos de cacao. Así tenemos que el POUND-7 muestra los valores más altos de PST, comparados con los otros genotipos, pero la respuesta es irregular con respecto a dosis crecientes de cadmio; pero muestra claramente la influencia que tiene la MSH en el PST, en ambos casos, las curvas son prácticamente similares. El CCN-51, muestra una tendencia a una menor acumulación de materia seca con el aumento de la concentración de cadmio, similar respuesta se observa para los genotipos ICS-60 y ICS-95. El genotipo VRAE-99, aumenta el PST con 50 y 100 mg/kg de cadmio; pero disminuye con el nivel más, incluso por debajo del tratamiento testigo. En una planta entera, existe una diferencia en el contenido de carbono entre órganos; por ejemplo, las hojas acumulan mayor biomasa fresca y seca que los tallos y raíces. En parte, debido a un mayor contenido de proteínas, esta acumulación marca la tendencia de la biomasa de las plantas (Benedetto & Tognetti, 2016). En comparación con el tratamiento testigo, en algunos casos, el cadmio afectó las variables de crecimiento, pero en la mayoría de ellos, las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

### Efecto de las dosis crecientes de cadmio en la concentración de este elemento en el tejido vegetal de cinco genotipos de cacao

La determinación del contenido de nutrientes en las diferentes partes de la planta (raíz, hojas, tallo, peciolos, frutos) son indicadores importantes de la capacidad de absorción y acumulación por las plantas; por esta razón es importante generar información de la tasa de absorción y acumulación de los elementos químicos para cada especie de planta; conociendo la cantidad de materia seca y concentración de los elementos en cada etapa fenológica del cultivo, se puede estimar la cantidad total de cada nutriente que absorbió la planta. A pesar, de que el cadmio no es un elemento esencial para las plantas, su estudio se ha incrementado en los últimos años en los diferentes cultivos, debido al efecto dañino en la salud humana por la ingesta de vegetales, frutos y granos contaminados con este elemento.

En la Tabla 4 se presenta el contenido de cadmio en las hojas y raíces de plantas de los cinco genotipos de cacao estudiados, a 165 días después de su aplicación. Se encontró que la alta

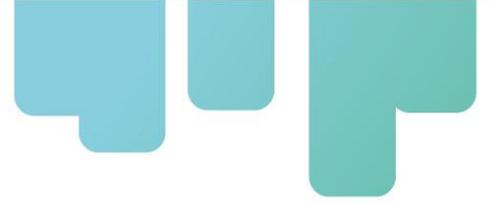


concentración de cadmio contribuyó a su alta acumulación en la planta y la absorción fue mayor, conforme la dosis se incrementó. Como señalan Grant et al., (1998) la cantidad de cadmio acumulada y traslocada en las plantas varía con las especies y con los cultivares, dentro de las especies. Los factores del suelo, ambientales y de manejo impactan en la cantidad de cadmio acumulado en las plantas (Shacklette, 1972); muchas investigaciones, señalan que la disminución del pH del suelo conduce a una mayor concentración de cadmio en las plantas, siempre que otras propiedades del suelo permanezcan sin cambios (Kirkham, 2006; Singh & Myhr, 1998). Al respecto, Chaudri et al., (1995) señalan que entre los factores responsables de la acumulación de cadmio se encuentran el cadmio disponible, el pH y el carbono orgánico en el suelo. Para Rodríguez et al., (2008), la biodisponibilidad del cadmio para la planta depende de factores físicos, químicos y biológicos que modifican su solubilidad y el estado del metal en el suelo.

**Tabla 4.** Contenido promedio de cadmio en hojas y raíces de cinco genotipos de cacao en respuesta a la aplicación de dosis crecientes de cadmio en un sustrato en condiciones de Vivero en San Ramon/Chanchamayo-Junin

Genotipo	Variables evaluadas	Dosis de cadmio ppm			
		0	50	100	150
CCN-51	Hojas	0.01	3.86	4.55	5.32
	Raíces	0.04	7.87	9.94	12.46
	Hojas + Raíces	0.05	11.75	14.49	17.78
ICS-60	Hojas	0.04	2.33	3.43	4.10
	Raíces	0.06	9.94	10.49	20.60
	Hojas + Raíces	0.60	12.27	13.92	24.70
ICS-95	Hojas	0.02	2.20	3.45	4.26
	Raíces	0.02	6.28	17.59	20.20
	Hojas + Raíces	0.04	8.48	21.04	24.45
POUND-7	Hojas	0.02	1.56	2.17	3.56
	Raíces	0.04	4.56	17.61	32.15
	Hojas + Raíces	0.06	6.12	19.77	35.70
VRAE-99	Hojas	0.02	2.23	3.23	3.47
	Raíces	0.02	5.34	11.92	16.56
	Hojas + Raíces	0.04	7.56	15.15	20.04

En los cinco genotipos de cacao, hubo una tasa creciente de acumulación de cadmio, tanto en hojas como en raíces. Pero la mayor acumulación ocurrió en las raíces, con una menor traslocación hacia las partes aéreas de la planta, en este caso las hojas, tal como lo informaron Stritsis & Claassen (2013). También se ha reportado que la acumulación del cadmio en el cacao es mayor en las hojas que en los granos como lo señalan Gramlich et al. (2018). Además, la respuesta es dependiente de la cantidad de cadmio aplicada al sustrato. Retamal-Salgado et al. (2017), encontraron que, en suelos enriquecidos con tasas crecientes de cadmio, el rendimiento no se vio afectado; pero los tejidos vegetales mostraron diferencias en la concentración de cadmio y también hubo diferencias de extracción entre los cultivares. Argüello et al. (2019), también encontró que cuando se añade más cadmio al sustrato, mayor es el contenido de este elemento en la planta (Argüello et al., 2019); Cuando se analizó el contenido de cadmio en las hojas entre los genotipos; en el CCN-51 se reportó los niveles más altos y varió desde 0.01 hasta 5.32 mg de cadmio/100 g de materia seca (ms), para el testigo y el tratamiento con la dosis más alta de

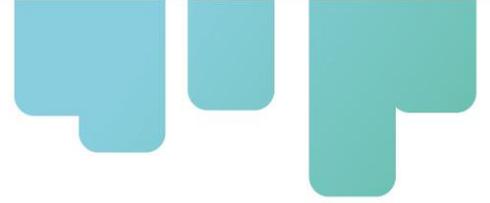


cadmio (150 ppm), respectivamente. El menor contenido correspondió al POUND-7, en la que se registró valores de 0.02, 1.56, 2.17 y 3.56 mg de cadmio/100 g de ms para las dosis de 0, 50, 100 y 150 ppm de cadmio, respectivamente (Tabla 4). El contenido en las raíces fue mayor comparado con las hojas, pero también varía, según el genotipo. En el CCN-51 se reportó los niveles más bajos y varió desde 0.04 hasta 12.46 mg de cadmio/100 g de materia seca (ms), para el testigo y el tratamiento con la dosis más alta de cadmio (150 ppm), respectivamente. El mayor contenido correspondió al POUND-7, en la que se registró valores de 0.04, 4.56, 17.61 y 32.15 mg de cadmio/100 g de ms para las dosis de 0, 50, 100 y 150 ppm de cadmio, respectivamente.

Es importante notar el contenido diferenciado de cadmio entre los genotipos estudiados. Comparando el nivel de cadmio encontrado en las plantas que no recibieron cadmio (0 ppm), con las plantas que recibieron 150 ppm, se encontró que el CCN-51 acumuló 17 veces más cadmio que el testigo, lo sigue el VRAE-99, con 20 veces más y los genotipos ICS-60 y ICS-95, que acumularon 24 veces más, valores menores que el POUND-7 que acumuló 35 veces más de cadmio. Resultados parecidos fueron reportados por otros autores en otros cultivos (Stritsis & Claassen, 2013). Castro et al. (2015), reportaron absorción diferenciada de cadmio entre genotipos de cacao, al igual que Chupillon-Cubas et al., (2017), cuando estudiaron seis genotipos de cacao como patrones. En otros cultivos como el trigo la acumulación aparente de cadmio en la raíz y en las hojas de cadmio aplicado al suelo, mostró una tendencia dependiente de la concentración de cadmio en el suelo (Lyubka et al., 2008). Por su parte Gramlich et al., (2017) indican que el efecto del cultivar puede explicarse por capacidades específicas de absorción o por un efecto de crecimiento que se traduce en diferentes tasas de absorción.

Es importante señalar que algunos autores, reportan un mayor contenido de cadmio en las partes áreas de la planta, comparado con las raíces (Chupillon-Cubas et al., 2017), probablemente porque consideraron el contenido en hojas y tallos. Pero a pesar del alto contenido de cadmio en las raíces de cacao, esta tiene una alta capacidad de migración y aparentemente se trasloca rápidamente de un órgano a otro (Seth et al., 2012). Después de la entrada, los iones son capturados por las células de la raíz uniéndose inicialmente a la pared celular, el apoplasto continuo de la corteza de la raíz es fácilmente permeable, pero las paredes celulares de la capa celular endodérmica actúan como una barrera para la difusión apoplástica (Kramer et al., 2002). Por lo tanto, los metales pasan a través del simplasto de la raíz antes de entrar en el xilema (Williams et al., 2000; Seth et al., 2012; Vanbelleghem et al., 2007). Lo que indica la presencia de un sistema de transporte y sitios de unión intracelular de alta afinidad, que facilitan la captación del cadmio a través de la membrana plasmática (Seth et al., 2012).

Estos resultados también mostrarían en forma indirecta la alta movilidad del cadmio en el suelo, en la planta y su fácil absorción por las plantas, el cacao presenta una alta predisposición para absorber Cd<sup>++</sup> (Rebekic & Loncaric, 2016; Gramlich et al., 2017; Gramlich et al., 2018). El sustrato usado en este experimento fue adecuado para el crecimiento de las plantas, además de la alta concentración del elemento estudiado. Das et al., (1997); Chlopecka et al., (1996) y Grant et al., (2010), señalan que la absorción y distribución de cadmio dentro de la planta depende del tipo de suelo. En este ensayo, el sustrato tuvo un pH de 6.9, pero el pH alto del suelo no siempre reduce la absorción de Cd por las plantas (Eriksson, 1989; Das et al., 1997; MaLaughlin et al., 1996).



La Tabla 5, muestra claramente la alta tasa de acumulación de cadmio en las plantas; pero estas no mostraron síntomas evidentes de fitotoxicidad y crecieron adecuadamente. Las plantas presentan varios mecanismos de respuesta frente al cadmio, tales como la exclusión activa, el secuestro vacuolar, la retención en las raíces, la inmovilización por las paredes celulares y la formación de complejos mediante la unión del metal a proteínas de bajo peso molecular (Ramos et al., 2002; Clemens et al., 2002; Wu et al., 2005; Rodríguez et al., 2008; Seth et al., 2012; Xu et al., 2012; Lai, 2015). También existe el secuestro del metal en la pared celular de la planta, precipitación con exudados radicales, la reducción de la absorción del metal por la membrana plasmática y la quelación del metal en el citosol (Rodríguez et al., 2008; Gonzáles & Zapata, 2008; Fernández et al., 2014;), reduciendo el Cd<sup>2+</sup> libre en el citosol, y los complejos cadmio-fitoquelatinas que a su vez son transportados a la vacuola o fuera de la célula (Clemens, 2006; Gonzáles & Zapata, 2008).

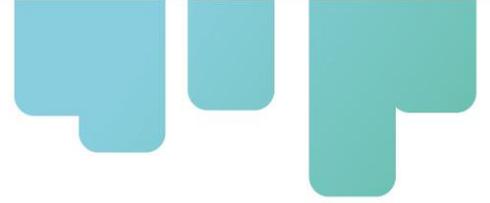
**Tabla 5.** Acumulación promedio de cadmio en hojas, raíces de plantas de cacao en respuesta a dosis crecientes en condiciones de Vivero.

Dosis de Cadmio (ppm)	Acumulación Cd (mg/100g ms)		
	Hojas	Raíces	H+R
0	0.02	0.03	0.05
50	2.30	6.64	8.95
100	3.367	13.51	16.88
150	4.142	20.39	24.55

### Características fisicoquímicas del sustrato y contenido de cadmio residual al final del experimento

El cadmio disponible en el suelo está en forma de Cd<sup>++</sup> (McLaughlin, 2014) y su actividad aumenta con la disminución del pH del suelo de esta manera existen correlaciones positivas entre la concentración de cadmio en el suelo y en los granos de cacao (Fauziah et al. 2001; Ramtahal et al. 2016; Gramlich et al., 2018; Zug et al. 2019), por eso es importante conocer las características del sustrato empleado en el ensayo.

Como se ha señalado anteriormente, el sustrato estuvo compuesto por tierra de una plantación de cacao + guano de ovino + área (en una proporción 3:2:1), sus características fisicoquímicas al inicio y al final del experimento, se presentan en la Tabla 10 del Anexo I. Corresponde a la clase textural de arena franca, con predominancia de arena y baja en arcilla; un sustrato suelto y de buena aireación. Las propiedades químicas, muestran un pH neutro inicial que baja ligeramente, al final del experimento; la materia orgánica está en niveles altos, aumenta de 4.1 % a 6.8 %, en tratamiento control, pero tiene a disminuir con las dosis crecientes de cadmio. El contenido de P (ppm) en general es muy alto, eso se debe probablemente a la fertilización con 100 mg/kg de P205, pero esta disminuye conforme las dosis de cadmio aumentan desde 131 ppm en el sustrato inicial, 100.4 ppm en el tratamiento control a 86.2, 84.9 y 85.0 en los tratamientos que llevaron cadmio. El K disponible en el sustrato al inicio es alto, con una tendencia similar que el P, que disminuye con la adición del cadmio. El suelo usado para la preparación del sustrato se colectó de 0-15 cm de profundidad donde se encuentran las mayores concentraciones de cadmio en las zonas cacaoteras (Huauya & Huamani, 2014; Huamaní et al., 2012; Chávez et



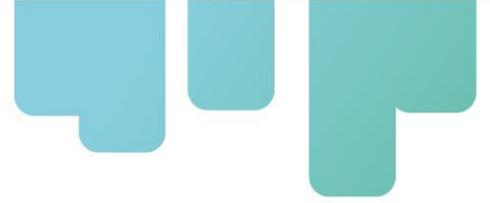
al., 2015; Chávez et al., 2018; Arévalo et al., 2017a; Arévalo, et al., 2017b; Barraza et al., 2017; Tantalean & Huayhua, 2017). En nuestro caso el análisis inicial de cadmio en el suelo mostró un contenido bajo (0.42 ppm) de este elemento y el análisis de cadmio residual mostró contenidos altos de cadmio, los cuales están relacionados directamente con la dosis de cadmio aplicado al sustrato al inicio del experimento. A excepción de los tratamientos testigo (en las que no se adiciona cadmio) los niveles encontrados fueron bajos como se observa en la Tabla 6.

**Tabla 6.** Contenido residual de cadmio (ppm) en el sustrato al final del experimento

Dosis de Cd (ppm)	Genotipos de cadmio				
	CCN-51	ICS-60	ICS-95	POUND-7	VRAE-99
0	0.22	0.28	0.25	0.23	0.27
50	17.03	28.93	27.84	20.38	20.38
100	48.37	40.36	47.01	47.59	54.70
150	70.18	69.36	69.42	69.84	71.28

Entre los diversos parámetros del suelo que afectan la disponibilidad de cadmio, está la reacción del suelo, el pH es considerado como el más importante (Chávez et al., 2018) y muchas investigaciones señalan que la disminución del pH del suelo conduce a una mayor concentración de cadmio en las plantas (Kirkham, 2006; Chaudri et al., 1995; Singh & Myhr, 1998). La movilidad del cadmio en el suelo aumenta constantemente con la disminución del pH; pero el alto pH del suelo no siempre reduce la absorción de Cd por las plantas como en este caso (Eriksson, 1989; Das et al., 1997; MaLaughlin et al., 1996; Chlopecka et al., 1996; Maier et al., 1997; Sauv e et al., 2000; Grant et al., 2010; Crozier, 2015; Scaccabarozzi et al., 2020). Respecto a la materia orgánica (MO), Florida et al. (2019), encontraron una correlación negativa no significativa entre la MO del suelo y el contenido de cadmio en el suelo y las almendras de cacao.

El cadmio, es un metal pesado reconocido como extremadamente contaminante de los suelos agrícolas (Afolayan, 2018; Xu et al., 2015). Se considera contenidos "normales" para suelos agrícolas un máximo de 2 mg/kg de cadmio total; para la Unión Europea es de 3 mg/kg (Miranda et al., 2008). En general, la presencia de más de 5–10 mg/kg de cadmio en el suelo agrícola tiene efectos adversos en los cultivos (Siedlecka, 1995; Singh & Tuteje, 2011). En nuestro caso, a pesar de estos altos niveles de adición de cadmio al sustrato no se observó síntomas de fitotoxicidad durante el crecimiento de los cinco genotipos de cacao. Al respecto se ha informado varios efectos fitotóxicos directos e indirectos causados por el exceso de cadmio en las plantas perturbando así una serie de procesos físicos y biológicos (Rodríguez et al., 2008; Fernández et al., 2013). Además, la absorción de Fe, Mn, Cu y Zn se ve afectada por el estrés de cadmio, afectando el transporte de estos elementos desde las raíces hasta las partes aéreas (Aravind & Prasad, 2005; Wu et al., 2005; Metwally et al., 2005; Tran & Popova, 2013; Lopes et al., 2014; Wu et al., 2016).



## CONCLUSIONES

Los genotipos estudiados tuvieron una respuesta variable a las diferentes dosis de cadmio probadas. No hubo efecto significativo sobre el crecimiento y los valores alcanzados en las variables evaluadas corresponden al potencial genético de cada uno de ellos. El POUND-7 fue el cultivar más vigoroso.

La capacidad de absorción de cadmio varió de un genotipo a otro. POUND-7 absorbió más cadmio y el CCN-51, mucho menos. Generalmente, la mayor concentración de este elemento se presentó en las raíces; pero en ningún caso, se observaron síntomas de fitotoxicidad.

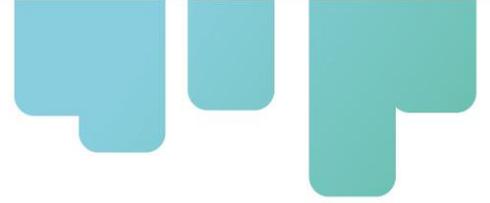
El alto pH > 6.5 del sustrato, no afectó la absorción del cadmio en las plantas de cacao. Además, el cadmio disponible residual se mantuvo en un nivel relativamente alto.

## RECOMENDACIONES

La importancia del problema del cadmio en cacao sugiere la necesidad de continuar investigando en este tema.

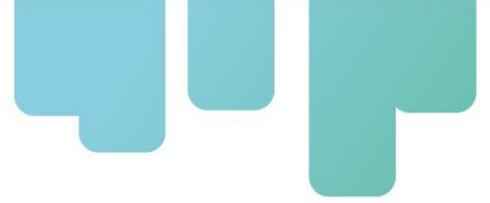
Se debería evaluar la capacidad de absorción de una mayor cantidad de genotipos que se puedan usar como patrones en este cultivo. Deberían usarse otras técnicas, como las soluciones nutritivas para conocer mejor los mecanismos de absorción y evaluar parámetros fisiológicos, asociados con el estrés por cadmio y la resistencia a este elemento.

La complejidad de este problema sugiere realizar investigaciones con enfoque multidisciplinario que considere todos los eslabones de la cadena de valor del cacao.

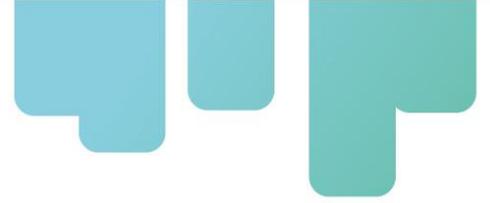


## BIBLIOGRAFÍA

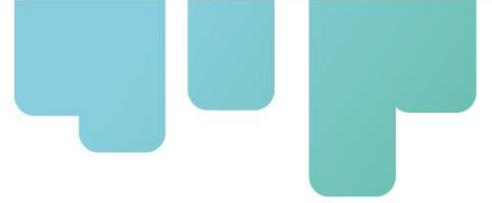
- Afolayan, A.O. 2018. Accumulation of heavy metals from battery waste in topsoil, surface water, and garden grown maize at Omilende Area, Olodo, Nigeria. *Advanced Science New. Global Challenges* 2: 1700090: 16p.
- Aikpokpodion, P., L. Lajide & A. Aiyesanmi. 2012. Metal fractionation in soils collected from selected Cocoa plantations in Ogun state, Nigeria. *World Applied Sciences Journal* 20 (5): 628-636
- Almeida, A.F. de & R.R. Valle. 2007. Ecophysiology of the cacao tree. *Braz. J. Plant Physiol.* 19(4):425-448.
- Arao, T., N. Ae, M. Sugiyama & M. Takahashi. 2003. Diferencias genotípicas en la absorción y distribución de cadmio en la soya. *Plant and Soil* 251: 247–253.
- Aravind P. & M.N.V. Prasad. 2005. Cadmium-Zinc interactions in a hydroponic system using *Ceratophyllum demersum* L: adaptive ecophysiology, biochemistry and molecular toxicology. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17:3–20.
- Arévalo E., M.E. Obando, L.B. Zúñiga, C.O. Arévalo, V. Baligar & Z. He. 2016. Metales pesados en suelos de plantaciones de cacao (*Theobroma cacao* L.) en tres regiones del Perú. *Ecología Aplicada* 15(2): 81-89.
- Arévalo, E., C.O. Arévalo, V.C. Baligar & Z.L. He. 2017a. Heavy metal accumulation in leaves and beans of cacao (*Theobroma cacao* L.) in major cacao growing regions in Peru. *Science of the Total Environment* 605–606: 792–800.
- Arévalo, C.O.; E. Arévalo, A. Farfán, V. Baligar & Z. He. 2017b. Metales pesados en suelos, hojas y granos de zonas cacaoteras del Perú. *International Symposium on Cocoa Research (ISCR)*, Lima, Peru, 13-17 November 2017.
- Argüello, D.; E. Chávez, F. Laurysen, R. Vanderschueren & Montalvo. 2019. Soil properties and agronomic factors affecting cadmium concentrations in cacao beans: a nation wide survey in Ecuador. *Science Total Environment* 649 (16): 120-127.
- Arvelo, M.A., D. González, S. Maroto, T. Delgado & P. Montoya. 2017. Manual técnico del cultivo de cacao - buenas prácticas para América Latina. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). San José, Costa Rica: 143p.
- Benedetto di A. & J. Tognetti. 2016. Técnicas de análisis de crecimiento de plantas: su aplicación a cultivos intensivos. RIA- Universidad de Buenos Aires-Argentina: 25p.
- Bhattacharjee, R. & P.L. Kumar. 2007. Cacao. In *Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants*, C. Kole (Ed.) volume 6 Technical Crops. Springer-Verlag Berlin Heidelberg: 127- 142.
- Bingham, F.T.; A.L. Page, R.J. Mahler & T.J. Ganje. 1975. Growth and cadmium accumulation of plants grown on a soil treated with cadmium-enriched sewage sludge. *J. Environ. Qual.* 4: 207–211.
- Castro, A.V., A.A.F. de Almeida, C.P. Pirovani, G.S.M. Reis, N.M. Almeida & P.A.O. Mangabeira. 2015. Morphological, biochemical, molecular and ultrastructural changes induced by Cd toxicity in seedlings of *Theobroma cacao* L. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 115: 174–186.
- Clemens S. 2006. Evolution and function of phytochelatin synthases. *J. Plant Physiol.* 163, 319–332.
- Clemens S., M.G. Palmgren & U. Kramer. 2002. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends in Plant Science* 7: 309–315.
- Crozier, J. 2015. Heavy Metals in Cocoa. *International Workshop on possible EU regulations on cadmium in cocoa and chocolate products* 3rd & 4th May. 16p.



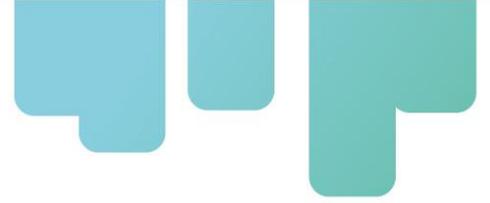
- Cryer, N. & P. Hadley. 2012. Cadmium uptake and partitioning within the cocoa plant. International Workshop on Cadmium in Cocoa and Chocolate Products, London, 3-4 May 2012. <http://www.icco.org/sites/sps/documents/Cadmium%20Workshop/Reading%20University.pdf>
- Chaney, R.L., J.A. Ryan, Y.M. Li, R.M. Welch, P.G. Reeves, S.L. Brown & C.E. Green. 1996. Phyto- availability and bio-availability in risk assessment of Cd in agricultural environments. In: Proceedings of the OECD Workshop on Sources of Cadmium in the Environment, Stockholm, Sweden, oct. 15-22, 1995. OECD, Paris, France. p. 49-78.
- Chávez, E., Z.L. He, P.J. Stoffella, R.S. Mylavarapu, Y.C. Li, B. Moyano & V.C. Baligar. 2015. Concentration of cadmium in cacao beans and its relationship with soil cadmium in southern Ecuador. *Science of the Total Environment* 533: 205–214.
- Chávez, C.R., E. Soto & J. Guerrero. 2018. Cadmio en el cacao: ¿cómo mitigar su impacto económico y comercial. MINAGRI-DGA – SENASA – IICA, 29 de junio del 2018, Bogota – Colombia. 25p.
- Chaudri, A.M., S.P. Zhao, S.P. McGrath & A.R. Crosland. 1995. The cadmium content of British wheat grain. *J. Environ. Qual.* 24: 850–5.
- Chlopecka, A., J.R. Bacon, M.J. Wilson & J. Kay. 1996. Forms of cadmium, lead and zinc in contaminated soils of south-western Poland. *Journal Environmental Quality* 25(1): 69- 79.
- Chubin, R.G. & J.J. Street, 1981. Adsorption of cadmium on soil constituents in the presence of complexing ligands; *J. Environ. Qual.* 10: 225–228.
- Chupillon-Cubas, J.; C.O. Arévalo-Hernández, E. Arévalo-Gardini, A. Farfán-Pinedo & V. Baligar. 2017. Acumulación de cadmio en seis genotipos de cacao utilizados como patrón. International Symposium on Cocoa Research (ISCR), Lima - Perú. 13-17/noviembre 2017.
- Cui, Y., X. Zhang & Y. Zhu. 2008. Does copper reduce cadmium uptake by different rice genotypes. *J. Environ. Sci.* 20:332-338.
- DalCorso G., S. Farinati, S. Maistri & A. Furini. 2008. How Plants Cope with Cadmium: Staking All on Metabolism and Gene Expression. *Journal of Integrative Plant Biology* 50 (10): 1268– 1280.
- Das, P., S. Samantaray & G.R. Rout. 1997. Studies on cadmium toxicity in plants: a review. *Environmental Pollution* 98: 29-36.
- Enríquez, G.A. 1985. Curso sobre el cultivo de cacao. Serie de Materiales de Enseñanza No 22. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza –CATIE, Turrialba, Costa Rica. 239p.
- Eriksson J., I. Oborn, G. Jansson & A. Andersson. 1996. Factors influencing Cd-content in crops. Results from Swedish field investigations. *Swed. J. Agric.Res.* 26: 125–33
- Fauziah, C.I., A.R. Zaharah, S. Zauyah & A.R. Anuar. 2001. Proposed soil heavy metal reference values to be used for site assessment. Proceedings of Brownfield First National Conference on Contaminated Land, Petaling Jaya. The Institution of Engineers, Malaysia.15p.
- FAO. 2019. Documento de debate sobre el desarrollo de un código de prácticas para la prevención y reducción de la contaminación por cadmio en el cacao. Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias comité del CODEX sobre contaminantes de los alimentos. 13ra Reunión Yogyakarta (Indonesia), 29 de abril – 3 de mayo de 2019: 32p.
- Fernandez, R., A. Bertrand, R. Reis, M.P. Mourato, L.L. Martins & A. Gonzalez. 2013. Growth and physiological responses to cadmium stress of two populations of *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter. *Journal of Hazardous Materials*, 244: 555–562. DOI 0.1016/j.jhazmat.2012.10.044.
- Fernandez R., D. Fernandez-Fuego, A. Bertrand & A. Gonzalez. 2014. Strategies for Cd accumulation in *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter: role of the cell wall, non-protein thiols and organic acids. *Plant Physiology Biochemistry*, 78:63–70. DOI 10.1016/j.plaphy.2014.02.021.



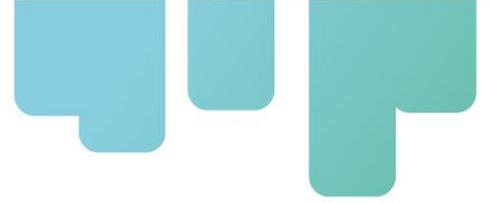
- Florida, N., S.L. Claudio & R. Gómez. 2018. El pH y la absorción de cadmio en almendras de cacao orgánico (*Theobroma cacao* L.) en Leoncio Prado, Huánuco, Perú. *Folia Amazónica* 27 (1): 1-8.
- Florida, N., S.L. Claudio, C.A. Gozme & R. Gómez. 2019. Organic matter and the absorption of cadmium in organic cacao almonds (*Theobroma cacao* L.), Leoncio Prado - Huánuco. *Agri. Res. & Tech: Open Access J* 21(1): ARTOAJ. M.S.I.D.556152
- García, L.F. 2010. Catálogo de cultivares de cacao del Perú. Ministerio de Agricultura Dirección General de Competitividad Agraria. Lima Perú. 112p.
- Gill S.S., N.A. Khan & N. Tuteja. 2011. Differential cadmium stress tolerance in five Indian mustard (*Brassica juncea* L.) cultivars. *Plant Signalling and Behaviour* 6:293–300. DOI 10.4161/psb.6.2.15049.
- González, D. & O. Zapata. 2008. Mecanismos de tolerancia a elementos potencialmente tóxicos en plantas. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 82: 53-61.
- Gramlich, A.; S. Tandy, C. Andres, J. Chincheros, L. Armengot, M. Schneider & R. Schulin. 2017. Cadmium uptake by cocoa trees in agroforestry and monoculture systems under conventional and organic management. *Science Total Environment* 580(14): 677-686.
- Gramlich, A.; S. Tandy, C. Gauggel, M. Lopez, D. Perla, V. Gonzalez & R. Schulin. 2018. Soil cadmium uptake by cocoa in Honduras. *Science Total Environment* 612(15): 370-378.
- Grant, C. A., W.T. Buckley, L.D. Bailey & F. Selles. 1998. Cadmium accumulation in crops. *Can. J. Plant Sci.* 78: 1–17.
- Grant, C., D. Flaten, M. Tenuta, X. Gao, S. Malhi & E. Gowalko. 2010. Impact of long-term application of phosphate fertilizer on cadmium accumulation in crops. 19th World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World 1 – 6 August 2010, Brisbane, Australia. 132-134
- Huamani, H.A., M.Á. Huayhua, L.G. Mansilla, N. Florida & G.M. Neira. 2012. Presencia de metales pesados en cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) orgánico. *Acta Agronómica* 61(4): 339- 344.
- Huauya, M. & H. Huamani. 2014. Macrofauna edáfica y metales pesados en el cultivo de cacao, *Theobroma cacao* L. (Malvaceae). *The Biologist* 12: 45–55.
- Hussain, M.M., A. Saeed, A.A. Khan, S. Javid & B. Fatima. 2015. Differential responses of one hundred tomato genotypes grown under cadmium stress. *Genet Mol Res.* 14(4):13162- 13171. DOI:10.4238/2015.October.26.12
- ICCO. 2019. Production of cocoa beans. *Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics*, Vol. XLV, No.1, Cocoa year 2018/19.
- Kabata-Pendias A & H. Pendias. 2000. Trace Elements in Soils and Plants, 3th ed.; CRC Pres. New York Washington, D.C. 403p.
- Kashem, M.A., B.R. Singh, T. Kondo, S.M.I. Huq & S. Kawai. 2007. Comparison of extractability of Cd, Cu, Pb and Zn with sequential extraction in contaminated and non contaminated soils. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 4(2): 169-176.
- Kashem, M.A., B.R. Singh, S.M.I. Huq & S. Kawai. 2011. Fractionation and mobility of cadmium, lead and zinc in some contaminated and non-contaminated soils of Japan. *Journal of Soil Science and Environmental Management* 3(9): 241-249.
- Kikuchi, T., M. Okazaki, K. Toyota, T. Motobayashi & M. Kato. 2007. The input– output balance of cadmium in a paddy field of Tokyo. *Chemosphere* 67(5):920-927.
- Kirkham, M.B. 2006. Cadmium in plants on polluted soils: effects of soil factors, hyperaccumulation, and amendments. *Geoderma* 137: 19–32.
- Kuboi, T.; A. Noguchi & J. Yazaki. 1986. Family-dependent cadmium accumulation characteristics in higher plants. *Plant Soil* 92: 405–415.
- Lanza, J.G., P.C. Churión, N.J. Liendo & V.H. López. 2016. Evaluación del contenido de metales



- pesados en cacao (*Teobroma cacao* L.) de Santa Bárbara del Zulia, Venezuela. *Saber, Universidad de Oriente, Venezuela* 28(1): 106-115.
- Li, Y.M., R.L. Chaney, A.A. Schneiter, J.F. Miller, E.M. Elias & J.J. Hammond. 1997. Screening for low grain cadmium phenotypes in sunflower, durum wheat and flax. *Euphytica* 94: 23–30.
- Li, Z., L. Li & G.P. J. Chen. 2005. Bioavailability of Cd in a soil–rice system in China: soil type versus genotype effects. *Plant and Soil* 271: 165–173.
- Lopes Júnior, C.A., P. Mazzafera & M.A.Z. Arruda. 2014. A comparative ionomic approach focusing on cadmium effects in sunflowers (*Helianthus annuus* L.). *Environmental and Experimental Botany* 107:180–186. DOI 10.1016/j.envexpbot.2014.06.002.
- Lyubka S., S. Donka, Y. Ivanka, B. Tsvetanka & V. Andon. 2008. Characterization of cadmium uptake by roots of durum wheat plants. *Journal of Central European Agriculture* 9(3): 533-538.
- Lux, A., M. Martinka, M. Vaculík & P.J. White. 2011. Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review. *Journal of Experimental Botany* 62(1): 21–37.
- Maier, N.A., M.J. McLaughlin, M. Heap, M. Butt, M.K. Smart & C.M.J. Williams. 1997. Effect of current-season application of calcitic lime on soil pH, yield and cadmium concentration in potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers. *Nutr. Cycle Agroecosystem* 47: 29–40.
- Mann, S.S., A.W. Rate & R.J. Gilkes 2002. Cadmium accumulation in agricultural soils in Western Australia. *Water, Air, and Soil Pollution* 141: 281–297.
- McLaughlin, M.J. 2014. Heavy metals in agriculture with a focus on cadmium. CSIRO Land and Water Fertiliser Technology Research Centre, Waite Research Institute, University of Adelaide: 55p.
- McLaughlin, M.J., K.G. Tiller, R. Naidu & D.P. Stevens. 1996. Review: the behaviour and environmental impact of contaminants in fertilizers. *Aust. J. Soil Res.* 34: 1–54
- Mench, M., D. Baize & B. Mocquot. 1997. Cadmium availability to wheat in five soil series from the Yonne district, Burgundy, France. *Environ Pollution* 95: 93-103.
- MINAGRI. 2018. Lineamientos de muestreo para la determinación de niveles de cadmio, en suelos, hojas, granos y productos derivados del cacao. Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI) Lima, Perú. 22p.
- MINAGRI. 2019. Protocolo para muestreo de cadmio en hojas de cacao. Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI) Lima, Perú. 8p.
- Miranda, D., C. Carranza, C. Rojas, C. Jérez, G. Fischer & J. Zurita. 2008. “Acumulación de metales pesados en suelo y plantas de cuatro cultivos hortícolas, regados con agua del Río Bogotá”. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 2 (2): 180-191.
- Mendes, A.M.S., G.P. Duda, C.W.A. do Nascimento & M.O. Silva. 2006. Bioavailability of cadmium and lead in a soil amended with phosphorus. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, 63(4): 328-332.
- Mite, F., M. Carrillo & W. Durango. 2015. Avances del monitoreo de presencia de cadmio en almendras de cacao, suelos y aguas en Ecuador. XII Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo. Santo Domingo, del 17-19 de noviembre del 2010. 21p.
- Mite, F., J. Cargua, L. Albán, M. Carrillo & W. Durango. 2016. Monitoreo de la presencia de Cd en suelos y almendras de cacao. Foro sobre la problemática de Cadmio en el cultivo de cacao en Ecuador - Medidas de mitigación. IICA - Quito, Julio 11, 2016. INIAP, GTZ, CORPEI y ANECACAO. 23p.
- M&O Consulting. 2008. Estudio de caracterización del potencial genético del cacao en el Perú. “Proyecto de Cooperación UE-Perú en materia de asistencia técnica relativa al comercio - apoyo al programa estratégico nacional exportaciones (PENX 2003-2013)” consultoría: 24/2007/PNRC/lote 2: 152p.
- Motamayor, J.C., J. Risterucci, H. Heath & J. Lanaud. 2003. La domesticación del cacao II:



- progenitor germplasm of the Trinitario cacao cultivar. *Heredity* 91: 322–330.
- Motamayor, J.C., A.M. Risterucci, P.A. Lopez, C.F. Ortiz, A. Moreno & C. Lanaud. 2002. Cacao domestication I: the origin of the cacao cultivated by the Mayas. *Heredity* 89: 380–386.
- Nicholson, F.A. & B.J. Chambers. 2008. SP0547: Sources and Impacts of Past, Current and Future Contamination of Soil. ADAS Gleadthorpe: 35p.
- Papoyan, A., M. Pineros & L.V. Kochian. 2007. Plant Cd<sup>2+</sup> and Zn<sup>2+</sup> status effects on root and shoot heavy metal accumulation in *Thlaspi caerulescens*. *New Phytol.* 175, 51–58.
- Ramos, I., E. Esteban, J.J. Lucena, A. Gárate. 2002. Cadmium uptake and subcellular distribution in plants of *Lactuca* sp. Cd–Mn interaction. *Plant Science* 162:761–767 DOI 10.1016/S0168-9452(02)00017-1.
- Ramtahal, R., I.C. Yen, I. Bekele, F. Bekele, L. Wilson, K. Maharaj & L. Harrynanan. 2016. Relationships between Cadmium in Tissues of Cacao Trees and Soils in Plantations of Trinidad and Tobago. *Food and Nutrition Sciences* 7: 37-43.
- Rebekic, A. & Z. Loncaric. 2016. Genotypic difference in cadmium effect on agronomic traits and grain zinc and iron concentration in winter wheat. *Emirates Journal of Food and Agriculture* 28(11): 772-778; doi: 10.9755/ejfa.2016-05-475
- Retamal-Salgado, J., I. Matus, I. Walter & J. Hirzel. 2017. Absorption and distribution of cadmium of three maize hybrids in three environments. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 17 (2), 266-278.
- Roberts, T.L. 2014. Cadmium and phosphorous fertilizers: the issues and the science. *Procedia Engineering* 83: 52-59.
- Rodríguez, S., Martínez; R., P. Romero & L. Sandalio. 2008. Toxicidad del cadmio en plantas. *Ecosistemas* 17: 139-146.
- Rodríguez, H.S. 2017. Dinámica del cadmio en suelos con niveles altos del elemento, en zonas productoras de cacao de Nilo y Yacopí, Cundinamarca. Tesis Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias Agrarias Bogotá, Colombia. 113p.
- Romero, C.A. 2016. Estudio del cacao en el Perú y en el mundo. Un análisis de la producción y el comercio. MINAGRI-DGPA-DEEIA: 90p.
- Roth, U, E. Von Roepenack & S. Clemens. 2006. Proteome changes in *Arabidopsis thaliana* roots upon exposure to Cd<sup>2+</sup>. *J. Exp. Bot.* 57, 4003–4013.
- Salt, D.E., R.C. Prince, I.J. Pickering & I. Raskin. 1995. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard. *Plant Physiol.* 109, 1427–1433.
- Sauvé, S., W. Hendershot & H.E. Allen 2000. Solid-solution partitioning of metals in contaminated soils: dependence on pH, total metal burden, and organic matter. *Environ Sci. Technol.* 34: 1125–1131.
- Scaccabarozzi, D., L. Castillo, A. Aromatisi, L. Milne, A. Búllon & M. Muñoz. 2020. Soil, site, and management factors affecting cadmium concentrations in cacao-growing soils. *Agronomy* 10: 806; doi:10.3390/agronomy10060806
- Seth, C.S., T. Remans, E. Keunen, M. Jozefczak, H. Gielen, K. Opdenakker, N. Weyens, J. Vangronsveld & A. Cuypers. 2012. Phytoextraction of toxic metals: a central role for glutathione. *Plant, Cell and Environment* 35: 334–346.
- Sghayar, S., A. Ferri, C. Lancilli, G. Lucchini, A. Abruzzese, M. Porrini, T. Ghnaya, F.F. Nocito, C. Abdelly & G.A. Sacchi. 2014. Analysis of cadmium translocation, partitioning and tolerance in six barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars as a function of thiol metabolism. *Biology and Fertility of Soils* 3:311–320
- Shacklette, H.T. 1972. Cadmium in plants-contributions to geochemistry. Geological Survey Bulletin 1314-G. Library of Congress catalog-card No. 72-600270 28p.
- Siedlecka, A. 1995. Some aspects of interactions between heavy metals and plant mineral nutrients. *Acta Soc. Bot. Pol.*, 64: 265–272.



- Shi, G., C. Liu, M. Cui, Y. Ma & Q. Cai. 2012. Cadmium tolerance and bioaccumulation of 18 hemp accessions. *Applied Biochemistry Biotechnology* 168:163–173.
- Singh B.R. & K. Myhr. 1998. Cadmium uptake by barley as affected by Cd sources and pH levels. *Geoderma* 84: 185–194.
- Singh, K. & N. Tuteje. 2011. Cadmium stress tolerance in crop plants. Probing the role of sulfur. *Plant Signaling & Behavior* 6(2): 215-222.
- Stacey, S.P., M.J. McLaughlin & G.M. Hettiarachchi. 2010. Fertilizer-Borne Trace Element Contaminants in Soils. In *Trace Elements in Soils*. P.S. Hooda (ed.). Blackwell Publishing, Ltd. 135- 154.
- Stritsis, C. & N. Claassen. 2013. Cadmium uptake kinetics and plants factors of shoot Cd concentration. *Plant Soil* 367:591–603
- Sungur, A., M. Soylak & H. Ozcan. 2014. Investigation of heavy metal mobility and availability by the BCR sequential extraction procedure: relationship between soil properties and heavy metals availability. *Chemical Speciation and Bioavailability* 26 (4): 219 – 230.
- Tantalean, E. & M.Á. Huauya. 2017. Distribución del contenido de cadmio en los diferentes órganos del cacao CCN-51 en suelo aluvial y residual en las localidades de Jacintillo y Ramal de Aspuzana. *Rev. Investig. Agroproducción Sustentable* 1(2): 69-78.
- Tran, T.A. & L.P. Popova. 2012. Functions and toxicity of cadmium in plants: recent advances and future prospects. *Turkish Journal of Botany* 37: 1-13.
- Vanbellegghem F., A. Cuypers, B. Semane, K. Smeets, J. Vangronsveld & R. Valcke. 2007. Subcellular distribution of Cd in roots and leaves of *Arabidopsis thaliana*, an energy-dispersive X-ray microanalysis study on cryofixed and cryosubstituted tissues. *New Phytologist* 173: 495–508.
- Williams L.E., J.K., Pittman & J.L. Hall. 2000. Emerging mechanisms for heavy metal transport in plants. *Biochimica & Biophysica Acta* 1465: 104–126.
- Wuana, R.A. & F.E. Okieimen. 2011. Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. *International Scholarly Research Network ISRN Ecology* Volume 2011, Article ID 402647. 20 p.; doi:10.5402/2011/402647.
- Wu, F., J. Dong, Q.Q. Qian & G.P. Zhang. 2005. Subcellular distribution and chemical form of Cd and Cd-Zn interaction in different barley genotypes. *Chemosphere* 60: 1437-1446.
- Wu, H., J. Wang, B. Li, Y. Ou, W. Jiang, D. Liu & J. Zou. 2016. Uptake and Accumulation of Cadmium and Relative Gene Expression in Roots of Cd-resistant *Salix matsudana* Koidz. *Pol. J. Environ. Stud.* 25(6): 2717-2723.
- Xu, Q., H. Min, S. Cai, Y. Fu, S. Sha, K. Xie & K. Du. 2012. Subcellular distribution and toxicity of cadmium in *Potamogeton crispus* L. *Chemosphere* 89(1): 114-120.
- Xu, Y.G.; W.T. Yu, Q. Ma & H. Zhou. 2015. Potential risk of cadmium in a soil-plant system as a result of long-term (10 years) pig manure application. *Plant Soil Environ.* 61(7): 352– 357.
- Xu, X., J. Qian, E. Xie, X. Shi & Y. Zhao. 2018. Spatio-Temporal Change and Pollution Risk of Agricultural Soil Cadmium in a Rapidly Industrializing Area in the Yangtze Delta Region of China. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 15: 2743; doi:10.3390/ijerph15122743.
- Zhang, H., Q. Guo, J. Yang, T. Chen, G. Zhu, W. Peters, R. Wei, L. Tian, C. Wang, D. Tan, J. Ma, G. Wang, & Y. Wan. 2014. Cadmium accumulation and tolerance of two castor cultivars in relation to antioxidant systems. *Journal of Environment Science* 26:2048–2055 DOI 10.1016/j.jes.2014.08.005.
- Zug, K.L.M., H.A. Huamaní, F. Meyberg, J.S. Cierjacks & A. Cierjacks. 2019. Cadmium accumulation in peruvian cacao (*Theobroma cacao* L.) and opportunities for mitigation. *Water, Air, & Soil Pollution* 230:72. doi.org/10.1007/s11270-019-4109-x



## ANEXOS

## ANEXO I

**Tabla 5.** Altura promedio de plantones (cm) de cinco genotipos de cacao en respuesta a la contaminación con dosis creciente de cadmio.

GENOTIPOS	Cd (mg/kg)	1º Evaluación (15.11.2019)	2º Evaluación (15.01.2020)	3º Evaluación (25.02.2020)
CCN-51	0	14.48	22.09	34.46
	50	14.53	22.67	37.19
	100	14.41	26.66	39.50
	150	15.85	27.28	39.90
ICS-60	0	15.07	27.16	39.65
	50	16.38	26.63	38.79
	100	15.63	28.68	41.80
	150	12.88	24.84	34.86
ICS-95	0	14.36	27.57	41.83
	50	14.96	23.80	35.13
	100	11.62	18.64	25.53
	150	11.44	26.18	39.53
POUND-7	0	18.03	37.38	52.15
	50	16.67	36.34	59.33
	100	15.38	32.90	53.32
	150	15.69	36.40	53.53
VRAE-99	0	11.65	23.35	26.22
	50	12.27	20.16	29.92
	100	15.06	32.90	46.98
	150	12.27	21.83	34.38

**Tabla 6.** Número promedio de hojas (cm) de cinco genotipos de cacao en respuesta a la contaminación con dosis creciente de cadmio.

Genotipos	Cd (mg/kg)	1º Evaluación (15.11.2019)	2º Evaluación (15.01.2020)	3º Evaluación (25.02.2020)
CCN-51	0	6.75	13.67	17.58
	50	7.69	13.86	18.89
	100	8.75	17.17	21.00
	150	8.47	16.39	20.03
ICS-60	0	9.31	16.19	20.67
	50	9.92	15.58	19.00
	100	8.67	16.08	20.17
	150	7.08	13.82	16.67
ICS-95	0	8.19	14.44	21.17
	50	7.67	15.08	16.75
	100	7.00	11.75	13.69
	150	7.06	15.25	18.19
POUND-7	0	8.33	17.17	23.42
	50	9.06	19.86	25.72
	100	9.44	20.11	25.44
	150	8.72	18.28	24.44
VRAE-99	0	5.58	10.08	14.44
	50	8.52	13.83	17.42
	100	8.17	14.67	18.83
	150	6.97	14.67	17.00

**Tabla 7.** Diámetro promedio de tallo (cm) de cinco genotipos de cacao en respuesta a la contaminación con dosis creciente de cadmio.

Genotipos	Cd (mg/kg)	1º Evaluación (15.11.2019)	2º Evaluación (15.01.2020)	3º Evaluación (25.02.2020)
CCN-51	0	4.14	6.51	8.10
	50	4.04	6.96	8.47
	100	4.19	7.13	9.12
	150	4.70	7.18	8.83
ICS-60	0	4.90	6.18	9.54
	50	4.56	7.05	8.74
	100	4.78	6.98	9.57
	150	4.32	5.44	7.16
ICS-95	0	4.24	6.41	7.97
	50	4.55	6.21	8.18
	100	3.64	5.09	6.57
	150	3.87	5.35	7.53
POUND-7	0	4.42	8.72	10.51
	50	4.22	8.71	11.02
	100	4.34	8.68	10.50
	150	4.35	6.56	9.31
VRAE-99	0	4.03	5.18	6.06
	50	4.51	6.52	8.16
	100	4.31	7.87	8.78
	150	3.89	5.91	6.23

**Tabla 8.** Peso fresco promedio de hojas, tallo y raíces de cinco genotipos de cacao en respuesta a la contaminación con dosis creciente de cadmio.

Genotipos	Cd (mg/kg)	Peso fresco (g) de:				Longitud de la raíz más larga (cm)
		Hojas	Tallos	Raíces	Total	
CCN-51	0	24.18	12.69	8.83	45.71	28.49
	50	30.07	18.57	12.31	60.95	31.21
	100	29.40	17.17	11.47	58.03	29.68
	150	34.58	15.16	6.95	56.69	30.26
ICS-60	0	27.36	15.67	12.44	55.47	33.17
	50	27.13	17.15	10.78	55.07	32.26
	100	24.21	15.92	9.84	49.97	28.79
	150	18.59	12.54	8.88	40.02	27.60
ICS-95	0	32.13	16.90	9.23	56.25	31.65
	50	31.30	14.41	8.89	55.44	28.48
	100	20.20	8.92	4.87	33.95	29.35
	150	19.73	13.40	5.83	37.72	25.99
POUND-7	0	42.66	23.96	13.91	80.53	33.42
	50	55.69	31.19	15.08	102.96	32.02
	100	55.52	31.07	14.84	101.42	30.51
	150	52.02	34.59	14.53	101.14	27.87
VRAE-99	0	15.17	7.26	5.18	27.6	22.35
	50	18.32	11.85	8.01	38.18	27.01
	100	17.32	13.13	9.41	39.85	26.81
	150	19.76	12.51	8.06	40.33	28.45

**Tabla 9.** Peso seco promedio de hojas, tallo y raíces de cinco genotipos de cacao en respuesta a la contaminación con dosis creciente de cadmio.

Genotipos	Cd (mg/kg)	Peso de materia seca (g) de:			
		Hojas	Tallo	Raíces	TOTAL
CCN-51	0	6.24	3.69	2.39	12.31
	50	5.49	3.92	2.88	12.29
	100	5.82	4.22	2.87	12.90
	150	4.19	4.62	1.77	10.57
ICS-60	0	5.69	3.41	3.14	12.24
	50	6.29	4.7	2.25	13.24
	100	5.67	4.02	2.53	12.22
	150	4.35	3.31	1.71	9.36
ICS-95	0	7.36	4.73	2.17	14.27
	50	7.83	3.26	2.00	13.09
	100	4.57	1.94	1.24	7.75
	150	4.33	2.48	1.60	8.41
POUND-7	0	7.28	5.30	3.76	16.35
	50	14.94	7.34	4.62	26.89
	100	8.92	4.86	3.91	17.69
	150	13.91	3.12	4.31	21.34
VRAE-99	0	3.59	1.95	1.22	6.76
	50	3.78	2.81	2.06	8.65
	100	4.22	3.13	2.06	9.41
	150	1.73	2.43	1.77	5.92

**Tabla 10.** Principales características físicas químicas del sustrato determinadas al inicio y final del experimento

Cd (ppm)	pH	CaCO <sub>3</sub>	MO (%)	P (ppm)	K (ppm)	Clase Textural	CIC	Cationes cambiabiles				Suma Cationes
								Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	
								meq/100g				
Inicio	7.0	4.4	4.1	131.8	210.4	Ar.Fr.	9.3	6.2	2.1	0.5	0.5	7.7
0	7.0	4.2	6.8	100.4	185.2	Ar.Fr.	10.0	6.9	2.2	0.6	0.3	10.0
50	6.9	4.2	6.2	86.2	155.8	Ar.Fr.	9.9	7.0	2.1	0.5	0.3	9.9
100	6.9	4.2	6.3	84.9	162.8	Ar.Fr.	9.2	6.1	2.2	0.5	0.4	9.2
150	6.9	4.2	6.0	85.0	145.6	Ar.Fr.	9.3	6.4	2.1	0.5	0.3	9.3

## ANEXO II.

Figuras del proceso de investigación "Respuesta de cinco genotipos de cacao (*Theobroma cacao* L.) a cuatro dosis de cadmio bajo condiciones de vivero en chanchamayo



**FIGURA 7.** Genotipos de cacao colectados para ensayo **A:** CCN-51, **B:** ISC-60, **C:** ISC-95 y **D:** VRAE-99



**FIGURA 8.** Proceso de instalación del experimento "Respuesta de cinco genotipos de cacao (*Theobroma cacao* L.) a cuatro dosis de cadmio en condiciones de invernadero. **A:** semillas pregerminadas de cacao. **B:** repique de las semillas pregerminadas a los 5 días, **C:** brotemiento de primeras hojas y **D:** crecimiento.



**FIGURA 9.** Vista panorámica del experimento mostrando diferentes momentos de crecimiento de genotipos de cacao en respuesta a dosis creciente de contaminación con cadmio



**Figura 10.** Evaluación de los genotipos de cacao, **A:** midiendo altura de planta (cm) y **B:** planta de cacao cuyas hojas 3, 4, 5 y 6 muestreadas para análisis foliar.



**Figura 11.** Evaluación de los genotipos de cacao, **A:** procesamiento de raíces, **B:** medición de la raíz más larga y **C:** procesamiento de sustrato para extracción de raíces y muestra para análisis.

## Instituciones participantes



Secretaría Técnica Administrativa



Con el apoyo de:



[www.fontagro.org](http://www.fontagro.org)

Correo electrónico: [fontagro@fontagro.org](mailto:fontagro@fontagro.org)