



## Plataforma Multiagencia de Cacao (ATN/RF-17235-RG)

**PRODUCTO 1. Variedades de cacao con características de menor acumulación de cadmio y mayor producción**

**Luis Fernando Solano, Daniel Bravo, Laura Ramírez, Byron Moyano, Eduardo Chávez**

**2023**



Plataforma Multiagencia  
**Cacao 2030-2050**





Copyright, licencias CC y Disclaimer.

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 Luis Fernando Solano, Daniel Bravo, Laura Ramírez, Byron Moyano, Eduardo Chávez.

Copyright © 2023 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)

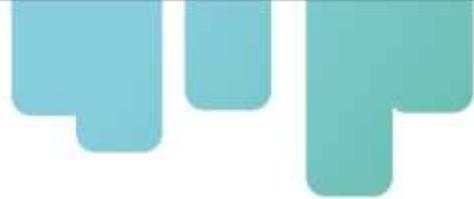
[www.fontagro.org](http://www.fontagro.org)



# Tabla de Contenidos

<b>Abstract</b> .....	<b>8</b>
<b>Resumen Ejecutivo</b> .....	<b>9</b>
<b>Glosario de términos</b> .....	<b>11</b>
<b>1. Introducción</b> .....	<b>13</b>
<b>2. Objetivos</b> .....	<b>15</b>
2.1 General.....	15
2.2 Específicos.....	15
<b>3. Metodología</b> .....	<b>16</b>
3.1 Diferencia varietal en la absorción de cadmio (Cd) en hidroponía para cultivares de cacao (Theobroma cacao L.) en Costa Rica y Ecuador.....	16
3.1.1 Propagación de las variedades.....	16
3.1.2 Condiciones experimentales.....	17
3.1.3 Procesamiento y análisis de las muestras.....	19
3.1.4 Análisis de los datos.....	19
3.2 Diferencia varietal en relación a la absorción Cd en variedades de cacao establecidas en jardines clonales de Colombia.....	20
3.2.1 Localización de las fincas seleccionadas.....	20
3.2.2 Caracterización agronómica de las fincas seleccionadas.....	21
3.2.3 Toma de muestras para cuantificación de Cd.....	21
<b>4. Resultados</b> .....	<b>22</b>
4.1 Diferencia varietal en relación a la absorción de cadmio (Cd) en condiciones controladas para cultivares de cacao (Theobroma cacao L.) en Costa Rica.....	22
4.1.1 Altura y biomasa de plántulas de cacao con y sin Cd.....	22
4.1.2 Concentración inicial de Cd en plántulas sin exposición de Cd.....	24
4.1.3 Absorción y acumulación de Cd en diferentes variedades en condiciones	

controladas al final del experimento .....	24
4.1.4 Translocación interna de Cd en las variedades.....	28
4.1.5 Cd y efecto sobre la absorción de macro y microelementos en hojas y raíces .....	29
4.2 Diferencia varietal en la absorción de Cd en condiciones de campo para cultivares de cacao (Theobroma cacao L.) en Colombia .....	30
4.2.1 Diferencia varietal en la absorción de Cd por caracterización de variedades en fincas del departamento de Antioquia y Santander .....	30
4.2.2 Contenidos de Cd en fincas cacaoteras en el departamento de Antioquia.....	32
4.2.3 Contenidos de Cd en 38 variedades de cacao en un jardín clonal del departamento de Santander .....	32
a. Concentración de Cd en suelos .....	33
b. Concentración de Cd en hojas y almendras .....	34
c. Factor de transferencia (FT) en hojas y almendras de cacao.....	35
<b>5. Discusión.....</b>	<b>38</b>
5.1 Diferencia varietal en la absorción de cadmio en condiciones controladas y de campo	38
5.2 Diferencia varietal en la absorción de cadmio (Cd) en condiciones de campo para cultivares de cacao (Theobroma cacao L.) en Colombia y Ecuador .....	39
5.3 Cd y efecto sobre la absorción de macro y micronutrientes .....	40
<b>6. Conclusiones.....</b>	<b>41</b>
<b>Referencias Bibliográficas.....</b>	<b>42</b>
<b>Anexo .....</b>	<b>49</b>

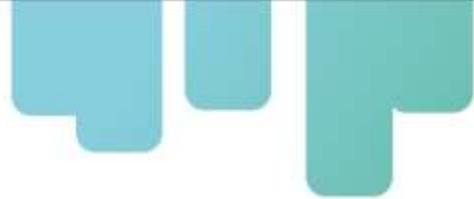


## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1. Codificación y ubicación de fincas seleccionadas para la evaluación de variedades con absorción diferencial de Cd en campo .....</b>	<b>20</b>
<b>Tabla 2. Medias, mínimos y máximos de altura y biomasa de plantas de cacao expuestas a una solución nutritiva con y sin adición de Cd. Variedades con <sup>1</sup> fueron parte del experimento en Ecuador mientras que las sin superíndice en Costa Rica...</b>	<b>23</b>
<b>Tabla 3. Resultado de encuesta para caracterización inicial de 5 productores cacaoteros durante el 2022 en el departamento de Antioquia.....</b>	<b>31</b>

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1. Estacas de las diferentes variedades de cacao en proceso de enraizamiento en túneles (a). Variedades de cacao enraizados (4 semanas después de la siembra) (b).....</b>	<b>17</b>
<b>Figura 2. Plántulas de cacao bajo condiciones de hidroponía. Los contenedores tienen una solución nutritiva con y sin Cd a una concentración de 0,44 <math>\mu</math>M .....</b>	<b>18</b>
<b>Figura 3. Concentración de Cd en la parte aérea de plantas de cacao expuestas a una concentración de 0,44 <math>\mu</math>M de Cd en la solución nutritiva bajo condiciones controladas. Letras encima de las barras representan los grupos estadísticamente (<math>p &lt; 0,01</math>) diferentes .....</b>	<b>25</b>
<b>Figura 4. Acumulación de Cd en plantas de cacao expuestas a 0,44 <math>\mu</math>M de Cd en solución nutritiva bajo condiciones controladas. Letras encima de las barras representan diferencias (<math>p &lt; 0,01</math>) estadísticas entre los grupos.....</b>	<b>26</b>
<b>Figura 5. Concentración de Cd en las raíces de plantas de cacao expuestas a 0,44 <math>\mu</math>M de Cd en solución nutritiva bajo condiciones controladas. Letras encima de las barras representan los diferentes grupos estadísticos (Tukey HSD <math>p &lt; 0,01</math>) .....</b>	<b>27</b>
<b>Figura 6. Acumulación de Cd en raíces de plantas de cacao expuestas a 0,44 <math>\mu</math>M de Cd en solución nutritiva bajo condiciones controladas. Letras encima de barras representas los grupos estadísticamente similares (Tukey HSD <math>p &lt; 0,01</math>) .....</b>	<b>28</b>
<b>Figura 7. Factores de translocación interna de Cd entre las raíces y parte aérea de plantas de cacao expuestas a 0,44 <math>\mu</math>M de Cd en solución nutritiva. Letras encima de las barras representan grupos estadísticamente diferentes (Tukey HSD <math>p &lt; 0,01</math>)....</b>	<b>29</b>
<b>Figura 8. Biplot de la concentración de elementos en la parte aérea (a) y raíces (b) de plantas de cacao expuestas a 0,44 <math>\mu</math>M de Cd en solución nutritiva bajo condiciones controladas .....</b>	<b>30</b>
<b>Figura 9. Concentraciones de Cd determinado en las variedades CCN51 y FSV41 en muestras de suelo, hoja y almendras de cacao para 5 localidades en el departamento de Antioquia. Las barras de error corresponden al error estándar de la media de tres replicas.....</b>	<b>32</b>



<b>Figura 10. Concentración de Cd en suelo colectado en un jardín clonal de cacao en San Vicente de Chucurí, en Santander, Colombia. Las barras representan al error estándar de tres réplicas .....</b>	<b>33</b>
<b>Figura 11. Concentración de Cd en almendras de cacao de la granja experimental, analizados por variedad. Las barras corresponden a la desviación estándar de tres réplicas.....</b>	<b>35</b>
<b>Figura 12. Valores de FT de Cd en hojas de acuerdo con lo calculado entre los valores de Cd en hojas con los valores de Cd de suelos, previamente graficados .....</b>	<b>36</b>
<b>Figura 13. Factor de traslocación de Cd en almendras de cacao, teniendo como base los valores de Cd cuantificado en cada individuo de cacao del jardín clonal.....</b>	<b>37</b>

## Abstract

Cadmium (Cd) uptake in cacao (*Theobroma cacao*, L.) trees has been widely reported since the late 70's. Stringent Cd regulations are implemented in cacao products, such as chocolate, in developed countries. These regulations have sparked research in understanding the soil/plant governing factors for the abnormal Cd accumulation in cacao trees. In other crops, genetic tools, such as gene editing, have been used to modify the uptake and accumulation of Cd in edible crop parts, particularly in annual crops like rice. This alternative is not a feasible solution for the Cd problem in Latin American and Caribbean (LAC) countries because it requires time and financial resources. In this context, the screening of low-Cd cacao cultivars, already available in the countries, appears as a suitable alternative. Here, 53 cultivars were screened for the Cd uptake and translocation ability in controlled experiments and field conditions. Two hydroponic experiments were implemented, in similar conditions, in Costa Rica and Ecuador and one common garden was surveyed in Colombia. Hydroponic experiments revealed that Cd uptake and translocation differed ( $p < 0,05$ ) among the tested cultivars. The highest Cd accumulation in the aerial part (leaves + stem) occurred in the cultivar CATIE R4 and the lowest in EET 558. In roots, the highest Cd concentration was observed in EET400 whereas the lowest in PMCT58. In the aerial part, the high vs low Cd varied by factor 5,53 in aerial tissue and by factor 14,4 in roots. Also, the translocation factor (TF), which is the ratio between aerial-Cd over root-Cd differed among the cultivars. EET-400 displayed the lowest TF meaning that this cultivar accumulates most of the Cd in roots with limited movement to the leaves. The highest TF was found in CATIE R1 which indicates the ability of this cultivar to move Cd from roots to aboveground tissue. The survey in the common garden also revealed the genetic diversity for the uptake and translocation of Cd in field conditions. However, because of the high spatial soil/bean Cd variability ( $CV > 50\%$ ), solid conclusions cannot be obtained regarding the cultivar effect on bean-Cd. The best approach to account for such elevated variability is the transfer factor from soils to beans. The TF in common garden showed that cultivars exhibited different ratios of Cd in beans, partially corrected by their soil Cd. However, at this point it was not possible to conclude more relevant information besides that IMC67 has low Cd absorption in comparison to other commercial rootstocks used in Colombia. In controlled conditions, there is not clear relationship between Cd and other macro or micronutrients. There is a need to study this effect further. In this context, the following product will determine the effect of manganese (Mn) and zinc (Zn) in low vs high Cd cultivars. In both experiments, cacao cultivars showed differential Cd uptake and translocation patterns, this is in line with previous reports in Trinidad and Tobago, Honduras and Peru. Yet, there is still no clear molecular mechanism responsible for such difference. The identification of the controlling plant-mechanism will allow high-throughput screening in the future. Further field and longer studies can confirm the results presented in this product. However, it is clear that cacao cultivars differ in the Cd uptake ability therefore the selection of low-Cd varieties is key for managing Cd issues in LAC countries.

## Resumen Ejecutivo

La elevada absorción de cadmio (Cd) en árboles de cacao (*Theobroma cacao*, L.) ha sido reportada desde hace más de 40 años. Recientemente, regulaciones muy exigentes se han implementado en países compradores de cacao y chocolate, como los de la Unión Europea. Las regulaciones aplican exclusivamente para chocolates y productos elaborados pero los intermediarios de cacao lo aplican a los productores. Las regulaciones alimentarias han encendido el interés en investigación en países de la región y también países consumidores de chocolate. Es importante mencionar que se han reportado que parámetros de suelo, como pH y materia orgánica, afectan la disponibilidad de Cd en suelos y por lo tanto la absorción en la planta. La influencia de factores genéticos es menos conocida y por lo tanto amerita una investigación exhaustiva. La edición génica se presenta como alternativa en cultivos de ciclo corto, como el arroz. Sin embargo, esta alternativa no es viable en cacao por múltiples factores, el tiempo que tomaría en investigación, por ejemplo. Por lo tanto, es importante identificar variedades comerciales disponibles con baja acumulación y/o translocación de Cd, lo que puede llevar a un manejo de cacao en lugares de alta concentración (*hotspot*) en los países de la región. Este estudio, tuvo como objetivo (i) identificar la capacidad de absorción y translocación de Cd en variedades de cacao reproducidos asexualmente bajo condiciones controladas, y, (ii) determinar la influencia genética en un jardín clonal bajo condiciones de campo. Estos ensayos se desarrollaron en Costa Rica, Ecuador y Colombia, de forma simultánea. En condiciones controladas, las variedades expresaron diferencias en la absorción de Cd en la parte aérea (hojas y tallos) y raíces. En la parte aérea la variedad que más Cd concentró fue CATIE R4 y la que menos acumuló la EET58. En raíces, la variedad de mayor acumulación fue la EET400 y la de menor acumulación la PMCT58. Con respecto al factor de transferencia (FT) interna, la planta con mayor FT fue la CATIE R1 y la de menor EET400. Esto último indicaría la capacidad de ciertas variedades de retener el contaminante en sus raíces, no permitiendo la contaminación de tejido en la parte aérea, como las mazorcas.

En Colombia, se realizó un estudio detallado de la concentración de Cd en 38 genotipos establecidos en un jardín clonal. La variabilidad espacial, superior a 50%, no permitió establecer una tendencia clara del efecto genético sobre la toma y acumulación de Cd en los tejidos. Sin embargo, el factor de translocación fue diferente entre variedades lo que indicaría una capacidad diferencial de los genotipos de cacao en condiciones de campo, tal como se reportó en condiciones controladas. En el ensayo de campo, la variedad IMC67 aparentemente mostró una menor traslocación, pero esto hay que confirmarlos en ensayos de viveros. Lamentablemente, este jardín clonal fue sembrado mediante injerto, el cual puede afectar la toma de Cd y otros elementos.

La variabilidad genética para la toma de Cd en cultivares de cacao es confirmada en este estudio. Algunos factores como: métodos de propagación (para la homogeneidad de plantas), mecanismos moleculares asociados a la absorción de Cd, y, efecto de injerto sobre patrón, son



estudios que se deben de realizar en el futuro. Aún es necesario corroborar los hallazgos de este trabajo en investigaciones de largo plazo, p.e., 10 años, para determinar el real efecto de las variedades a la concentración de Cd en almendras de cacao.

**Palabras Clave:** Absorción, cadmio, cacao, almendra, cuantificación, E-max, factor de translocación, variedad genética, variabilidad genética.

## Glosario de términos

**Bio-disponibilidad:** se refiere a las formas de cadmio que pueden migrar o ser transportadas desde el suelo hacia la planta. Esta fracción del cadmio es muy importante, porque es, finalmente, la fracción que interesa medir en almendras de cacao para la implementación de la regulación europea en chocolates, o en productos derivados de cacao.

**Cadmio:** es un elemento químico de número atómico 48 situado en el grupo 12 de la tabla periódica de los elementos. Su símbolo es Cd y se denomina metal pesado por ser 4 veces más denso que el agua. También ha sido clasificado como tóxico y carcinógeno para humanos y otros animales. La forma dominante en suelo es Cd<sup>2+</sup>.

**Grano o almendra de cacao:** es la semilla de *Theobroma cacao*, del cual se extraen los sólidos de cacao y la manteca de cacao. Las almendras son la base del chocolate. En Colombia se le denomina grano, pero en otros países como Ecuador se le denomina preferencialmente como almendra. En síntesis, son sinónimos del mismo concepto.

**Hojarasca:** es la hoja de cacao senescente o que ha caído del individuo de cacao y que se encuentra en proceso de descomposición o saprofitismo. Es muy importante como un indicador de bioacumulación de cadmio por parte del árbol de cacao, por lo cual, debe ser considerado y analizado de forma independiente a la hoja, particularmente por su diferencia con contenido de agua y la fracción a la que el cadmio se encuentre, para con respecto a las hojas frescas o maduras de cacao.

**Espectrometría:** es el estudio de la interacción entre la radiación electromagnética y la materia, con absorción o emisión de energía.

**Factor de translocación:** es la relación entre el cadmio presente en suelos, con respecto al cadmio presente en hojas o en almendras de cacao, por lo cual, se puede calcular un TF (de sus siglas en inglés para: Traslocation factor), para cada uno de los materiales vegetales mencionados. Este factor, explica el nivel de absorción que está pasando en un cultivo de cacao en estudio.

**Finca:** en Colombia y Ecuador, corresponden al predio o espacio físico donde se desempeña el productor (en inglés farm o orchard) de cacao para cultivar, sembrar y cosechar, en algunos casos, también se realizan procesos de postcosecha y beneficiados. En Perú, por ejemplo, se usa un término distinto, denominándose así 'chacra' o parcela.

**Fitodisponibilidad:** fracción química de los elementos de suelo para formar parte de la fase acuosa y ser absorbidos por las raíces de las plantas.

**ICP-OES:** la espectroscopía de emisión atómica (conocida por sus siglas AES, a partir del inglés, Atomic Emission Spectroscopy) es un método de análisis químico que utiliza la intensidad de la luz emitida por una llama, un plasma, un arco o chispa eléctricos en una longitud de onda particular para determinar la cantidad de un elemento en una muestra.



**ICP-MS:** espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente, es una técnica de análisis inorgánico elemental e isotópico capaz de determinar y cuantificar la mayoría de los elementos de la tabla periódica en un rango dinámico lineal de 6 órdenes de magnitud (ng/L – mg/L) además de poder llevar a cabo la determinación de los elementos en un análisis multielemental que provee la composición de la muestra analizada.

# 1. Introducción

La producción de cacao en la región de Latinoamérica y el Caribe (LAC) registra un crecimiento sostenido en los últimos 10 años. Este patrón ha sido, impulsado por el desarrollo de una oferta por calidad que posiciona a la región LAC como productora del 80% del cacao fino y de aroma del mundo. Esta diferenciación promueve la exportación de almendras de cacao y productos semielaborados como materia prima para la industria de chocolates en la Unión Europea (UE) (Quintero & Díaz Morales, 2004; Cruz & Cañas, 2018).

A nivel regional, Ecuador se consolida como el tercer exportador mundial de cacao en almendra producto del fomento del cultivo de la variedad Nacional (CN) y del CCN-51 (León et al., 2016). Sin embargo, en el caso de Colombia, su estrategia de producción se basa en el uso de clones o variedades genéticas regionales y universales bajo la distinción, otorgada por la ICCO en 2021, de cacao fino y de aroma (FEDECACAO, 2021). De otra parte, y de manera particular con respecto a los otros países, la producción en Colombia, en más del 50%, es consumida localmente, y el excedente es exportado como materia prima o productos elaborados a mercados, particularmente USA y UE (Forero & Reyes, 2022; Gil et al., 2023; Ramírez et al., 2023). Por otro lado, en Centroamérica, particularmente Costa Rica, ha logrado posicionarse como productor al 100% cacao de calidad, con oportunidades comerciales con gran potencial para la exportación a la UE (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2018).

Pese a estos progresos en la producción de cacao en LAC, en la última década, ha surgido una creciente preocupación sobre la presencia de contaminantes, especialmente, por la presencia de cadmio (en adelante, en este documento, se denominará por su símbolo químico: Cd). Esta preocupación se incrementó a partir de que la Unión Europea estableció límites máximos permisibles para este contaminante en chocolate y productos derivados (European Food Safety Authority, 2012; Abt & Robin, 2020). Esta regulación se origina principalmente por sus implicaciones en salud humana. Esto porque, el Cd es un metal pesado altamente tóxico que se encuentra de forma natural en el medio ambiente (Bernard, 2008; Godt et al., 2006). El consumo de alimentos que contienen este metal conlleva a efectos adversos en la salud humana, como daño renal, enfermedades cardiovasculares, fragilidad ósea, cáncer de páncreas y repercusiones negativas en la reproducción humana (Bhattacharyya, 2009; Fatima et al., 2019; Kumar & Sharma, 2019; Satarug 2019; Suhani et al., 2021).

Esta regulación, que se implementó a partir del 1<sup>ero</sup> de enero del 2019, ha tenido implicaciones socioeconómicas para los países productores y ha generado una revolución científica con el objetivo de comprender los mecanismos de absorción del metal por parte del cultivo de cacao; así como la búsqueda de medidas o estrategias para mitigar agrónomicamente el problema (Maddela et al., 2020; Florida Rofner, 2021).

Se ha documentado que la presencia de Cd en los productos con chocolate proviene de la almendra de cacao (Vanderschueren et al., 2021). Este cultivo es especialmente susceptible a la

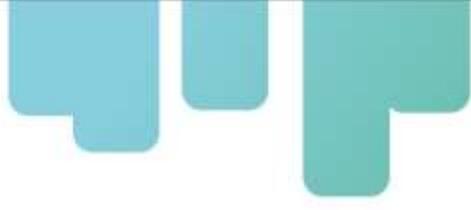


acumulación de Cd en sus tejidos debido a su alta capacidad para absorberlo del suelo (Suhani et al., 2021; Galvis et al., 2023a). La transferencia de Cd desde el suelo, hasta las raíces y luego hasta las hojas (denominado también factor de translocación o TF, por sus siglas en inglés), parece ser un mecanismo que está influenciado por una amplia gama de factores edafoclimáticos y genéticos, entre los que se destacan los físico-químicos de suelo, agronómicos y varietales (Moore et al., 2020; Scaccabarozzi et al., 2020).

Dentro de los factores edáficos, las concentraciones de Cd en las almendras aumentan a medida que se incrementa la disponibilidad del elemento en suelo. Esta disponibilidad es afectada principalmente por el pH, el contenido en suelo de Zn, Mn, Fe, Ca y carbono orgánico (Chavez et al., 2015; Barraza et al., 2017; Argüello et al., 2019; Bravo et al., 2021). Entre los aspectos agronómicos, la edad de plantación influye en la acumulación de Cd, a mayor edad de plantación la concentración en las almendras se incrementa. Este fenómeno puede explicarse por el tiempo de acumulación de Cd en la biomasa aérea de las plantas, sobre todo de troncos y ramas (Blommaert et al., 2022). Otros factores como el uso de prácticas de poda y el manejo de la fertilización potencialmente, afectarán la acumulación de este metal, aunque su efecto no se reporta con frecuencia (Argüello et al., 2019; Zug et al., 2019). De otra parte, también se ha reportado que la topografía de la zona del cultivo puede influir en las variaciones intra-específicas del contenido de Cd tanto en suelos como en la plantación dentro de una misma finca (Bravo et al., 2020; Gil et al., 2021).

En cuanto a los factores genéticos, de forma preliminar se ha reportado que diferentes variedades muestran niveles variables de absorción de Cd (Arévalo-Gardini et al., 2017). Esto ha propiciado la identificación de variedades potenciales con baja absorción de Cd a través de experimentos en invernadero y jardines clonales (Lewis et al., 2018; Arévalo-Hernández et al., 2021). La absorción de Cd ocurre a nivel de raíces. Luego, el elemento pasa a través del xilema por el tallo, hacia tejidos aéreos y se acumula en las almendras de cacao como un mecanismo de desintoxicación (Vanderschueren et al., 2023). Otros investigadores han encontrado diferencias en absorción y partición de Cd en las plantas (Galvis et al., 2023a). Esto resalta el potencial de utilizar estrategias genéticas para reducir el contenido de Cd en las almendras de cacao, a través de mejoramiento genético y mediante el uso de patrones y/o copas con baja absorción (Ullah et al., 2018; Lewis et al., 2018; Maddela et al., 2020; Galvis et al., 2023b).

El estudio de las variedades y su diferencia en absorción de Cd es una alternativa que se ha explorado recientemente, pero que, se ha centrado principalmente en materiales ampliamente utilizados como el CCN51, Nacional, Pound12 y EET400 (Arévalo-Hernández et al., 2021; Oliva et al., 2020; de Almeida et al., 2022). Sin embargo, no existe información sobre las nuevas variedades regionales desarrollados en Ecuador, Colombia o Costa Rica y que han sido distribuidos en los diferentes países por sus cualidades de productividad y calidad industrial. Por esta razón, el objetivo del presente estudio fue evaluar la absorción de Cd en diferentes variedades de cacao en Ecuador, Colombia y Costa Rica, a nivel de invernadero y campo, en los países de la plataforma.



## 2. Objetivos

### *2.1 General*

Estudiar el efecto de variedades de cacao en la absorción y traslocación de Cd en diferentes condiciones para el manejo agronómico de la contaminación.

### *2.2 Específicos*

- Identificar la diferencia varietal en la absorción de Cd de genotipos de cacao bajo condiciones controladas en Costa Rica y Ecuador.
- Identificar, de forma preliminar, la relación entre la absorción de Cd y otros nutrientes, en condiciones controladas.
- Determinar la diferencia en los niveles de absorción de Cd en variedades cultivadas, en jardines clonales de Colombia.

## 3. Metodología

### 3.1 Diferencia varietal en la absorción de cadmio (Cd) en hidroponía para cultivares de cacao (*Theobroma cacao* L.) en Costa Rica y Ecuador

El estudio en condiciones controladas (hidroponía) se llevó a cabo en Costa Rica y en Ecuador y la implementación estuvo a cargo de Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria-INTA y la Escuela Superior Politécnica del Litoral-ESPOL, respectivamente. En Costa Rica, el estudio se implementó en la Estación Experimental Los Diamantes, ubicada en Guápiles, Pococí, Limón. En Ecuador, el experimento se implementó en el campus Gustavo Galindo de ESPOL, ubicado en Guayaquil, Ecuador.

Las variedades de cacao evaluadas en Costa Rica fueron: CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6, PMCT58; las cuales corresponden a variedades generadas por el Programa de Mejoramiento Genético del CATIE, Costa Rica; y los materiales internacionales ICS95, IMC67 y EET400. El material vegetal fue obtenido de la colección Internacional de Cacao (IC<sub>3</sub>), ubicada en la Finca Experimental del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, Cartago, Costa Rica. Las variedades de cacao evaluados en Ecuador fueron: EET800, EET801, CCN51, EET103, EET558, ICS95, y dos materiales de selección local. Los materiales en Ecuador fueron provistos por la empresa Nestlé, de su jardín clonal ubicado en el cantón Quevedo, provincia de Los Ríos en Ecuador. En total, para este primer ensayo se estudiaron 15 variedades entre los dos países.

#### 3.1.1 Propagación de las variedades

Para asegurar la homogeneidad genética de las plantas, en este experimento se utilizaron plántulas propagadas asexualmente, un procedimiento comúnmente conocido como enraizamiento de estacas. El enraizamiento consistió en coleccionar brotes apicales y subapicales con dos o tres yemas, a las que se les removió un tercio de la lámina foliar. Se aplicó ácido 3-indolbutírico a 6000 mg kg<sup>-1</sup> en la base del tallo y fueron sembradas en pastillas silvícolas de turba. Posteriormente, se colocaron en propagadores recubiertos de plástico durante cuatro a cinco semanas (Figura 1). El control de la humedad se realizó mediante riegos nebulizados para mantener la humedad en el interior del túnel al ~80%.

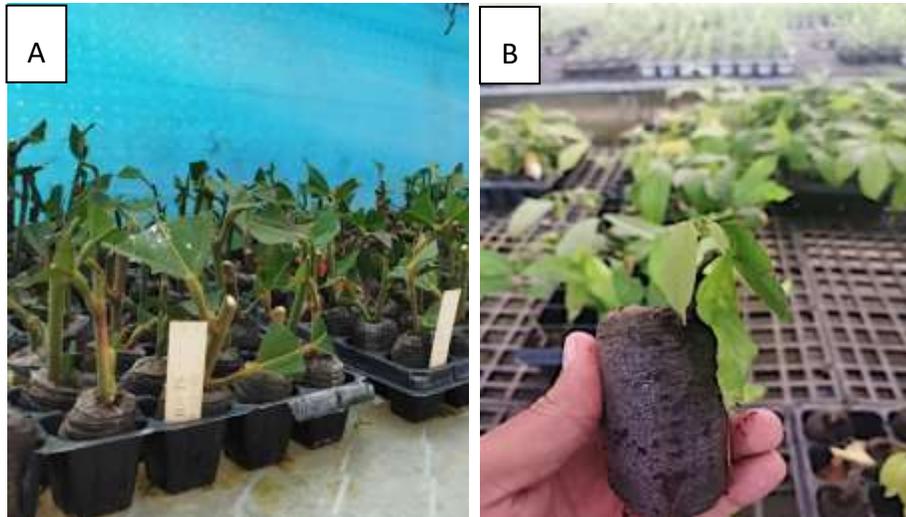


Figura 1. Estacas de las diferentes variedades de cacao en proceso de enraizamiento en túneles (a). Variedades de cacao enraizadas (4 semanas después de la siembra) (b)

### 3.1.2 Condiciones experimentales

Una vez obtenidas las plántulas enraizadas, de aproximadamente 4-5 semanas, se colocaron en contenedores plásticos de 2,8 o 4 L de capacidad, en Costa Rica y Ecuador, respectivamente. Se sembró una planta por contenedor en donde se incluyó 2 o 3,5 L de solución nutritiva Hoagland (Hoagland & Arnon, 1950), a una concentración de 50% v/v. Los detalles de la solución utilizada se encuentran en el Anexo 1. En general, la concentración de elementos en la solución ( $\text{mg L}^{-1}$ ) fue: N= 104; P= 16; K= 116; Ca= 99; Mg= 50; S= 47; Fe= 1,5; Cu= 0,02; Zn= 0,05; Mo= 0,03; Mn= 0,5 y B= 0,5. El pH de la solución fue ajustado a 5,4 y la conductividad eléctrica fue de  $950 \mu\text{S cm}^{-1}$ . La solución nutritiva fue reemplazada cada siete días para evitar deficiencias nutricionales en las plantas. En cada contenedor, se acopló un sistema de aireación constante adaptado a un generador HG - 250-C, burbujeo de 4600 L, 12 kPa capacidad y  $35 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  (Figura 2).



*Figura 2. Plántulas de cacao bajo condiciones de hidroponía. Los contenedores tienen una solución nutritiva con y sin Cd a una concentración de 0,44  $\mu$ M*

Las plantas se mantuvieron durante siete días para adaptarlas a condiciones de hidroponía. Luego de esto, las plantas se dividieron en dos grupos para la aplicación de los tratamientos. Un tratamiento consistió en exponer las plantas a una concentración de 0,44  $\mu$ M a partir de  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (Sigma-Aldrich; 98% de pureza). Esta concentración fue seleccionada como un aproximado de la fracción de Cd disponible de suelo en los países de la región, entre 10 y 20% de la concentración de Cd total. Esta solución de Cd fue quelatizada con 50  $\mu$ M de EGTA ( $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_{10}$ , Sigma-Aldrich) para prevenir la precipitación de Cd en la solución (ratio 11:1 agente quelatante:Cd). El otro tratamiento fue considerado como control, es decir, solo con la solución Hoagland al 50%. Las plantas se desarrollaron en condiciones de invernadero durante 150 y 70 días, en Costa Rica y Ecuador, respectivamente, a una temperatura promedio de 26,6°C (Min 20,1°C-Max 30°C) y 83% de humedad relativa. La diferencia de tiempo de experimentación se debió principalmente a las diferencias de crecimiento de las plantas (ver sección 4 de resultados).

Al finalizar el periodo experimental, se midió la altura de las plantas (cm) con una regla desde la inserción de la primera hoja hasta las raíces. Las raíces fueron lavadas con una solución de 0,01M de EDTA por inmersión durante un minuto y lavados subsecuentes con agua destilada para remover el excedente de Cd en la superficie del tejido. Posterior a esto, las plantas fueron seccionadas en raíces y parte aérea (hojas + tallo). Se registró el peso de la biomasa fresca de ambas secciones de la planta en una balanza (A&D, EJ-3002, precisión  $\pm 0.01$ ) y se secaron en horno de aire forzado (Sheldon SMO-28-2 Sheldon Inc) a 62 °C durante 72 horas. Se registró el peso de la biomasa seca por sección de la planta y luego fueron molidas con un procesador o

molino eléctrico (Grinder de 400 watts, Black and Decker®) de capacidad de 455 mL.

### 3.1.3 Procesamiento y análisis de las muestras:

Las muestras fueron analizadas en el laboratorio de suelos y foliares del INTA, Cartago, y en el laboratorio de suelos y nutrición vegetal de la ESPOL, en Costa Rica y Ecuador, respectivamente. En ambos laboratorios, se pesó 500 mg y se digestó en una solución ácida de 2,5 mL de HNO<sub>3</sub> al 69% y 2,5 mL de HCl al 37% en un microondas (CEM MARS 6, North Carolina, USA.) en dos ciclos de 45 minutos a 200°C.

Se determinó la concentración de P, K, Ca, Mg, S (en %) y Fe, Cu, Zn, Mn, B y Cd (mg kg<sup>-1</sup>) de los digestados, tanto de la parte aérea como de raíz, mediante Espectroscopía de Emisión Óptica de Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES, por sus siglas en inglés). El equipo se calibró con cinco niveles de concentraciones estándar de Cd. El límite de detección (LoD) para Cd fue de 0,20 mg kg<sup>-1</sup> (de masa corregida). Los datos fueron expresados como la concentración de Cd de la parte aérea en mg kg<sup>-1</sup> y su desviación estándar. Asimismo, se estimó el Cd absorbido (μg) mediante el producto de la concentración de Cd y la biomasa seca por sección de la planta (ecuación 1). Adicionalmente, se estimó el factor de traslocación interno o FTI (raíz a parte aérea), mediante el cociente entre la concentración de Cd en raíz y la concentración de la parte aérea usando la ecuación 2.

#### Ecuación 1:

$$Cd \text{ absorbido } (\mu g \cdot planta^{-1}) = Cd \text{ parte aérea } (mg \cdot kg^{-1}) * \text{biomasa seca parte aérea (g)}$$

#### Ecuación 2:

$$FTI = \frac{Cd \text{ raíz } (mg \cdot kg^{-1})}{Cd \text{ parte aérea } (mg \cdot kg^{-1})}$$

### 3.1.4 Análisis de los datos

El experimento siguió un diseño irrestricto al azar con siete y ocho variedades (en Costa Rica y Ecuador, respectivamente) y cuatro réplicas por tratamiento; la unidad experimental consistió en una planta. Los datos fueron analizados en el software JMP SAS® v17.2, mediante los Modelos Lineales Generales Mixtos y prueba de comparación de medias de Tukey (p=0,05). Todas las variables se modelaron a la función de varianza potencia para cumplir con los supuestos

estadísticos. Para establecer la relación entre los macro y micronutrientes y la concentración de Cd se realizó un análisis de componentes principales (PCA).

### 3.2 Diferencia varietal en relación a la absorción Cd en variedades de cacao establecidas en jardines clonales de Colombia

Adicional al experimento en hidroponía, se evaluaron variedades de cacao sembradas en jardines clonales en Colombia. Este trabajo se realizó en dos departamentos: Santander y Antioquia. En el departamento de Santander, el muestreo se realizó en la finca de FEDECACAO, donde se mantiene en evaluación variedades de cacao seleccionadas por su alta productividad y resistencia a enfermedades. En Antioquia, FEDECACAO y AGROSAVIA mantienen variedades en sitios de productores para su evaluación agronómica.

#### 3.2.1 Localización de las fincas seleccionadas

La selección de las fincas se basó en los valores previos de concentraciones de Cd en suelo reportados en Bravo et al., (2021). Con estos valores, se determinó que las concentraciones más elevadas ocurrieron en el departamento de Antioquia municipios de Caracolí y Maceo, y en intersección de Yolombó; y en el departamento de Santander, en el municipio de San Vicente de Chucuri (Tabla 1). Las fincas seleccionadas se codificaron con letras, para mantener la confidencialidad de los productores involucrados en las actividades de investigación.

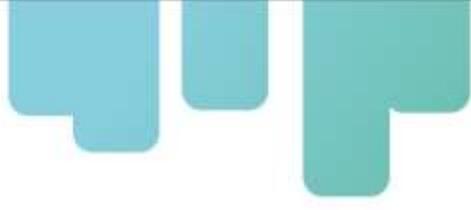
Tabla 1. Codificación y ubicación de fincas seleccionadas para la evaluación de variedades con absorción diferencial de Cd en campo

Departamento	Municipio	Finca
ANTIOQUIA	Caracolí	D
ANTIOQUIA	Caracolí	E
ANTIOQUIA	Caracolí	F
ANTIOQUIA	Maceo	B
ANTIOQUIA	Maceo/Yolombó	G
SANTANDER	San Vicente de Chucuri	H

Para el departamento de Antioquia se seleccionaron 2 materiales “universales<sup>1</sup>” por finca. Estos fueron CCN51 y FVS41. Para cada clon se seleccionaron 3 árboles y se colectaron muestras

---

<sup>1</sup> Se conocen como materiales “universales” a variedades ampliamente sembradas en países productores de cacao, como el CCN-51



compuestas por árbol en i. suelo; ii. hojas frescas y iii. mazorcas. Para el caso de la finca seleccionada en el departamento de Santander, por ser un jardín clonal, se tomaron muestras de todas las variedades morfológicas (aún por confirmar su diferencia genética) de cacao existentes. Por tanto, en la finca de San Vicente se colectaron muestras pertenecientes a 38 variedades de cacao en las matrices ya mencionadas en triplicado para un total de 114 muestras.

### **3.2.2 Caracterización agronómica de las fincas seleccionadas**

Para la caracterización de las fincas seleccionadas en el departamento de Antioquia se diseñó una encuesta con el objetivo de conocer aspectos contrastantes de interés y con incidencia en la problemática de Cd en el cultivo de cacao. Las preguntas abordadas incluyeron los siguientes ítems:

- Área cultivada
- Clones/variedades cultivadas
- Edad del cultivo
- Topografía
- Fertilizantes aplicados en los últimos dos años
- Conocimiento sobre Cd
- Problemas de comercialización del producto

No se realizó la encuesta en la finca ubicada en Santander porque no es una finca productiva, sino un jardín clonal para la obtención de plántulas.

### **3.2.3 Toma de muestras para cuantificación de Cd**

Se realizó la toma de muestras de tres matrices diferentes: i. suelos a una profundidad de 0 a 30 cm; ii. hojas frescas (recientes en formación anual) y iii. mazorcas de cacao (sin presentar síntomas de enfermedades). Estas matrices fueron colectadas en todas las fincas. El proceso de toma de muestras, embalaje y envío al laboratorio de las muestras se encuentra descrito en el producto 4 de este proyecto ([https://www.fontagro.org/new/uploads/productos/17235\\_-\\_Producto\\_4.pdf](https://www.fontagro.org/new/uploads/productos/17235_-_Producto_4.pdf))

Para el muestreo, inicialmente se identificó la totalidad de variedades sugeridas por los productores presentes en la parcela. Por tanto, por cada variedad encontrada, se seleccionaron tres árboles y en cada uno se procedió a tomar la muestra respectiva de suelo, hojas y mazorcas siguiendo una metodología estandarizada. En total, se colectaron 30 muestras de las fincas de Antioquia de las variedades CCN-51 y FVS41, y 114 del jardín clonal de Santander.

## 4. Resultados

### *4.1 Diferencia varietal en relación a la absorción de cadmio (Cd) en condiciones controladas para cultivares de cacao (Theobroma cacao L.) en Costa Rica*

#### **4.1.1 Altura y biomasa de plántulas de cacao con y sin Cd**

Como una medición del potencial efecto tóxico de Cd en las plantas, al final de la fase experimental, se realizó la medición de biomasa y altura de las plantas con y sin adición de Cd en el medio nutritivo. Tanto en Costa Rica, como en Ecuador, no se observaron diferencias en la altura entre los tratamientos ( $p > 0,39$ ; Tabla 2). Sin embargo, se observó que las plantas en Costa Rica crecieron menos que las plantas en Ecuador, lo cual es un fenómeno extraño porque las plántulas en Costa Rica tuvieron casi el doble de tiempo en las condiciones experimentales que en Ecuador. En el análisis por variedades (sin incluir Cd como un factor), se observó una diferencia en la producción de biomasa en el ensayo en Ecuador. Las variedades que más biomasa y altura tuvieron al final del experimento en Ecuador fueron las EET800, EET801 y EET802, que son cultivares de alto rendimiento. En Costa Rica, no se observaron diferencias entre variedades respecto a altura o producción de biomasa.

Tabla 2. Medias, mínimos y máximos de altura y biomasa de plantas de cacao expuestas a una solución nutritiva con y sin adición de Cd. Variedades con <sup>1</sup> fueron parte del experimento en Ecuador mientras que las sin superíndice en Costa Rica

Variedades	Trat	Altura (cm)			Biomasa aérea (g)			Biomasa raíz (g)		
		Mean	Min	Max	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max
EET-103 <sup>1</sup>	- Cd	48,1	44,5	50,4	4,00	2,70	5,20	0,60	0,30	0,80
	+ Cd	55,9	44,6	82,0	3,43	2,70	4,30	0,55	0,30	0,90
EET-800 <sup>1</sup>	- Cd	60,5	40,6	71,5	3,38	2,10	4,30	0,75	0,50	1,00
	+ Cd	57,7	50,0	65,4	4,05	4,00	4,10	1,25	0,90	1,60
EET-801 <sup>1</sup>	- Cd	64,9	53,5	71,2	2,17	1,80	2,60	0,33	0,30	0,40
	+ Cd	56,2	45,2	73,2	2,40	1,90	2,90	0,50	0,40	0,60
EET-400	- Cd	20,3	16,1	27,5	1,48	1,17	2,00	0,99	0,84	1,10
	+ Cd	18,3	14,4	21,6	1,57	1,35	1,73	0,79	0,50	1,39
ETT-558 <sup>1</sup>	- Cd	46,0	39,9	49,7	2,88	2,30	3,70	0,43	0,20	0,60
	+ Cd	49,1	48,9	49,2	2,75	2,60	2,90	0,35	0,30	0,40
ICS-95 CR	- Cd	19,6	13,6	25,7	1,43	0,99	1,87	1,30	0,50	1,88
	+ Cd	18,9	16,2	21,6	1,25	1,02	1,42	1,12	0,99	1,37
ICS-95 EC <sup>1</sup>	- Cd	42,2	30,5	57,8	3,03	2,00	4,60	0,68	0,30	0,90
	+ Cd	38,0	33,5	43,8	3,23	2,10	4,20	0,65	0,50	0,80
IMC-67	- Cd	17,4	16,4	18,2	1,03	0,90	1,19	0,71	0,50	0,87
	+ Cd	22,6	16,2	32,4	1,65	1,43	1,99	1,57	0,96	1,90
PMCT-58	- Cd	19,1	18,0	20,7	0,93	0,87	1,00	0,88	0,81	0,99
	+ Cd	19,5	12,0	26,4	1,11	1,04	1,20	0,93	0,81	1,15
CATIE-R1	- Cd	18,4	17,4	20,0	1,05	0,84	1,45	0,97	0,83	1,09
	+ Cd	19,2	15,6	24,0	1,27	0,82	1,97	0,93	0,75	1,15
CATIE-R4	- Cd	20,8	14,7	29,1	1,28	1,07	1,41	1,05	0,84	1,22
	+ Cd	21,4	16,8	28,8	1,05	0,99	1,12	0,62	0,57	0,71
CATIE-R6	- Cd	23,1	20,0	24,9	1,68	1,45	1,81	1,13	0,95	1,31
	+ Cd	22,2	21,6	22,8	1,27	1,06	1,60	1,13	0,98	1,34
EET-802 <sup>1</sup>	- Cd	57,7	41,6	73,4	3,28	1,90	4,00	0,60	0,40	0,80
	+ Cd	53,4	48,3	55,4	3,60	2,40	4,30	0,68	0,60	0,90
No comercial 1 <sup>1</sup>	- Cd	59,7	47,7	79,4	3,08	2,10	4,20	0,53	0,30	0,70
	+ Cd	51,6	47,0	61,6	2,33	1,30	2,80	0,35	0,20	0,40
No comercial 2 <sup>1</sup>	- Cd	52,6	44,8	59,5	3,38	3,00	4,10	0,45	0,40	0,60
	+ Cd	42,9	39,9	46,8	2,93	2,10	4,00	0,38	0,30	0,60
Valor P		0,39			0,62			0,79		

#### **4.1.2 Concentración inicial de Cd en plántulas sin exposición de Cd**

Previo al establecimiento del experimento, se tomaron muestras de las plantas propagadas por enraizamiento de ramillas para verificar la concentración inicial de Cd. El rango de la concentración de Cd a nivel foliar estuvo entre 0,54 a 0,75 mg kg<sup>-1</sup>, con un valor promedio de 0,60 mg kg<sup>-1</sup>. No se observaron diferencias en la concentración entre las variedades (p=0,88) por lo que podemos decir que las plantas tenían una concentración de Cd baja y homogénea al inicio del experimento, esto permitiría determinar el efecto de las condiciones experimentales en las variedades. Al finalizar el periodo experimental, en el grupo plántulas en el tratamiento control (-Cd) la concentración promedio de Cd fue de 0,67 ± 0,19 mg kg<sup>-1</sup> para la parte aérea y de 0,20 ± 0,09 mg kg<sup>-1</sup> para la parte de raíces. En ambos tejidos no se encontraron diferencias significativas entre las variedades (p=0,68).

#### **4.1.3 Absorción y acumulación de Cd en diferentes variedades en condiciones controladas al final del experimento**

Las variedades expuestas a 0,44 µM de Cd en la solución nutritiva mostraron diferencias (p < 0,01) en la absorción del elemento en la parte aérea (Figura 3). El rango de concentración de Cd en la parte aérea fue de 1,58 (± 0,70) a 8,30 (± 0,73) mg kg<sup>-1</sup>. Las variedades con la mayor concentración fueron CATIE-R4 y CATIE-R1; mientras que PMCT-58 y EET558 fueron los de menor absorción. Las variedades con mayor y menor concentración de Cd tuvieron una diferencia de ~5:1.

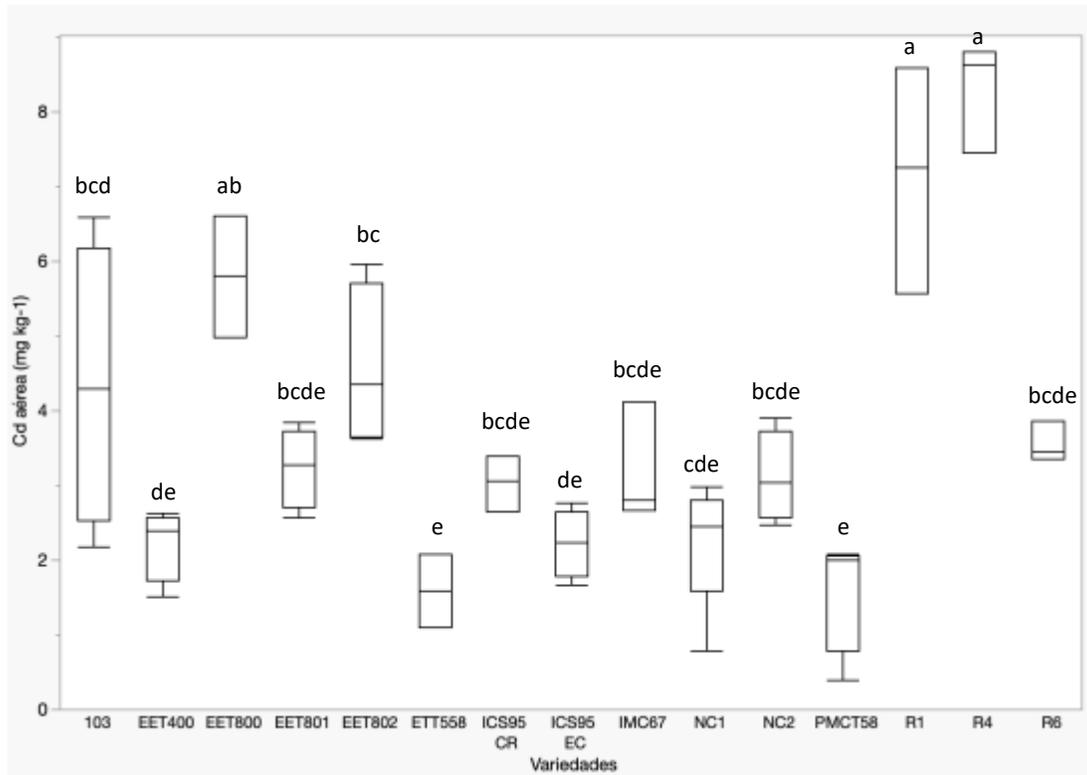


Figura 3. Concentración de Cd en la parte aérea de plantas de cacao expuestas a una concentración de 0,44  $\mu\text{M}$  de Cd en la solución nutritiva bajo condiciones controladas. Letras encima de las barras representan los grupos estadísticamente ( $p < 0,01$ ) diferentes

Al calcular el Cd absorbido (mediante la ecuación 1), las variedades con mayor acumulación ( $p < 0,01$ ) fueron la EET800, EET802 y EET103, todas de Ecuador (Figura 4). En la parte aérea, estas variedades acumularon en promedio  $23,5 (\pm 5,07)$ ,  $16 (\pm 3,82)$  y  $15,6 (\pm 8,74)$   $\mu\text{g}$  de Cd  $\text{planta}^{-1}$ , respectivamente. De Costa Rica, las variedades CATIE-R1 y CATIE-R4 mostraron una mayor acumulación ( $p < 0,01$ ) con masa de Cd promedio de  $8,99 (\pm 4,65)$  y  $8,69 (\pm 0,42)$   $\mu\text{g}$  de Cd  $\text{planta}^{-1}$ , respectivamente. Las variedades con menor capacidad de absorción, en orden descendente, fueron  $\text{PMCT58} < \text{EET400} < \text{ICS95}$  (Costa Rica)  $< \text{EET558} < \text{CATIE-R6} < \text{IMC67}$ , estas variedades mostraron un rango de acumulación de entre 1,78 (PMCT58) a 5,43 (IMC67)  $\mu\text{g}$  de Cd  $\text{planta}^{-1}$ .

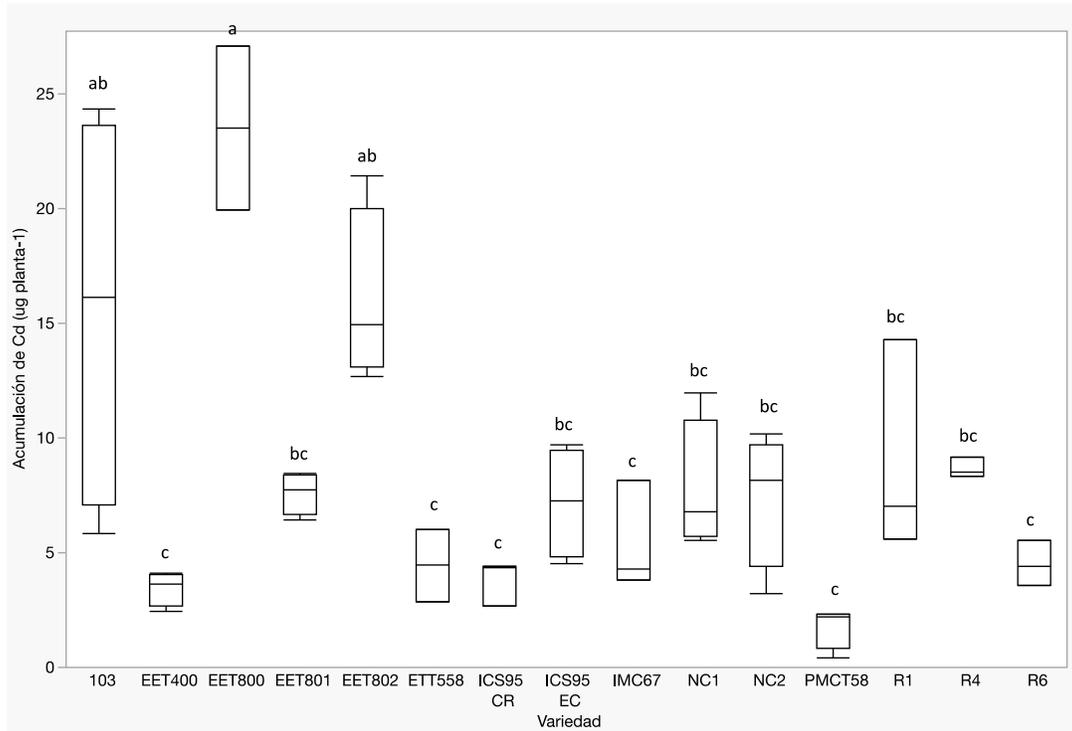


Figura 4. Acumulación de Cd en plantas de cacao expuestas a 0,44 µM de Cd en solución nutritiva bajo condiciones controladas. Letras encima de las barras representan diferencias ( $p < 0,01$ ) estadísticas entre los grupos

La acumulación de Cd está claramente afectada por la producción de biomasa. En los ensayos de Ecuador, la biomasa promedio de las plantas en su parte aérea fue 2,4 veces superior a la producida en las plantas de Costa Rica. El efecto de estos factores se discutirá más adelante en el documento.

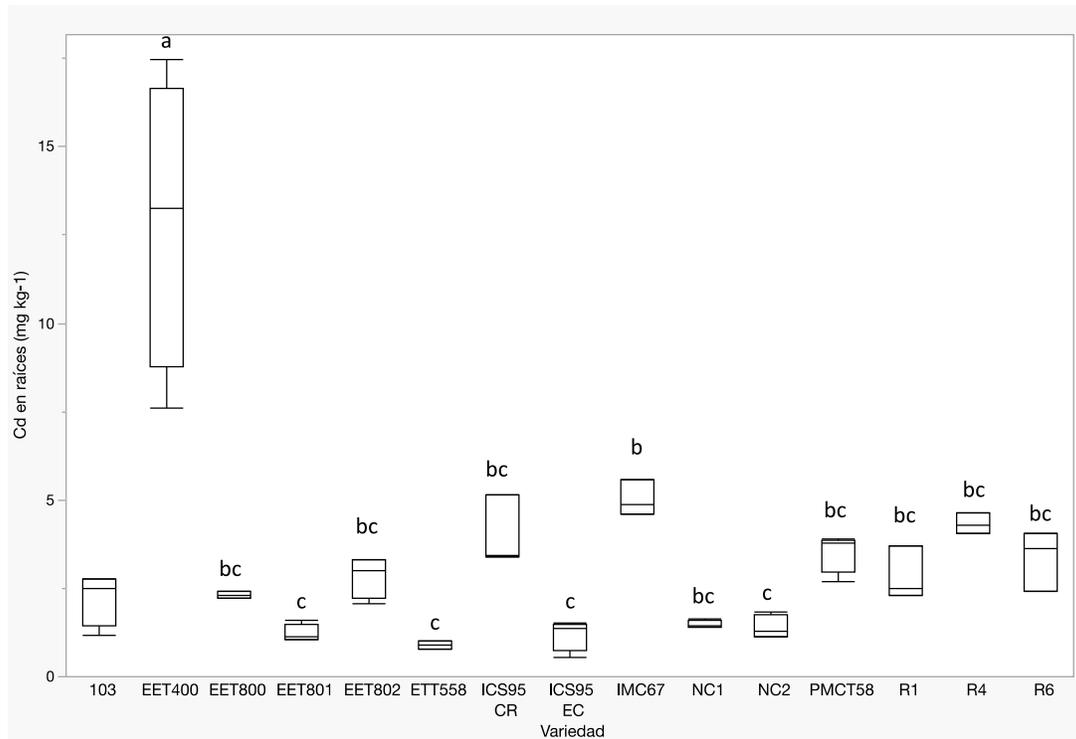


Figura 5. Concentración de Cd en las raíces de plantas de cacao expuestas a 0,44  $\mu\text{M}$  de Cd en solución nutritiva bajo condiciones controladas. Letras encima de las barras representan los diferentes grupos estadísticos (Tukey HSD  $p < 0,01$ )

Similar a lo observado en la parte aérea, las raíces mostraron diferencias en la absorción de Cd entre las variedades ( $p < 0,01$ ) (Figura 5). La variedad EET400 mostró la mayor concentración de Cd con un promedio de  $12,9 (\pm 4,67) \text{ mg kg}^{-1}$ . La variedad con menor concentración de Cd en raíces fue la EET558 con un promedio de  $0,89 (\pm 0,18) \text{ mg kg}^{-1}$ . Esto es equivalente a (en promedio) una diferencia de 14 veces entre la variedad con mayor y menor acumulación de Cd.

Realizando el mismo cálculo que para la parte aérea (utilizando la ecuación 1), el Cd acumulado en la raíz tuvo patrones similares a los observados en la concentración (Figura 6). Las variedades EET400 e IMC-67 mostraron una mayor acumulación ( $p < 0,01$ ) en las raíces con un promedio de  $9,10 (\pm 2,08)$  y  $7,71 (\pm 2,07) \mu\text{g Cd planta}^{-1}$ . Al contrario, las variedades EET558, No comercial 1 y 2 y EET801 mostraron una menor acumulación de Cd en raíces con valores promedios de entre  $0,30$  y  $0,64 \mu\text{g Cd planta}^{-1}$ .

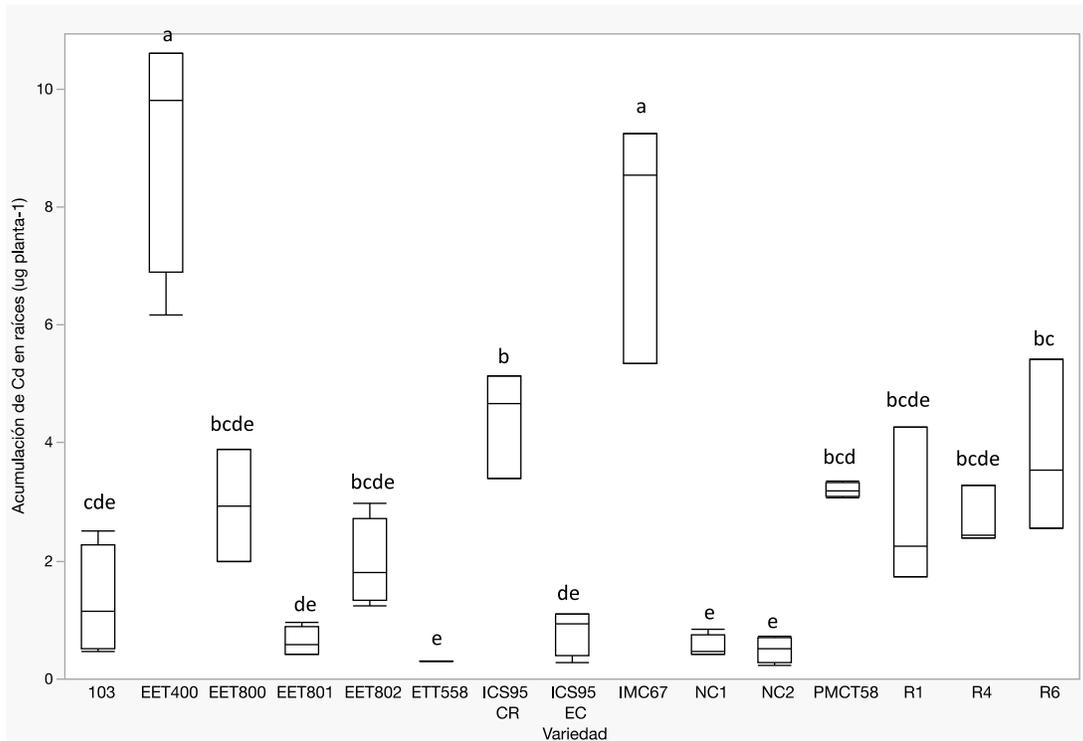


Figura 6. Acumulación de Cd en raíces de plantas de cacao expuestas a 0,44  $\mu\text{M}$  de Cd en solución nutritiva bajo condiciones controladas. Letras encima de barras representan los grupos estadísticamente similares (Tukey HSD  $p < 0,01$ )

#### 4.1.4 Translocación interna de Cd en las variedades

La translocación interna de Cd entre las variedades se calculó mediante la ecuación 2. El resultado de esta ecuación es un número sin unidades que representa la facilidad con que las plantas movilizan los elementos de la raíz a la parte aérea, conocido como el Factor de Translocación Interna (FTI). Al igual que lo observado en la concentración de Cd en la parte aérea y raíces, las variedades mostraron diferencias en el FTI ( $p < 0,01$ ). Los valores tuvieron un rango de entre 0,19 a 2,70. Es decir, algunas variedades tienen la capacidad de almacenar mayores cantidades de Cd en sus raíces comparadas con sus hojas y tallos (Figura 7). Las variedades EET400 y PMCT58 mostraron los valores promedios más bajos de FTI con 0,19 ( $\pm 0,28$ ) y 0,47 ( $\pm 0,26$ ), respectivamente. Por el contrario, las variedades CATIE-R1 y EET801 presentaron los mayores valores promedios de FTI con 2,70 ( $\pm 1,05$ ) y 2,64 ( $\pm 0,27$ ), respectivamente. El FTI bajo indicaría una mayor acumulación en raíces por lo tanto estas variedades podrían acumular el contaminante en las vacuolas de las raíces, potencialmente, estas variedades carecerían de los genes responsables de la translocación de Cd a los tallos, hojas y probablemente frutos.

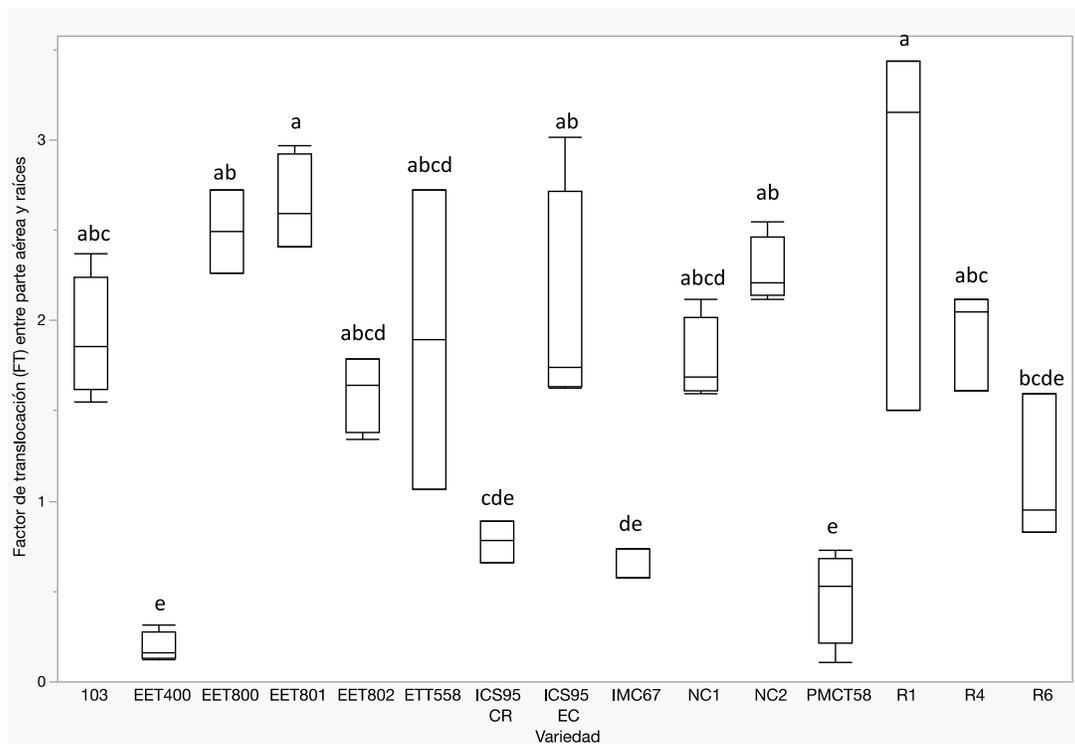


Figura 7. Factores de translocación interna de Cd entre las raíces y parte aérea de plantas de cacao expuestas a 0,44  $\mu$ M de Cd en solución nutritiva. Letras encima de las barras representan grupos estadísticamente diferentes (Tukey HSD  $p < 0,01$ )

#### 4.1.5 Cd y efecto sobre la absorción de macro y microelementos en hojas y raíces

De acuerdo con el análisis multivariante los dos componentes principales, que además de Cd incluyen los macro y micronutrientes, explican el 57,5% de la variabilidad de los datos en la parte aérea (Figura 8a) y 56,6% en raíces (Figura 8b). La relación entre los macro y micronutrientes con Cd en la parte aérea no es muy clara excepto cobre (Cu). La magnitud del vector de Cd no es muy fuerte pero aparentemente se contrapone con la Cu. En las raíces ocurrió algo similar, la magnitud del vector de Cd es menor a la de los macro y micronutrientes y se observa que Cd y K se encuentran en el mismo cuadrante, mientras que Mn y cobalto (Co) se encuentra en el cuadrante opuesto (Figura 8b).

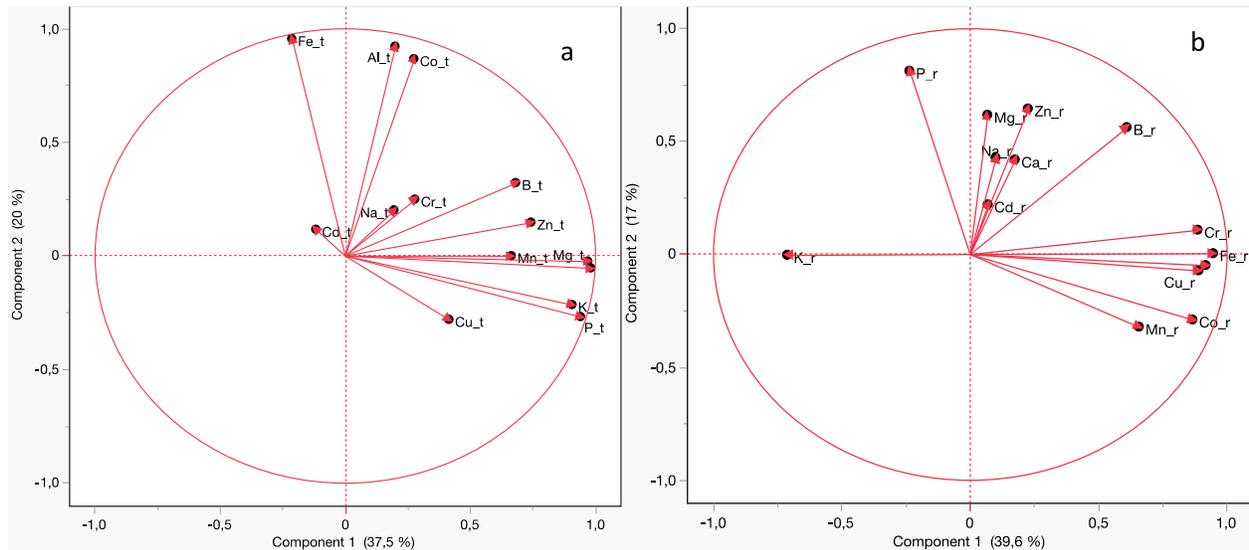


Figura 8. Biplot de la concentración de elementos en la parte aérea (a) y raíces (b) de plantas de cacao expuestas a 0,44  $\mu\text{M}$  de Cd en solución nutritiva bajo condiciones controladas

#### 4.2 Diferencia varietal en la absorción de Cd en condiciones de campo para cultivares de cacao (*Theobroma cacao* L.) en Colombia

##### 4.2.1 Diferencia varietal en la absorción de Cd por caracterización de variedades en fincas del departamento de Antioquia y Santander

A continuación, se presenta una caracterización de las fincas cacaoteras en el departamento de Antioquia. En la tabla 3, se muestran las variedades de cacao seleccionadas para este estudio por finca y por municipio; así como información de base como su localización, el área cultivada, la concentración de Cd pseudo-total encontrado en suelos, topografía, edad del cultivo, y prácticas de fertilización.

En la caracterización inicial de las fincas se identificó que los productores tienen características contrastantes en cuanto a los planes de fertilización implementados, áreas de cultivo establecidas y variedades cultivadas. Pese a ello, las variedades FSV41 y CCN51 se encontraron en todas las fincas seleccionadas.

Tabla 3. Resultado de encuesta para caracterización inicial de 5 productores cacaoteros durante el 2022 en el departamento de Antioquia

Finca	B	G	E	D	F
<b>Municipio</b>	Maceo	Maceo	Caracolí	Maceo	Caracolí
<b>Nivel de Cd</b>	1,44	1,29	1,17	1,37	1,07
<b>Área cultivada</b>	6 ha	1 ha	2 ha	56,7 ha	10 ha
<b>Variedad</b>	FSV41, CCN51, IMC67, FEAR5, ICS1, FTA2, FEC2, IMC67, TCS01	CCN51, FSV41, CAU43, ICS95, Híbridos	CCN51, FSV41, FEC2, ICS95, YACOPI, FEAR5	CCN51, ICS95, FSV41, SCC61	CCN51, ICS95, FSV41, ICS60, EET8, FEC2, FEAR5, CAU39
<b>Edad</b>	2 - 15 años	8 - 15 años	6 años	15 años	11 años
<b>Topografía</b>	Terreno ondulado	Pendiente elevada	Pendiente	Pendiente	Terreno ondulado
<b>Conocimiento</b>	Es metal pesado, toxico para la salud	ND	No lo había escuchado	No tiene mayor información	Es un metal pesado que causa problemas de salud
<b>Fertilización</b>	Cal dolomita 2ton/ha	(Si), con cal y abono orgánico con cacota, gallinaza y estiércol. También se aplica 17-6-18	Cal agrícola 500g/árbol una vez al año y 17-6-18 200g/árbol 2 veces al año	(Si), mezcla de Agrimins, DAP. KCL y 17-6-18-2, dosis 300g/árbol 1 vez al año. Se aplica lixiviado de cacota foliar después de las podas	Hace 1 año se aplicó Agrimins en todos los árboles del cultivo
<b>Coordenadas</b>	06° 31' 36.8" N 74° 49' 34" W	06° 30' 07.1" N 74° 48' 53.7" W	06° 25' 07.2" N 74° 45' 46.4" W	06° 33' 49.6" N 74° 50' 25.4" W	06° 25' 51.3" N 74° 48' 45.2" W

#### 4.2.2 Contenidos de Cd en fincas cacaoteras en el departamento de Antioquia

En la figura 9, se muestran las concentraciones de Cd en las diferentes matrices colectadas en las 5 fincas del departamento de Antioquia. Las concentraciones promedio de Cd en almendras de cacao no fueron mayores a  $0,30 \text{ mg kg}^{-1}$  en ninguna de las fincas, lo que se puede considerar bajo y sin restricción comercial. Las concentraciones en las hojas variaron entre  $0,34$  y  $1,02 \text{ mg kg}^{-1}$  y de suelo de entre  $0,03$  y  $0,08 \text{ mg kg}^{-1}$ . Se puede identificar además un factor de variación de 2.66 entre la concentración de Cd más alta en suelo con respecto a la más baja. Esto habla de una variabilidad espacial que enmascara el efecto genético en la absorción de Cd.

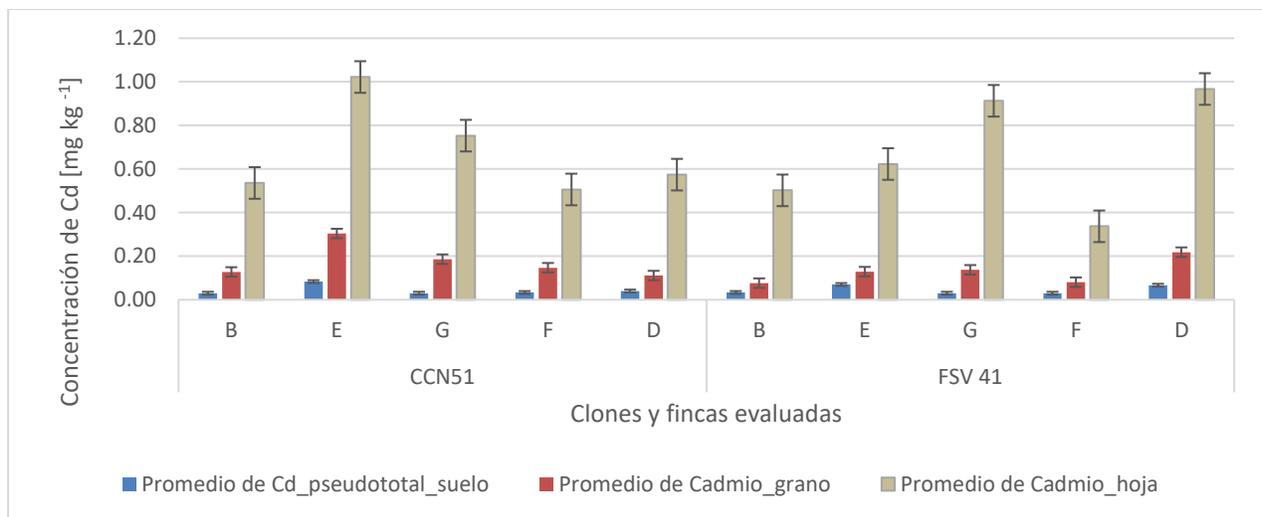


Figura 9. Concentraciones de Cd determinado en las variedades CCN51 y FSV41 en muestras de suelo, hoja y almendras de cacao para 5 localidades en el departamento de Antioquia. Las barras de error corresponden al error estándar de la media de tres replicas

#### 4.2.3 Contenidos de Cd en 38 variedades de cacao en un jardín clonal del departamento de Santander

Se colectaron muestras correspondientes pertenecientes a 38 variedades en un jardín clonal (finca H), ubicada en el municipio de San Vicente de Chucurí. Las muestras colectadas de suelo, hojas, y mazorca, fueron procesadas en campo y transportadas al laboratorio de AGROSAVIA para su posterior análisis. El detalle de los materiales genéticos colectados se lo puede encontrar en el Anexo 2.

### a. Concentración de Cd en suelos

En las muestras de suelos, se observó una gran heterogeneidad en las concentraciones de Cd, que presentaron un rango de entre  $<0,1$  y  $0,89 \text{ mg kg}^{-1}$ . Este es un factor de diferencia de 4 entre el valor más alto y más bajo por lo que la variabilidad de Cd en suelo afectará la concentración de Cd en almendras. El promedio de Cd en suelo dentro de la finca fue de  $0,32 \text{ mg kg}^{-1}$  (Figura 10).

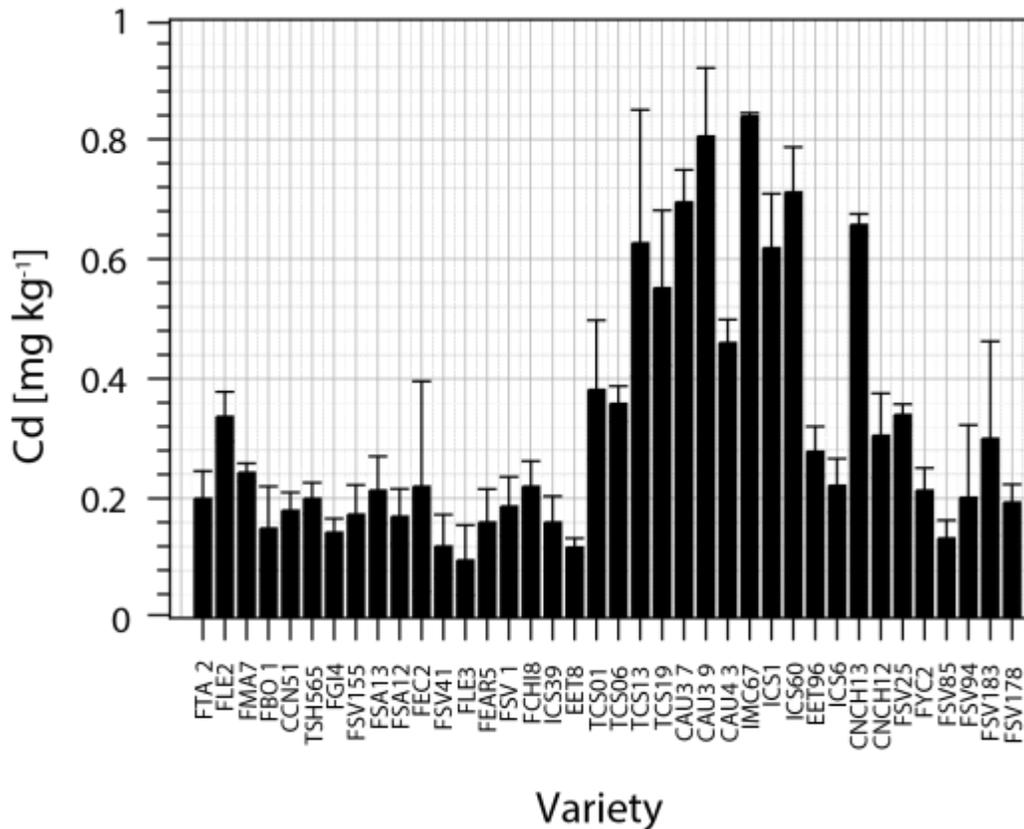


Figura 10. Concentración de Cd en suelo colectado en un jardín clonal de cacao en San Vicente de Chucurí, en Santander, Colombia. Las barras representan al error estándar de tres réplicas

Los valores máximos de  $0,89 \text{ mg kg}^{-1}$  Cd, se encontraron asociados a la variedad de cacao Caucasia 39 o abreviada CAU39, en tanto que el valor más bajo en la variedad Federación Lebrija 3 o de forma abreviada FLE3; y el valor promedio para todas las muestras fue de  $0,32 \text{ mg kg}^{-1}$  (Figura 11). Estos hacen parte de las variedades que FEDECACAO, la Federación Colombiana de Cacaoteros trabaja para procesos de liberación, registro y comercialización entre los cacaocultores en Colombia.

## b. Concentración de Cd en hojas y almendras

La concentración de *Cd en hojas* mantuvo una alta variabilidad espacial (CV = 58%), sin embargo, la concentración de Cd en esta matriz es esperado para un material joven.

El valor máximo de Cd en hojas fue de 5,66 mg kg<sup>-1</sup> Cd y se reportó con la variedad Federación San Vicente 1 (FSV1). El valor mínimo se reportó en 0,60 mg kg<sup>-1</sup> Cd en la variedad Caucasia 37 (CAU37). El valor promedio de Cd en hojas fue de 2,11 mg kg<sup>-1</sup> Cd.

En la Figura 11, se presentan las concentraciones de *Cd en almendras* de cacao. 15 de las 37 variedades evaluadas presentaron concentraciones promedio de Cd mayores a 0,80 mg kg<sup>-1</sup>. Cabe mencionar que no se reporta la concentración de Cd en las variedades (FSV1) debido a que, al momento de realizar la extracción de almendras, las mismas no se encontraban en estado óptimo de madurez para poder realizar los análisis de laboratorio. Se encontró que el promedio de Cd en almendras fue de 0,83 con un valor máximo de 1,61 y mínimo de 0,36 mg kg<sup>-1</sup>. Es decir, que el jardín clonal, en promedio, tiene un nivel de Cd que sobrepasaría el límite comercial.

La concentración de Cd en almendras de cacao está afectada por la concentración de Cd en suelo, por lo que se necesitará analizar el factor de transferencia para tener una mejor idea del efecto genético en la absorción de Cd.

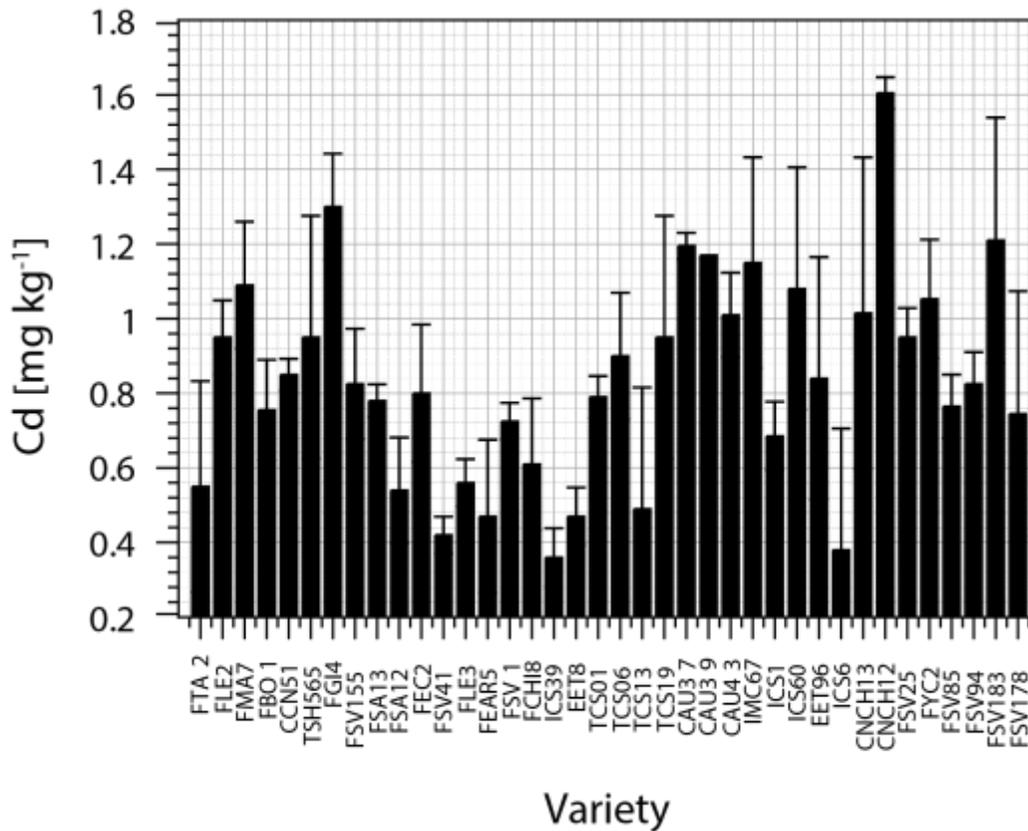


Figura 11. Concentración de Cd en almendras de cacao de la granja experimental, analizados por variedad. Las barras corresponden a la desviación estándar de tres réplicas

**c. Factor de transferencia (FT) en hojas y almendras de cacao**

En hojas, se observó un valor FT promedio de 0,16. Los valores del factor de translocación de suelo a hojas que se presentan en la Figura 12.

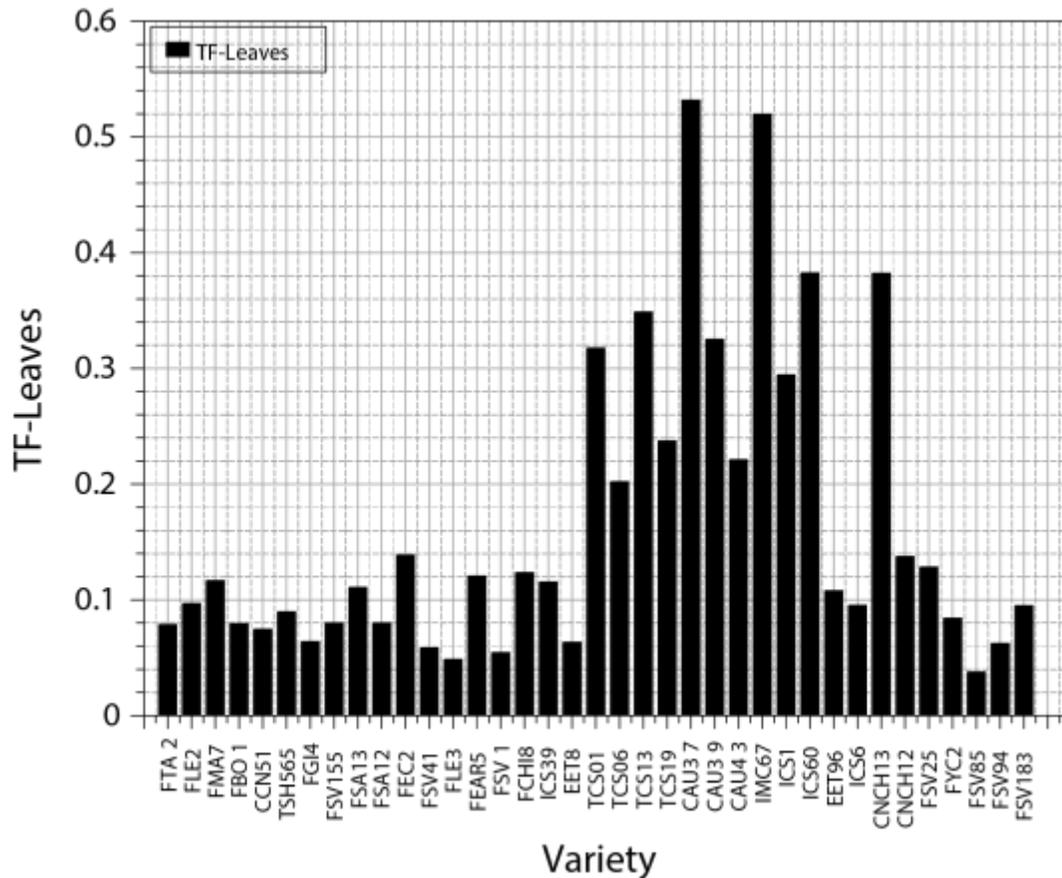


Figura 12. Valores de FT de Cd en hojas de acuerdo con lo calculado entre los valores de Cd en hojas con los valores de Cd de suelos, previamente graficados

Debido a la alta variabilidad espacial en las concentraciones de Cd en suelo y almendras de cacao, se realizó el cálculo del Factor de Translocación (FT) usando la ecuación 2 de este documento. Para este estudio, se utilizaron los cocientes de la concentración de Cd en hojas y suelos para calcular el FT a hojas, o de almendras y suelos para el cálculo del FT a almendras.

Como se observa la Figura 12, en general, se observan bajos valores de FT de hojas, en las variedades estudiadas del jardín clonal. El FT de hojas muestra valores altos para la variedad CAU37 (0,53) y bajos para algunas variedades de Fedecacao como FSV85 y FSV1 (0,03 y 0,05 respectivamente), así como también FLE3 (0,05); y en algunas variedades TCS de Agrosavia, como TCS06, TCS19 (0,2). Otras variedades usadas como patrones, como, por ejemplo, CCN51, ICS, presentaron valores TF bajos; excepto por los IMC, los cuales presentaron valores superiores de traslocación en hojas, con respecto a los otros materiales usados para patronaje en Colombia.

Con respecto a almendras, el FT promedio fue mayor que en el de hojas. El FT promedio en almendras fue de 0,39. (Figura 13). Los valores de FT tanto para hojas, como para almendras, se presentan en el Anexo 3. El valor más elevado se encontró en la variedad TCS13 (1,27) y el menor en las variedades FGI4 (0,1), FLE3 y TCS01 con 0,15 y 0,16 respectivamente.

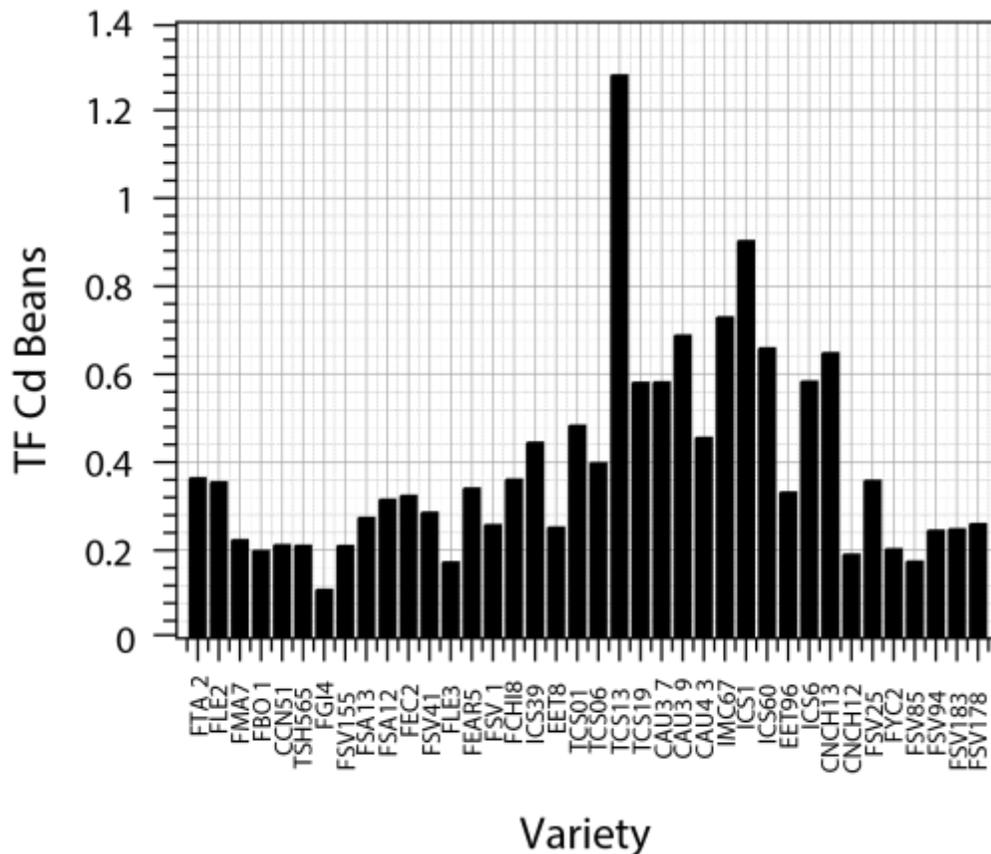


Figura 13. Factor de traslocación de Cd en almendras de cacao, teniendo como base los valores de Cd cuantificado en cada individuo de cacao del jardín clonal

## 5. Discusión

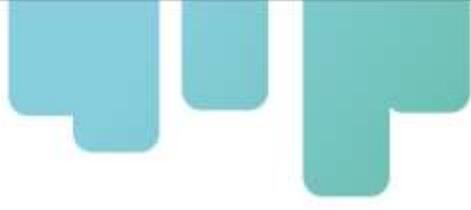
### 5.1 Diferencia varietal en la absorción de cadmio en condiciones controladas y de campo

El rango de concentración de Cd en la parte aérea fue 2,02 a 8,30 mg kg<sup>-1</sup> y un promedio de 3,96 (± 2,48 mg kg<sup>-1</sup>). Este rango coincide con los reportados por Carrillo et al., (2023) en un reciente muestreo a escala nacional en Costa Rica (0,10 a 8,3 mg kg<sup>-1</sup>) y con Lewis et al., (2018) en Trinidad y Tobago (0,77 a 5,24 mg kg<sup>-1</sup>). Lo anterior indica que la concentración seleccionada de Cd (0,44 μM) en la solución nutritiva es ambientalmente relevante y puede ser considerado como la concentración a la que las plantas están expuestas de forma natural. Los resultados obtenidos en este estudio difieren parcialmente de los reportados por Arévalo et al., (2021) quienes adicionaron una concentración de Cd de 25 mg kg<sup>-1</sup> de suelo.

Se observaron diferencias en la concentración de Cd entre las variedades estudiadas. En la parte aérea, el CATIE-R1 y CATIE-R4 mostraron la mayor tasa de absorción de Cd con respecto a las otras variedades. Estos materiales tuvieron cerca de 8 veces más Cd que el de baja acumulación, identificado como EET558 (Figura 3). La diferencia encontrada en nuestro estudio coincide con lo reportado en otras investigaciones. El ratio de diferencias en la concentración de Cd ha sido reportado de entre 7 y 15 veces entre variedades contrastantes (Lewis et al., 2018; Arévalo-Hernández et al., 2021). Estas diferencias en la acumulación y distribución en los diferentes órganos de la planta han sido atribuidas a mecanismos ligados a la absorción de micronutrientes análogos a Cd, lo que a su vez está asociado a la constitución genética de las plantas (Grant et al., 2008; Engbersen et al., 2019; Moore et al., 2020; Oliveira et al., 2020).

Para corroborar que los experimentos se implementen de forma similar en Ecuador y Costa Rica, se incluyó una variedad internacional (ICS95) en los ensayos. Los resultados mostraron que la concentración de Cd de esta variedad no difirió estadísticamente entre los dos estudios (Figura 3). La concentración promedio de Cd en la parte aérea entre fue de 2,23 y 3,03 mg kg<sup>-1</sup> en Ecuador y Costa Rica, respectivamente. Se podría inferir que el ICS95 es una variedad de baja absorción. Este resultado es congruente con otros reportes que consideran que la variedad ICS95 es un material de absorción intermedia-baja en comparación con materiales como el CCN51 y POUND7 (Borjas-Ventura et al., 2022).

A nivel radicular, las variedades mostraron diferencias en la acumulación de Cd. La variedad EET400 mostró la mayor concentración (12,9 mg kg<sup>-1</sup>) que fue un factor 14 veces más alto que el de menor concentración, EET558. La concentración de Cd en el EET400 deberá ser corroborada en estudios posteriores, ya que esta variedad mostró niveles de Cd en la parte aérea en los rangos considerados normales (Figura 3). Algunos autores relacionan la acumulación de este metal en las raíces como un mecanismo de tolerancia e inmovilización (dos Santos et al., 2020). Lo anterior puede explicar que estas mismas variedades junto con el PMCT58 mostraron los FTI más bajos.



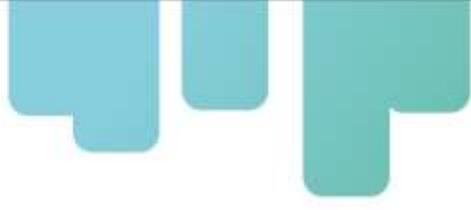
Esta mayor acumulación en raíces mostraría que estas plantas tienen cierta capacidad de mitigar la concentración de Cd en la parte aérea, sin embargo, estos resultados deben de ser verificados en campo.

Las variedades EET400 y el IMC67 son ampliamente utilizados como patrones (o también conocidos como portainjertos) (Chupillon-Cubas et al., 2018). De acuerdo con los datos obtenidos, estos podrían tener potencial para una menor translocación de Cd hacia la copa como estrategia para minimizar la concentración del contaminante en el fruto. Para el caso particular del IMC67, este resultado es congruente con otros estudios de variedades, los cuales clasifican como una variedad de baja traslocación de Cd (Chupillon-Cubas et al., 2018; Galvis et al., 2023). El comportamiento del EET400 presentado en este estudio contradice lo indicado por Arévalo-Hernández et al., (2021), quienes lo clasifican como un material de alta extracción, al estudiar materiales de cacao en suelo contaminado a  $25 \text{ mg kg}^{-1}$ . Es necesario enfatizar que la dosis utilizada en el estudio de Arévalo-Hernández et al., (2021) es 50 veces mayor a lo reportado como promedio en los suelos de cacao de la región, por lo que este exceso puede causar estos resultados contrastantes. Galvis et al., (2023) advierte que el comportamiento de una variedad depende de la intensidad de la exposición de Cd en el medio de crecimiento por lo que las estrategias futuras de mitigación basadas en el uso de variedades contrastantes deben ser diseñadas de manera dependiente de la dosis. Es importante considerar que la mayoría de las plantas usadas como patrón son propagadas por semilla, por lo que pueden considerarse como “híbridos” naturales. Los resultados observados en nuestro estudio solo podrán extrapolarse a condiciones de campo si la propagación es hecha de forma asexual, como por ejemplo, plantas enraizadas.

Hasta ahora, la literatura menciona mecanismos de absorción ligados a los transportadores NRAMP5 como una vía importante para la absorción de Cd por el cacao asociada a la resistencia natural y los transportadores de la familia de ATPasa de metales pesados (Moore et al., 2020). En otro estudio de variedades contrastantes de cacao en hidroponía, se expresó un mayor número de genes diferenciales relacionados con la respuesta al estrés por Cd, estímulo abiótico y proceso metabólico de carbohidratos en las hojas de las variedades estudiadas. Asimismo, funciones como el transporte de iones, la biosíntesis de la pared celular y la lignificación se asociaron fuertemente con la exposición a Cd (Delgadillo-Duran et al., 2022).

## *5.2 Diferencia varietal en la absorción de cadmio (Cd) en condiciones de campo para cultivares de cacao (Theobroma cacao L.) en Colombia y Ecuador*

Con respecto a la absorción de Cd en diferentes variedades en Colombia, las concentraciones de Cd en las diferentes matrices mostraron una gran variabilidad dentro de la misma finca ( $CV > 56\%$ ). Como se muestra en la Figura 13, los valores de Cd en suelos medidos por la nueva tecnología de E-max, demuestran la alta heterogeneidad y variabilidad que puede tener el



contenido de este metal pesado dentro de una misma finca, o de un predio con pocas hectáreas cultivadas con diferentes variedades, como ocurrió en el jardín clonal donde se realizó este muestreo. Esta alta variabilidad se ha reportado en la literatura (Argüello et al., 2019; Bravo et al., 2021; Carrillo et al., 2023) y es característica de una contaminación natural de suelo asociado a la roca parental. Esta alta variabilidad hace difícil concluir sobre el efecto de las variedades en campo. Sin embargo, con el estudio realizado se puede tener la línea base para estudios más profundos y así recomendar variedades que tengan baja acumulación de Cd. En este sentido, de forma interesante, los valores de Cd en suelos del jardín clonal fueron bajos (promedio = 0,32 mg kg<sup>-1</sup>) dentro de lo recomendado como ‘suelos saludables’ para el cultivo de cacao. Con respecto al contenido de Cd en almendras de cacao, se observó que en el jardín clonal (finca de San Vicente de Chucurí, Santander, Colombia), las variedades CAU39, FGI4 e IMC67 presentaron valores mayores de Cd con 0,8 - 1 mg Cd kg<sup>-1</sup> Cd de almendras de cacao secas.

Para considerar la relación entre el suelo y los tejidos, se calcularon los valores de Factor de Translocación (FTs) para hojas y almendras. En hojas, se encontraron valores FT máximos de 0,56 en la variedad CAU37 y valores mínimos de 0,04 en la variedad FSV85. El TF promedio fue de 0,16 y valores mínimos también observados en las variedades TCS01 y TCS13 (0,3). En el caso de materiales universales, se observaron TF bajos en CCN51 y medios en ICS, pero altos en materiales como IMC.

De forma particular, el TF en almendras mostró valores mayores para la variedad TCS13 (FT = 1,06) y menores en las variedades FGI4, FLE3 y FSV85 (FT = 0,04; 0,05 y 0,06 respectivamente). Los valores TF promedio fueron de 0,16. Es muy interesante encontrar estos valores, en un departamento como Santander, donde las concentraciones de Cd son muy variables y que se debe de analizar a nivel finca-específico.

### *5.3 Cd y efecto sobre la absorción de macro y micronutrientes*

Estudios de campo e invernadero han identificado la relación de Cd con otros macro y micronutrientes en diferentes tejidos de cacao (Arévalo-Gardini et al., 2017; Argüello et al., 2019; Arévalo-Hernández et al., 2021; Bravo et al., 2021; Carrillo et al., 2023). Esta relación puede ser debida a que las plantas utilizan mecanismos fisiológicos similares para la absorción de nutrientes análogos a Cd, incluso algunos metales (Barati et al., 2023). En este estudio, en el grupo con adición de Cd en la solución nutritiva, no se determinó una relación clara entre la absorción de Cd y los nutrientes en la parte aérea o radicular (Figura 8). Se observó una relación leve y antagónica entre Cd y elementos metálicos divalentes como el Mn. Esto es parcialmente congruente con un estudio de evaluación de variedades de cacao en suelo enriquecido con Cd en condiciones de invernadero. La relación entre Cd y macro y micronutrientes (a excepción de N y P) resultaron genotipo-dependientes y no se concluyó de forma sólida sobre las interacciones entre nutrientes (Arévalo-Hernández et al., 2021).

## 6. Conclusiones

Se determinó el efecto de la variedad de cacao sobre la capacidad de absorción de Cd de siete variedades utilizadas ampliamente en la región centroamericana. En función de esto, se proponen las variedades PMCT58, EET400, IMC67, ICS95 y CATIE-R6 como materiales de menor absorción de Cd en la parte aérea, como base para el fitomejoramiento y el estudio combinaciones de entre patrones y copas de baja absorción como posible estrategia de contención de la absorción de Cd.

Los nutrientes asociados con el Cd son el K, Mg y Mn, lo que resalta el desarrollo de estudios correlativos para evaluar la respuesta en la absorción de Cd como posibles alternativas de manejo de la nutrición del cultivo para la mitigación del Cd.

Por otra parte, con respecto a los estudios de absorción de cadmio por variedad vegetal de cacao en Colombia, los estudios de asociación de genoma completo (GWAS), se está avanzando con otro enfoque innovador, pues es una estrategia de investigación que, se incluye preliminarmente en este producto; y que tan solo hace un par de años, ha sido usada para identificar las variantes génicas responsables de una característica de interés.

De esta manera, con la identificación de genes de interés es posible realizar programas de selección asistida por marcadores (MAS) que, a su vez, permiten seleccionar individuos en etapas juveniles con cierta característica, y así tener mayores avances en el mejoramiento genético de plantas en un menor tiempo y con mejores costos.

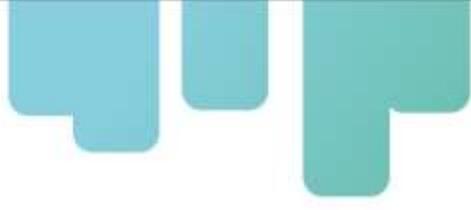
Para el caso específico de cacao, el poder identificar marcadores relacionados con una baja absorción de cadmio, permitirá el desarrollo de variedades que superen esta limitación y al mismo tiempo, permita el aumento en los ingresos de los agricultores por mejores condiciones en su cultivo. Ahora bien, para poder realizar un GWAS es necesario realizar la secuenciación de muestras con una amplia variabilidad genética para evitar falsos positivos. En este sentido, con este proyecto se optimizó un protocolo de extracción de ADN de buena calidad para la generación de librerías de representación reducida de 112 muestras foliares de cacao, que posteriormente serán secuenciadas, y con lo que se hará la identificación de SNPs y de genes responsables de la absorción de cadmio en cacao.

Asimismo, se pretende poder aplicar y evaluar este mismo tipo de estudios con muestras de cacao provenientes de otras localidades, que permita hacer una comparación entre variedades similares y distintos con diferente ubicación geográfica.

## Referencias Bibliográficas

- Abbott, P.C., Benjamin, T.J., Burniske, G.R., Croft, M.M., Fenton, M., Kelly, C.R., Lundy, M., Rodríguez Camayo, F., and Wilcox, M.D. (2019). Análisis de la cadena de cacao en Colombia.
- Abt, E., & Robin, L. P. (2020). Perspective on Cadmium and Lead in Cocoa and Chocolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(46), 13008-13015. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b08295>
- Apraez Muñoz, J. J., De Almeida, A.-A. F., Pirovani, C. P., Ahnert, D., & Baligar, V. C. (2021). Mitigation of Pb toxicity by Mn in seedling of the cacao clonal CCN 51 genotype grown in soil: Physiological, biochemical, nutritional and molecular responses. *Ecotoxicology*, 30(2), 240-256. <https://doi.org/10.1007/s10646-021-02348-y>
- Arévalo-Gardini, E., Arévalo-Hernández, C. O., Baligar, V. C., & He, Z. L. (2017). 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. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.122>
- Arévalo-Hernández, C. O., Arévalo-Gardini, E., Barraza, F., Farfán, A., He, Z., & Baligar, V. C. (2021). Growth and nutritional responses of wild and domesticated cacao genotypes to soil Cd stress. *Science of The Total Environment*, 763, 144021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144021>
- Argüello, D., Chavez, E., Laurysen, F., Vanderschueren, R., Smolders, E., & Montalvo, D. (2019). Soil properties and agronomic factors affecting cadmium concentrations in cacao beans: A nationwide survey in Ecuador. *Science of The Total Environment*, 649, 120-127. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.292>
- Barati, E., Moore, R. E. T., Ullah, I., Kreissig, K., Coles, B. J., Dunwell, J. M., & Rehkämper, M. (2023). An investigation of zinc isotope fractionation in cacao (*Theobroma cacao* L.) and comparison of zinc and cadmium isotope compositions in hydroponic plant systems under high cadmium stress. *Scientific Reports*, 13(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-30899-z>
- Barraza, F., Schreck, E., Lévêque, T., Uzu, G., López, F., Ruales, J., Prunier, J., Marquet, A., & Maurice, L. (2017). Cadmium bioaccumulation and gastric bioaccessibility in cacao: A field study in areas impacted by oil activities in Ecuador. *Environmental Pollution*, 229, 950-963. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.07.080>
- Barraza, F., Schreck, E., Uzu, G., Lévêque, T., Zouiten, C., Boidot, M., & Maurice, L. (2021). Beyond cadmium accumulation: Distribution of other trace elements in soils and cacao beans in

- Ecuador. *Environmental Research*, 192, 110241.  
<https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110241>
- Bernard, A. (2008). Cadmium & its adverse effects on human health. *INDIAN J MED RES*.
- Bhattacharyya, M. H. (2009). Cadmium osteotoxicity in experimental animals: Mechanisms and relationship to human exposures. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 238(3), 258-265.  
<https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.05.015>
- Borjas-Ventura, R., Bello-Medina, N., Bello-Amez, S., Alvarado-Huaman, L., Rabaza-Fernandez, D., Figueroa, L. T. Y., Castro-Cepero, V., & Julca-Otiniano, A. (2022). DIFFERENTIATED CADMIUM UPTAKE AND ITS EFFECT ON THE PHYSIOLOGY OF SIX CACAO GENOTYPES (*Theobroma cacao* L.) IN SAN RAMÓN, CENTRAL PERUVIAN JUNGLE. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 25(3), Article 3. <https://doi.org/10.56369/tsaes.4000>
- Bravo, D., Pardo-Díaz, S., Benavides-Erazo, J., Rengifo-Estrada, G., Braissant, O., and Leon-Moreno, C. (2018). Cadmium and cadmium-tolerant soil bacteria in cacao crops from northeastern Colombia. *J Appl Microbiol* 124, 1175-1194.
- Bravo, D., and Benavides-Erazo, J. (2020). The use of a two-dimensional electrical resistivity tomography (2D-ERT) as a technique for cadmium determination in cacao crop soils. *Appl Scie* 10, 1-17.
- Bravo, D., Leon-Moreno, C., Martínez, C. A., Varón-Ramírez, V. M., Araujo-Carrillo, G. A., Vargas, R., Quiroga-Mateus, R., Zamora, A., & Rodríguez, E. A. G. (2021). The First National Survey of Cadmium in Cacao Farm Soil in Colombia. *Agronomy*, 11(4), 761.  
<https://doi.org/10.3390/agronomy11040761>
- Bravo, D., Santander, M., Rodríguez, J., Escobar, S., Ramtahal, G., and Atkinson, R. (2022). 'From soil to chocolate bar': identifying critical steps in the journey of cadmium in a Colombian cacao plantation. *Food Addit Contam* 39, 949-963.
- Bravo, D., and Braissant, O. (2022). Cadmium-tolerant bacteria: current trends and applications in agriculture. *Lett Appl Microbiol* 74, 311-333.
- Bravo, D. (2022). Bacterial cadmium-immobilization activity measured by isothermal microcalorimetry in cacao-growing soils from Colombia. *Front Environ Sci* 10, 1-12.
- Carrillo, K., Martínez, M., Ramírez, L., Argüello, D., & Chavez, E. (2023). Cadmium (Cd) distribution and soil-plant relationship in cacao farms in Costa Rica. *Environmental Monitoring and Assessment*, 195(10), 1209. <https://doi.org/10.1007/s10661-023-11817-2>
- Chaney, R. L. (2010). Cadmium and Zinc. En P. S. Hooda (Ed.), *Trace Elements in Soils* (1.a ed., pp. 409-439). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781444319477.ch17>
- Chaney, R. L., Broadhurst, C. L., & Centofanti, T. (2010). Phytoremediation of Soil Trace Elements. En P. S. Hooda (Ed.), *Trace Elements in Soils* (1.a ed., pp. 311-352). Wiley.



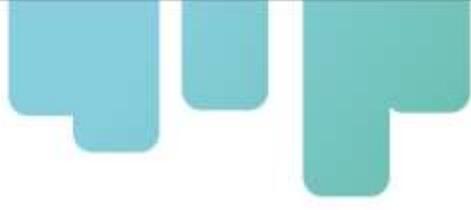
<https://doi.org/10.1002/9781444319477.ch14>

- Chavez, E., He, Z. L., Stoffella, P. J., Mylavarapu, R. S., Li, Y. C., Moyano, B., & Baligar, V. C. (2015). Concentration of cadmium in cacao beans and its relationship with soil cadmium in southern Ecuador. *Science of The Total Environment*, 533, 205-214. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.106>
- Chupillon-Cubas, J., Arévalo-Hernández, C. O., Arévalo-Gardini, E., Farfán-Pinedo, A., & Baligar, V. (2018). Accumulation of cadmium in six cocoa genotypes used as standard. *International Symposium on Cocoa Research (ISCR), Lima, Peru, 13-17 November 2017*. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20203128276>
- Cruz, R. A., & Cañas, P. C. (2018). La importancia de la exportación del cacao en Colombia y los países en América Latina. *Revista Investigación & Gestión*, 1(1), Article 1. <https://doi.org/10.22463/26651408.1514>
- Chavez, E., He, Z. L., Stoffella, P. J., Mylavarapu, R. S., Li, Y. C., Moyano, B., & Baligar, V. C. (2015). Concentration of cadmium in cacao beans and its relationship with soil cadmium in southern Ecuador. *Science of The Total Environment*, 533, 205-214. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.106>
- Chupillon-Cubas, J., Arévalo-Hernández, C. O., Arévalo-Gardini, E., Farfán-Pinedo, A., & Baligar, V. (2018). Accumulation of cadmium in six cocoa genotypes used as standard. *International Symposium on Cocoa Research (ISCR), Lima, Peru, 13-17 November 2017*. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20203128276>
- de Almeida, N. M., de Almeida, A.-A. F., Santos, N. de A., do Nascimento, J. L., de Carvalho Neto, C. H., Pirovani, C. P., Ahnert, D., & Baligar, V. C. (2022). Scion-rootstock interaction and tolerance to cadmium toxicity in juvenile *Theobroma cacao* plants. *Scientia Horticulturae*, 300, 111086. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111086>
- Delgadillo-Duran, P., Menéndez-Burns, F., Albert, I., Altman, N., Constanza-Montenegro, A., Rodríguez-Medina, C., Guiltinan, M., Maximova, S., Yocteng, R. (2022). Transcriptomic (RNA-seq) analysis of genes responsive to cadmium stress in *Theobroma cacao*. Recuperado 26 de septiembre de 2023, de [https://www.iscrsymposium.org/wp-content/uploads/2023/01/24-Delgadillo-Duran-2022-Cadmio\\_v3.pdf](https://www.iscrsymposium.org/wp-content/uploads/2023/01/24-Delgadillo-Duran-2022-Cadmio_v3.pdf)
- dos Santos, M. L. S., de Almeida, A.-A. F., da Silva, N. M., Oliveira, B. R. M., Silva, J. V. S., Junior, J. O. S., Ahnert, D., & Baligar, V. C. (2020). Mitigation of cadmium toxicity by zinc in juvenile cacao: Physiological, biochemical, molecular and micromorphological responses. *Environmental and Experimental Botany*, 179, 104201. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104201>
- Engbersen, N., Gramlich, A., Lopez, M., Schwarz, G., Hattendorf, B., Gutierrez, O., & Schulin, R. (2019). Cadmium accumulation and allocation in different cacao cultivars. *Science of The*

- Total Environment*, 678, 660-670. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.001>
- European Food Safety Authority. (2012). *Cadmium dietary exposure in the European population*. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2551>
- Fatima, G., Raza, A. M., Hadi, N., Nigam, N., & Mahdi, A. A. (2019). Cadmium in Human Diseases: It's More than Just a Mere Metal. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 34(4), 371-378. <https://doi.org/10.1007/s12291-019-00839-8>
- Florida Rofner, N. (2021). Revisión sobre límites máximos de cadmio en cacao (*Theobroma cacao* L.). *La Granja*, 34(2), 117-130. <https://doi.org/10.17163/lgr.n34.2021.08>
- Forero, N., & Reyes, L. (2022). Caracterización de Estrategias de Marketing Internacional para el cultivo de Cacao (*Theobroma cacao* L.) en Colombia. Tesis. <https://repositorio.ucundinamarca.edu.co/bitstream/handle/20.500.12558/4556/Forero%20Mart%c3%adnez%20Nasly%20Yuliza%20-%20Reyes%20Ni%c3%b1o%20Lida%20Natalia.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Galvis, Donald A., Yeirme Y. Jaimes-Suárez, Jairo Rojas Molina, Rosalba Ruiz, and Fabricio Eulalio Leite Carvalho. (2023a) Cadmium up taking and allocation in wood species associated to cacao agroforestry systems and its potential role for phytoextraction *Plants*. 12 (16): 2930. <https://doi.org/10.3390/plants12162930>
- Galvis, D. A., Jaimes-Suárez, Y. Y., Rojas Molina, J., Ruiz, R., León-Moreno, C. E., & Carvalho, F. E. L. (2023). Unveiling Cacao Rootstock-Genotypes with Potential Use in the Mitigation of Cadmium Bioaccumulation. *Plants*, 12(16), Article 16. <https://doi.org/10.3390/plants12162941>
- Gil, A., Brennan, M., Chaudhary, A. K., & Maximova, S. N. (2023). Evaluation of cacao projects in Colombia: The case of the rural Productive Partnerships Project (PAAP). *Evaluation and Program Planning*, 97, 102230. <https://doi.org/10.1016/j.evalprogplan.2023.102230>
- Godt, J., Scheidig, F., Grosse-Siestrup, C., Esche, V., Brandenburg, P., Reich, A., & Groneberg, D. A. (2006). The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 1(1), 22. <https://doi.org/10.1186/1745-6673-1-22>
- Grant, C. A., Clarke, J. M., Duguid, S., & Chaney, R. L. (2008). Selection and breeding of plant cultivars to minimize cadmium accumulation. *Science of The Total Environment*, 390(2-3), 301-310. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.10.038>
- Hoagland, D. R. (Dennis R., & Arnon, D. I. (Daniel I. (1950). *The water-culture method for growing plants without soil*. Berkeley, Calif.: College of Agriculture, University of California. <http://archive.org/details/watercultureme3450hoag>
- Jiménez -Tobón, C. S. (2015). Estado legal mundial del cadmio en cacao (*Theobroma cacao*): Fantasía o realidad. *Producción + Limpia*, 10(1), 89-104. <https://doi.org/10.22507/pml.v10n1a8>

- 
- Kumar, S., & Sharma, A. (2019). Cadmium toxicity: Effects on human reproduction and fertility. *Reviews on Environmental Health*, 34(4), 327-338. <https://doi.org/10.1515/reveh-2019-0016>
- León, F., Calderón, J., & Quintero., E. (2016). Estrategias para el cultivo, comercialización y Exportación del cacao fino de aroma en Ecuador. *Revista Ciencia UNEMI*. Recuperado 2 de octubre de 2023, de <https://www.redalyc.org/pdf/5826/582663825007.pdf>
- Lewis, C., Lennon, A. M., Eudoxie, G., & Umaharan, P. (2018). Genetic variation in bioaccumulation and partitioning of cadmium in *Theobroma cacao* L. *Science of The Total Environment*, 640-641, 696-703. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.365>
- Liang, Y., Wu, Q.-T., Lee, C. C. C., Jiang, C., & Wei, Z. (2022). Evaluation of manganese application after soil stabilization to effectively reduce cadmium in rice. *Journal of Hazardous Materials*, 424, 127296. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127296>
- Liu, G., Jia, L., Lu, L., Qin, D., Zhang, J., Guan, P., Ni, Z., Yao, Y., Sun, Q., and Peng, H. (2014). Mapping QTLs of yield-related traits using RIL population derived from common wheat and Tibetan semi-wild wheat. *Theor Appl Genet* 127, 2415-2432.
- Liu, H., Zhang, Y., Chai, T., Tan, J., Wang, J., Feng, S., & Liu, G. (2013). Manganese-mitigation of cadmium toxicity to seedling growth of *Phytolacca acinosa* Roxb. Is controlled by the manganese/cadmium molar ratio under hydroponic conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 73, 144-153. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.09.010>
- Lu, F., Lipka, A.E., Glaubitz, J., Elshire, R., Cherney, J.H., Casler, M.D., Buckler, E.S., and Costich, D.E. (2013). Switchgrass Genomic Diversity, Ploidy, and Evolution: Novel Insights from a Network-Based SNP Discovery Protocol. *PLOS Genetics* 9, e1003215.
- Maddela, N. R., Kakarla, D., García, L. C., Chakraborty, S., Venkateswarlu, K., & Megharaj, M. (2020). Cocoa-laden cadmium threatens human health and cacao economy: A critical view. *Science of The Total Environment*, 720, 137645. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137645>
- MADR (2021). "Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Federación Nacional de Cacaoteros, ICA, CasaLuker, & Compañía Nacional de Chocolates. Campaña Contra LA MONILIA. Incentivo sanitario para los productores de cacao para la adopción del manejo de la Moniliasis en las principales zonas productoras de cacao en Colombia (Produmedio)". (Bogotá D.C., Colombia: MADR).
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2018). Plan Nacional de cacao. Recuperado 2 de octubre de 2023, de <https://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/E14-11072.pdf>
- Montañez, G.a.P., Amado, A.M.S., and Neira, N.C.S. (2021). Mercadeo agropecuario una estrategia de gestión empresarial. Editorial de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia-UPTC.

- 
- Montealegre Bustos, F., Rojas Molina, J., and Jaimes Suárez, Y. (2021). Factores agronómicos y socioeconómicos que inciden en el rendimiento productivo del cultivo de cacao. Un estudio de caso en Colombia. *Fave. Sección ciencias agrarias* 20, 59-73.
- Meter, A., Atkinson, R. J., & Laliberte, B. (2019). *Cadmium in Cacao From Latin America and The Caribbean. A Review of Research and Potential Mitigation Solutions*. CAF. <https://ikels-dspace.azurewebsites.net/handle/123456789/1506>
- Moore, R. E. T., Ullah, I., de Oliveira, V. H., Hammond, S. J., Strekopytov, S., Tibbett, M., Dunwell, J. M., & Rehkämper, M. (2020). Cadmium isotope fractionation reveals genetic variation in Cd uptake and translocation by *Theobroma cacao* and role of natural resistance-associated macrophage protein 5 and heavy metal ATPase-family transporters. *Horticulture Research*, 7(1), 71. <https://doi.org/10.1038/s41438-020-0292-6>
- Oliva, M., Rubio, K., Epquin, M., Marlo, G., & Leiva, S. (2020). Cadmium Uptake in Native Cacao Trees in Agricultural Lands of Bagua, Peru. *Agronomy*, 10(10), 1551. <https://doi.org/10.3390/agronomy10101551>
- Oliveira, B. R. M., de Almeida, A.-A. F., Pirovani, C. P., Barroso, J. P., de C. Neto, C. H., Santos, N. A., Ahnert, D., Baligar, V. C., & Mangabeira, P. A. O. (2020). Mitigation of Cd toxicity by Mn in young plants of cacao, evaluated by the proteomic profiles of leaves and roots. *Ecotoxicology*, 29(3), 340-358. <https://doi.org/10.1007/s10646-020-02178-4>
- Osorio-Guarín, J.A., Berdugo-Cely, J., Coronado, R.A., Zapata, Y.P., Quintero, C., Gallego-Sánchez, G., and Yockteng, R. (2017). Colombia a source of cacao genetic diversity as revealed by the population structure analysis of germplasm bank of *Theobroma cacao* L. *Frontiers in Plant Science* 8, 1994.
- Osorio-Guarín, J.A., Berdugo-Cely, J.A., Coronado-Silva, R.A., Baez, E., Jaimes, Y., and Yockteng, R. (2020). Genome-wide association study reveals novel candidate genes associated with productivity and disease resistance to *Moniliophthora* spp. in cacao (*Theobroma cacao* L.). *G3: Genes, Genomes, Genetics* 10, 1713-1725.
- Quintero R, M. L., & Díaz Morales, K. M. (2004). El mercado mundial del cacao. *Agroalimentaria*, 9(18), 47-59.
- Quiroga-Mateus, R., López-Zuleta, S., Chávez, E., and Bravo, D. (2022). Cadmium-tolerant bacteria in cacao farms from Antioquia, Colombia: isolation, characterization and potential use to mitigate cadmium contamination. *Processes* 10, 1-18.
- Ramírez, K., Zambrano, G., Santos, A., Vázquez, Chávez, E., Moyano, B., Montealegre, F., Bravo, D., Sánchez, L., Ramírez, L. (2023). Análisis socioeconómico y de la incidencia de la nueva regulación sobre cadmio en las cadenas de valor de cacao en Ecuador, Colombia y Costa Rica. Informe final FONTAGRO. <https://www.fontagro.org/new/proyectos/plataforma-cacao-2030>

- 
- Rodríguez Giraldo, Y., Rodríguez Sánchez, E., Torres, L.G., Montenegro, A.C., and Pichimata, M.A. (2022). Development of validation methods to determine cadmium in cocoa almond from the beans by ICP-MS and ICP-OES. *Talanta* 5, 1-6.
- Satarug, S. (2019). Cadmium Sources and Toxicity. *Toxics* 7, 25.
- Scaccabarozzi, D., Castillo, L., Aromatisi, A., Milne, L., Búllon Castillo, A., & Muñoz-Rojas, M. (2020). Soil, Site, and Management Factors Affecting Cadmium Concentrations in Cacao-Growing Soils. *Agronomy*, 10(6), 806. <https://doi.org/10.3390/agronomy10060806>
- Springer-Heinze, A. (2017). "Manual on Sustainable Value Chain Development". Die Deutsche Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit).
- Suárez, Y.Y.J., Castañeda, G.a.A., Daza, E.Y.B., Estrada, G.a.R., and Molina, J.R. (2021). Modelo Productivo para el Cultivo de Cacao (*Theobroma cacao* L.) en el Departamento de Santander.
- Suhani, I., Sahab, S., Srivastava, V., & Singh, R. P. (2021). Impact of cadmium pollution on food safety and human health. *Current Opinion in Toxicology*, 27, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2021.04.004>
- Ullah, I., Wang, Y., Eide, D. J., & Dunwell, J. M. (2018). Evolution, and functional analysis of Natural Resistance-Associated Macrophage Proteins (NRAMPs) from *Theobroma cacao* and their role in cadmium accumulation. *Scientific Reports*, 8(1), 14412. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32819-y>
- Vanderschueren, R., Argüello, D., Blommaert, H., Montalvo, D., Barraza, F., Maurice, L., Schreck, E., Schulin, R., Lewis, C., Vazquez, J. L., Umaharan, P., Chavez, E., Sarret, G., & Smolders, E. (2021). Mitigating the level of cadmium in cacao products: Reviewing the transfer of cadmium from soil to chocolate bar. *Science of The Total Environment*, 781, 146779. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146779>
- Zamora, A., and Ochoa, L. (2020). "Cadena Productiva del cacao en Colombia. Un análisis del sector con enfoque de cadena.". (Bogotá D.C., Colombia: FEDECACAO).
- Zug, K. L. M., Huamaní Yupanqui, H. A., Meyberg, F., Cierjacks, J. S., & Cierjacks, A. (2019). Cadmium Accumulation in Peruvian Cacao (*Theobroma cacao* L.) and Opportunities for Mitigation. *Water, Air, & Soil Pollution*, 230(3), 72. <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4109-x>

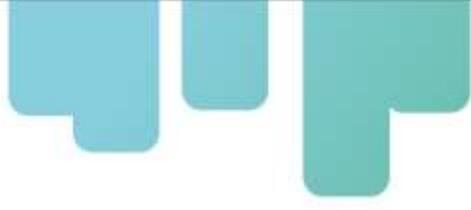
## Anexo

**Anexo 1.** Tabla utilizada para la preparación de la solución nutritiva Hoagland (50%) y adición de 0.44 Cd para los estudios en hidroponía

Producto	Molécula	Concentración (mg kg <sup>-1</sup> )												
		N-NO3	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Cu	Zn	Mo	Mn	B	Cd
Sulfato de Zinc heptahidratado	ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O						0,02			0,05				
Ácido bórico	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>												0,50	
Ácido molibdico	MoO <sub>3</sub>										0,03			
Fosfato de potasio monobásico	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>		16	20										
Sulfato de Magnesio	MgSO <sub>4</sub>					50	47							
Sulfato de Manganeso (II) monohidratado	MnSO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O						0,32					0,5		
Nitrato de calcio tetrahidratado	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 4 H <sub>2</sub> O	69			99,13									
Nitrato de potasio	KNO <sub>3</sub>	35		97										
Sulfato de cobre(II) pentahidratado	CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O						0,01		0,02					
Sulfato de hierro(II) heptahidratado	FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O							2						
EGTA	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>8</sub> · 2H <sub>2</sub> O													
Nitrato de Cadmio tetrahidratado	Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O													0,05
<b>Concentración final en solución nutritiva (mg kg<sup>-1</sup>)</b>		<b>103,93</b>	<b>15,64</b>	<b>116,43</b>	<b>99,13</b>	<b>50,01</b>	<b>47,34</b>	<b>1,51</b>	<b>0,02</b>	<b>0,05</b>	<b>0,03</b>	<b>0,55</b>	<b>0,50</b>	<b>0,05</b>

**Anexo 2.** Clones evaluados y cantidad de muestras colectadas en la finca de San Vicente de Chucurí, Santander, Colombia

<b>Variedad</b>	<b>hojas (genética)</b>	<b>hojas (Cd)</b>	<b>Suelo (Cd)</b>	<b>Mazorca (Cd)</b>
CAU37	3	3	3	2
CAU39	3	3	3	1
CAU43	3	3	3	1
CCN51	3	3	3	2
CNCH12	2	2	2	1
CNCH13	2	2	2	1
EET8	3	3	3	1
EET96	3	3	3	1
FB01	3	3	3	2
FCH18	2	2	2	1
FEAR5	3	3	3	5
FEC2	3	3	3	1
FGI4	3	3	3	2
FLE2	3	3	3	1
FLE3	3	3	3	1
FMA7	3	3	3	1
FSA12	3	3	3	1
FSA13	3	3	3	3
FSV1	3	3	3	2
FSV25	3	3	3	2
FSV41	3	3	3	1
FSV85	3	3	3	2
FSV94	3	3	3	1
FSV155	3	3	3	2
FSV178	3	3	3	1
FSV183	3	3	3	1
FTA2	3	3	3	1
FYC2	3	3	3	2
ICS1	3	3	3	2
ICS6	3	3	3	1
ICS39	3	3	3	1



<b>ICS60</b>	3	3	3	1
<b>IMC67</b>	3	3	3	1
<b>TCS01</b>	3	3	3	1
<b>TCS06</b>	3	3	3	2
<b>TCS13</b>	3	3	3	1
<b>TCS19</b>	3	3	3	1
<b>TSH565</b>	3	3	3	2

**Anexo 3.** Factores de traslocación (TF) calculados para hojas y almendras en el jardín clonal estudiado en Colombia.

Variety	TF-Leaves	TF-Beans
FTA2	0.078534031	0.363636364
FLE2	0.09683605	0.354385965
FMA7	0.116613419	0.22324159
FBO1	0.0795053	0.198675497
CCN51	0.074585635	0.211764706
TSH565	0.089686099	0.210526316
FGI4	0.063988095	0.11025641
FSV155	0.080123267	0.21010101
FSA13	0.110726644	0.273504274
FSA12	0.080062794	0.314814815
FEC2	0.138655462	0.323529412
FSV41	0.058536585	0.285714286
FLE3	0.048576214	0.172619048
FEAR5	0.120603015	0.340425532
FSV1	0.054474708	0.257471264
FCHI8	0.123595506	0.360655738
ICS39	0.115523466	0.444444444
EET8	0.063392857	0.25177305
TCS01	0.317614424	0.483122363
TCS06	0.202067669	0.398148148
TCS13	0.348794063	1.278911565
TCS19	0.237446198	0.580701754
CAU37	0.531887755	0.581589958
CAU39	0.325252525	0.688034188
CAU43	0.221153846	0.455445545
IMC67	0.519628099	0.728985507
ICS1	0.294444444	0.902676399
ICS60	0.382616487	0.658950617
EET96	0.107881137	0.331349206
ICS6	0.095340502	0.583333333
CNCH13	0.382267442	0.647783251
CNCH12	0.137387387	0.190031153
FSV25	0.128301887	0.357894737
FYC2	0.084210526	0.202692003
FSV85	0.037593985	0.174291939
FSV94	0.062371134	0.244444444
FSV183	0.095036959	0.247933884
FSV178	0.095709571	0.25950783

Secretaría Técnica Administrativa



Con el apoyo de:



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

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