

**UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**



**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRÓNOMA**

**TESIS PARA OBTENER
EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGRÓNOMO
TRANSPORTE Y ACUMULACIÓN DE CADMIO (Cd) EN
CINCO GENOTIPOS DE CACAO NATIVO DE LA
REGIÓN AMAZONAS**

Autor: Bach. Jegnes Benjamín Meléndez Mori

Asesor: Ph.D. Juan Carlos Guerrero Abad

Co-Asesor: Dr. Segundo Manuel Oliva Cruz

Registro (...)

CHACHAPOYAS – PERÚ

2021

DEDICATORIA

Para mis padres, su amor y su arduo trabajo me permitieron realizar todos mis deseos. Gracias por formarme con valores y con algunas libertades, pero sobre todo por motivarme siempre ha alcanzar mis metas.

A mis hermanas y sobrinos por estar siempre presente durante todo este proceso. A toda mi familia por sus consejos y palabras de aliento.

Jegnes Benjamín Meléndez Mori

AGRADECIMIENTO

Este proyecto es el resultado de un largo viaje que comencé hace unos años. Por ello quiero agradecer a mis padres, hermanas y tíos por estar siempre motivándome y apoyándome.

Agradezco a mi asesor, co-asesor y técnicos de laboratorio por su contribución y guía durante el desarrollo del proyecto de tesis.

Agradezco al Instituto de Investigación para el Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva (INDES-CES) y al Instituto de Investigación, Innovación y Desarrollo para el Sector Agrario y Agroindustrial de la región Amazonas (IIDAA – Amazonas), por el apoyo logístico durante la ejecución del proyecto de tesis.

Jegnes Benjamín Meléndez Mori

**AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ
DE MENDOZA DE AMAZONAS**

Dr. POLICARPIO CHAUCA VALQUI
RECTOR

Dr. MIGUEL ÁNGEL BARRENA GURBILLÓN
VICERRECTOR ACADÉMICO

Dra. FLOR TERESA GARCÍA HUAMÁN
VICERRECTORA DE INVESTIGACIÓN

Dr. ERICK ALDO AUQUIÑIVÍN SILVA
DECANO DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL



UNTRM

REGLAMENTO GENERAL

PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE
BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

ANEXO 3-K

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

El que suscribe el presente, docente de la UNTRM ()/Profesional externo (X), hace constar que ha asesorado la realización de la tesis titulada: "Transporte y acumulación de cadmio (Cd) en cinco genotipos de cacao nativo de la región Amazonas", del egresado Jegnes Benjamín Meléndez Mori, de la facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, Escuela Profesional de Ingeniería Agrónoma, de esta casa superior de estudios.

El suscrito da el Visto Bueno a la Tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, comprometiéndose a supervisar el levantamiento de observaciones que formulen en el Acta en conjunto, y estar presente en la sustentación.



Lima, 20 de abril de 2021


Juan Carlos Guerrero Abad, Ph.D.

VISTO BUENO DEL CO-ASESOR DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL



UNTRM

REGLAMENTO GENERAL

PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE
BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

ANEXO 3-K

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

El que suscribe el presente, docente de la UNTRM (X)/Profesional externo (), hace constar que ha asesorado la realización de la tesis titulada: “Transporte y acumulación de cadmio (Cd) en cinco genotipos de cacao nativo de la región Amazonas” del egresado Jegnes Benjamín Meléndez Mori, de la facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, Escuela Profesional de Ingeniería Agrónoma, de esta casa superior de estudios.

El suscrito da el Visto Bueno a la Tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, comprometiéndose a supervisar el levantamiento de observaciones que formulen en el Acta en conjunto, y estar presente en la sustentación.



Chachapoyas, 20 de abril de 2021

Ing. Mg. Sc. Segundo Manuel Oliva Cruz

JURADO EVALUADOR DE TESIS



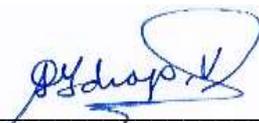
Mg. Santos Triunfo Leiva Espinoza

PRESIDENTE



Ing. Mg.Sc. Walter Daniel Sánchez Aguilar

SECRETARIO



Ing. Guillermo Idrogo Vásquez

VOCAL

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL



UNTRM

REGLAMENTO GENERAL

PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

ANEXO 3-O

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

Los suscritos, miembros del Jurado Evaluador de la Tesis:

“Transporte y acumulación de cadmio (Cd) en diez genotipos de cacao nativo de la región Amazonas”

presentado por el (la) estudiante () / egresado (X) Jegnes Benjamín Meléndez Mori

de la Escuela Profesional de Ingeniería Agrónoma

con correo electrónico institucional 071001A131@untrm.edu.pe

después de revisar con el software Turnitin el contenido del citado Tesis, acordamos:

- a) La citada Tesis tiene 21 % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es menor (X)/ igual () al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM.
- b) La citada Tesis tiene _____ % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es mayor al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM, por lo que el aspirante debe revisar su tesis para corregir la redacción de acuerdo al informe Turnitin que se adjunta a la presente. Debe presentar al presidente del Jurado Evaluador su Tesis corregida para una nueva revisión con el software Turnitin.



Chachapoyas, 15 de marzo de 2021

Secretario

Vocal

Presidente

OBSERVACIONES:.....

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL



UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE
MENDOZA DE AMAZONAS

Secretaría General
OFICINA DE GRADOS Y TÍTULOS

ANEXO 3-N

ACTA DE EVALUACIÓN DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

En la ciudad de Chachapoyas, el día 15 de abril del año 2021, siendo las 16:00 horas, el aspirante JEGNES BENJAMÍN MELÉNDEZ MORI, defiende en sesión pública la tesis titulada: "TRANSPORTE Y ACUMULACIÓN DE CADMIO (Cd) EN DIEZ GENOTIPOS DE CACAO NATIVO DE LA REGIÓN AMAZONAS", para obtener el Título Profesional de **Ingeniero Agrónomo** a ser otorgado por la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas; ante el jurado evaluador, constituido por:

Presidente: Mg. Santos Triunfo Leiva Espinoza.

Secretario: M.Sc. Walter Sánchez Aguilar

Vocal: Ing. Guillermo Idrogo Vásquez

Procedió el aspirante a hacer la exposición de la Introducción, Material y método, Resultados, Discusión y Conclusiones, haciendo especial mención de sus aportaciones originales. Terminada la defensa de la Tesis presentada, los miembros del Jurado Evaluador pasaron a exponer su opinión sobre la misma, formulando cuantas cuestiones u objeciones consideraron oportunas, las cuales fueron contestadas por el aspirante.

Tras la intervención de los miembros del Jurado Evaluador y las oportunas respuestas del aspirante, el Presidente abre un turno de intervenciones para los presentes en el acto, a fin de que formulen las cuestiones u objeciones que consideren pertinentes.

Seguidamente, el jurado Evaluador determinó la calificación concedida de la Tesis para obtener el Título Profesional en términos de:

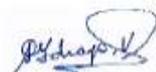
Aprobado (X) Desaprobado ()

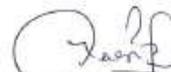
Otorgada la calificación, el Secretario del Jurado Evaluador lee la presente Acta en sesión pública. A continuación se levanta la sesión.

Siendo las 17:00 horas del mismo día y fecha, el Jurado Evaluador concluye el acto de sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional.

Chachapoyas, 15 de abril de 2021


SECRETARIO


VOCAL


PRESIDENTE

OBSERVACIONES:

ÍNDICE O CONTENIDO GENERAL

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS	iv
VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL	v
VISTO BUENO DEL CO-ASESOR DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL	vi
JURADO EVALUADOR DE LA TESIS	vii
CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL	viii
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL	ix
ÍNDICE O CONTENIDO GENERAL	x
ÍNDICE DE TABLAS	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
RESUMEN	xiv
ABSTRACT.....	xv
I. INTRODUCCIÓN	16
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
2.1. Selección de material vegetal.....	18
2.2. Establecimiento de ensayo a sensibilidad a cadmio.....	20
2.3. Cuantificación de cadmio en hojas y raíces	21
2.4. Determinación de la capacidad de acumulación y el factor de translocación.	23
2.5. Diseño experimental y análisis de datos.	23
III. RESULTADOS	24
3.1. Acumulación de cadmio en hoja de cinco genotipos de cacao nativo.	24
3.2. Acumulación de cadmio en raíces de cinco genotipos de cacao nativo.	25
3.4. Factor de Bioconcentración y Translocación.	27
IV. DISCUSIÓN	28
V. CONCLUSIONES	31

VI. RECOMENDACIONES	32
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
ANEXOS	42

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Valores medios de acumulación de Cd en hoja, para los genotipos y horas de evaluación.	25
Tabla 2. Valores medios de acumulación de Cd en raíz, para los genotipos y horas de evaluación.	27
Tabla 3. Factor de Bioconcentración (FBC) y Translocación (FT) de cadmio.	27

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación de genotipos de cacao nativo, distrito Copallin, región Amazonas – Perú.	18
Figura 2. Niveles de Cd en cultivo de cacao, resultados a nivel de hoja y suelo.....	19
Figura 3. Frutos de cacao nativo. Genotipos: A) 'JSM 2', B) 'INDES 39', C) 'JMB 1', D) 'JSM 3' y E) 'INDES 38'.....	19
Figura 4. Ensayo de sensibilidad a Cd bajo sistema hidropónico de raíz flotante.	20
Figura 5. Cuantificación de Cd. a) Recolección de muestras, b) Calcinación de muestras en horno mufla, c) Digestión con ácido clorhídrico y d) Cuantificación por espectrofotometría.	22
Figura 6. Curva de calibración de Cd.	22
Figura 7. Acumulación de Cd en hojas de cacao, dependientes del genotipo y tiempo de exposición. A) 'JMB 1', B) 'JSM 2', C) 'INDES 39', D) 'JSM 3' y D) 'INDES 38'.....	24
Figura 8. Acumulación de Cd en raíces de cacao, dependientes del genotipo y tiempo de exposición. A) 'JMB 1', B) 'JSM 2', C) 'INDES 39', D) 'JSM 3' y D) 'INDES 38'.....	26
Figura 9. Instalación de sistema hidropónico en cacao. A) Germinación de semillas, B) Indicador de emergencia de plántulas, C) Plántulas de 2 meses de edad y D) Trasplante de plántulas a bandejas hidropónicas de tipo raíz flotante.	42
Figura 10. Instalación de ensayo. A) Sistema hidropónico raíz flotante para cacao y B) Plantón de cacao desarrollado en sistema hidropónico.	43
Figura 11. Recolección de muestras. A) Raíz y B) Hoja.	43
Figura 12. Cuantificación de Cd en muestras de cacao. A) Calcinación, B) Digestión en cabina extractora de gases, C) Dilución y D) Cuantificación por espectrofotómetro.	44

RESUMEN

Debido a las restricciones internacionales que establecen límites máximos permisibles de metales pesados en productos agrícolas, la acumulación de cadmio (Cd) en almendras de cacao es considerada una característica no deseada para su producción y comercialización. El presente estudio tuvo por objetivo evaluar la dinámica del transporte y acumulación de Cd en plántulas de cinco genotipos de cacao nativo (JMB 1, JSM 2, INDES 39, JSM 3 y INDES 38) a fin de explorar una muestra de la diversidad genética del cacao y cómo podría contribuir a disminuir la absorción y translocación del cadmio. Para ello, plantas germinadas de cacao de 60 días de edad se transfirieron a un sistema hidropónico con solución Haogland, y luego de 90 días se agregó 20 μM de cloruro de cadmio y se recolectaron muestras de raíz y hoja, estableciendo diferentes periodos de evaluación (0, 24, 48, 96, 120 y 144 horas). Los resultados mostraron diferencias significativas en la acumulación de Cd en las regiones foliares de los genotipos estudiados, mostrando una respuesta de genotipo dependencia en la acumulación, sin embargo, la afinidad del cadmio por las raíces de cacao es alta. Por otro lado, se observó que el tiempo de exposición influyó en la translocación y bioacumulación de Cd en los genotipos cacao. En general, se puede mencionar que, bajo las condiciones experimentales del estudio, 'INDES 38' se presenta como el genotipo de cacao con menor afinidad a la translocación y acumulación de Cd, convirtiéndose en un potencial material de propagación

Palabras claves: absorción, bioacumulación, cadmio, genotipos de cacao

ABSTRACT

Due to international restrictions that establish maximum permissible limits for heavy metals in agricultural products, the accumulation of cadmium (Cd) in cocoa beans is considered an undesirable characteristic for their production and commercialization. The objective of this study was to evaluate the dynamics of Cd transport and accumulation in seedlings of five native cocoa genotypes (JMB 1, JSM 2, INDES 39, JSM 3 and INDES 38) in order to explore a sample of the genetic diversity of the cocoa and how it could contribute to decrease the absorption and translocation of cadmium. For this, germinated cocoa plants with 60 days age transferred to a hydroponic system with Haogland solution, and after 90 days 20 μM of cadmium chloride was added and root and leaf samples were collected, establishing different evaluation periods (0, 24, 48, 96, 120 and 144 hours). The results showed significant differences in the accumulation of Cd in the foliar regions of the genotypes studied, showing a response of genotype dependence in the accumulation, however, the affinity of cadmium for cocoa roots is high. On the other hand, it was observed that the exposure time influenced the translocation and bioaccumulation of Cd in the cacao genotypes. In general, it can be mentioned that, under the experimental conditions of the study, 'INDES 38' is presented as the cocoa genotype with the lowest affinity to translocation and accumulation of Cd, becoming a potential propagation material.

Keywords: absorption, bioaccumulation, cadmium, cocoa genotypes

I. INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es un cultivo perenne oriundo de los bosques tropicales de la región amazónica (cuenca alta del Amazonas) comprendida entre los territorios de Brasil, Perú y Colombia (Cuatrecasas, 1964; Motamayor *et al.*, 2002). Estos países albergan la mayor diversidad de cacao, tanto poblaciones silvestres como nativas (Thomas *et al.*, 2012; Osorio-Guarín *et al.*, 2017).

En la actualidad, el cacao es uno de los cultivos más importantes del mundo, siendo sus semillas la principal materia prima para la industria chocolatera (Kongor *et al.*, 2016). Brinda beneficios económicos a múltiples sectores pobres del mundo, por lo cual es uno de los cultivos priorizados para impulsar programas de desarrollo social (Benjamin *et al.*, 2018; Rodríguez-Medina *et al.*, 2019). Por otro lado, cabe mencionar que África es la región con mayor producción de cacao, debido a que este es el principal cultivo comercial para países como Ghana, Costa de Marfil, Uganda, Nigeria, Camerún y Togo (Romero, 2016).

En Perú, la producción de cacao data desde inicios del siglo XXI, logrando un posicionamiento en el mercado mundial a partir del 2012 (Garate-Navarro *et al.*, 2017). A nivel nacional la producción ha tenido un constante crecimiento, siendo Cusco, San Martín, Amazonas, Piura, Ayacucho y Junín las principales regiones productoras de este cultivo (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, 2006). Este crecimiento le permitió al país ubicarse dentro de los principales exportadores de cacao, destacando el cacao fino o de aroma y la producción orgánica (Romero, 2016).

Para la región Amazonas, el cacao es uno de los principales productos de exportación y una importante fuente económica para las familias del ámbito rural. Ocupa el segundo lugar de superficie agrícola cultivada y cosechada (13,416.83 ha) de la región, estando solo por detrás del café (42,724.46 ha); además, a nivel nacional representa el 4% de la producción de cacao, con un aporte de 4,529.20 toneladas de grano seco (Zamora, 2015).

En la actualidad, el interés en torno al cacao es significativa por su alta valoración económica, pero también por la presencia de metales pesados como el cadmio (Cd), en sus diferentes estructuras (raíces, tronco, hojas y semillas). El Cd es un metal

pesado ampliamente utilizado en diversas industrias, y en plantas se ha estudiado extensamente debido a sus efectos tóxicos (Pernía *et al.*, 2008). Su presencia dentro de los ecosistemas tiene un origen natural, sin embargo, son los diversos procesos antropogénicos quienes han ocasionado que el nivel de este elemento se incremente continuamente (Rodríguez, 2017).

El riesgo de contaminación por Cd radica no solo por ser un elemento altamente tóxico, sino también en su capacidad de bioacumulación en los diferentes seres vivos (plantas y animales), resultando alarmante que su disponibilidad aun en pequeñas concentraciones se prolongue en el tiempo (Reyes *et al.*, 2016). Su acumulación se ha dado a conocer en cultivos de gran importancia agrícola como el cacao (Arévalo-Gardini *et al.*, 2017), la papa (Oliva *et al.*, 2019) y el arroz (Wang *et al.*, 2020). Este panorama ha generado gran preocupación para el sector cacaotero, ya que según las normas establecidas por la Unión Europea (UE), todo producto derivado que contenga como mínimo un 50 % de cacao debe contener índices menores a 0.8 ppm de Cd (Comisión Europea, 2014).

La regulación entrada en vigencia a inicios del 2019, establece los límites máximos permisibles (LMP) de metales pesados para productos agrícolas de exportación, entre ellos el cacao. El estado actual, determina la importancia de estudiar los mecanismos de transporte de Cd en la planta, así como, la identificación de genotipos que presentan menor afinidad al transporte de dicho metal. La persistencia de este problema puede conllevar a la insostenibilidad agrícola y comercial del cacao de la región Amazonas y el país, lo cual implicaría en una reducción de las divisas para los pequeños agricultores.

En ese sentido, el presente estudio tuvo por objetivo determinar el dinamismo del Cd en las plantas de cacao, desde la incorporación en sus raíces hasta su transporte y acumulación en sus diferentes órganos (raíces y hojas). Los resultados permitirán conocer la dinámica del Cd en plantas de cacao, asimismo, identificar cuál o cuáles de los genotipos estudiados presenta una menor afinidad a su transporte. El estudio servirá de base para que mediante el uso de herramientas biotecnológicas se pueda obtener plantas con menor afinidad al transporte de Cd, y de esta manera garantizar la sostenibilidad productiva y comercial del cacao.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la provincia de Chachapoyas (Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza), región Amazonas, ubicado al norte Perú. Los ensayos se condujeron bajo condiciones de invernadero con un promedio de temperatura máxima de 24,46 °C y mínima de 13,87 °C, y humedad relativa promedio de 70,28%.

2.1. Selección de material vegetal

El material vegetal (frutos maduros) fue colectado de parcelas cacaoteras localizadas en el distrito de Copallin, provincia de Bagua, región Amazonas (área de actividad del Instituto de Investigación para el Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva – INDES CES) (Figura 1).

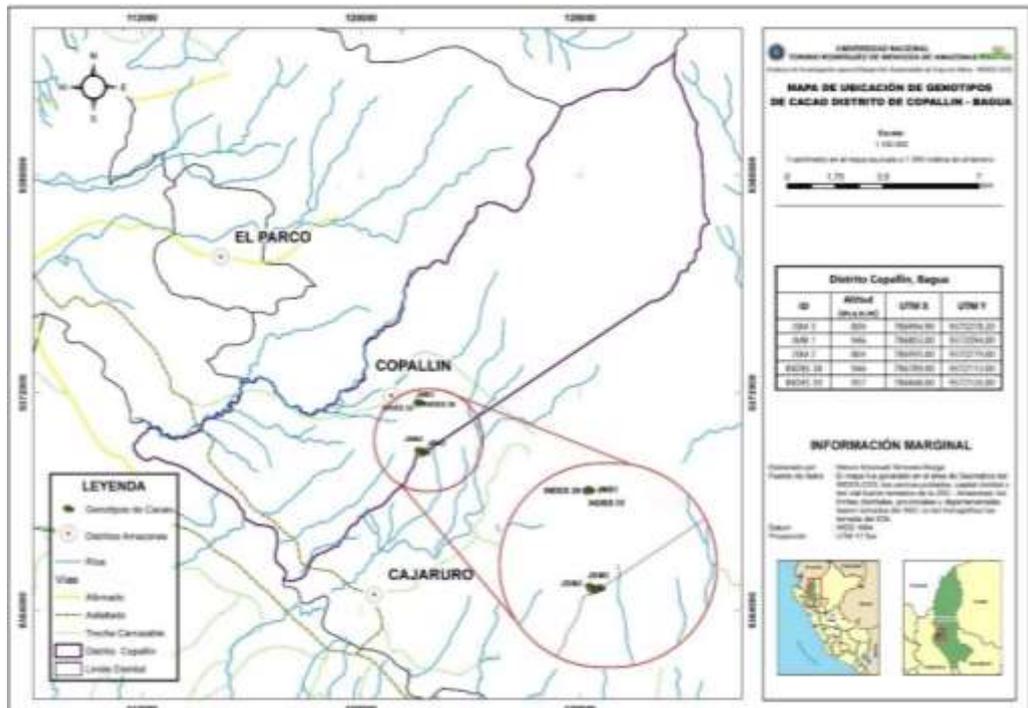


Figura 1. Ubicación de genotipos de cacao nativo, distrito Copallin, región Amazonas – Perú.

Inicialmente, se identificaron 13 genotipos de cacao nativo y se realizó un análisis de acumulación de Cd en hojas y, un análisis de muestras de suelo de puntos adyacentes a la planta identificada (Figura 2). Luego, se obtuvo la relación de absorción de Cd para cada genotipo (Cd en hoja / Cd en suelo) y se seleccionaron cinco (05) genotipos (Figura 3) con una relación entre 1,40 a 4,79.

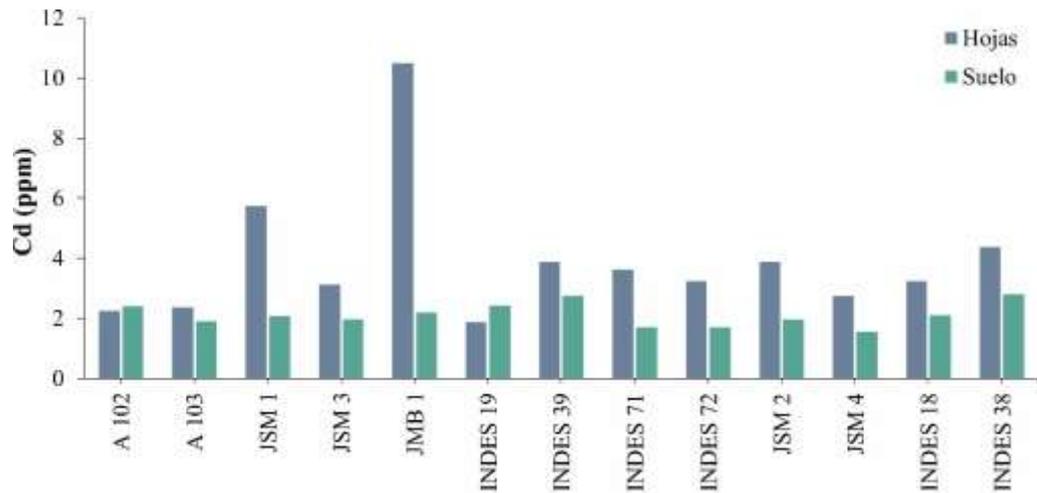


Figura 2. Niveles de Cd en cultivo de cacao, resultados a nivel de hoja y suelo.



Figura 3. Frutos de cacao nativo. Genotipos: A) 'JSM 2', B) 'INDES 39', C) 'JMB 1', D) 'JSM 3' y E) 'INDES 38'.

2.2. Establecimiento de ensayo a sensibilidad a cadmio

Se recolectaron frutos maduros y se extrajó sus semillas. Luego, mediante frotamiento con aserrín se les retiró el exceso de mucílago, seguido se lavaron en agua corriente (Gómez & Ormeño, 2013). Posteriormente, fueron seleccionadas 300 semillas por genotipo y se colocaron en bandejas con aserrín (desinfectado) durante 60 días.

A continuación, se realizó el trasplante de plántulas. Para ello, se extrajeron cuidadosamente y se lavaron sus raíces a chorro continuo. Luego se transfirieron a un sistema hidropónico de raíz flotante (Figura 4); el cual contenía como fuente de nutrientes a la solución Hoagland (Hoagland & Arnon, 1950). Transcurridos 90 días se aplicó Cd (Cloruro de cadmio - CdCl_2) a una concentración de 20 μM (3,66 ppm). En seguida se recolectó muestras de raíz y hoja en distintos intervalos de tiempo (0, 24, 48, 96, 120, 144 horas posteriores a la aplicación de Cd) (Figura 4).

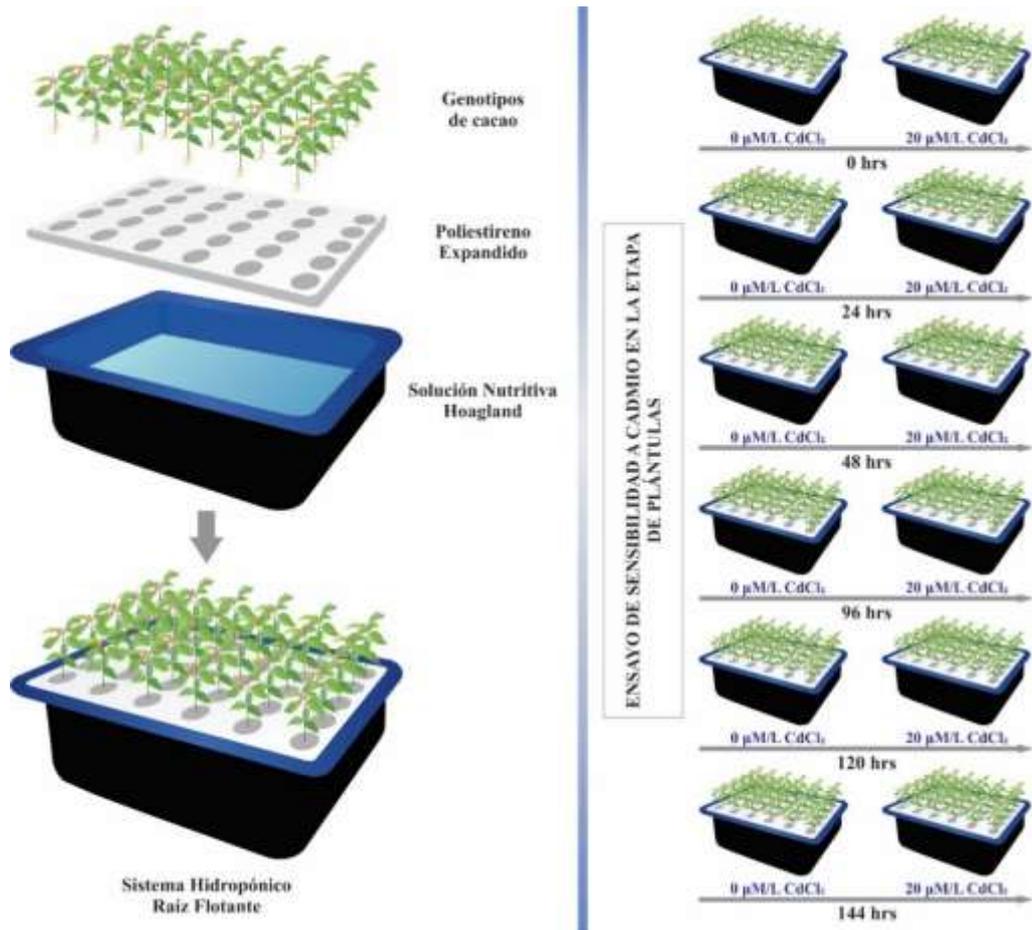


Figura 4. Ensayo de sensibilidad a Cd bajo sistema hidropónico de raíz flotante.

2.3. Cuantificación de cadmio en hojas y raíces

El análisis de Cd en cacao inicio con la recolección, lavado (agua destilada) y etiquetado (empaquetado en sobres de papel) de las muestras (hojas y raíces) (Figura 5a). Las muestras se secaron en una estufa BINDER FD 115 (BINDER GmbH, Alemania) a 70 °C durante 48 horas. Seguido se pulverizó la muestra y se pesó 1 g (hoja y raíz, respectivamente) y, luego se colocó en crisoles de porcelana. Para preparar la muestra se siguió la técnica de mineralización por vía seca establecida por Carter (1993), que consiste en reducir las muestra a cenizas y su posterior tratamiento con ácidos. Este proceso se realizó mediante calcinación de las muestras en horno mufla THERMOLYNE (Thermo Scientific, USA) a 480 °C durante 08 horas (Figura 5b). A continuación, dentro de una cabina extractora de gases (Figura 5c) se realizó los siguientes procedimientos:

- La muestra calcinada se humedeció con agua destilada,
- Se agregó lentamente un (01) ml de HCl concentrado y se agitó,
- Se agrego 2 mL de agua destilada y un (01) mL de HCl concentrado,
- El contenido se filtró (Whatman 40) a una Fiola de 25 mL y luego se llevó al volumen final (25 mL) con agua de alta pureza.

Las muestras se analizaron por espectrofotometría, a través del uso de un espectrofotómetro de emisión atómica de plasma por microondas Agilent 4100 MP-AES (Agilent Technologies, USA) (Figura 5d). Previamente, se realizó la calibración del equipo mediante el uso de soluciones estándar de Cd en diversas concentraciones (0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0 y 5.0 ppm) (Figura 6), preparados a partir de una solución patrón (1000 ppm Cd).

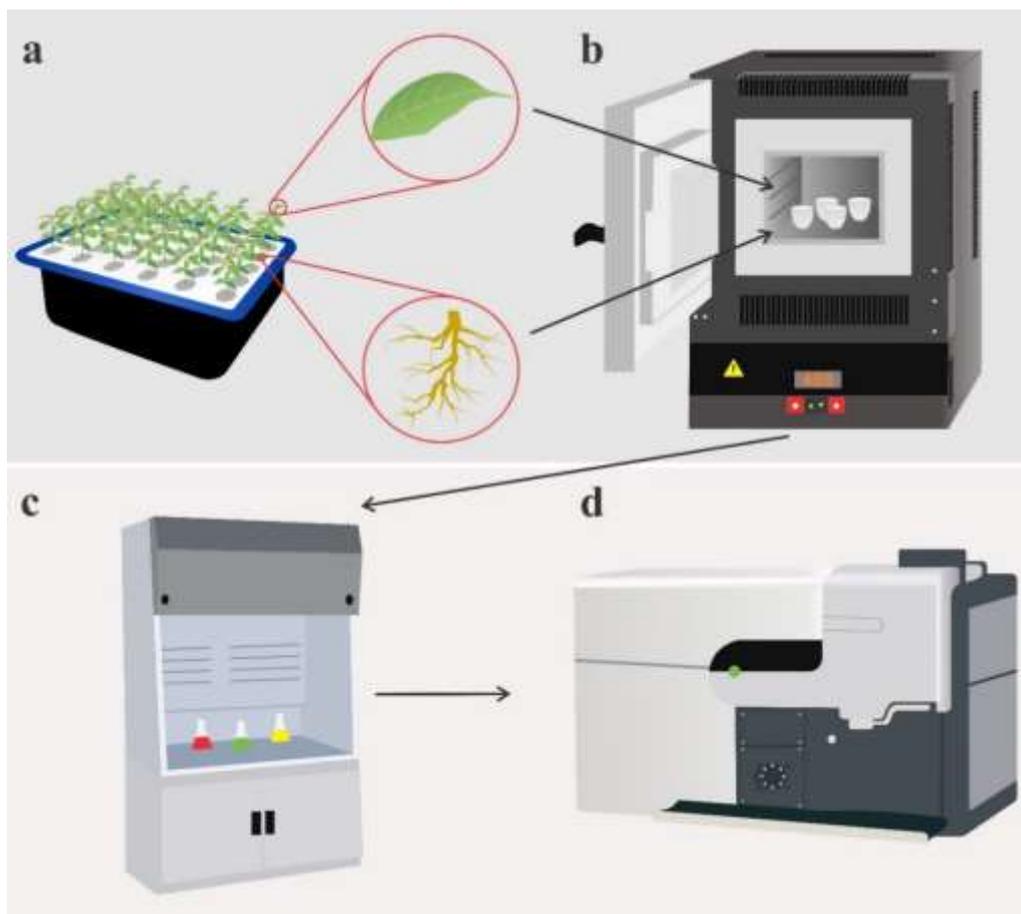


Figura 5. Cuantificación de Cd. a) Recolección de muestras, b) Calcinación de muestras en horno mufla, c) Digestión con ácido clorhídrico y d) Cuantificación por espectrofotometría.

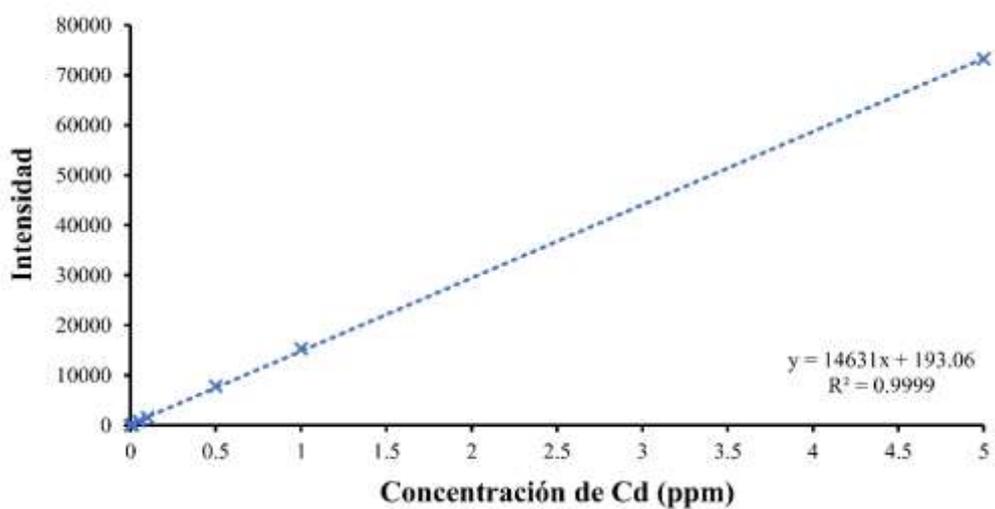


Figura 6. Curva de calibración de Cd.

2.4. Determinación de la capacidad de acumulación y el factor de translocación.

La eficiencia de la planta en acumular Cd en sus tejidos del ambiente circundante se calcula de la siguiente forma (Zhuang *et al.*, 2007):

$$\text{Factor de Bioconcentración (FBC)} = \frac{C_{\text{planta}}}{C_{\text{hidropónica}}}$$

La eficiencia de la planta para translocar Cd desde la raíz hacia las hojas se calculó de la siguiente manera (Padmavathiamma & Li, 2007):

$$\text{Factor de translocación (FT)} = \frac{C_{\text{hoja}}}{C_{\text{raíz}}}$$

2.5. Diseño experimental y análisis de datos.

El experimento se realizó bajo un diseño experimental completamente al azar, con tres repeticiones por tratamiento (30 plantas por repetición). La acumulación neta de Cd para cada genotipo se obtuvo restando la concentración del metal registrada en los tratamientos (20 uM Cd) con los valores obtenidos en condiciones de control (0 uM Cd).

Los datos recopilados se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$), debido a que no cumplieron con los supuestos del análisis de varianza. Para el análisis se utilizó el software estadístico InfoStat (versión 2018).

III. RESULTADOS

3.1. Acumulación de cadmio en hoja de cinco genotipos de cacao nativo.

El análisis de varianza detectó la existencia de diferencias significativas ($p < 0,05$) para los niveles de acumulación de Cd en hoja. En la figura 7 se muestra que la concentración de Cd aumentó proporcionalmente al tiempo de evaluación; es decir la acumulación de Cd en hojas fue superior cuando las plantas permanecieron mayor tiempo en el sistema hidropónico tratado con Cd.

La acumulación de Cd en hojas estuvo influenciada por el genotipo y el tiempo de evaluación. Por ejemplo, en el genotipo 'JMB 1' (Figura 7A) se observa que después de 96 h de exposición a estrés por Cd, la concentración de Cd incrementó significativamente y alcanzó un valor máximo de 1,34 ppm en 144 h. En los genotipos 'JSM 2' e 'INDES 39' (Figura 7B y C, respectivamente), la concentración de Cd no varió significativamente durante las primeras 24 h, pero desde las 48 h se observa una tendencia creciente significativa hasta registrar niveles de 1,67 y 0,76 ppm, respectivamente. En cuanto a los genotipos 'JSM 3' e 'INDES 38' (Figura 7D y E, respectivamente), se necesitaron 96 h para que la acumulación de Cd pueda ser detectado, presentando un incremento significativo durante siguientes puntos de evaluación.

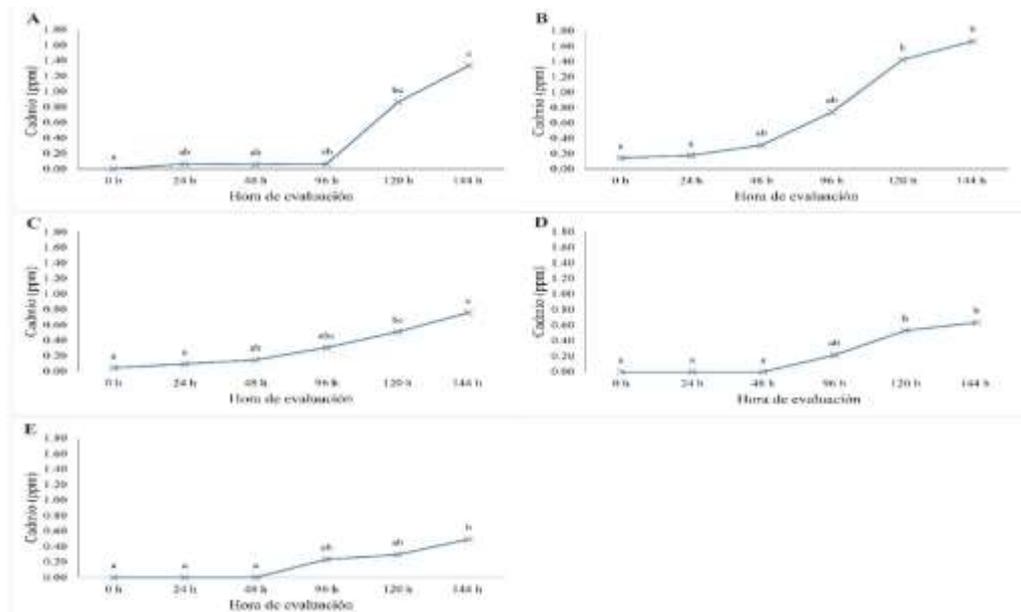


Figura 7. Acumulación de Cd en hojas de cacao, dependientes del genotipo y tiempo de exposición. A) 'JMB 1', B) 'JSM 2', C) 'INDES 39', D) 'JSM 3' y D) 'INDES 38'.

En general, a nivel de genotipos se puede mencionar que, la concentración media de Cd en hoja (durante la fase experimental) fue significativamente superior ($p = 0,0053$) en el genotipo 'JSM 2', mientras que la acumulación más baja se registró en el genotipo 'INDES 38' (Tabla 1A). Por otro lado, los resultados muestran que, en los cinco genotipos de cacao, la mayor acumulación de Cd se presentó a 144 h ($p = 0,0001$) de exposición a Cd (Tabla 1B).

Tabla 1. Valores medios de acumulación de Cd en hoja, para los genotipos y horas de evaluación.

A		
Genotipo	Cadmio en hoja (ppm)	
JSM 3	0,23 b	
INDES 38	0,17 a	
JMB 1	0,40 bc	
INDES 39	0,31 bc	
JSM 2	0,74 c	

B		
Hora de evaluación	Cadmio en hoja (ppm)	
0	0,04 a	
24	0,07 a	
48	0,10 ab	
96	0,31 bc	
120	0,72 cd	
144	0,98 d	

a,b,c,d Letras diferentes indica diferencias significativas ($p < 0,05$).

3.2. Acumulación de cadmio en raíces de cinco genotipos de cacao nativo.

El análisis de varianza mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) para la concentración de Cd en raíces dependientes del tiempo. La figura 8 muestra que, durante las primeras 48 h, la concentración de Cd en raíz tiene una curva similar (con acumulación de Cd creciente), pero luego siguieron patrones distintos según el genotipo y el tiempo de evaluación.

La acumulación de Cd en raíces, para los cinco genotipos de cacao, pudo ser detectado desde las 24 h posteriores a la aplicación de Cd en el medio. En el genotipo 'JMB 1' (Figura 8A) se observa que entre las 24 y 96 h hubo un incremento significativo en los niveles de Cd, aumentando de 112,24 a 143,44 ppm. En el genotipo 'JSM 2' (Figura 8B) los niveles de Cd incrementaron de forma lenta entre las 24 y 120 h (máxima acumulación), y registró un

decrecimiento en las siguientes 24 h. En el genotipo 'INDES 39' e 'INDES 38' (Figura 8C y E, respectivamente) la acumulación de Cd fue significativamente superior a las 48 h de evaluación, registrando en 24 h un aumento superior a 32 y 47 ppm, respectivamente. Por su parte, en el genotipo 'JSM 3' (Figura 8D) la acumulación de Cd pasó de 72,40 ppm a las 24 h a 136,73 ppm a las 144 h, siendo este último, un valor significativamente superior respecto a las evaluaciones anteriores.

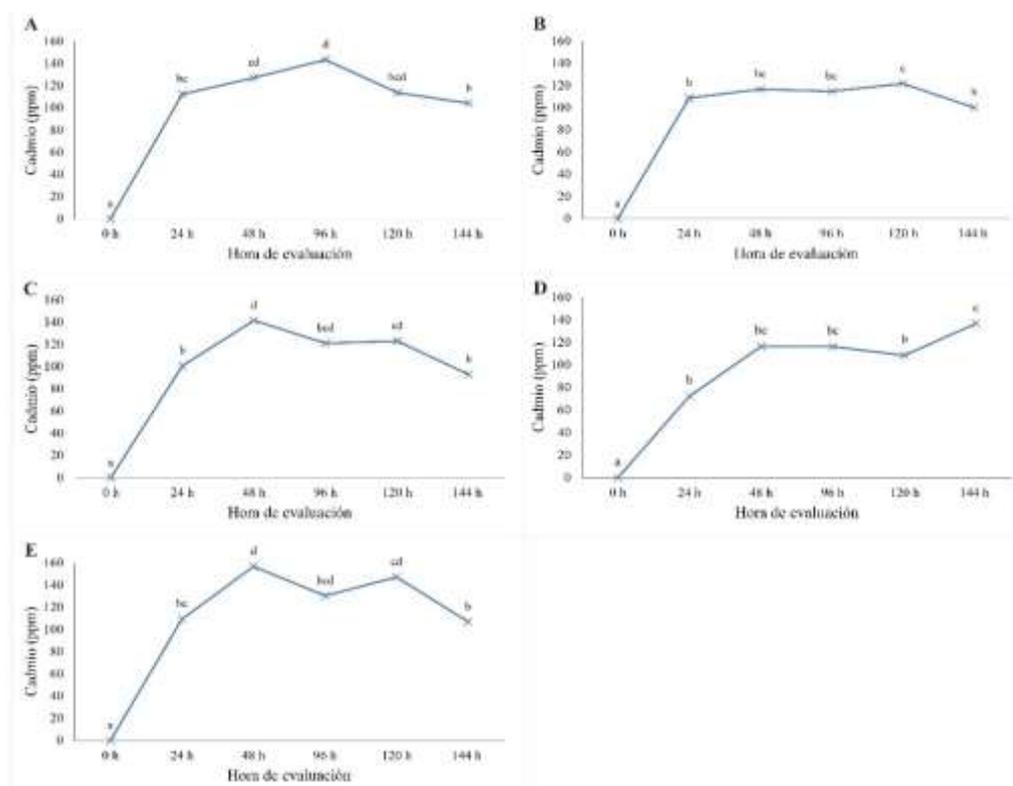


Figura 8. Acumulación de Cd en raíces de cacao, dependientes del genotipo y tiempo de exposición. A) 'JMB 1', B) 'JSM 2', C) 'INDES 39', D) 'JSM 3' y D) 'INDES 38'.

Por otro lado, la concentración media de Cd en raíces a nivel de genotipos no evidenció diferencias significativas ($p = 0,4571$), pero existió una variación numérica entre 91,75 y 108,43 ppm (Tabla 2A). Por el contrario, la acumulación de Cd según la hora de evaluación mostró diferencias significativas ($p = 0,0001$), siendo el periodo entre las 48 a 120 h donde se registró la mayor concentración de Cd (Tabla 2B).

Tabla 2. Valores medios de acumulación de Cd en raíz, para los genotipos y horas de evaluación.

A	
Genotipo	Cadmio en raíz (ppm)
JSM 3	91,75 a
INDES 38	108,43 a
JMB 1	100,15 a
INDES 39	96,64 a
JSM 2	93,64 a

B	
Hora de evaluación	Cadmio en raíz (ppm)
0	0.06 a
24	100,74 b
48	131,75 c
96	125,21 c
120	122,82 c
144	108,16 b

a,b,c,d Letras diferentes indica diferencias significativas ($p < 0,05$).

3.4. Factor de Bioconcentración y Translocación.

Para determinar el factor de Bioconcentración (FBC) y factor de Translocación (FT) se utilizó la concentración de Cd obtenido en todas las evaluaciones y se obtuvo el promedio general. Los valores del FBC en hojas fueron inferiores a 1, variando entre 0,05 y 0,20, pero a nivel de raíz el FBC varió entre 25,07 y 29,63 (Tabla 3). Esto indica que, bajo las condiciones del ensayo, los genotipos de cacao bioacumulan más Cd en su estructura radicular. Por otro lado, el FT fue muy bajo en todos los genotipos ($< 0,008$), lo que demostró que el Cd acumulado en raíces presenta poca movilidad a las hojas.

Tabla 3. Factor de Bioconcentración (FBC) y Translocación (FT) de cadmio.

Genotipo	FBC hoja	FBC raíz	FT
JMB 1	0,11	27,36	0,004
JSM 2	0,20	25,58	0,008
INDES 39	0,08	26,40	0,003
JSM 3	0,06	25,07	0,003
INDES 38	0,05	29,63	0,002

IV. DISCUSIÓN

El cadmio (Cd) es un elemento ampliamente distribuido en la corteza terrestre, sin embargo, diversos procesos antropogénicos han hecho que su nivel aumente continuamente (Rodríguez, 2017). En la Amazonía peruana, uno de los procesos relacionados con el origen y/o incremento de metales pesados (por ejemplo, cadmio y plomo) en el suelo y fuentes fluviales es la industria de hidrocarburos debido a los derrames de accidentales o descargas habituales de aguas de formación extraídas de los yacimientos de petróleo del Oleoducto Norte del Perú (Yusta-Garcia *et al.*, 2017; O'Callaghan-Gordo *et al.*, 2018). Esta contaminación pone en riesgo la flora y fauna de la región, además de las comunidades que viven en el área.

El Cd es un metal pesado que ha originado gran preocupación debido a su efecto tóxico en humanos, animales y plantas. En las plantas no tiene una función esencial, pero puede ser absorbido por las raíces con relativa facilidad (Zitka *et al.*, 2013). La acumulación de este metal puede afectar procesos como la fotosíntesis (Mysliwa - Kurdziel *et al.*, 2004; Dias *et al.*, 2013) y la absorción de nutrientes (Hossain *et al.*, 2010; Qin *et al.*, 2020) y, como consecuencia alterar el normal crecimiento y desarrollo de las plantas (Benavides *et al.*, 2005; Wan & Zhang, 2012; Huang *et al.*, 2020). En el cultivo de cacao representa una fuerte amenaza no solo por su efecto adverso en procesos fisiológicos sino también por su acumulación en los granos. Por lo tanto, es importante reunir esfuerzos que permitan comprender los mecanismos de absorción y acumulación de Cd en la planta (Satoh-Nagasawa *et al.*, 2012; Guo *et al.*, 2016).

En el presente estudio, la concentración de Cd en raíces fue superior respecto al contenido de las hojas. Dicha respuesta indica que solo una parte del Cd que ingresó al sistema radicular fue transportada hacia la parte aérea de la planta. Similares hallazgos se describieron en especies como *Lactuca sativa* (He *et al.*, 2005), *Arabidopsis thaliana* (Jozefczak *et al.*, 2014), *Miscanthus sacchariflorus* (Guo *et al.*, 2016) y *Theobroma cacao* (Llatance *et al.*, 2018). Este patrón de distribución se puede explicar mediante el mecanismo de retención que las células del sistema radicular (a través de la pared celular y/o vacuolas) ejercen sobre el metal y consecuentemente limitan su entrada al xilema (Richau *et al.*, 2009; Mofarrán & Wunderlin, 2013; Page & Feller, 2015), siendo este tejido la vía utilizada para la

translocación de Cd desde la raíz a los brotes y hojas (Benavides *et al.*, 2005; Mori *et al.*, 2009; Uraguchi *et al.*, 2009). Es decir, el secuestro de Cd en raíces es probable que funcione como un mecanismo de defensa, debido a que por sus efectos tóxicos puede dañar los órganos de destino (Page *et al.*, 2006).

Por otro lado, la acumulación de Cd en hojas mostró un incremento relacionado con el tiempo que las plantas permanecen en el sistema hidropónico tratado con Cd. Observaciones similares han sido reportadas por Guo *et al.* (2016) y Liu *et al.* (2018). Estos resultados presentan un comportamiento lógico puesto que la absorción de Cd está mediada por la absorción de elementos esenciales (por ejemplo: Fe y Zn) para el desarrollo de la planta (Uraguchi *et al.*, 2009; Ismael *et al.*, 2019); es decir, para su ingreso en la planta, el Cd puede competir con los nutrientes y, como consecuencia, puede incrementar su bioacumulación con el paso del tiempo. Este efecto creciente es observado principalmente en plantas jóvenes debido a que la biomasa para la distribución del Cd absorbido es pequeña. Por el contrario, en una planta adulta la concentración de Cd en hojas puede reducirse por dilución dado a su mayor biomasa (Lettens *et al.*, 2011; Meter *et al.*, 2019). Sin embargo, el incremento de biomasa foliar puede significar una mayor absorción y acumulación de Cd (Liu *et al.*, 2018).

A nivel del sistema radicular se observa que los niveles de acumulación de Cd descienden luego de alcanzar una concentración pico. Estos resultados pueden tener explicación en aspectos como el incremento en la translocación de Cd a las partes aéreas de la planta y la reducción de la fracción disponible de Cd en el medio (Wang *et al.*, 2003; Ishikawa *et al.*, 2011). Curiosamente, en este estudio se observa que la caída en los niveles de Cd en raíz coincide con el incremento de Cd en hojas. Sin embargo, cabe resaltar que la acumulación de Cd en raíces de los cinco genotipos de cacao superó las 90 ppm. Esto indica que para minimizar los efectos tóxicos se activan mecanismos de defensa como la inmovilización del Cd en las vacuolas de las raíces (Zhang *et al.*, 2018; Huang *et al.*, 2020). Esta característica sugiere que los genotipos evaluados se consideren como plantas exclusoras de Cd, debido a que en plantas hiperacumuladoras el Cd absorbido no es secuestrado en las raíces, sino que se translocan a brotes y hojas (Singh *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2018).

Por su parte, resulta interesante observar que las diferencias en la absorción y translocación de Cd estuvieron mediadas por el genotipo de cacao. De acuerdo con

los resultados se puede mencionar que el genotipo 'INDES 38' es particularmente interesante pues se presenta como un genotipo con baja afinidad de acumulación de Cd. Estos resultados proporcionan una evidencia para la búsqueda de estrategias que tienen como objetivo reducir las concentraciones de Cd en almendras de cacao. Durante los últimos años son diversos los estudios que informan sobre la variabilidad genotípica y su importancia para contrarrestar la acumulación de metales pesados (Arévalo-Gardini *et al.*, 2017; Lewis *et al.*, 2018; Argüello *et al.*, 2019). Por ejemplo, en un estudio donde se analizó 100 accesiones de cacao se muestran que, la acumulación de Cd tiene importantes diferencias entre accesiones, lo que indicaría una influencia genética (Lewis *et al.*, 2018). Sin embargo, estos estudios no proporcionan información sobre los mecanismos de adsorción de Cd en cacao.

En las plantas, no todos los tejidos u órganos tienen la misma capacidad de acumular metales pesados, y generalmente la raíz es el principal órgano de entrada y acumulación (Barcelo & Poschenrieder, 1992). El transporte y distribución del metal en raíces, tallos y hojas se produce a través de apoplastos o simplastos (Son *et al.*, 2016). Asimismo, se ha sugerido que existen diferentes genes/proteínas que son responsables de la absorción, transporte y acumulación de Cd en la planta, entre los cuales se puede destacar al transportador del calcio LCT1 (Clemens *et al.*, 1998), IRT1 que pertenece a la familia de transportadores del Zn y Fe (Guerinot, 2000) y Nramp que se encuentra ubicada en la membrana de la vacuola (Thomine *et al.*, 2000).

En la región Amazonas, la diversidad genética probablemente sea amplia debido a la autoincompatibilidad de algunos árboles de cacao. La combinación de genes durante el cruzamiento del material vegetal asegura un alto grado de variabilidad (Zhang *et al.*, 2011; Cornejo *et al.*, 2018) y, como consecuencia, es probable encontrar genotipos con características agronómicas deseadas (Zhang *et al.*, 2011), como la de baja acumulación de Cd. Este panorama abre una brecha para el desarrollo de programas de mejoramiento que puedan contribuir en la selección de aquellos genotipos que regulen la bioacumulación de Cd dentro de sus órganos. Sin embargo, para minimizar el contenido de Cd en productos elaborados también se necesita evaluar el procesamiento postcosecha, pues se informa que los granos tostados tienen una mayor concentración (0,46 ppm) en comparación con los granos fermentados (0,372 ppm) (Anyimah-Ackah *et al.*, 2019).

V. CONCLUSIONES

La acumulación de Cd en plántones de cacao mostró estar influenciado por los genotipos. Asimismo, el tiempo de exposición de estos dentro del sistema hidropónico tratado con Cd tiene marcada influencia en la acumulación del metal.

La concentración media de Cd en hoja fue significativamente superior en el genotipo 'JSM 2', mientras que la acumulación más baja se registró en el genotipo 'INDES 38'. Por otro lado, a nivel del sistema radicular, la concentración media de Cd no fue significativamente entre genotipos.

El valor del FBC indicó que los genotipos en estudio bioacumulan más Cd en su estructura radicular. En tanto, el FT fue muy bajo en todos los genotipos, lo cual demostró que el Cd acumulado en las raíces presenta poca movilidad a las hojas.

VI. RECOMENDACIONES

Determinar las concentraciones de cadmio en suelo, raíz, hoja y grano seco de cacao de los genotipos de la región Amazonas.

Ampliar el estudio de la diversidad genética de cacao fino de aroma, a fin de identificar posibles genotipos de baja afinidad a cadmio.

Realizar estudios sobre la aplicación de fertilizantes químicos y/o orgánicos y su relación con la incorporación de metales pesados en el sistema suelo-planta.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anyimah-Ackah, E., Ofosu, I. W., Lutterodt, H. E. & Darko, G. (2019). Exposures and risks of arsenic, cadmium, lead, and mercury in cocoa beans and cocoa-based foods: a systematic review. *Food Quality and Safety*, 3(1), 1-8.
- 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. *The Science of the Total Environment*, 605–606, 792–800. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.122>
- Argüello, D., Chavez, E., Lauryssen, 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.
- Barcelo, J. y Poschenrieder, C. (1992). Respuesta de las plantas a la contaminación por metales pesados. *Suelo y planta*, 2, 345-361.
- Benavides, M. P., Gallego, S. M. & Tomaro, M. L. (2005). Cadmium toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1), 21–34. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202005000100003>
- Benjamin, T., Lundy, M. M., Abbott, P. C., Burniske, G., Croft, M., Fenton, M. C., Kelly, C., Camayo, F. R. & Wilcox, M. (2018). *An Analysis of the supply chain of cacao in Colombia*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.19395.04645>
- Carter, M. R. (1993). *Soil Sampling and Methods of Analysis*. CRC Press.
- Clemens, S., Antosiewicz, D. M., Ward, J. M., Schachtman, D. P. & Schroeder, J. I. (1998). The plant cDNA LCT1 mediates the uptake of calcium and cadmium in yeast. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(20), 12043-12048.

- Comisión Europea. (2014). Reglamento de la Comisión (CE) No 488/2014 de 12 de mayo de 2014 que modifica el Reglamento (CE) No 1881/2006 en lo que respecta a los niveles máximos de cadmio en los productos alimenticios. Diario Oficial de la Unión Europea, L 138/75.
- Cornejo, O. E., Yee, M.-C., Dominguez, V., Andrews, M., Sockell, A., Strandberg, E., Livingstone, D., Stack, C., Romero, A., Umaharan, P., Royaert, S., Tawari, N. R., Ng, P., Gutierrez, O., Phillips, W., Mockaitis, K., Bustamante, C. D. & Motamayor, J. C. (2018). Population genomic analyses of the chocolate tree, *Theobroma cacao* L., provide insights into its domestication process. *Communications Biology*, 1(1), 1–12.
- Cuatrecasas, J. (1964). "*Cacao and Its Allies, a Taxonomic Revision of the Genus Theobroma.*" in *Systematic Plant Studies*, 379–614. Contributions from the United States National Herbarium. Washington, DC: Smithsonian Institution Press.
- Dias, M. C., Monteiro, C., Moutinho-Pereira, J., Correia, C., Gonçalves, B. & Santos, C. (2013). Cadmium toxicity affects photosynthesis and plant growth at different levels. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(4), 1281–1289. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1167-8>
- Garate-Navarro, M. A., Arévalo-Gardini, E., Bomfim-Costa, L. C. do. & Costa-Silva, D. da. (2017). Pro-embryonic Somatic Structure of Three Cacao Genotypes (*Theobroma Cacao* L.) Using Staminodes. *International Annals of Science*, 2(1), 28–32. <https://doi.org/10.21467/ias.2.1.28-32>
- Gómez, Á. y Ormeño, M. (2013). *Selección de semilla y establecimiento de vivero para cacao.*

- Guerinot, M. L. (2000). The ZIP family of metal transporters. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1465(1-2), 190-198. [https://doi.org/10.1016/s0005-2736\(00\)00138-3](https://doi.org/10.1016/s0005-2736(00)00138-3)
- Guo, H., Hong, C., Xiao, M., Chen, X., Chen, H., Zheng, B. & Jiang, D. (2016). Real-time kinetics of cadmium transport and transcriptomic analysis in low cadmium accumulator *Miscanthus sacchariflorus*. *Planta*, 244(6), 1289–1302. <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2578-3>
- He, Z., Li, J., Zhang, H. & Ma, M. (2005). Different effects of calcium and lanthanum on the expression of phytochelatin synthase gene and cadmium absorption in *Lactuca sativa*. *Plant Science*, 168(2), 309–318. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.07.001>
- Hoagland, D. R. & Arnon, D. I. (1950). The water-culture method for growing plants without soil. *Calif Agr Exp Sta Cir.*, 347, 1–39.
- Hossain, M. A., Hasanuzzaman, M. & Fujita, M. (2010). Up-regulation of antioxidant and glyoxalase systems by exogenous glycinebetaine and proline in mung bean confer tolerance to cadmium stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants: An International Journal of Functional Plant Biology*, 16(3), 259–272. <https://doi.org/10.1007/s12298-010-0028-4>
- Huang, X., Duan, S., Wu, Q., Yu, M. & Shabala, S. (2020). Reducing Cadmium Accumulation in Plants: Structure–Function Relations and Tissue-Specific Operation of Transporters in the Spotlight. *Plants*, 9(2), 223. <https://doi.org/10.3390/plants9020223>
- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. (2006). *Protocolo estandarizado de oferta tecnológica para el cultivo del cacao en el Perú*. Lima, Perú. ISBN 92-90-39-762-4

- Ishikawa, S., Suzui, N., Ito-Tanabata, S., Ishii, S., Igura, M., Abe, T., Kuramata, M., Kawachi, N. & Fujimaki, S. (2011). Real-time imaging and analysis of differences in cadmium dynamics in rice cultivars (*Oryza sativa*) using positron-emitting ^{107}Cd tracer. *BMC Plant Biology*, *11*(1), 172. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-11-172>
- Ismael, M. A., Elyamine, A. M., Moussa, M. G., Cai, M., Zhao, X. & Hu, C. (2019). Cadmium in plants: Uptake, toxicity, and its interactions with selenium fertilizers. *Metallomics*, *11*(2), 255–277. <https://doi.org/10.1039/C8MT00247A>
- Jozefczak, M., Keunen, E., Schat, H., Blik, M., Hernández, L. E., Carleer, R., Remans, T., Bohler, S., Vangronsveld, J. & Cuypers, A. (2014). Differential response of *Arabidopsis* leaves and roots to cadmium: Glutathione-related chelating capacity vs antioxidant capacity. *Plant Physiology and Biochemistry: PPB*, *83*, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.07.001>
- Kongor, J. E., Hinneh, M., de Walle, D. V., Afoakwa, E. O., Boeckx, P. & Dewettinck, K. (2016). Factors influencing quality variation in cocoa (*Theobroma cacao*) bean flavour profile—A review. *Food Research International*, *82*, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.01.012>
- Letten, S., Vandecasteele, B., De Vos, B., Vansteenkiste, D. & Verschelde, P. (2011). Intra- and inter-annual variation of Cd, Zn, Mn and Cu in foliage of poplars on contaminated soil. *Science of The Total Environment*, *409*(11), 2306–2316. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.02.029>
- Lewis, C., Lennon, A. M., Eudoxie, G. & Umaharan, P. (2018). Genetic variation in bioaccumulation and partitioning of cadmium in *Theobroma cacao* L. *The Science of the Total Environment*, *640–641*, 696–703. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.365>

- Liu, J., Mo, L., Zhang, X., Yao, S. & Wang, Y. (2018). Simultaneous hyperaccumulation of cadmium and manganese in *Celosia argentea* Linn. *International Journal of Phytoremediation*, 20(11), 1106–1112.
- Llatance, W. O., Saavedra, C. J. G., Castillo, W. G. y Mondragón, E. P. (2018). Bioacumulación de cadmio en el cacao (*Theobroma cacao*) en la Comunidad Nativa de Pakun, Perú. *Revista Forestal del Perú*, 33(1), 63–75. <https://doi.org/10.21704/rfp.v33i1.1156>
- Meter, A., Atkinson, R. J. y Laliberte, B. (2019). *Cadmio en el cacao de América Latina y el Caribe – Análisis de la investigación y soluciones potenciales para la mitigación*. Bioersivity International. Roma.
- Mofarrán, M. V. & Wunderlin, D. A. (2013). Biochemistry of Metals/Metalloids Toward Remediation Process. In D. K. Gupta, F. J. Corpas, & J. M. Palma (Eds.), *Heavy Metal Stress in Plants* (pp. 43–72). Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-38469-1>
- Mori, S., Uraguchi, S., Ishikawa, S. & Arao, T. (2009). Xylem loading process is a critical factor in determining Cd accumulation in the shoots of *Solanum melongena* and *Solanum torvum*. *Environmental and Experimental Botany*, 67(1), 127–132. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.05.006>
- Motamayor, J. C., Risterucci, A., Lopez, P., Ortiz, C., Moreno, A. & Lanaud, C. (2002). Cacao domestication I: The origin of the cacao cultivated by the Mayas. *Heredity*, 89, 380–386. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800156>
- Mysliwa -Kurdziel, B., Prasad, M. N. V. & Slrzatka, K. (2004). Photosynthesis in Heavy Metal Stressed Plants. In M. N. V. Prasad (Ed.), *Heavy Metal Stress in Plants* (Second Edition, pp. 146–181). Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-07743-6>

- O’Callaghan-Gordo, C., Flores, J. A., Lizárraga, P., Okamoto, T., Papoulias, D. M., Barclay, F., ... Astete, J. (2018). Oil extraction in the Amazon basin and exposure to metals in indigenous populations. *Environmental Research*, 162, 226–230. doi:10.1016/j.envres.2018.01.013
- Oliva, M., Camas, D. E., Valqui, X. J., Meléndez, J. B. & Leiva, S. (2019). Quantitative Determination of Cadmium (Cd) in Soil-Plant System in Potato Cropping (*Solanum tuberosum* var. Huayro). *Advances in Agriculture*. <https://doi.org/10.1155/2019/9862543>
- Osorio-Guarín, J. A., Berdugo-Cely, J., Coronado, R. A., Zapata, Y. P., Quintero, C., Gallego-Sánchez, G. & 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. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01994>
- Padmavathiamma, P. & Li, L. (2007). Phytoremediation Technology: Hyper-Accumulation Metals in Plants. *Water, Air, and Soil Pollution*, 184, 105–126. <https://doi.org/10.1007/s11270-007-9401-5>
- Page, V. & Feller, U. (2015). Heavy Metals in Crop Plants: Transport and Redistribution Processes on the Whole Plant Level. *Agronomy*, 5(3), 447–463. <https://doi.org/10.3390/agronomy5030447>
- Page, V., Weisskopf, L. & Feller, U. (2006). Heavy metals in white lupin: Uptake, root-to-shoot transfer and redistribution within the plant. *New Phytologist*, 171(2), 329–341. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01756.x>
- Pernía, B., Sousa, A. D., Reyes, R. y Castrillo, M. (2008). Biomarcadores de contaminación por cadmio en las plantas. *Interciencia*, 33(2), 112–119.

- Qin, S., Liu, H., Nie, Z., Rengel, Z., Gao, W., Li, C. & Zhao, P. (2020). Toxicity of cadmium and its competition with mineral nutrients for uptake by plants: A review. *Pedosphere*, 30(2), 168–180.
- Reyes, Y., Vergara, I., Torres, O., Díaz-Lagos, M. y González-Jimenez, E. E. (2016). Contaminación por metales pesados: Implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. *Ingeniería Investigación y Desarrollo*, 16(2), 66–77.
- Richau, K. H., Kozhevnikova, A. D., Seregin, I. V., Vooijs, R., Koevoets, P. L. M., Smith, J. A. C., Ivanov, V. B. y Schat, H. (2009). Chelation by histidine inhibits the vacuolar sequestration of nickel in roots of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *The New Phytologist*, 183(1), 106–116.
- Rodríguez, D. (2017). Intoxicación ocupacional por metales pesados. *MEDISAN*, 21(12), 3372–3385.
- Rodriguez-Medina, C., Arana, A. C., Sounigo, O., Argout, X., Alvarado, G. A. & Yockteng, R. (2019). Cacao breeding in Colombia, past, present and future. *Breeding Science*, 69(3), 373–382. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.19011>
- Romero, C. A. (2016). *Estudio del CACAO en el Perú y en el Mundo: Un análisis de la producción y el comercio*. Ministerio de Agricultura y Riego. Lima, Perú.
- Satoh-Nagasawa, N., Mori, M., Nakazawa, N., Kawamoto, T., Nagato, Y., Sakurai, K., Takahashi, H., Watanabe, A. & Akagi, H. (2012). Mutations in rice (*Oryza sativa*) heavy metal ATPase 2 (OsHMA2) restrict the translocation of zinc and cadmium. *Plant & Cell Physiology*, 53(1), 213–224.
- Singh, S., Parihar, P., Singh, R., Singh, V. P. & Prasad, S. M. (2016). Heavy Metal Tolerance in Plants: Role of Transcriptomics, Proteomics, Metabolomics, and Ionomics. *Frontiers in Plant Science*, 6, 1143.

- Song, Y., Jin, L. & Wang, X. (2016). Cadmium absorption and transportation pathways in plants. *International Journal of Phytoremediation*, 19(2), 133-141.
- Thomas, E., Zonneveld, M. van, Loo, J., Hodgkin, T., Galluzzi, G. & Etten, J. van. (2012). Present Spatial Diversity Patterns of *Theobroma cacao* L. in the Neotropics Reflect Genetic Differentiation in Pleistocene Refugia Followed by Human-Influenced Dispersal. *PLOS ONE*, 7(10), e47676.
- Thomine, S., Wang, R., Ward, J. M., Carwford, N. M. & Schroeder, J. I. (2000). Cadmium and iron transport by members of a plant metal transporter family in Arabidopsis with homology to Nramp genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(9), 4991-4996.
- Uraguchi, S., Mori, S., Kuramata, M., Kawasaki, A., Arao, T. & Ishikawa, S. (2009). Root-to-shoot Cd translocation via the xylem is the major process determining shoot and grain cadmium accumulation in rice. *Journal of Experimental Botany*, 60(9), 2677–2688. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp119>
- Wan, L. & Zhang, H. (2012). Cadmium toxicity. *Plant Signaling & Behavior*, 7(3), 345–348. <https://doi.org/10.4161/psb.18992>
- Wang, C., Mo, Z., Wang, H., Wang, Z. J. & Cao, Z. (2003). The transportation, time-dependent distribution of heavy metals in paddy crops. *Chemosphere*, 50(6), 717–723.
- Wang, Y., Su, Y. & Lu, S. (2020). Predicting accumulation of Cd in rice (*Oryza sativa* L.) and soil threshold concentration of Cd for rice safe production. *Science of The Total Environment*, 738, 139805. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139805>
- Yusta-García, R., Orta-Martínez, M., Mayor, P., González-Crespo, C. & Rosell-Melé, A. (2017). Water contamination from oil extraction activities in Northern Peruvian Amazonian rivers. *Environmental Pollution*, 225, 370-380.

- Zamora, J. I. (2015). *Análisis de la cadena de valor y medios de vida de los productores de cacao del corredor Marañón-Utcubamba Región Amazonas* (p. 81). Ministerio de Comercio Exterior y Turismo / Cooperación Alemana al Desarrollo GIZ.
- Zhang, D., Gardini, E. A., Motilal, L. A., Baligar, V., Bailey, B., Zuñiga-Cernades, L., Arevalo-Arevalo, C. E. & Meinhardt, L. (2011). Dissecting Genetic Structure in Farmer Selections of *Theobroma Cacao* in the Peruvian Amazon: Implications for on Farm Conservation and Rehabilitation. *Tropical Plant Biology*, 4(2), 106–116.
- Zhang, J., Martinoia, E. & Lee, Y. (2018). Vacuolar Transporters for Cadmium and Arsenic in Plants and their Applications in Phytoremediation and Crop Development. *Plant and Cell Physiology*, 59(7), 1317–1325.
- Zhuang, P., Yang, Q. W., Wang, H. B. & Shu, W. S. (2007). Phytoextraction of Heavy Metals by Eight Plant Species in the Field. *Water, Air, and Soil Pollution*, 184(1), 235–242. <https://doi.org/10.1007/s11270-007-9412-2>
- Zitka, O., Krystofova, O., Hynek, D., Sobrova, P., Kaiser, J., Sochor, J., Zehnalek, J., Babula, P., Ferrol, N., Kizek, R. & Adam, V. (2013). Metal Transporters in Plants. In D. K. Gupta, F. J. Corpas, & J. M. Palma (Eds.), *Heavy Metal Stress in Plants* (pp. 19–42). Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-38469-1>

ANEXOS



Figura 9. Instalación de sistema hidropónico en cacao. A) Germinación de semillas, B) Indicador de emergencia de plántulas, C) Plántulas de 2 meses de edad y D) Trasplante de plántulas a bandejas hidropónicas de tipo raíz flotante.

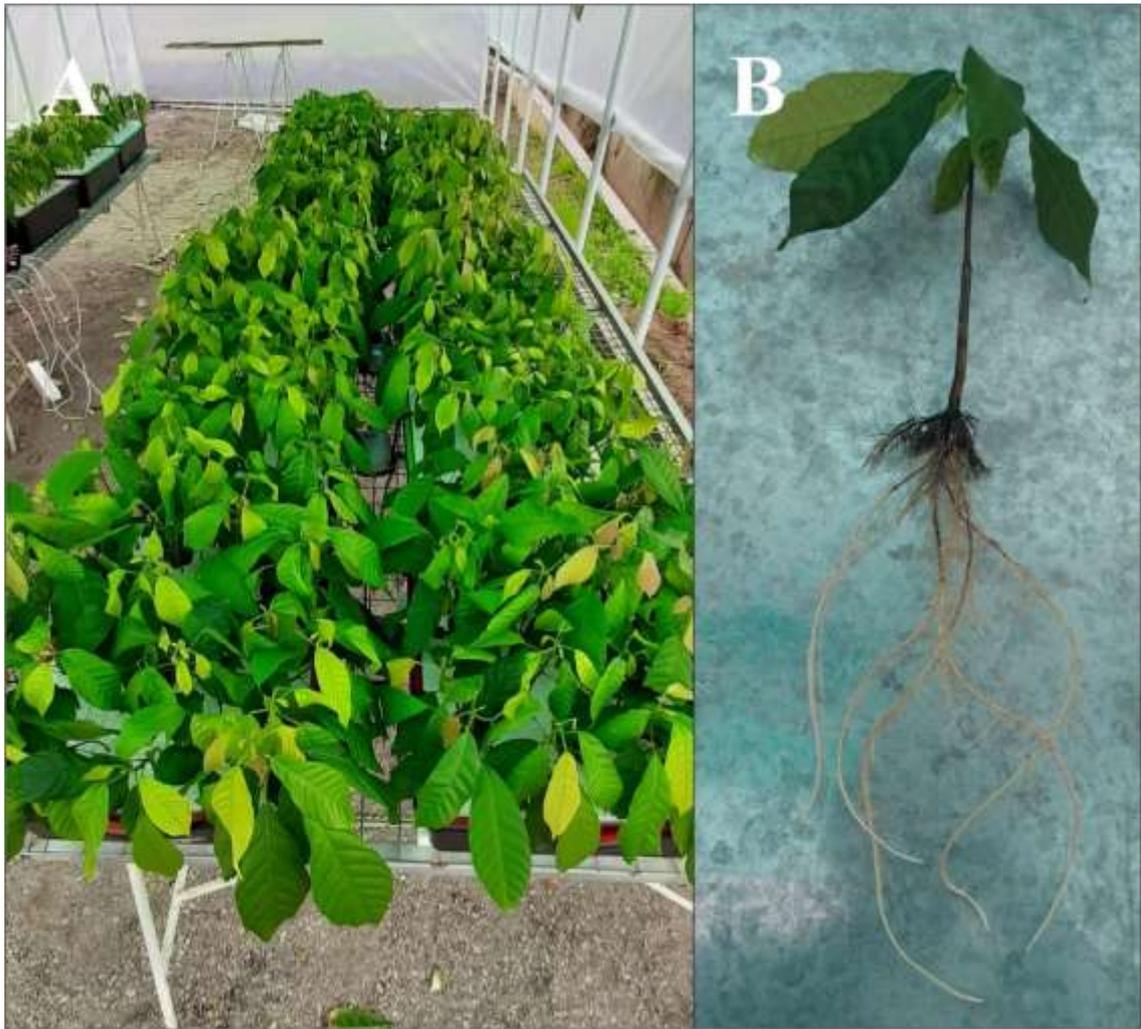


Figura 10. Instalación de ensayo. A) Sistema hidropónico raíz flotante para cacao y B) Plantón de cacao desarrollado en sistema hidropónico.



Figura 11. Recolección de muestras. A) Raíz y B) Hoja.

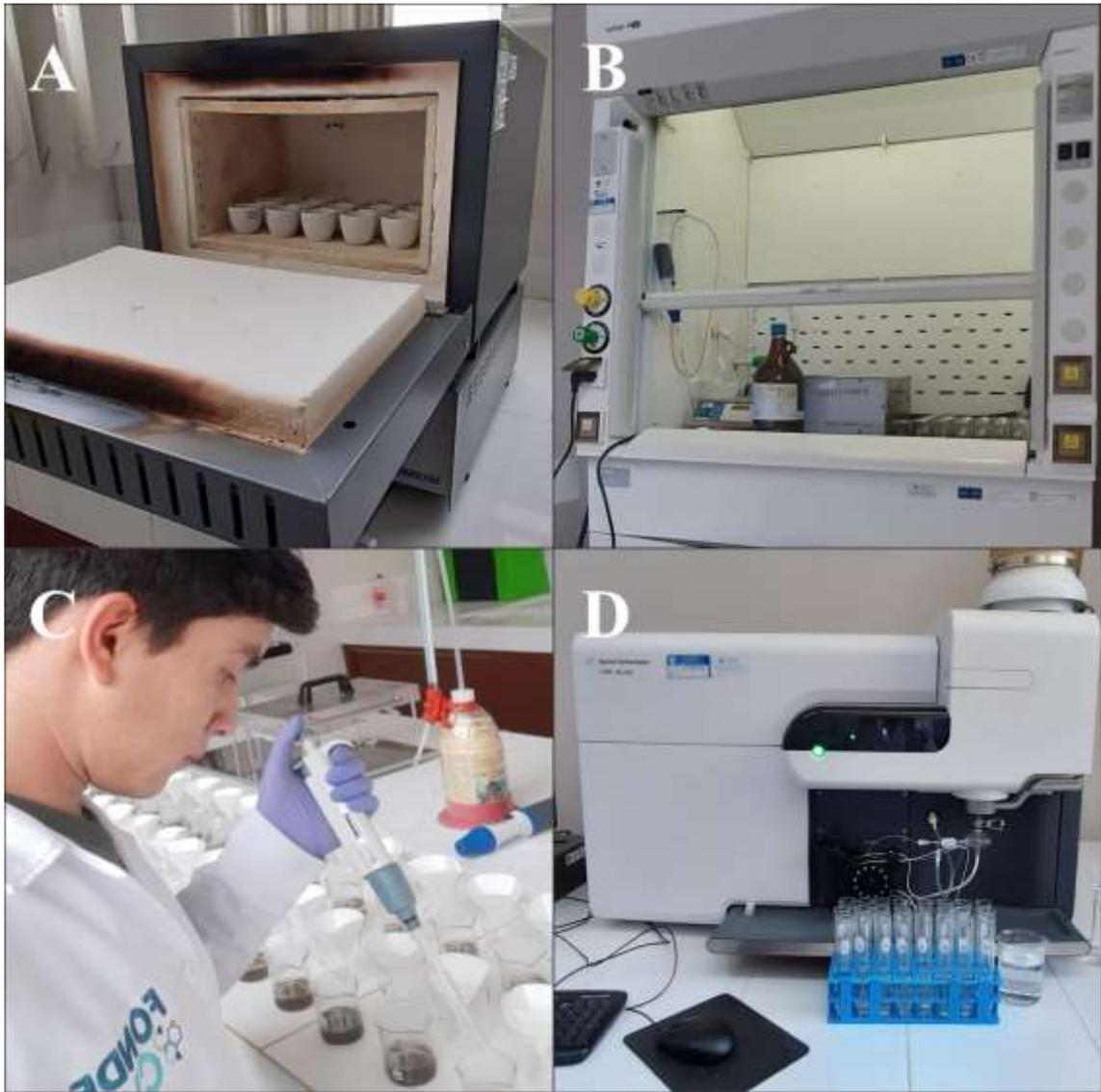


Figura 10. Cuantificación de Cd en muestras de cacao. A) Calcinación, B) Digestión en cabina extractora de gases, C) Dilución y D) Cuantificación por espectrofotómetro.