

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE AGRONOMÍA



**“RESPUESTA DE CINCO GENOTIPOS DE CACAO
(*Theobroma cacao* L.) A CUATRO DOSIS DE CADMIO BAJO
CONDICIONES DE VIVERO EN CHANCHAMAYO”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

NOEL ERNESTO BELLO MEDINA

LIMA – PERÚ

2020

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

“RESPUESTA DE CINCO GENOTIPOS DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) A CUATRO
DOSIS DE CADMIO BAJO CONDICIONES DE VIVERO EN CHANCHAMAYO”

NOEL ERNESTO BELLO MEDINA

Tesis para optar el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO

Sustentada y Aprobada ante el siguiente jurado:

Ph. D Julio Cesar Alegre Orihuela
PRESIDENTE

Dr. Alberto Marcial Julca Otiniano
ASESOR

Ing. Mg. Sc. Elías Hugo Huanuqueño Coca
MIEMBRO

Dr. Ricardo Roberto Borjas Ventura
MIEMBRO

LIMA – PERÚ

2020

Dedicado a:

A mis padres, Greta y Segundo, por su apoyo incondicional y ser mi soporte en todo momento.

A mi hermano, Kevin, quien pese a la distancia siempre me está apoyando y orientando.

AGRADECIMIENTOS

Infinitos, al Dr. Alberto Julca Otiniano, por su asesoramiento y ayuda incondicional durante la investigación.

Al Dr. Hugo Villachica León, por facilitarme el uso de las instalaciones de Agrícola La Bretaña S.A.C y su apoyo para la ejecución y la revisión del trabajo de tesis.

Finalmente, al Instituto de Cultivos Tropicales (ICT) y Estación Experimental INIA – Pichanaki, por el apoyo brindado para la colección de semillas de los genotipos de cacao en estudio.

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 EL CACAO	3
2.1.1 Descripción del cacao	3
2.1.2 Condiciones agroecológicas para el cultivo de cacao	5
2.1.3 Manejo en vivero	7
2.2 TIPOS DE CACAO	9
2.2.1 Cacao criollo	9
2.2.2 Cacao forastero	10
2.2.3 Cacao trinitario	10
2.3 GENOTIPOS UTILIZADOS EN EL ESTUDIO	11
2.4 CADMIO	13
2.4.1 Generalidades	13
2.4.2 El cadmio en el suelo	14
2.4.3 El cadmio en las plantas	16
2.4.4 El cadmio en el cultivo de cacao	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS	23
3.1 UBICACIÓN	23
3.2 MATERIALES EMPLEADOS	23
3.2.1 Materiales	23
3.2.2 Herramientas	24
3.2.3 Equipos	24
3.3 METODOLOGÍA	25
3.3.1 Instalación del experimento	25
3.3.2 Embolsado	25
3.3.3 Tratamiento	25
3.3.4 Aplicación de cadmio y repique	25

3.3.5	Manejo de plántulas	26
3.3.6	Evaluaciones	27
3.4	DISEÑO ESTADÍSTICO	30
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
4.1	EFFECTO SOBRE EL CRECIMIENTO	31
4.1.1	Efecto de las dosis de cadmio en la altura de planta	31
4.1.2	Efecto de las dosis de cadmio en el diámetro de tallo	34
4.1.3	Efecto de las dosis de cadmio en el número de hojas	37
4.1.4	Efecto de las dosis de cadmio en la longitud de raíces	40
4.1.5	Efecto de las dosis de cadmio en el peso fresco	42
4.1.6	Efecto de las dosis de cadmio en el rendimiento de materia seca	46
4.2	EFFECTO SOBRE LA CONCENTRACIÓN DEL CADMIO EN LA PLANTA	50
4.2.1	Análisis del contenido de cadmio en los genotipos de cacao	50
4.2.2	Análisis de la concentración de cadmio en el sustrato	54
V.	CONCLUSIONES	57
VI.	RECOMENDACIONES	58
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
VIII.	ANEXOS	74

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1: Niveles máximos permisibles de cadmio en cacao en la Unión Europea y productos de chocolate a partir de Mayo del 2014.	20
Tabla 2: Resultados del análisis físico químico del sustrato	24
Tabla 3: Genotipos de cacao y dosis de cadmio (ppm) utilizados en el experimento.	26
Tabla 4: Tratamientos en estudio.	26
Tabla 5: Croquis experimental	28
Tabla 6: Altura de planta (cm) en cada tratamiento al final del experimento.	32
Tabla 7: Diámetro de tallo (mm) en cada tratamiento al final del experimento.	35
Tabla 8: Número de hojas/planta en cada tratamiento al final del experimento.	38
Tabla 9: Longitud de raíces (cm) en cada tratamiento al final del experimento.	41
Tabla 10: Efecto de dosis crecientes de cadmio en el peso fresco (g) de cinco genotipos de cacao.	44
Tabla 11: Efecto de dosis crecientes de cadmio en el peso de materia seca (g) de cinco genotipos de cacao.	48
Tabla 12: Contenido de cadmio en cinco genotipos (raíces + parte aérea) al final del experimento (mg/100g m.s)	53

Tabla 13: Contenido de cadmio en hojas y raíces de cacao según la dosis empleada en el ensayo.	53
Tabla 14: Principales características físico-químicas del sustrato determinadas al inicio del experimento (IE) y al final del experimento (FE).	55
Tabla 15: Contenido residual de cadmio (ppm) en el sustrato al final del experimento, según la dosis estudiada.	56

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1: Respuesta de las plantas al estrés por cadmio, serie de mecanismos denominado: “Fan shaped” (“Forma de abanico”).	18
Figura 2: Mecanismos de ingreso del cadmio a la vacuola a través de la fitoquelatina para su posterior traslocación.	19
Figura 3: Metodología del experimento. A: Selección de mazorcas para la extracción de semillas, B: Procesamiento de las semillas, C: Pre-germinado de semillas en arena de río, D: Preparación del sustrato en bolsas, E: Aplicación de las dosis de cadmio en el sustrato, F: Repique de semillas pre-germinadas, G: Medición de las variables en el experimento, H: Procesamiento de las plantas de cacao al finalizar el experimento, I: Medición de la longitud de raíces, J: Rotulado y procesado de plantas para su envío a estufa (materia seca) y su posterior envío al laboratorio.	29
Figura 4: Comportamiento de la variable altura de planta (cm) en cinco genotipos de cacao contaminados a dosis creciente de cadmio en diferentes momentos de evaluación.	33
Figura 5: Comportamiento de la variable diámetro de tallo (mm) en cinco genotipos de cacao contaminados a dosis creciente de cadmio en diferentes momentos de evaluación.	36
Figura 6: Comportamiento de la variable número de hojas en cinco genotipos de cacao contaminados a dosis creciente de cadmio en diferentes momentos de evaluación.	39

- Figura 7:** Comportamiento de la variable longitud de raíz (cm) en cinco genotipos de cacao contaminados a dosis creciente de cadmio. 41
- Figura 8:** Biomasa fresca (g) de hojas (A), tallo (B), raíz (C) y total (D) de cinco genotipos de cacao en respuesta a dosis crecientes de cadmio en condiciones de vivero. 45
- Figura 9:** Peso seco promedio de hoja (A), tallo (B), raíz (C) y peso seco total (D) de cinco genotipos de cacao en respuesta a dosis creciente de cadmio en condiciones de vivero. 49

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO 1: Altura de planta promedio de cinco genotipos de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) en respuesta a cuatro dosis de contaminación de cadmio en tres momentos de evaluación	74
ANEXO 2: Diámetro de tallo promedio de cinco genotipos de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) en respuesta a cuatro dosis de contaminación de cadmio en tres momentos de evaluación	74
ANEXO 3: Número de hojas promedio de cinco genotipos de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) en respuesta a cuatro dosis de contaminación de cadmio en tres momentos de evaluación	74
ANEXO 4: Peso fresco promedio de hojas, tallo y raíces de cinco genotipos de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) en respuesta a la contaminación con dosis creciente de cadmio.	75
ANEXO 5: Peso seco promedio de hojas, tallo y raíces de cinco genotipos de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) en respuesta a la contaminación con dosis creciente de cadmio.	75
ANEXO 6: Contenido de cadmio (mg/100g MS) en hojas y raíces de cinco genotipos de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) en respuesta a la contaminación con dosis creciente de cadmio.	76
ANEXO 7: Análisis de varianza del efecto de cuatro dosis de cadmio sobre la altura (cm) en plantas de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.)	76

ANEXO 8: Análisis de varianza del efecto de cuatro dosis de cadmio sobre el diámetro de tallo (mm) en plantas de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.)	77
ANEXO 9: Análisis de varianza del efecto de cuatro dosis de cadmio sobre el número de hojas en plantas de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.)	77
ANEXO 10: Análisis de varianza del efecto de cuatro dosis de cadmio sobre la longitud de raíces en plantas de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.)	77
ANEXO 11: Análisis de varianza del efecto de cuatro dosis de cadmio sobre el peso fresco en plantas de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.)	78
ANEXO 12: Análisis de varianza del efecto de cuatro dosis de cadmio sobre el peso seco en plantas de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.)	78
ANEXO 13: Análisis de varianza del efecto de cuatro dosis de cadmio sobre el contenido de cadmio en las plantas de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.)	78
ANEXO 14: Análisis de comparación entre los efectos simples del factor dosis de cadmio (ppm) con el factor principal genotipo para la variable respuesta peso fresco.	79
ANEXO 15: Análisis de comparación entre los efectos simples del factor dosis de cadmio (ppm) con el factor principal genotipo para la variable respuesta peso seco.	80
ANEXO 16: Análisis de comparación entre los efectos simples del factor genotipo con el factor principal dosis de cadmio para la variable respuesta contenido de cadmio (mg/100g MS).	81

RESUMEN

Esta investigación se realizó con el objetivo de conocer el efecto del cadmio a dosis creciente en el comportamiento de cinco genotipos de *Theobroma cacao* L. bajo condiciones de vivero en San Ramón – Chanchamayo, selva central del Perú. Para ello, se realizó un experimento con 20 tratamientos (cinco genotipos de cacao: CCN-51, ICS-60, ICS-95, POUND-7 y VRAE-99 con cuatro dosis de cadmio: 0, 50, 100 y 150 ppm). La fuente de cadmio utilizado fue el sulfato de cadmio ($3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$), con 98.0 % de Cd. Las semillas de cacao provenientes del Banco de Germoplasma de Cacao del Instituto de Cultivos Tropicales (ICT) de Tarapoto (Región San Martín) y de la estación experimental del INIA – Pichanaki, se germinaron en arena, luego fueron repicadas a bolsas con un sustrato compuesto por suelo de una plantación de cacao + guano de ovino + arena (en proporción 3:2:1). El cadmio fue aplicado en solución, preparado en agua desionizada y según las dosis previamente determinadas. Durante los 165 días que duró el ensayo, se hicieron tres evaluaciones de la altura de planta, número de hojas y diámetro del tallo. Al final del ensayo, se evaluó el peso fresco y seco de la parte aérea (hojas + tallos) y de las raíces, además de la longitud de raíces (la más larga). Además, se determinó el contenido de cadmio en hojas y raíces, así como el cadmio residual en el sustrato. Los resultados no mostraron efecto significativo de las dosis de cadmio en el crecimiento de las plántulas en el vivero, ya que los valores alcanzados en las variables evaluadas correspondieron al potencial genético de cada genotipo. POUND-7 fue el genotipo más vigoroso. La absorción de cadmio, varió de un genotipo a otro. ICS-95 absorbió más cadmio y el ICS-60, mucho menos. Generalmente, la mayor concentración de este elemento se observó en las raíces; pero en ningún caso, se observaron síntomas de fitotoxicidad. Además, el cadmio disponible residual se mantuvo en un nivel relativamente alto, comparado con el testigo.

Palabras clave: Cacao, CCN-51, ICS-60, ICS-95, POUND-7, VRAE-99, cadmio.

SUMMARY

This research was carried out with the objective of discovering the effect of different doses of cadmium on the behavior of five genotypes of *Theobroma cacao* L. under greenhouse conditions in San Ramón - Chanchamayo, central jungle of Peru. For this study, an experiment was carried out with 20 treatments (five cocoa genotypes: CCN-51, ICS-60, ICS-95, POUND-7 and VRAE-99 with four doses of cadmium: 0, 50, 100 and 150 ppm). The source of cadmium used was cadmium sulfate ($3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$), with 98.0% of Cd. The cocoa beans are from Cacao Germplasm Bank of the Instituto de Cultivos Tropicales (ICT) of Tarapoto (San Martín Region) and from INIA - Pichanaki experimental station, they were germinated in sand, then, they were pounded into bags with a substrate composed of soil from a cocoa plantation + sheep guano + sand (in a ratio of 3: 2: 1). Cadmium was applied in solution, prepared in deionized water and according to the previously determined doses. During the 165 days that the experiments lasted, three evaluations were made on the height, number of leaves, and stem diameter of the plant. At the end of the test, the fresh and dry weight of the aerial part (leaves + stems) and roots, also length of the root were evaluated (the longest one). In addition, the cadmium content in leaves and roots was analyzed; and also, residual cadmium in the substrate. The results showed that the genotypes studied had a variable response to the different doses of cadmium tested. There was no significant effect of the doses of cadmium in growth and the values reached in the variables evaluated correspond to the genetic potential of each genotype. POUND-7 was the most vigorous genotype. Cadmium absorption capacity varied from one genotype to another. ICS-95 absorbed more cadmium and ICS-60 much less. Generally, the highest concentration of this element occurred in the roots; but in no case, symptoms of phytotoxicity were observed. Furthermore, the residual available cadmium remained at a relatively high level.

Keywords: Cocoa, CCN-51, ICS-60, ICS-95, POUND-7, VRAE-99, cadmium.

I. INTRODUCCIÓN

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

En el Perú, el cacao es un cultivo que está adquiriendo gran importancia económica, en el 2017 generó ingresos por 220 millones de dólares. En el mundo es reconocido como uno de nuestros productos bandera por la fina calidad del grano, que se produce en la selva alta; con mayor diferencia térmica entre el día y la noche, además de suelos más fértiles con respecto a la selva baja o llano amazónico. En los últimos años está siendo usado como cultivo alternativo al de la coca, en los programas de desarrollo y de lucha contra este cultivo ilícito. En la actualidad, existen más 150 mil hectáreas cultivadas y se ha sobrepasado las 80 mil toneladas de producción anual. Las exportaciones de cacao durante la última, especialmente a los países Bajos, Alemania, Bélgica, Italia y Estados Unidos, representan el 90% del total (MINAGRI, 2010).

Sin embargo, la presencia de cadmio en los granos del cacao, se ha convertido en un tema de preocupación en el comercio mundial; el alto contenido de este elemento se refleja directamente en el consumo de chocolate y su acumulación en el organismo puede ser responsable de enfermedades graves para la salud humana. Por ello, la Unión Europea (UE Reglamento N° 488/2014) modificó el reglamento (CE) N° 1881/2006 respecto al contenido máximo de cadmio en los productos alimenticios que en el caso del cacao es de 0.1 mg/kg en productos de cacao importados, medida que se aplican a partir del 2019. Estas regulaciones son una restricción para la comercialización del cacao y por lo tanto para el sustento de muchos pequeños productores. Por la importancia de este cultivo en América Latina y en particular en la Amazonía peruana; la presencia del cadmio, en niveles superiores a los permitidos por la normatividad internacional en productos transformados, ha generado alertas de monitoreo a fin de garantizar la inocuidad del producto. La única manera de dar

respuestas a la preocupación por la presencia del cadmio en el cacao es investigando los diversos factores que explican su acumulación en los granos del cacao y encontrar medidas para reducir su concentración hasta niveles permisibles. Por lo pronto, la FAO/OMS (2018) recomienda que las medidas de mitigación disponibles para reducir los niveles de cadmio en alimentos deben ser puesta en práctica por los agricultores y los operadores de negocios alimentarios.

En la actualidad, el problema del cadmio y otros metales pesados, se investiga en los países andinos, incluido el Perú. Al respecto, DalCorso *et al.* (2008), señalan que es necesario identificar los mecanismos genéticos y fisiológicos de las plantas para la absorción y translocación del cadmio. Para Retamal-Salgado *et al.* (2017), comprender el mecanismo de acumulación de cadmio en las partes vegetativas de las plantas es crucial y ayudará a que, en el mediano plazo, se pueda identificar y seleccionar material genético de baja acumulación de cadmio que contribuirá a reducir su extracción. Por ello, este trabajo de investigación, se realizó en el marco del proyecto: Innovación tecnológica en cacao andino (RG-T2946), financiado por FONTAGRO y con los siguientes objetivos:

OBJETIVO GENERAL

Determinar la respuesta de cinco genotipos de cacao (*Theobroma cacao* L.) a cuatro dosis de cadmio en condiciones de vivero en San Ramón – Chanchamayo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el efecto de cuatro dosis de cadmio sobre el crecimiento de cinco genotipos de cacao en condiciones de vivero en San Ramón – Chanchamayo.
- Determinar el efecto de cuatro dosis de cadmio sobre la concentración de este elemento en cinco genotipos de cacao en condiciones de vivero en San Ramón – Chanchamayo.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 EL CACAO

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es una especie leñosa tropical preferentemente alógama; inicialmente clasificada en la familia Sterculiaceae (Cuatrecasas, 1964) y reclasificada a la familia Malvaceae (Alverson *et al.*, 1999). Es nativo de la Amazonía, pero se cree que fue domesticado en Mesoamérica, ya que esta es la única región en la que existía evidencia de su cultivo en el momento de la conquista europea. El tema del origen sigue en discusión (Motamayor y Lanaud, 2002, Motamayor *et al.*, 2008; Clement *et al.*, 2010). Los primeros usos del cacao en Mesoamérica fueron similares a los de América del Sur (la pulpa dulce alrededor de la semilla se consumió directamente o fermentada) y solo más tarde la semilla fermentada se convirtió en una parte adicional de la bebida, convirtiéndose finalmente en el "alimento de los dioses" (Clement *et al.*, 2010). La mayoría de los eventos de domesticación fueron inicialmente inconscientes y el cacao es un ejemplo ideal de cómo pudo haber ocurrido. Existe alguna variación en la dulzura y jugosidad de la pulpa de fruta en cualquier población de cacao natural y los humanos que recolectaban cacao para consumir la pulpa pronto aprenderían qué árboles ofrecen la mejor fruta (Clement *et al.*, 2010).

2.1.1. Descripción del cacao

Planta. En condiciones naturales, el árbol puede alcanzar 20 a 25 m de altura (Lachenaud *et al.*, 1997), mientras que bajo cultivo varía de cuatro a ocho metros de altura, como tal es una planta perenne. Las plántulas muestran inicialmente un crecimiento ortotrópico con emisión de hojas relativamente independiente del clima; inicialmente el tallo crece verticalmente hasta formar el primer verticilo a unos 80 a 100 cm de altura (Enríquez, 1985); a partir del cual comienza la fase de madurez con la emisión de ramas plagiotrópicas que forman la copa del árbol. En esta etapa, los factores ambientales (radiación solar, precipitación, etc.) ejercen una gran influencia en el desarrollo de las plantas. El crecimiento

y el desarrollo del cacao dependen en gran medida de la temperatura, lo que afecta principalmente el crecimiento vegetativo, la floración y el desarrollo del fruto (Almeida y Valle, 2008).

Cuando se multiplica a través de semillas, el cacao muestra un patrón de crecimiento ortotrópico que exhibe ciclos de enrojecimiento de las hojas, en los que la filotaxia es alternativa (Vogel, 1975). Además, la emisión de hojas ocurre de una manera rítmica relativamente independiente del clima. Sin embargo, después de alcanzar 1.2 m de altura, el crecimiento ortotrópico cesa y la planta emite ramas plagiotrópicas (García y Nicolella, 1985). El número de ramas plagiotrópicas varía de tres a cinco, formando lo que generalmente se llama la copa o corona del árbol de cacao (Cuatrecasas, 1964). Soria (1970), García y Nicolella (1985), Batista y Alvim (1981) verificaron que el crecimiento ortotrópico está influenciado por factores ambientales, ejerciendo una influencia de más o menos el 70% en el desarrollo de la planta en esta etapa (García y Nicolella, 1985). La etapa adulta del cacao se alcanza cuando el árbol entra en crecimiento reproductivo. La producción de mazorcas es pequeña durante los primeros años y aumenta cada año a medida que el árbol envejece (Almeida *et al.*, 2008).

Hojas. Las hojas jóvenes son pigmentadas y de color que puede variar según los cultivares o clones del verde pálido al rosado violeta. Son péndulas de consistencia blanda acompañadas en su base por estípulas que se desprenden y caen rápidamente (Arévalo *et al.*, 2017).

Flores y Frutos. El cacao produce flores caulescentes en tejidos meristemáticos ubicados por encima de las cicatrices de las hojas en el tallo leñoso de plantas de dos años o más (Almeida *et al.*, 2008). El meristemo o cojín floral produce flores durante la vida útil del árbol (Aneja *et al.*, 1999). En cada flor, los sépalos comienzan a dehisarse al final de la tarde, y la flor está completamente abierta al comienzo de la mañana siguiente, un período en el que las anteras liberan polen y el estigma es receptivo (Aneja *et al.*, 1999). Aunque son hermafroditas, las flores de cacao tienen anteras cubiertas de pétalos y sin la intervención de insectos, la polinización se vería afectada ya que el polen viscoso no entra en contacto con el estigma de forma espontánea (Dias *et al.*, 1997). Por otro lado, si las flores no son polinizadas, caen 24-36 horas después de la antesis, sin señales visibles de senescencia (Aneja *et al.*, 1999; Hasenstein y Zavada, 2001). Si se logra la polinización y se produce la

fertilización, el ovario aumenta de tamaño, el pedicelo se agranda y la corola se marchita y deteriora (Aneja *et al.*, 1999).

El fruto es una mazorca que presenta módulos visibles por los surcos en su interior presenta cinco hileras de semillas o almendras cubiertas de mucílago, de sabor dulce y aroma agradable, se sostiene por un pedúnculo. La mazorca madura a los cinco a siete meses después de la fecundación (Enríquez, 1985; Arévalo *et al.*, 2017).

Raíz. Su sistema radicular es pivotante y de rápido crecimiento, seis series de raíces secundarias laterales de desarrollo horizontal en los primeros 20 a 25 cm del suelo a partir del cuello de la planta conformando el 85-90% del sistema radicular (Enríquez, 1985; Arévalo *et al.*, 2017).

2.1.2. Condiciones agroecológicas para el cultivo de cacao

El hábitat natural del árbol de cacao se encuentra en el piso inferior de la selva tropical y los factores climáticos, en particular la temperatura y la lluvia, son importantes para mantener un crecimiento óptimo (ICCO, 2013; Almeida y Valle, 2008). Además, hay indicios de que la estructura y la dinámica del agroecosistema de cacao ejercen cierta influencia en el microclima (Beer, 1987). La temperatura del aire, la precipitación y la humedad relativa están correlacionadas y afectan la estacionalidad de las condiciones microclimáticas adecuadas dentro de una plantación de cacao (Miranda *et al.*, 1994).

Los requerimientos agroecológicos para el cultivo del cacao se encuentran confinadas a las áreas de los bosques húmedos tropicales, concentrándose su producción en una banda estrecha no mayor de 20° al norte y al sur de la línea ecuatorial. Las plantas de cacao responden adecuadamente a altitudes mayores a 1200 m.s.n.m y a temperaturas relativamente altas, con un promedio anual máximo de 30 - 32°C y un promedio mínimo de 18 - 21°C (ICCO, 2013). Según Daymond y Hadley (2004), la temperatura es uno de los principales factores limitantes para la producción de cacao, ya que el estrés por temperatura afecta la variación estacional del rendimiento del grano. Otro factor que afecta el rendimiento son las lluvias, los árboles son muy sensibles a la deficiencia de agua en el suelo. Las precipitaciones deben ser abundantes y estar bien distribuidas durante todo el año. Generalmente se señala un nivel de precipitación anual de entre 1500 y 2000 mm; los

períodos secos, donde la lluvia es inferior a 100 mm por mes, no debe ser más de tres meses (Zuidema *et al.*, 2005; ICCO, 2013). Cuando se trata de humedad del suelo es importante considerar la fluctuación de la capa freática puede considerarse como una variable climática (derivada de la lluvia) e influir en la producción de cacao como una forma de subriego natural (Leite y Valle, 2000)

Un ambiente cálido y húmedo es esencial para el desarrollo óptimo de los árboles de cacao. En los países productores de cacao, la humedad relativa es generalmente alta: a menudo hasta el 100% durante el día, cayendo al 70-80% durante la noche (ICCO, 2013)

En su hábitat natural, el cacao silvestre crece bajo árboles de sombra, pero con una baja producción de mazorcas ya que los árboles de sombra compiten con el cacao por agua, nutrientes y luz (Bonaparte, 1975). De hecho, el cacao cultivado a plena luz del sol produce más mazorcas que cuando se cultiva bajo sombra (Almeida y Valle, 2008). Sin embargo las prácticas culturales, como el control del crecimiento, la densidad de los árboles, el aumento de la aireación y la penetración de la luz son necesarios para promover incrementos en el rendimiento. De acuerdo con Galyuon *et al.*, (1996) la tasa fotosintética disminuye si el aparato fotosintético se expone a $1800 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Además, la exposición prolongada a altas intensidades de luz daña el mecanismo fotosintético de la hoja. Por otro lado, las intensidades de luz inferiores a 1800 h/año suprimen la producción de flores con un efecto depresivo considerable en el rendimiento de la vaina (Asomaning *et al.*, 1971). Existe una correlación positiva entre los rendimientos de cacao y la luz, como lo demostró Bonaparte (1975). Al respecto Vernon (1967) concluyó que la producción de cacao está positivamente relacionada con la intensidad de la luz, pero esta relación depende principalmente de la disponibilidad de nutrientes en el suelo.

Los suelos adecuados para el cultivo de cacao son aquellos que presentan propiedades físicas que contengan partículas gruesas y con una profundidad de 1.5 m para permitir el desarrollo de un buen sistema de raíces. Por debajo de ese nivel, es deseable no tener material impermeable, de modo que el exceso de agua pueda drenarse. El cacao resistirá el encharcamiento por períodos cortos, pero el exceso de agua no debe persistir. El árbol de cacao es sensible a la falta de agua, por lo que el suelo debe tener buena de retención de agua y buen drenaje (ICCO, 2019). Respecto a las propiedades químicas la capa superficial del suelo es la más importante, ya que la planta tiene una gran cantidad de raíces para

absorber nutrientes. El cacao puede crecer en suelos con un pH en el rango de 5.0 - 7.5. Por lo tanto, puede hacer frente tanto a suelos ácidos como alcalinos, pero se debe evitar la excesiva acidez (pH 4.0 y menos) o alcalinidad (pH 8.0 y más). El cacao es tolerante a los suelos ácidos, siempre que el contenido de nutrientes sea lo suficientemente alto. El suelo también debe tener un alto contenido de materia orgánica 3.5% en los 15 centímetros. Las bases cambiabiles deben representar al menos el 35% de la capacidad total de intercambio catiónico (CIC), de lo contrario, es probable que haya problemas nutricionales. La relación óptima de nitrógeno total/fósforo total debe ser de alrededor de 1.5 (ICCO, 2019).

2.1.3 Manejo en vivero

El tamaño de un vivero depende del número de plantas que se van a producir para establecer un área de cacao. En el cual se debe garantizar una sombra adecuada a las plantas desde la germinación de la semilla hasta que tienen la altura y edad para su trasplante. Éste es un aspecto decisivo para el buen desarrollo de las plantas (Enríquez, 1985). El vivero debe instalarse en lugares cercanos a fuentes de agua limpia, pues; en épocas de escasa precipitación es necesario recurrir a riegos frecuentes. También es necesario la sombra inicial para garantizar una germinación óptima de la semilla, y su desarrollo debe ser entre 75 y 80 % de sombra. Este porcentaje se va disminuyendo a medida que las plantas se van desarrollando. La sombra final deberá tener entre 40 y 50 %, que es la misma que tendrá en la plantación. Con la estructura del vivero, se realizan ciertas labores, que se describen a continuación.

a) Siembra de la semilla

En el centro de la bolsa se hace un hoyo de un centímetro, donde se coloca la semilla. Cuando la semilla no tiene un brote de raíz, entonces se coloca acostada. Si ya está germinada, se coloca con delicadeza con el brote de la raíz hacia abajo. La semilla que se recomienda es una semilla híbrida, sin embargo; si no se tienen las condiciones para poder obtener esta semilla se procede a seleccionar dentro de una plantación los mejores árboles, los más robustos, con mayor producción y mazorcas que se encuentren libre de enfermedades (Enríquez, 1985).

b) Riego

La planta de cacao es muy sensible ante la falta de agua, debido a que los estomas de las hojas se cierran con pequeños cambios (3.3 %) en el contenido de agua en ellos. Este cierre de estomas perjudica al poder fotosintético de la planta. Si se tiene déficit hídrico prolongado se manifiesta una muerte y caída de hojas en la planta. La cantidad de lluvia que satisface al cultivo oscila entre 1500 y 2500 mm al año. Si se tiene un exceso de agua (mal drenaje) la planta de cacao puede sufrir daños significativos, ocasionando una reducción considerable en la producción (Enríquez, 1985).

c) Control de malezas

La finalidad de esta práctica es evitar la competencia por nutrientes, agua, espacio y luz con las plantas de cacao, lo que produce plantas débiles y mal formadas. Para asegurar que las plantas de cacao estén libres de la competencia de las malas hierbas, se debe realizar el deshierbo cada 8 días, después del riego para facilitar el desmalezado manual.

d) Regulación de sombra

La regulación de sombra consiste en quitar poco a poco las hojas de la enramada en viveros rústicos con el objetivo de que las plantas reciban más luz del sol, que continúen creciendo, se pongan más fuertes y empiecen a adaptarse al campo abierto donde crecerán y se desarrollarán el resto de su vida. Un mes antes del trasplante se le quita toda la sombra para ir adaptando las plantas del vivero al sol. Una vez trasplantado a campo definitivo, se recomienda mantener una sombra al 50% y una buena fertilización para alcanzar el mejor rendimiento en cacao (Enríquez, 1985).

e) Fertilización

El cacao es un cultivo de elevada exigencia nutricional para la formación de la estructura de la planta. Los elementos más importantes considerados en la fertilización son el nitrógeno, el potasio y el fósforo aplicados al suelo; complementados con la fertilización foliar de micronutrientes para obtener plantas con adecuado crecimiento y vigor, y así no manifiesten síntomas de deficiencia.

2.2 TIPOS DE CACAO

En las clasificaciones tradicionales del cacao se han reconocido tres grupos Criollos, Forastero, y el híbrido de Criollo × Forastero llamado Trinitario. Las características biológicas de estos grupos se han descrito ampliamente (Enríquez, 1985; García, 1991; Bhattacharjee y Kumar, 2007; Romero, 2016; Arévalo *et al.*, 2017). Sin embargo, los análisis genéticos más detallados que utilizan marcadores de microsatélite han informado el hallazgo de una gran cantidad de grupos genéticos, así como una clara diferenciación entre los árboles que se encuentran en la cuenca del Amazonas y las variedades criollas que se encuentran en América Central. Al respecto Motamayor *et al.*, (2008) encontraron 10 grupos genéticos, a diferencia de los dos grupos genéticos tradicionalmente reconocidos dentro de *T. cacao*. Los análisis con microsatélites sugieren que Criollo, es el representante más probable del cacao domesticado en Mesoamérica (Motamayor *et al.*, 2002) y está más estrechamente relacionado con los árboles de la frontera entre Colombia y Ecuador que los árboles de otros grupos sudamericanos. Sin embargo, señalan que existe aún una gran brecha en la información sobre el alcance de la variación genómica en la especie, lo que dificulta proponer escenarios claros para la evolución de las poblaciones naturales y la domesticación de *T. cacao* (Motamayor *et al.*, 2008). En este caso, se tratará solo la clasificación común de tres grupos: Criollo, Forastero y Trinitario.

2.2.1. Cacao criollo

El cacao criollo se ha cultivado durante mucho tiempo en América Central y del Sur, constituye el primer árbol de cacao domesticado (Sounigo *et al.*, 2003). Este grupo está compuesto por variedades que producen frutos (mazorcas) de forma alargada de punta pronunciada doblada y aguda (Arévalo *et al.*, 2017), con semillas gruesas, blancos o rosados que producen granos con sabor suave, aromáticos, de estos se obtienen chocolates muy finos y de gran calidad (Marita *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2011; Vásquez *et al.*, 2014; Arévalo *et al.*, 2017). Sin embargo, se cultiva con poca frecuencia debido a su alta susceptibilidad a las enfermedades (Soria, 1970; Zhang *et al.*, 2011). Los árboles son de porte bajo y menos robustos con relación a otras variedades. Actualmente no existe cacao criollo puro sino de variedades acriolladas debido a que han tenido varios cruces con otras variedades (García, 1991; Bhattacharjee y Kumar, 2007).

2.2.2. Cacao forastero

Las variedades del grupo forastero se cultivan ampliamente debido a sus altos rendimientos y resistencia a las enfermedades. Representan alrededor del 80% de la producción mundial de granos de cacao (Marita *et al.*, 2001). Originario de la cuenca amazónica (Arévalo *et al.*, 2017) y del Orinoco (Loor Solórzano *et al.*, 2012) y presentan una gran diversidad (Lachenaud y Zhang, 2008), este grupo se subdivide en Forasteros amazónicos inferiores y superiores; los primeros se cultivan en la cuenca del Amazonas y sus cultivares fueron introducidos en África, Asia y Oceanía, mientras que los segundos se consideran más genéticamente diversificados y se usan con frecuencia en programas de mejoramiento debido a su vigor, precocidad y resistencia a las enfermedades (Iwaro *et al.*, 2001). Las primeras variedades de Forastero se originaron en la cuenca baja del Amazonas y se cultivaron principalmente en Brasil y Venezuela (Sounigo *et al.*, 2003).

Este es un gran grupo que contiene poblaciones cultivadas, semisilvestres y silvestres, del cual las poblaciones amelonadas son las más extensivamente cultivadas (Loor Solórzano *et al.*, 2012). Se caracteriza por presentar mazorcas ovoides, amelonadas con diez surcos superficiales o profundos. La cáscara es lisa o ligeramente verrugosa, delgada o gruesa con una capa lignificada en el centro del pericarpio. Las mazorcas en general son de color verde, con tonos blanquecinos o rosados tenues en algunas poblaciones. Las semillas son moradas, triangulares en corte transversal, aplanadas y pequeñas.

2.2.3. Cacao trinitario

Están conformados por híbridos criollo x forastero, los híbridos son plantas robustas con frutos de color verde o pigmentado (Arévalo *et al.*, 2017) de granos más grandes que sus genitores y estos bien procesados son reconocidos por su calidad; las mazorcas pueden ser de diferentes formas y colores, las plantas son más fuertes de troncos gruesos y hojas grandes. En la actualidad la mayoría de los cacaotales que existen en el mundo son trinitarios. Este grupo aparentemente se originó cuando un genotipo criollo se cruzó naturalmente con un genotipo amelonado del Brasil (García, 1991).

2.3 GENOTIPOS UTILIZADOS EN EL ESTUDIO

El cacao al ser una especie nativa de los bosques tropicales húmedos de América del sur, presenta una amplia diversidad genética, tanto en estado silvestre como cultivado. Esta diversidad genética tiene su origen en su sistema de reproducción sexual, el sistema genético de incompatibilidad, su mecanismo de polinización cruzada natural, la recombinación genética, etc.

García *et al.* (2010) en su catálogo de “Cultivares de Cacao del Perú” se basa en cinco descriptores para detallar diferentes características del cacao, los cuales son: descriptores de identidad, descriptores morfológicos, descriptores agronómicos, descriptores industriales y descriptores moleculares.

Los descriptores de identidad definen el nombre varietal, grupo genético, país de origen, accesión/código y obtentor. Los descriptores morfológicos detallan características de diferentes partes de la planta tales como: flores, frutos y semillas. Los descriptores agronómicos determinan la productividad y la sanidad, en productividad caracterizan: tamaño del fruto, número de semillas por fruto, tamaño de la semilla, peso seco de semilla, índice de mazorca, rendimiento y compatibilidad genética, y en sanidad destacan las tres enfermedades más importantes en el cultivo de cacao, las cuales son: “pudrición parda” (*Phytophthora palmivora*), “moniliasis” (*Moniliophthora roreri*) y “escoba de bruja” (*Crinipellis pernicioso*). Los descriptores industriales determinan el contenido de grasa (%), sabores básicos y específicos de la pulpa fresca y sabores básicos y específicos del licor. Finalmente, el descriptor molecular es definido por los microsatélites (SSR) reportados en el International Cocoa Germoplasm Database (ICGD). A continuación, se presentan las características más resaltantes de los genotipos utilizados para desarrollar la presente investigación.

a) CCN – 51

Es un híbrido resultante del cruce de (IMC – 67 x ICS – 95) x Forastero desconocido, es autoincompatible. Originario de Ecuador. Las características de este híbrido son: flor de pedúnculo rojo, sin antocianina en la lígula, y con un promedio de 57 óvulos por ovario. El fruto presenta un color rojo en su estado inmaduro y una ligera constricción basal, con fuerte

rugosidad y una profundidad marcada en los surcos de la mazorca. Es de tamaño muy grande y presenta 44 semillas por fruto. Presenta un índice de mazorca de 16 y un rendimiento promedio de 2760 kg/ha. Presenta susceptibilidad a la “pudrición parda” (*Phytophthora palmivora*) y a la “moniliasis” (*Moniliophthora roreri*), con una resistencia moderada a “escoba de bruja” (*Crinipellis pernicioso*). Su contenido de grasa es del 54% (García *et al.*, 2010).

b) ICS – 60

Es una colección del grupo trinitario, autoincompatible. Originaria de Trinidad y Tobago. Las características del genotipo son: flor de pedúnculo rojo, sin antocianina en la lígula, y con un promedio de 45 óvulos por ovario. El fruto en su estado inmaduro es de color verde y de forma elíptica, presenta una rugosidad, constricción basal, grosor de cáscara y profundidad de surcos intermedia. Es de tamaño grande y con 32 semillas por fruto. El índice de mazorca es de 20 y presenta un rendimiento variable entre 750 – 2250 kg/ha. Es susceptible a la pudrición parda y tolerante a escoba de bruja. El contenido de grasa es de 58% (García *et al.*, 2010).

c) ICS – 95

El genotipo ICS – 95 es una colección trinitaria, autocompatible. Originaria de Trinidad y Tobago. Las características del genotipo son: flor con color de pedúnculo rojo, sin antocianina en la lígula y con un promedio de 42 óvulos por ovario. El fruto en su estado inmaduro es de color rojo y de forma oblonga. El grosor de su cáscara es delgado y presenta una ligera constricción basal. Su tamaño es grande y con 35 semillas por fruto. El índice de mazorca es de 22 y rendimiento en promedio de 1867 kg/ha. Presenta tolerancia a escoba de bruja, una resistencia moderada a moniliasis y a la pudrición parda. El contenido de grasa es del 56% (García *et al.*, 2010).

d) POUND – 7

Es una colección tipo forastero del Alto Amazonas, autoincompatible. Originaria de Perú. Presenta un color de pedúnculo verde pigmentado, con antocianina en la lígula del pétalo y con un promedio de 54 óvulos por ovario. El fruto en su estado inmaduro es de color verde

grisáceo y de forma elíptica. La constricción basal y su rugosidad son ligeras. Su tamaño es intermedio y con 44 semillas por fruto aproximadamente. El índice de mazorca es de 25 y con un rendimiento variable entre 600 y 1800 kg/ha. Presenta resistencia a la pudrición parda, tolerancia a escoba de bruja y susceptibilidad a moniliasis. El contenido de grasa es de 48% (García *et al.*, 2010).

e) VRAE – 99

Es una colección de tipo forastero del Alto Amazonas, autocompatible. El color de la mazorca es verde al estado inmaduro, y amarillo al estado maduro. De tamaño intermedio. Forma redonda y con un promedio de 34 semillas por fruto. El índice de mazorca es de 25 aproximadamente y tiene un rendimiento variable entre 517 y 1552 kg/ha; se menciona que si es manejado adecuadamente y con alta densidad puede llegar a rendimientos de 3000 kg/ha (Paredes, 2009). El contenido de grasa varía entre 52 y 56% (Gamboa, 2015)

2.4 CADMIO

2.4.1 Generalidades

El cadmio (Cd) es un metal pesado presente en el suelo en formas naturales o como resultado de la intervención humana. Como elemento no esencial, afecta negativamente el crecimiento y desarrollo de las plantas, el cadmio es mucho menos móvil en los suelos que en el aire y el agua. Sin embargo, la movilidad del cadmio en los suelos es alta en comparación con otros metales pesados, y las plantas pueden absorberlo fácilmente (Gramlich *et al.*, 2018), lo que aumenta los riesgos de exposición de los humanos al cadmio. En consecuencia, este metal pesado es reconocido como extremadamente contaminante de los suelos agrícolas (Afolayan, 2011; Xu *et al.*, 2018)

En los últimos años, el cadmio ha sido añadido al suelo como un contaminante por diversas fuentes como: uso frecuente de fertilizantes fosfatados, estiércol, lodos y deposición aérea por el incremento de vehículos, fundiciones metalúrgicas y erupciones volcánicas. La cantidad de cadmio aportado por cada fuente varía según la ubicación debido a las diferencias en la formación del suelo, las prácticas de manejo y la exposición a las fuentes de contaminación, pero el nivel de Cd en el suelo parece aumentar con el tiempo (Jones y

Johnston, 1989). Aunque las plantas no requieren Cd para su crecimiento y desarrollo, el índice de bioacumulación de Cd en las plantas cultivadas supera a todos los demás elementos traza (Kabata-Pendias y Pendias, 2000). Las plantas pueden acumular niveles relativamente altos de cadmio, sin efectos adversos sobre el crecimiento (Bingham *et al.*, 1975; Bingham, 1979; Kuboi *et al.* 1986).

La tendencia de concentración de cadmio en el suelo es un riesgo potencial, con varios factores que pueden contribuir a su incremento. Las principales razones son la deposición atmosférica y por las aguas residuales, por el aumento del transporte y uso de combustible asociado con la rápida urbanización de las ciudades (Xu *et al.*, 2018). En este contexto es deseable asegurar que las concentraciones de cadmio en los suelos permanezcan lo suficientemente bajas como para evitar efectos adversos en la calidad del suelo o del cultivo.

2.4.2 El cadmio en el suelo

Los metales pesados no esenciales son peligrosos para las plantas y los animales. Orhue y Uzu (2011), señalan que además del pH del suelo, el carbono orgánico, el P disponible, los óxidos, la capacidad efectiva de intercambio catiónico, el contenido de humedad, el estado de reducción y oxidación de los metales, el intercambio iónico y la capacidad de absorción de los metales son algunos de los factores del suelo que influyen en el destino y disponibilidad de los metales pesados. A niveles más bajos de estas propiedades del suelo, los iones de metales pesados se liberan en la solución, lo que los hace disponibles para las plantas. Sin embargo, el factor de suelo más influyente en la disponibilidad de los metales pesados es el pH. Se ha descubierto que elevar algunos de estos factores del suelo a niveles apropiados reduce la disponibilidad de metales pesados (Eriksson, 1990; McLaughlin *et al.*, 1996; Rodríguez, 2017).

La movilidad del cadmio en los suelos es alta en comparación con otros metales pesados y las plantas lo absorben fácilmente, a pesar de que no tiene funciones biológicas esenciales (McLaughlin y Singh, 1999). El cadmio en el suelo puede enriquecerse naturalmente a concentraciones de 2 mg/kg o más, especialmente en suelos desarrollados en sedimentos aluviales o de andesita y otras rocas volcánicas (Fauziah *et al.*, 2001), mientras que en lugares contaminados se ha encontrado concentraciones por encima de 16 mg/kg de cadmio (Galvao y Corey, 1987).

Generalmente se considera que el cadmio se agrega al suelo agrícola principalmente a partir de fuentes como la minería y la fundición, la industria del plástico, la microelectrónica, fertilizantes a base de rocas y la materia orgánica (He y Singh, 1994; Lugon-Moulin *et al.*, 2006; Wang 1997; Nicholson *et al.*, 1999; Alloway y Steinnes, 1999; Sager, 2007; Lipoth y Schoenau, 2007, Benke *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2005, citado por: Xu *et al.*, 2015; Abraham *et al.*, 2016). En relación a los fertilizantes fosfatados, la principal materia prima de éstos es la roca fosfórica (Alves *et al.*, 2016), constituida principalmente por apatita, que, además de fósforo, contiene cadmio en cantidades que varían entre 8 y 500 mg/kg (Laegreid *et al.*, 1999 citado por Bonomelli *et al.*, 2003). Por este motivo, la aplicación reiterada de fertilizantes fosfatados incrementa las cantidades de Cd en el suelo (Bonomelli *et al.*, 2003).

El cadmio bivalente (Cd^{++}) es la especie dominante de cadmio soluble; también se encuentra formando complejos orgánicos asociados (cadmio disuelto en carbono orgánico) e inorgánicos (Hahne y Kroontje, 1973; Stacey *et al.*, 2010). Los estudios muestran que el Cd^{++} libre puede comprender entre el 40 al 90% de la solución de suelo (Villaruel *et al.*, 1993). El pH del suelo influye en la especiación del cadmio (Hahne y Kroontje, 1973). La liberación de cadmio adsorbido disminuye al aumentar el pH, la materia orgánica, el CaCO_3 , la CIC y los componentes arcillosos. Por lo tanto, el pH del suelo tiene un efecto dominante sobre la actividad de la solución de cadmio, al influir en la distribución de cadmio entre el suelo y el soluto (Eriksson, 1990; McLaughlin *et al.*, 1996; Rodríguez, 2017).

El aumento de la capacidad de adsorción del suelo también tenderá a disminuir la cantidad de cadmio en la solución del suelo. La adición de materia orgánica, como turba, a los suelos redujo el cadmio extraíble, siendo el efecto más fuerte en suelos originalmente bajos en materia orgánica (Eriksson, 1990). En estudios de invernadero con suelos ácidos tratados con cal para producir niveles de pH variables, la acumulación de cadmio en las plantas fue mayor en un suelo franco en comparación con el arenoso; la diferencia fue atribuida al mayor contenido nativo de cadmio en el suelo franco (He y Singh, 1994). Por el contrario, la acumulación de cadmio en las plantas fue mayor en los suelos de textura ligera que en los de textura pesada, debido a la menor capacidad de adsorción de los suelos de textura ligera y baja CIC (Grant *et al.*, 1996).

La aplicación de algunas fuentes de materia orgánica aumenta el contenido de cadmio en el suelo. Al respecto Xu *et al.*, (2015) reportaron que la aplicación de estiércol de cerdo a largo

plazo (10 años) aumento la tasa de carga de cadmio del suelo de 26.33 a 131.50 g/ha/año, mientras que la tasa de eliminación de cultivos fue relativamente pequeña en comparación con la cantidad de cadmio suministrada. Basado en un cálculo del balance de masa, encontraron que la deposición atmosférica también era una fuente importante de Cd en el área experimental (10.27 g/ha/año). En suelos ácidos, la materia orgánica puede reducir fuertemente la solubilidad del cadmio, cuando ésta se incrementa, así como las formas intercambiables de cadmio. Las especies solubles de Cd son las más disponibles para las plantas.

2.4.3 El cadmio en las plantas

El cadmio no es un elemento esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas, pero, se absorbe fácilmente por el sistema de las raíces (Alves *et al.*, 2016; Rodríguez, 2017) y es geoquímicamente muy móvil en el suelo y en el agua (Benavides *et al.*, 2005; Curguz *et al.*, 2012). La absorción de cadmio por la planta aumenta al incrementar la concentración de cadmio en la solución suelo y está influenciada por el tamaño y las características de captación del sistema radicular de la planta (Mullins *et al.*, 1986). El cadmio ingresa a la raíz de la planta mediante la intercepción radicular, el flujo de masas y la difusión; aunque es probable que la difusión tenga la mayor importancia (Grant *et al.*, 1998). La concentración de cadmio en la solución suelo tiene un gran efecto en la absorción de esta, por lo que cualquier factor que influya en la concentración en la solución suelo o en el crecimiento de la raíz afecta la acumulación de cadmio en la planta (Grant *et al.*, 1998).

La absorción de cadmio desde la solución suelo por las plantas, está regulada por el sistema metabólico que, además, funciona en competencia con los mecanismos de absorción del zinc y posiblemente otros metales (Grant *et al.*, 1998). La acumulación y distribución de cadmio en plantas difiere según la especie y entre los cultivares dentro de una especie, con buena parte del catión absorbido permaneciendo en las raíces. Los frutos y semillas contienen menos cadmio que las hojas (Page *et al.*, 1972; Bingham *et al.*, 1975; Harrison, 1986; Chang *et al.*, 1982; Kuboi *et al.*, 1986; McLaughlin *et al.*, 1994; Li *et al.*, 1993; Li *et al.*, 1995; Ramos, 2002). La asimilación del cadmio altera la absorción y transporte de otros nutrientes catiónicos (Wyszkowska *et al.*, 2013, Sangwan *et al.*, 2013) porque el cadmio se comporta en forma similar a cationes Ca^{++} , Fe^{++} , Mn^{++} y Zn^{++} (Ramesh *et al.*, 2003; Uraguchi *et al.*, 2009)

Para Stacey *et al.* (2010), el cadmio es uno de los oligoelementos que se acumula en las plantas en concentraciones que potencialmente podrían causar toxicidad animal pero que no tienen ningún efecto sobre el crecimiento de las plantas. Sin embargo, se ha observado que en algunas plantas el cadmio causa retardo del crecimiento y daño en las raíces (Krantev *et al.*, 2008; Moussar y El-Gamal, 2010; Yadav, 2010; Rascio y Navari-Izzo, 2011; Li *et al.*, 2014; Alves *et al.*, 2016), cambios en la hoja, que incluyen alteraciones en la estructura del cloroplasto, bajos contenidos de clorofilas, que causan clorosis y actividad restringida de la fotosíntesis (Baryla *et al.*, 2001; He *et al.*, 2005; Moussar y El-Gamal, 2010; Li *et al.*, 2010). Además, interfiere en la simbiosis entre microorganismos y plantas, así como incrementa la disposición a invasiones por hongos en la planta (Kabata-Pendias y Pendias, 2000).

Se ha encontrado un conjunto de estrategias en las plantas para hacer frente al Cd exógeno, que incluye la exclusión activa, el secuestro vacuolar, la retención en las raíces, la inmovilización por las paredes celulares y la complejación mediante la unión del metal a proteínas de bajo peso molecular (Ramos *et al.*, 2002; Wahid *et al.*, 2009). Además, en respuesta al estrés por niveles altos de cadmio, las células de la planta pueden desarrollar defensas, como: inmovilización, exclusión, síntesis de fitoquelatinas, compartimentación, síntesis de metalotioninas, síntesis de proteínas de estrés o producción de etileno (Sanità di Toppi y Gabbrielli, 1999). Estas defensas, los autores las definen como “fan shaped” (“forma de abanico”) (Figura 1). Entre las proteínas responsables de la entrada del cadmio a la célula destaca el transportador específico de calcio LCT1 (Clemens *et al.*, 2002), y la proteína IRT1 que pertenece al grupo de transportadores de Zn y Fe. En células de levadura se ha demostrado que el cadmio ingresa a la vacuola mediante la unión con un fitoquelato (PCs) a través de un transportador de tipo ABC (Ortiz *et al.*, 1995), tal como se observa en la Figura 2.

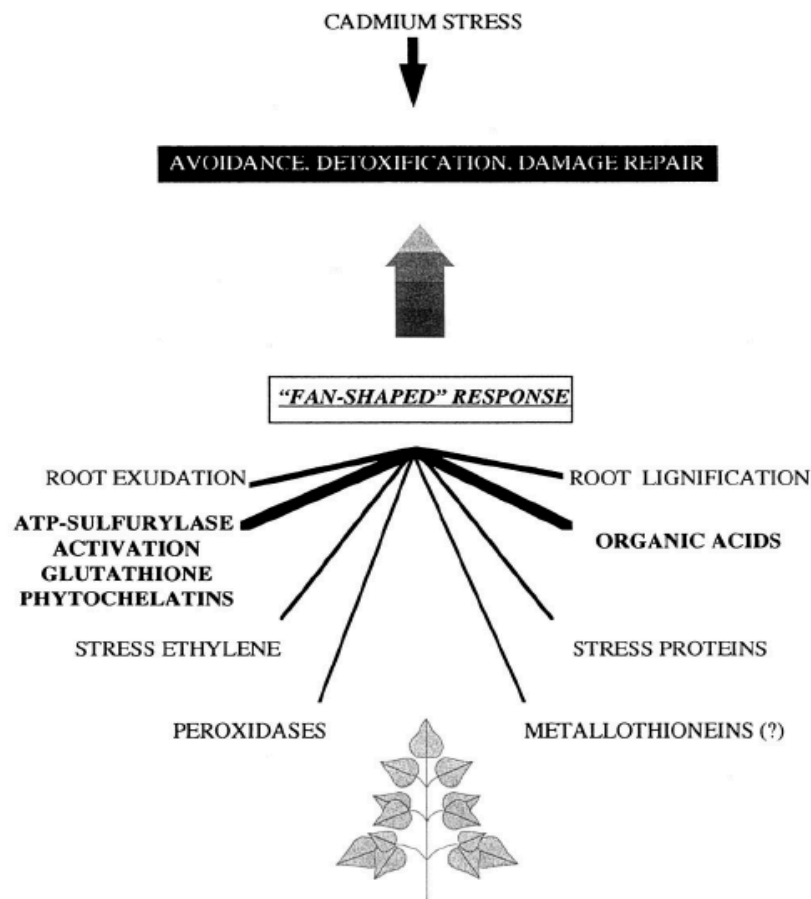


Figura 1: Respuesta de las plantas al estrés por el cadmio, serie de mecanismos denominado: “fan shaped” (“forma de abanico”). Adaptado de “Response to cadmium in higher plants” por Sanitá di Toppi, L y Gabrielli, R., 1999, *Environmental and Experimental*, 1(41), 105-130p.

Para que el cadmio entre en la cadena alimenticia, este debe acumularse en la parte comestible de la planta. La distribución de cadmio en la planta difiere según la especie de planta y las condiciones de crecimiento (Jarvis *et al.*, 1976; Cataldo *et al.*, 1981; Mullins *et al.*, 1986; Choudhary *et al.*, 1994; Yang *et al.*, 1995). La concentración de cadmio en la porción aérea de las especies de plantas no sigue necesariamente el mismo patrón que la concentración en la raíz (Pettersson, 1977). La translocación restringida de la raíz a las partes aéreas de la planta puede resultar en una menor concentración en frutas y granos que en las hojas o la raíz. Por ejemplo la concentración de cadmio en la paja es mayor que en el grano en el trigo (Stenström y Lonsjo, 1974), el maíz (Dowdy y Larson, 1975) y la avena (He y Singh, 1994).

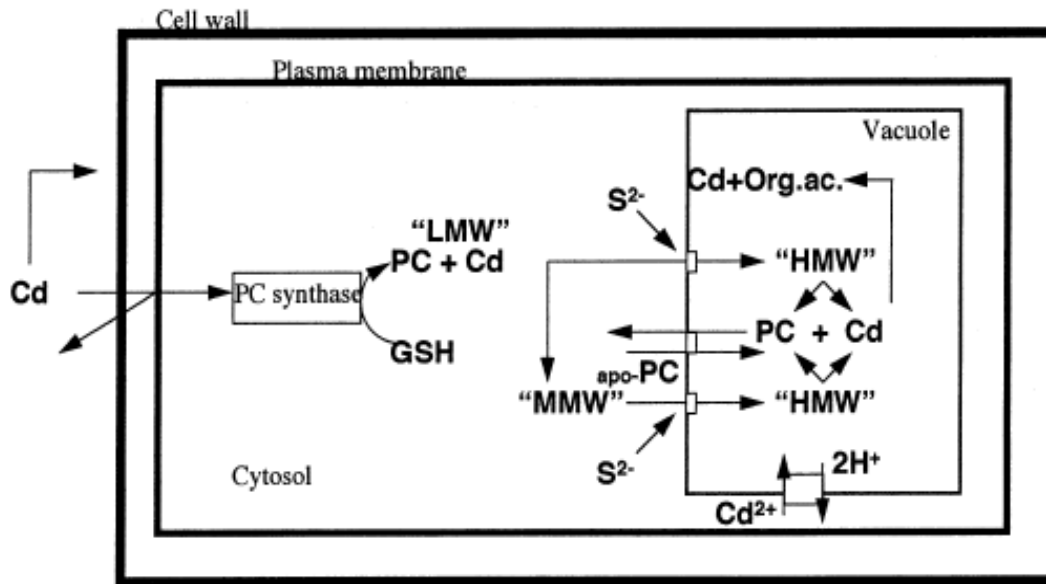


Figura 2: Mecanismos de ingreso del cadmio a la vacuola a través de la fitoquelatina para posterior traslocación. Adaptado de “Response to cadmiun in higher plants” por Sanitá di Toppi, L y Gabbrielli, R., 1999, *Enviromental and Experimental*, 1(41), 105-130p.

La distribución del cadmio en la planta puede estar relacionada, en parte, como una baja tasa de transporte de cadmio hacia la parte aérea (Yang *et al.*, 1995). El cadmio se compleja en péptidos de unión a cadmio en raíces y hojas viejas de lechuga y espinaca, que actúan como una barrera para el transporte a las hojas jóvenes (McKenna *et al.*, 1993).

Existen diferentes enfoques para desentrañar los mecanismos que abordan la toxicidad de cadmio, como la detección de mutantes sensibles al cadmio (McHugh y Spanier, 1994) y la disección del papel de los transportadores de metales mediante manipulaciones transgénicas (Uraguchi y Fujiwara, 2012). El tamizado de cultivares para encontrar mecanismos evolucionados para la tolerancia y acumulación de cadmio debido a diferencias ambientales se ha llevado a cabo en el cáñamo (Shi *et al.*, 2012), mostaza india (Gill, Khan y Tuteja, 2011), la cebada (Sghayar *et al.*, 2014) y ricino (Zhang *et al.*, 2014), revelando que la tolerancia al cadmio está relacionada con las características de la morfología de la planta, las cantidades de síntesis de fitocromo, la absorción de Cd y los niveles de tiol (Fang *et al.*, 2017).

2.4.4 El cadmio en el cultivo de cacao

La absorción de cadmio por el cacao ha atraído recientemente la atención, después de que la Unión Europea (UE) decidió poner en vigencia valores máximos de 0.1 mg/kg para las concentraciones de cadmio en productos de cacao (Tabla 1); que son superados en muchos casos por los productos actuales de diversos orígenes de América Latina (Chávez *et al.*, 2015; Mite *et al.*, 2016; Álvarez, 2018; Florida *et al.*, 2018; Argüello *et al.*, 2019; Meter *et al.*, 2019) comparado con los registros de países de África que reportan bajas concentraciones de cadmio en granos de cacao (Aikpokpodion *et al.*, 2013)

Gramlich *et al.*, (2018), en Honduras encontraron una alta absorción de cadmio: 2.6 ± 0.4 mg/kg en hojas y 1.1 ± 0.2 mg/kg en los granos. Sin embargo, el contenido de cadmio en el grano mostró grandes diferencias entre sustratos geológicos, a pesar de que las variaciones regionales del cadmio total del suelo fueron comparativamente pequeñas, en promedio determinaron 0.25 ± 0.02 mg/kg de cadmio en grano en suelos no contaminados. Así mismo señalan que la variación del contenido de cadmio entre los suelos se debió a la variación natural y las mayores concentraciones de cadmio en el grano se encontraron en sustratos aluviales.

Tabla 1: Niveles máximos permisibles de cadmio en cacao en la Unión Europea y productos de chocolate a partir de mayo del 2014.

PRODUCTO	Nivel máximo permisible (mg/kg)
Chocolate con leche con un contenido de materia seca total de cacao <30%	0.1
Chocolate con un contenido de materia seca total de cacao <50%; chocolate con leche con un contenido de materia seca total de cacao $\geq 30\%$	0.3
Chocolate con un contenido de materia seca total de cacao $\geq 50\%$	0.8
Cacao en polvo vendido al consumidor final o como ingrediente en cacao en polvo edulcorado vendido al consumidor final (chocolate para beber)	0.6

Fuente: Unión Europea, 2014

En Ecuador Argüello *et al.*, (2019) encontraron que el cadmio total del suelo fue 0.44 mg/kg. La concentración media en granos pelados de cacao fue 0.90 mg/kg y el 45% de las muestras excedió el umbral de 0.60 mg/kg. El análisis de regresión mostró que las concentraciones de cadmio en el grano aumentaron al incrementar el cadmio total del suelo y al disminuir el pH del suelo. Así mismo indican que la concentración de cadmio en el grano disminuyó un factor de 1.4 a medida que la edad de la plantación aumentó de 4 a 40 años. En Venezuela Lanza *et al.* (2016), en almendras de dos variedades de cacao híbrido y porcelana determinaron concentraciones de Cd entre 0.95 y 2.09 mg/kg. En Perú, Huauya y Huamaní (2014) y Huamaní *et al.* (2012), en las regiones de Huánuco y Ucayali, registraron concentraciones de cadmio en el suelo de 0.53 ppm y en hojas de cacao 0.21 ppm, considerados niveles bajos.

Podría considerarse que el manejo del cacaotal es importante, pero, Gramlich *et al.*, (2017) indican que solo una pequeña parte de la variación de cadmio encontrado en la cáscara del grano y en la vaina del cacao se explica por factores de manejo, suelo y plantas. Además, los sistemas de producción y los cultivares por sí solos no tuvieron una influencia significativa en el contenido de cadmio de la hoja. Sin embargo, los mismos autores señalan las concentraciones más bajas de cadmio en las hojas de cacao se encontraron en los sistemas agroforestales debido a la competencia por la absorción de cadmio con otras plantas. El efecto del cultivar puede explicarse por capacidades específicas de absorción o por un efecto de crecimiento que se traduce en diferentes tasas de absorción.

Chávez *et al.* (2015) reportan que el cadmio en los tejidos de cacao disminuyó en el orden decreciente en las ramas>hojas>raíces>almendras>cáscaras. El contenido de cadmio en los granos de cacao varió de 0.02 a 3.0 mg/kg con un promedio de 0.94 mg/kg, mostrando en algunos casos por encima del nivel crítico. La concentración de cadmio en el grano estuvo altamente correlacionada con el cadmio extraíble. Estos resultados indican que la acumulación de cadmio en las capas superficiales del suelo da como resultado un exceso de cadmio en los granos de cacao.

Chávez *et al.* (2015) determinaron la distribución de las fracciones de cadmio del suelo, el cual disminuyó en siguiente orden: oxidable>soluble en ácido>residual>reducible>>soluble en agua (+ intercambiable). Las fracciones oxidables y solubles en ácido representaron el 59 y el 68% del cadmio recuperable total para la profundidad del suelo de 0–5 y 5–15 cm,

respectivamente. La fracción soluble en ácido estuvo estrechamente relacionada con el cadmio en el grano de cacao, con coeficientes de correlación (r) de 0.70 y 0.81 ($P < 0.01$) para la profundidad del suelo de 0–5 y 5–15 cm, respectivamente. A su vez el cadmio soluble en ácido se correlacionó significativamente con HCl^- a 0.01 M ($r = 0.99$, $P < 0.01$) o Cd extraíble con Mehlich 3 ($r = 0.97$, $P < 0.01$). Estos resultados indican que la fracción de cadmio soluble en ácido es una parte importante del conjunto de cadmio disponible. Dado que aproximadamente el 60% del cadmio en los suelos donde se cultiva el cacao está relacionado con la fracción soluble en ácido y está unido a la materia orgánica.

Barraza *et al.* (2017) muestran que las capas superiores del suelo (0–20 cm) tienen concentraciones de cadmio más altas que las capas más profundas. Las hojas de cacao acumulan más cadmio que los granos, sin embargo, el 50% de los granos muestreados tenían concentraciones de cadmio superiores a 0.8 mg/kg.

Dado que existen evidencias de la variabilidad genética entre las especies y dentro de las especies en la tendencia a acumular cadmio, es posible buscar y desarrollar cultivos que acumulen concentraciones más bajas de cadmio en sus estructuras especialmente en las estructuras alimenticias. La selección de plantas con característica de baja absorción de cadmio se ha desarrollado con éxito en girasol (Li *et al.*, 1993, 1995), trigo duro (Penner *et al.*, 1995; Clarke *et al.*, 1997). Las técnicas biotecnológicas para la transferencia de genes entre especies también pueden desempeñar un papel en el desarrollo de cultivos alimenticios con bajo contenido de cadmio (Penner *et al.*, 1995). En este sentido varios mecanismos celulares pueden estar participando en la tolerancia a elementos potencialmente tóxicos. Estos mecanismos consisten en la formación de micorrizas, el secuestro del metal en la pared celular de la planta, la precipitación con exudados radicales, la reducción de la absorción del metal por la membrana plasmática y la quelación del metal en el citosol (González y Zapata, 2008).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 UBICACIÓN

Este estudio se realizó en el vivero del fundo 'La Breñaña' de la empresa Agrícola La Breñaña S.A.C., localizado en San Ramón, Chanchamayo, Junín, selva central del Perú; a una altitud de 840 msnm, entre las siguientes coordenadas: latitud sur 11° 7' 29" y longitud oeste 75° 21' 25"; en decimal: -11.124722°, -75.356944°; UTM: 8770206 461022 18L. Donde las condiciones climáticas corresponden al clima tropical húmedo. De acuerdo con Köppen y Geiger (1900) el clima se clasifica como ecuatorial (Af.), siendo la temperatura máxima promedio de 32 °C, mínima de 17 °C y una media de 24.8 °C; la precipitación está alrededor de 1850 mm anuales distribuidas irregularmente a lo largo del año con excesos de precipitación en los meses de diciembre, enero, febrero y marzo y con déficits de agua en los meses de junio, julio y agosto.

3.2 MATERIALES EMPLEADOS

3.2.1 Materiales

- 50 semillas seleccionadas de cada genotipo de cacao (*Theobroma cacao L.*): CCN-51, ICS-60, ICS-95, POUND-7 y VRAE-99.
- 500 bolsas de plástico 6x8x2.5 pulgadas.
- 500 bolsas de papel 12x7x25 cm.
- Sulfato de cadmio ($3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) con 98% de Cd.
- Caballetes.
- El sustrato utilizado estuvo compuesto por la mezcla de suelo procedente de una plantación de cacao, materia orgánica y arena, en la proporción: 3:2:1 respectivamente. En la Tabla 2 se muestran los resultados del análisis de caracterización del sustrato.

- Fertilizante

Nitrógeno= Úrea (46% de N)

Fosforo= Fosfato diamónico (18% de N y 46% de P₂O₅)

Potasio= Cloruro de potasio (60% de K₂O)

Tabla 2: Resultados del análisis físico químico del sustrato

pH	CaCO ₃	MO (%)	P (ppm)	K (ppm)	Clase Textural	CIC	Cationes cambiables				Suma Cationes
							Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	K ⁺	Na ⁺	
							meq/100g				
7.0	4.4	4.1	131.8	210.4	Ar.Fr.	9.3	6.2	2.1	0.5	0.5	7.7

3.2.2 Herramientas

- Cernidor de malla
- Cintas de plástico
- Cuchilla de injertar
- Lampa
- Pipetas
- Regla
- Tijera de poda

3.2.3 Equipos

- Balanzas con precisión 0.01 y 0.1 g.
- Cámara fotográfica
- Computadora
- Desionizador AGST 330
- Estufa
- Vernier digital

3.3. METODOLOGÍA

3.3.1. Instalación del experimento

El experimento se inició con la colección de las mazorcas de cacao (Figura 3A) en plantaciones previamente identificadas del Banco de Germoplasma de Cacao del Instituto de Cultivos Tropicales (ICT) en Tarapoto (Región San Martín) y de la estación experimental del INIA-Pichanaki. Procesándose las semillas para su previa germinación (Figura 3B) en sustrato de arena pura (Figura 3C). La germinación de las semillas de cacao se realizó bajo sombra con malla raschel (65% a más) para disminuir la alta incidencia de la radiación solar. Las bolsas pesadas y llenadas con el sustrato fueron instaladas en mesas de trabajo con la finalidad de evitar el contacto directo de las plantas con el suelo.

3.3.2 Embolsado

Para el embolsado del sustrato se usaron bolsas de plástico de calibre 6 x 8 x 2.5 pulgadas, con una capacidad de 2.5 kg. Estas fueron llenadas con el sustrato 3:2:1 previamente preparadas usando una balanza con 0.1g de precisión, para mantener el peso del sustrato uniforme.

3.3.3 Tratamientos

En la investigación se evaluó el efecto de cuatro dosis de cadmio en cinco genotipos de cacao (Tabla 3), lo que nos brindó un total de 20 tratamientos (Tabla 4). Por cada tratamiento se tuvieron tres repeticiones, lo que generó 60 unidades experimentales, como se puede observar en la Tabla 5. Cabe mencionar que cada unidad experimental estuvo conformada por cuatro plantas. Finalmente, el experimento contó con un total de 240 plantas.

3.3.4 Aplicación de cadmio y repique

Las dosis de cadmio fueron aplicadas antes del repique de los clones de cacao (Figura 3E); para lo cual se preparó la solución de cadmio según tratamiento (Tabla 3 y 4), pesando el sulfato de cadmio en una balanza de precisión de 0.01g. La solución se aplicó usando una pipeta de 50 ml de capacidad (Figura 3E). Cabe mencionar que las dosis de cadmio se

interpretan como mg de Cd⁺⁺/kg de sustrato (ppm). Las plántulas previamente germinadas fueron repicadas a los dos días después de aplicado el cadmio (Figura 3F).

Tabla 3: Genotipos de cacao y dosis de cadmio (ppm) utilizados en el experimento.

FACTORES		NIVELES	Genotipos
GENOTIPOS	A	a1	CCN - 51
		a2	ICS - 60
		a3	ICS - 95
		a4	POUND - 7
		a5	VRAE - 99
			DOSIS (ppm)
DOSIS	B	b0	0
		b1	50
		b2	100
		b3	150

Tabla 4: Tratamientos en estudio.

TRATAMIENTOS				
Genotipos	Dosis de Cd (ppm)			
	0	50	100	150
CCN-51	T20	T19	T17	T4
ICS-60	T14	T11	T7	T10
ICS-95	T16	T9	T1	T12
POUND-7	T3	T6	T5	T15
VRAE-99	T13	T18	T8	T2

3.3.5 Manejo de plántulas

Después de repicados las plántulas se realizaron riegos periódicos para mantener el sustrato en capacidad de campo, además se realizaron desyerbos cuando se observaron malezas. A los 15 días se aplicaron los fertilizantes a la dosis de: 200 – 100 – 200 – 50 ppm de N, P₂O₅, K₂O y MgO. Además, cada 15 días se aplicaron micronutrientes comerciales a la dosis de 2 % de producto comercial con la finalidad de prevenir posibles deficiencias de macro y micronutrientes. El control de posibles plagas y enfermedades se hizo en forma preventiva mediante la aplicación de insecticidas y fungicidas de uso común en el cultivo de cacao como carbendazim y clorpirifos.

3.3.6 Evaluaciones

- a. Medición de variables del crecimiento de la planta (Figura 3G)
 - Altura de planta, medida desde la base hasta el ápice de crecimiento (cm)
 - Número de hojas, total en la planta
 - Diámetro de tallo a cinco centímetros de altura de la base de planta (mm)
 - Longitud de raíces, la más larga (cm) (Figura 3I)
- b. Peso fresco y seco de raíces, hojas y tallo.
- c. Análisis de contenido de cadmio en raíces, hojas y suelo en laboratorio de Análisis de suelos y plantas de la UNALM.

Las variables de crecimiento fueron evaluadas en tres oportunidades, a partir de dos meses del repique (15 de setiembre del 2019), realizándose la primera evaluación el 15 de noviembre del 2019, la segunda el 15 de enero y la tercera 25 de febrero del 2020 (fin del experimento) en las que se determinaron: altura de planta (cm), número de hojas y diámetro de tallo (mm).

Por otro lado, las variables longitud de raíces (Figura 3I) y peso fresco se realizaron al finalizar el experimento, también se tomó una muestra de hojas, raíces y del suelo de cada tratamiento del experimento para ser enviadas al laboratorio y analizar su contenido de cadmio. El muestreo de hojas se realizó siguiendo los lineamientos de muestreo propuesto por el MINAGRI (2018) y MINAGRI (2019) para la determinación de cadmio, en suelos, hojas (Figura 3H) y granos y productos derivados del cacao. Al finalizar las evaluaciones de las variables mencionadas (longitud de raíces y peso fresco), se procedió a colocarlas en bolsas de papel kraft (Figura 3J) (rotuladas previamente) para realizar el secado en estufa y su posterior evaluación de materia seca.

Las raíces fueron lavadas con agua de grifo para sacar la tierra impregnada a ella y después enjuagada dos veces con agua desionizada. Las hojas, tallos, raíces fueron secadas en estufa a 85 °C por 72 horas para la determinación del peso seco. Finalmente, al terminar esta última evaluación, las muestras de hojas, raíces y suelo fueron enviadas al Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Facultad de Agronomía- Departamento de Suelos de la Universidad Nacional Agraria La Molina para el análisis del contenido de cadmio.

Tabla 5: Croquis experimental

I	POUND-7	VRAE-99	ICS-60	ICS-95	1	T6	2	T2	3	T7	4	T9
	CCN-51	CCN-51	POUND-7	POUND-7	8	T20	7	T4	6	T5	5	T3
	ICS-60	CCN-51	ICS-95	CCN-51	9	T11	10	T17	11	T12	12	T19
	ICS-95	VRAE-99	POUND-7	VRAE-99	16	T16	15	T8	14	T14	13	T13
	ICS-95	ICS-60	VRAE-99	ICS-60	17	T1	18	T1	19	T1	20	T1
II	ICS-95	VRAE-99	VRAE-99	ICS-95	24	T9	23	T2	22	T18	21	T16
	ICS-60	POUND-7	POUND-7	CCN-51	25	T7	26	T3	27	T15	28	T20
	VRAE-99	ICS-60	POUND-7	ICS-95	32	T13	31	T10	30	T6	29	T1
	POUND-7	CCN-51	VRAE-99	CCN-51	33	T5	34	T4	35	T8	36	T19
	ICS-95	ICS-60	ICS-60	CCN-51	40	T12	39	T14	38	T11	37	T17
II I	VRAE-99	POUND-7	ICS-60	ICS-60	41	T2	42	T3	43	T11	44	T10
	VRAE-99	ICS-95	ICS-60	POUND-7	48	T13	47	T12	46	T7	45	T6
	CCN-51	VRAE-99	POUND-7	ICS-95	49	T19	50	T8	51	T15	52	T1
	CCN-51	POUND-7	VRAE-99	CCN-51	56	T4	55	T5	54	T18	53	T20
	ICS-95	CCN-51	ICS-60	ICS-95	57	T16	58	T17	59	T14	60	T9



Figura 3: Metodología del experimento. **A:** Selección de mazorcas para la extracción de semillas, **B:** Procesamiento de las semillas, **C:** Pre-germinado de semillas en arena de río, **D:** Preparación del sustrato en bolsas, **E:** Aplicación de las dosis de cadmio en el sustrato, **F:** Repique de semillas pre-germinadas, **G:** Medición de las variables en el experimento, **H:** Procesamiento de las plantas de cacao al finalizar el experimento, **I:** Medición de la longitud de raíces, **J:** Rotulado y procesado de plantas para su envío a estufa (materia seca) y su posterior envío al laboratorio.

3.4 DISEÑO ESTADÍSTICO

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con un arreglo factorial 5 genotipos x 4 dosis de cadmio, que, incluyendo el testigo, en total resultan 20 tratamientos. Se realizaron tres repeticiones, generando un total de 60 unidades experimentales. Cada unidad experimental estuvo conformada por cuatro plantas de cacao, contabilizando un total de 240 plantas de cacao.

El modelo aditivo lineal para el experimento fue:

$$Y_{hij} = \mu + \beta_h + \tau_i + (\beta\tau)_{hi} + e_{hij}$$

Dónde:

Y_{hij} : Es el valor observado de la variable respuesta en el h-ésimo genotipo de cacao, i-ésima dosis de cadmio y j-ésima repetición.

μ : Es el efecto de la media general de la variable respuesta

β_h : Es el efecto de h-ésimo genotipo de cacao.

τ_i : Es el efecto de la i-ésima dosis de cadmio.

$(\beta\tau)_{hi}$: Es el efecto de la interacción del h-ésimo genotipo de cacao en la i-ésima dosis de cadmio.

e_{ij} : Es el efecto del error experimental en la i-ésima dosis de cadmio, el h-ésimo genotipo de cacao y j-ésima repetición.

Para:

$h = 1, 2, \dots, s$ (genotipo)

$i = 1, 2, \dots, a$ (dosis de cadmio)

$j = 1, 2, \dots, r$ (repeticiones)

Para la comparación de medias de tratamientos se realizó la prueba de Tukey con un valor $p = 0.05$. Los resultados se procesaron con el programa R versión 0.99.491.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 EFECTO SOBRE EL CRECIMIENTO

La respuesta de cinco genotipos de cacao (*Theobroma cacao* L.) a cuatro dosis de contaminación con cadmio en condiciones de vivero fue evaluada a través de cuatro características: altura de planta, diámetro de tallo, número de hojas y longitud de raíces.

4.1.1 Efecto de las dosis de cadmio en la altura de planta

En la Tabla 6 se presenta la altura promedio de planta al finalizar el experimento a los 160 días después del repique y en la Figura 4 la tendencia observada en cada genotipo durante las tres evaluaciones efectuadas. En el anexo 1 se muestran los datos obtenidos en las dos evaluaciones previas a los 60 y 120 días después del repique (DDR).

El análisis de varianza de la interacción de cinco genotipos de cacao (*Theobroma cacao* L.) con diferentes dosis de cadmio (ppm) para la variable altura de planta (cm) no mostró efectos significativos, lo cual indica que no hubo interacción entre los factores en estudio (Anexo 7).

Se observa que la altura de las plantas presentó variación por efecto de las dosis de cadmio (Tabla 6), pero estas variaciones no fueron estadísticamente significativas ($p = 0.886$), hubo diferencias significativas entre los genotipos de cacao. La mayor altura de plantas en el tratamiento testigo (sin contaminación de cadmio) la tuvo el genotipo POUND-7, seguido por ICS-95, ICS-60 y CCN-51; y la menor altura se observó en VRAE-99 (Tabla 6). Si bien no se observó efecto significativo de las dosis de cadmio en la altura de planta, se observa que el genotipo ICS-95 fue afectado en su crecimiento y que el VRAE-99 tuvo un aumento en el tamaño de planta con las dosis de cadmio. Asimismo, estos resultados indican que, en las dosis estudiadas, el cadmio no tiene efecto significativo en el crecimiento de las plantas de los genotipos de cacao, medido a través de la altura de la planta durante los primeros 160

días del repique. Esto coincide con lo propuesto por Bingham (1979) al concluir que las plantas pueden acumular niveles relativamente altos de cadmio, sin efectos adversos sobre el crecimiento. Sin embargo, se pueden observar algunas tendencias para cada genotipo.

La altura de planta si fue diferente entre los genotipos. La mayor altura fue observada en el genotipo POUND-7 (Tabla 6), que se diferenció significativamente de los otros cuatro genotipos. El POUND-7 al ser un genotipo originario de la selva amazónica (tipo forastero), presenta mayor vigorosidad, se puede corroborar con los resultados obtenidos en el experimento al compararlo con los otros genotipos. Por su parte la falta de significación estadística en la interacción de genotipos por dosis de cadmio indica que esta diferencia en crecimiento entre los genotipos no fue afectada por la dosis de cadmio en los niveles estudiados ($p = 0.179$). Para la explicación de los resultados tomar en cuenta que esto implica que las diferencias en las alturas de planta entre los genotipos se deben a factores genéticos propios de ellos, no se deben al efecto de las dosis de cadmio.

Tabla 6: Altura de planta (cm) en cada tratamiento al final del experimento.

Genotipo	Dosis de Cd (ppm)			
	0	50	100	150
CCN-51	34.4	37.1	39.5	39.9
ICS-60	39.6	38.7	41.8	34.8
ICS-95	41.8	35.1	25.5	39.5
POUND-7	52.1	59.3	53.3	53.5
VRAE-99	26.2	29.9	46.9	34.3

Promedio de tres repeticiones, cada repetición conformada por cuatro plantas.
No hubo diferencias significativas para un $p = 0.05$.

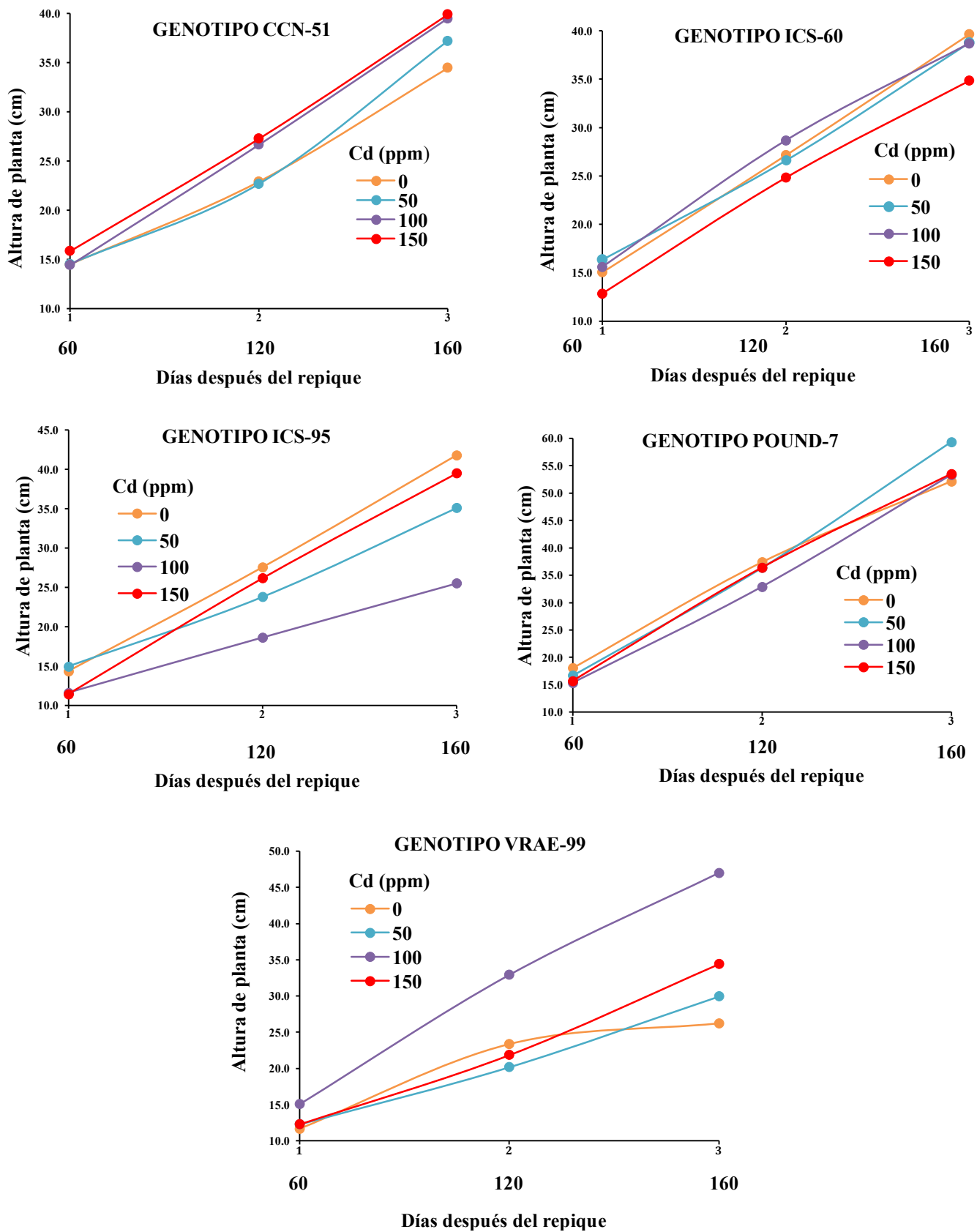


Figura 4: Comportamiento de la variable altura de planta (cm) en cinco genotipos de cacao contaminados a dosis creciente de cadmio en diferentes momentos de evaluación.

4.1.2 Efecto de las dosis de cadmio en el diámetro de tallo

En la Tabla 7 se presenta el diámetro de tallo promedio de planta al finalizar el experimento a los 160 días después del repique y en la Figura 5 la tendencia observada en cada genotipo durante las tres evaluaciones efectuadas.

En el análisis de varianza de la interacción de cinco genotipos de cacao (*Theobroma cacao* L.) con diferentes dosis de cadmio (ppm) para la variable respuesta diámetro de tallo (mm) se observa que la interacción de los factores genotipo y dosis de cadmio resulta no significativa ($p = 0.313$), esto representa que no hay interacción entre los factores (Anexo 8). En el análisis de varianza también se observa que el factor dosis de cadmio resulta no significativa ($p=0.114$), lo cual indica que no hay un efecto significativo de las dosis de cadmio (ppm) sobre los genotipos de cacao para la variable respuesta diámetro de tallo (mm). Sin embargo, se pueden observar algunas tendencias para cada genotipo.

En la tabla 7 se observa que el genotipo CCN-51 mostró el menor diámetro del tallo en el tratamiento testigo, sin adición de cadmio, en cambio se observó una ligera tendencia al incremento del diámetro de tallo en los tratamientos que fueron contaminados con cadmio a 50, 100 y 150 ppm de cadmio como se muestra en la Tabla 7. En el genotipo ICS-60 el menor diámetro de tallo se obtuvo con el tratamiento más alto de cadmio (150 ppm); en cambio, los diámetros del tallo de los demás tratamientos (50 y 100 ppm) fueron similares y mostraron la misma tendencia. En el genotipo ICS-95, los diámetros de tallo obtenidos fueron similares en los tratamientos testigo y 50 ppm de cadmio; por otro lado, observándose una disminución del diámetro con el tratamiento contaminado a 100 ppm, seguido del tratamiento 150 ppm de Cd (Tabla 7). En el genotipo POUND-7 se observó una respuesta similar en la primera evaluación en todos los tratamientos (Figura 5, Anexo 2); en la segunda y tercera evaluación el diámetro del tallo fue similar en el testigo y los tratamientos de 50 y 100 ppm de cadmio (Figura 5, Anexo 2); en cambio, con el tratamiento de 150 ppm de cadmio se observó un menor diámetro en la segunda y tercera evaluación (Figura 5, Anexo 2). Finalmente, el genotipo VRAE-99 mostró el menor diámetro de tallo en el tratamiento testigo (sin aplicación de Cd) y similar al tratamiento 150 ppm de cadmio, en la última evaluación; para este genotipo los mayores diámetros de tallo se obtuvieron con los tratamientos 50 y 100 ppm de cadmio (Figura 5, Anexo 2). Sanità di Toppi y Gabrielli (1999) mencionan que las plantas que se encuentran sometidas a altas concentraciones de cadmio

por un breve periodo de tiempo (horas, semanas, pocos meses) generan una serie de mecanismos de respuesta denominados “fan shaped” (“forma de abanico”). Esta serie de mecanismos están compuestos por la lignificación de raíz, exudación de raíces, síntesis de etileno, ácidos orgánicos, peroxidasas, etc. Estos mecanismos hacen que la planta no manifieste los problemas en el crecimiento. Es por ello, sugieren que si se quiere determinar una tolerancia “real” de una planta al cadmio, se debe realizar ensayos de largo periodo de tiempo que puede ser de varios meses hasta años. Estos mecanismos explicados, probablemente han sido generados por los genotipos de cacao en la presente investigación, por lo que no se encontraron diferencias significativas del factor dosis de cadmio sobre la variable respuesta diámetro de tallo (mm).

Tabla 7: Diámetro de tallo (mm) en cada tratamiento al final del experimento

Genotipo	Dosis de Cd (ppm)			
	0	50	100	150
CCN-51	8.10	8.47	9.12	8.83
ICS-60	9.54	8.74	8.23	7.16
ICS-95	7.97	8.18	6.57	7.53
POUND-7	10.51	11.02	10.50	9.31
VRAE-99	6.06	8.16	6.78	6.23

Promedio de tres repeticiones, cada repetición conformada por cuatro plantas.
No hubo diferencias significativas para un $p = 0.05$.

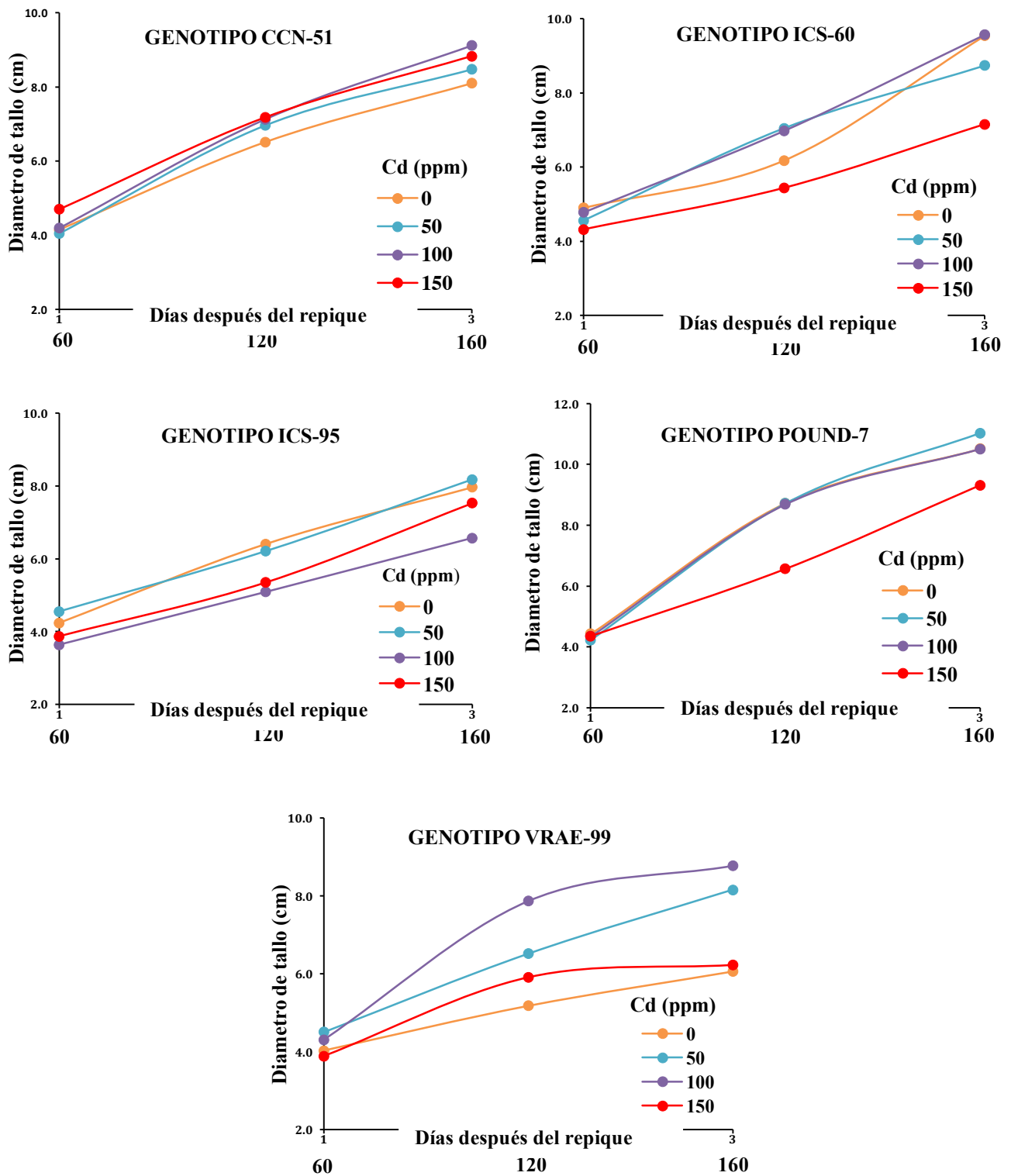


Figura 5: Comportamiento de la variable diámetro de tallo (mm) en cinco genotipos de cacao contaminados a dosis creciente de cadmio en diferentes momentos de evaluación.

4.1.3 Efecto de las dosis de cadmio en el número de hojas

En la Tabla 8 se presenta el número de hojas al finalizar el experimento a los 160 días después del repique y en la Figura 6 la tendencia observada en cada genotipo durante las tres evaluaciones efectuadas. En el anexo 3 se muestran los datos obtenidos en las dos evaluaciones previas a los 60 y 120 días después del repique (DDR).

En el análisis de varianza de la interacción de cinco genotipos de cacao (*Theobroma cacao* L.) con diferentes dosis de cadmio (ppm) para la variable respuesta número de hojas se observa que la interacción de los factores genotipo y dosis de cadmio resulta no significativa ($p = 0.313$), esto representa que no hay interacción entre los factores. En el análisis de varianza se observa que el factor dosis de cadmio resulta no significativa ($p=0.976$), lo cual indica que no hay un efecto significativo de las dosis de cadmio (ppm) sobre los genotipos de cacao para la variable respuesta número de hojas. Sin embargo, se pueden observar algunas tendencias para cada genotipo.

El número de hojas genotipo CCN-51 mostró la misma tendencia de la altura de planta; es decir, el tratamiento testigo fue el que mostró un menor número de hojas, siendo el tratamiento 150 ppm de cadmio (Tabla 8) el que tuvo el mayor número de hojas. El genotipo ICS-60 mostró un número de hojas similares en el tratamiento testigo y los tratamientos con 50 y 100 ppm de cadmio (Tabla 8), el menor número de hojas se obtuvo con el tratamiento 150 ppm de cadmio (Tabla 8). El genotipo ICS-95 en la primera evaluación (Anexo 3, Figura 6) el número de hojas fue similar en todos los tratamientos, en la segunda y tercera evaluación el número de hojas disminuye en el tratamiento con 150 ppm de cadmio; en la segunda evaluación (Anexo 3, Figura 6) es similar en los tratamientos testigo, 50 y 100 ppm; en cambio en la tercera evaluación (Tabla 8, Figura 6) el número de hojas tiende a aumentar en el tratamiento testigo. En el genotipo POUND-7 el número de hojas durante los tres momentos de evaluación sigue la misma tendencia siendo el tratamiento testigo el que mostró el menor número de hojas/planta, aparentemente esta variable fue favorecida por el incremento de cadmio en el sustrato. El genotipo VRAE-99 mostró el menor número de hojas/planta en los tres momentos de evaluación, los tratamientos que recibieron 50, 100 y 150 ppm mostraron una tendencia similar durante la primera y segunda evaluación en la tercera evaluación el número de hojas tiende a disminuir con el tratamiento más alto de cadmio.

En vista de los resultados obtenidos en este experimento, se puede inferir que la tasa de aparición de hojas (número de hojas) ante las dosis crecientes de contaminación con cadmio (tratamientos) no se afecta de manera significativa. Observándose que los genotipos ICS – 60 e ICS – 95 muestran una tendencia a emitir un menor número de hojas ante un incremento en la dosis de contaminación de cadmio. Esto coincide con lo mencionado por Rehman *et al.* (2011) que determinó una correlación negativa entre una alta dosis de cadmio y el número de hojas en el cultivo de tomate. Sin embargo, llegó a concluir que se llega a notar un mayor efecto sobre el área foliar.

Tabla 8: Número de hojas/planta en cada tratamiento al final del experimento.

Genotipo	Dosis de Cd (ppm)			
	0	50	100	150
CCN-51	17.5	18.8	21.0	20.0
ICS-60	20.6	19.0	20.1	16.6
ICS-95	21.1	16.7	13.6	18.1
POUND-7	23.4	25.7	25.4	24.4
VRAE-99	14.4	17.4	18.8	17.0

Promedio de tres repeticiones, cada repetición conformada por cuatro plantas.
No hubo diferencias significativas para un $p = 0.05$.

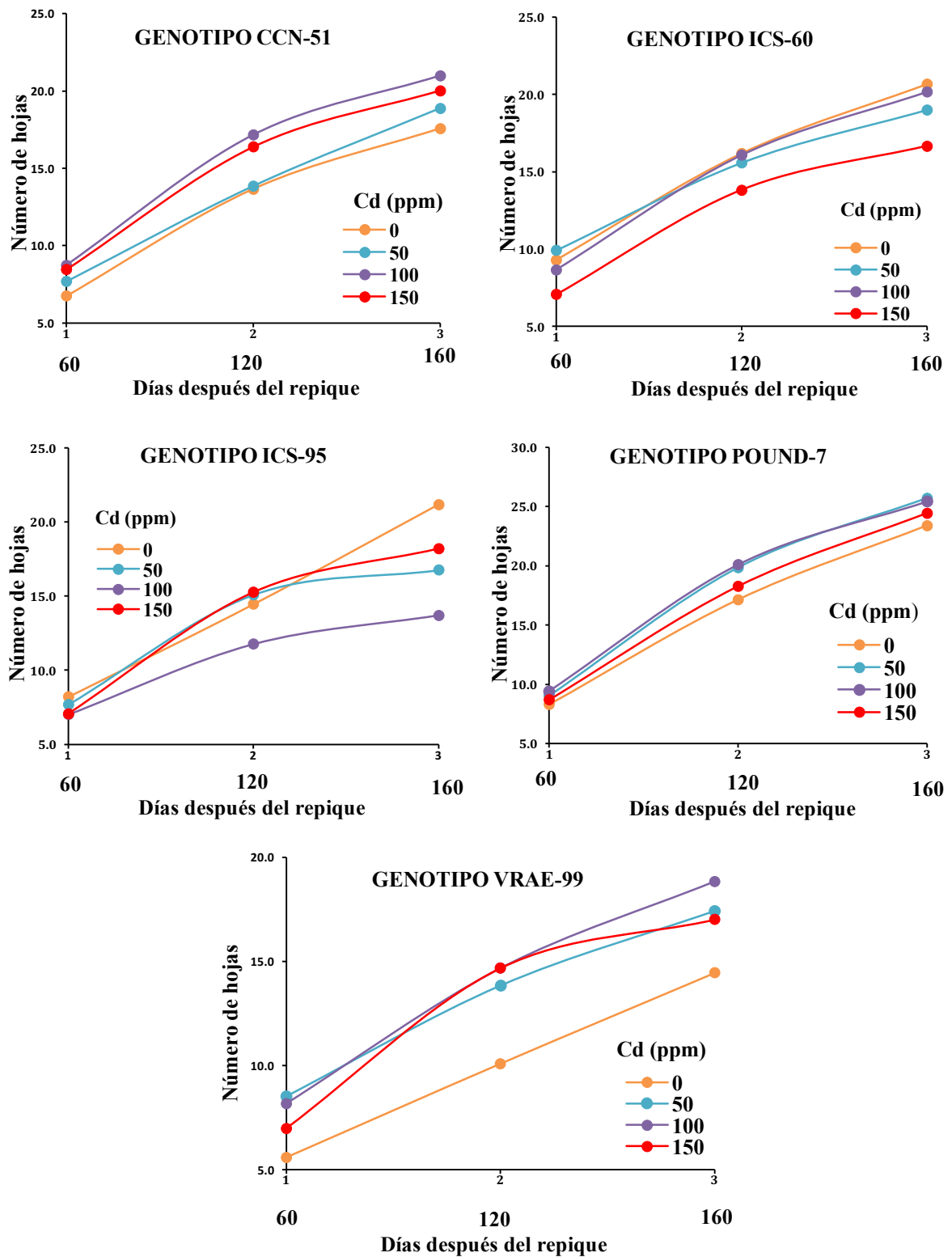


Figura 6: Comportamiento de la variable número de hojas en cinco genotipos de cacao contaminados a dosis creciente de cadmio en diferentes momentos de evaluación.

4.1.4 Efecto de las dosis de cadmio en la longitud de raíces

En la Tabla 9 se presenta la longitud de raíces (la más larga) al finalizar el experimento a los 160 días después del repique y en la Figura 7 se observa gráficamente el efecto de las dosis de cadmio sobre la longitud de raíces.

En el análisis de varianza de la interacción de cinco genotipos de cacao (*Theobroma cacao* L.) con diferentes dosis de cadmio (ppm) para la longitud de raíces se observa que la interacción de los factores genotipo y dosis de cadmio resulta no significativa ($p = 0.088$), esto indica que no hay interacción entre los factores. En el análisis de varianza también se observa que el factor dosis de cadmio resulta no significativa ($p=0.233$), lo cual indica que no hay un efecto significativo de las dosis de cadmio (ppm) sobre los genotipos de cacao para la longitud de raíces (cm). Sin embargo, se pueden observar algunas tendencias para cada genotipo.

En esta variable, también se pueden observar tendencias inconstantes. La longitud de raíz de los genotipos ICS-60, ICS-95 y POUND-7 tiende a disminuir conforme las dosis de cadmio va en aumento, comparado con el tratamiento control (testigo). Esto coincide con lo mencionado por Rehman *et al* (2011) que concluye que las variables de crecimiento tales como longitud de raíces y altura de planta en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* cv. Navodaya) solo es afectado cuando las concentraciones de cadmio son altas. Por otro lado, las raíces de los genotipos CCN-51 y VRAE-99 aumentan su longitud conforme las dosis de cadmio se acrecentan; siendo este aumento menos significativo en el genotipo CCN-51 (Tabla 9, Figura 7). Cuando se observa de manera general los resultados de las cuatro variables de crecimiento, se observa una tendencia más sostenida en el genotipo VRAE-99 en las que se encontró los menores tamaños de altura de planta, número de hojas y diámetro de tallo como se observa de las Figuras 4, 5 y 6 y Tablas 6, 7 y 8. La importancia de la determinación de estas variables crecimiento precedentes permiten cuantificar en términos estadísticos los mecanismos ecofisiológicos que determinan la acumulación de biomasa (Benedetto y Tognetti, 2016).

En resumen, se obtiene que no hay un efecto significativo de las dosis de cadmio sobre los genotipos para ninguna de las variables de crecimiento mencionadas (altura de planta, diámetro de tallo, número de hojas y longitud de raíces) corroborando a Stacey *et al.*, (2010)

quienes señalan que el cadmio es uno de los oligoelementos que se acumula en las plantas en concentraciones que podrían potencialmente causar toxicidad animal pero que no tienen ningún efecto sobre el crecimiento de las plantas. Por otro lado, al observar el análisis de varianza de las variables de crecimiento (Anexos 7, 8, 9 y 10) se puede encontrar diferencias significativas entre los genotipos, independientemente de las dosis de cadmio. Sin embargo, esto difiere del objetivo de la presente investigación (para las variables de crecimiento) que es observar el efecto que genera las dosis de cadmio en los genotipos de cacao (*Theobroma cacao* L.).

Tabla 9: Longitud de raíces (cm) en cada tratamiento al final del experimento.

Genotipo	Dosis de Cd (ppm)			
	0	50	100	150
CCN-51	28.49	31.21	29.68	30.26
ICS-60	33.17	32.26	28.79	27.60
ICS-95	31.65	28.48	29.35	25.99
POUND-7	33.42	32.02	30.51	27.82
VRAE-99	22.35	27.01	26.81	28.45

Promedio de tres repeticiones, cada repetición conformada por cuatro plantas.
No hubo diferencias significativas para un $p = 0.05$

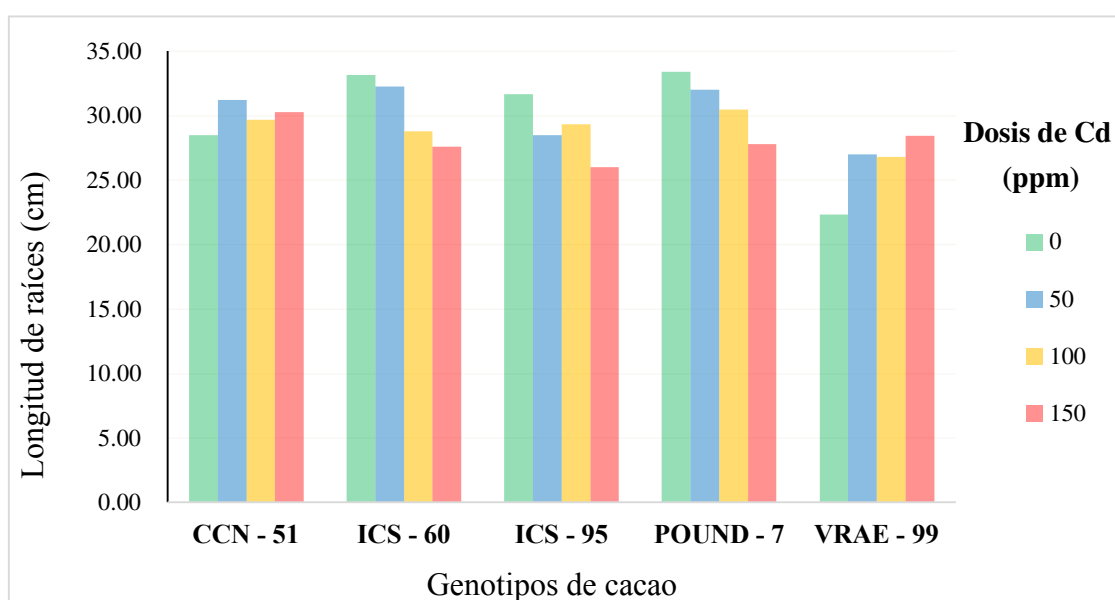


Figura 7: Comportamiento de la variable longitud de raíz (cm) en cinco genotipos de cacao contaminados a dosis creciente de cadmio.

4.1.5 Efecto de las dosis de cadmio en el peso fresco

Según Benedetto y Tognetti (2016), el crecimiento es definido generalmente como un incremento irreversible de las dimensiones de la planta y en condiciones de turgencia plena, el peso fresco es un buen estimador del volumen, ya que, en general las variaciones en el peso específico de los tejidos vegetales son bajas, esto sucede debido a que el agua es el principal componente en casi todos los órganos y tejidos. Sin embargo, el análisis clásico del crecimiento se centra en la acumulación de peso seco, pero este no estima bien el volumen, debido a que los tejidos pueden experimentar variaciones en su contenido porcentual de materia seca, ya que una proporción importante de los foto-asimilados almacenados en una célula pueden ser transitorios. La importancia del análisis de la biomasa fresca en los cultivos radica en la determinación cuantitativa del contenido de agua presente en la planta (Benedetto y Tognetti, 2016).

En la Tabla 10 se presentan los resultados obtenidos al finalizar el experimento, y en la Figura 8 se puede observar el comportamiento que presenta cada genotipo para el peso fresco en respuesta a una contaminación con dosis creciente de cadmio.

En el análisis de varianza de la interacción de cinco genotipos de cacao (*Theobroma cacao* L.) con diferentes dosis de cadmio (ppm) para la variable respuesta peso fresco, se observa que la interacción de los factores genotipo y dosis de cadmio resulta altamente significativa ($p=0.00007$), esto representa que hay interacción entre los factores. En el análisis de varianza también se observa que el factor dosis de cadmio resulta significativa ($p=0.0198$), lo cual indica que hay un efecto significativo sobre alguno de los genotipos de cacao para la variable respuesta peso fresco. Se realizó un análisis de los efectos simples de los factores (Anexo 14), y el resultado indica que hay un efecto significativo de las dosis de cadmio (ppm) en los genotipos ICS-95 y POUND-7. A continuación se detallará los resultados obtenidos del experimento para esta variable respuesta.

La acumulación de biomasa fresca de hojas (BFH), se presenta en la Figura 8A y en el Anexo 4, donde se observa que los máximos valores correspondieron al POUND-7, confirmando el buen vigor de este genotipo respecto a los otros. En este genotipo, los tratamientos con 50, 100 y 150 ppm tuvieron mayor BFH con respecto al tratamiento testigo, sin embargo; en los tratamientos con 100 y 150 ppm de cadmio, los valores del peso fresco tienden a

disminuir ligeramente. En CCN-51, la acumulación de la BFH aumentó conforme se incrementaron los niveles de cadmio; lo mismo ocurrió con el genotipo VRAE-99; sin embargo, la BFH fue bajo comparado con los otros genotipos (Figura 8A y Anexo 4). En cambio, los valores obtenidos de BFH en los genotipos ICS-60 y ICS-95 disminuyeron ligeramente conforme aumentaron los niveles de cadmio, comparados con el tratamiento testigo que tuvo los valores más altos (Figura 8A y Anexo 4).

La acumulación de biomasa fresca del tallo (BFT), se presenta en la Figura 8B y Anexo 4. En CCN-51, se encontraron valores ligeramente superiores al tratamiento testigo cuando los niveles de cadmio aumentaron, obteniéndose la mayor acumulación con 50 ppm y una ligera disminución cuando se usó 100 y 150 ppm. En el genotipo ICS-60 la acumulación de la BFT aumentó ligeramente en los tratamientos 50 y 100 ppm de cadmio y disminuyó con el tratamiento de 150 ppm de cadmio, todos respecto al tratamiento testigo. El genotipo ICS-95 mostró una menor acumulación de BFT cuando se aplicó cadmio al sustrato, por lo tanto, la acumulación de BFT fue mayor en el tratamiento testigo. Sin embargo, con la dosis más alta de cadmio la biomasa del tallo aumentó respecto al tratamiento con 100 ppm de cadmio (Figura 8B y Anexo 4). El genotipo POUND-7, mostró los máximos valores de acumulación de la BFT, aumentando conforme los niveles de cadmio subieron y fueron superiores al testigo (Figura 8B y Anexo 4). El genotipo VRAE-99, también mostró una mayor acumulación del BFT conforme se incrementó el cadmio, pero es el genotipo que tuvo la menor BFT.

La biomasa fresca de raíces (BFR), se muestra en la Figura 8C y Anexo 4. Donde se observa de manera general en todos los genotipos, una tendencia a la disminución de la BFR con el aumento del cadmio, con excepción del POUND-7. El genotipo CNN-51 mostró un aumento de acumulación de la BFR con los tratamientos 50 y 100 ppm de sustrato siendo ligeramente superior al testigo y sufrió una disminución con la dosis más alta de cadmio (150 ppm de Cd), siendo esta menor que el tratamiento testigo. El genotipo ICS-60 muestra una disminución sostenida de la BFR cuando los niveles de cadmio aumentaron. El genotipo ICS-95 mostró la misma tendencia que el genotipo ICS-60 (Figura 8C y Anexo 4). El genotipo POUND-7 mostró un aumento ligero de la BFR con el incremento de la concentración de cadmio; sin embargo, al final el valor de la BFR fue casi similar al del tratamiento testigo. En el genotipo VRAE-99, se reportó un aumento de la BFR conforme

aumentó los niveles de cadmio; pero disminuyó ligeramente con 150 ppm de cadmio. En este caso, todos los tratamientos con cadmio fueron superiores al tratamiento control.

Los resultados del peso fresco total (PFT) que viene a ser la suma de la biomasa fresca de hojas, tallos y raíces (Figura 8D y Tabla 10). En el tratamiento testigo se observa que el genotipo que tuvo mayor peso fresco fue POUND-7. Afirmando el buen vigor que presenta POUND – 7, seguido por el genotipo ICS – 95. Como se mencionó anteriormente, se encontró diferencias significativas de las dosis de cadmio sobre los genotipos ICS-95 y POUND-7 para la variable respuesta peso fresco. En el genotipo ICS-95, las diferencias significativas se dan a partir de la dosis 100 ppm de cadmio en comparación con las dosis de 0 y 50 ppm (Tabla 10). Mientras que para el genotipo POUND-7 las diferencias significativas se notan a partir de la dosis de 50 ppm de cadmio. Sin embargo, al contrario del genotipo ICS-95, el genotipo POUND-7 tiende a incrementar el peso fresco cuando las dosis de cadmio se acrecentan (Tabla 10). La acumulación de biomasa aérea y radicular; está en función de la oferta agroclimática sobre la planta-cultivo que determina la producción de fotoasimilados. Luego, la distribución dentro de la planta, son procesos modificados por el funcionamiento endógeno de la planta y que pueden ser adecuadamente cuantificados por los estimadores de crecimiento (Benedetto y Tognetti, 2016).

Tabla 10: Efecto de dosis crecientes de cadmio en el peso fresco (g) de cinco genotipos de cacao.

Genotipo	Dosis de Cd (ppm)			
	0	50	100	150
CCN-51	45.7	56.0	60.3	60.0
ICS-60	55.4	55.0	49.9	40.0
ICS-95	56.2a	55.4a	33.9b	37.7b
POUND-7	80.5c	102.9d	101.4d	101.1d
VRAE-99	27.6	38.1	39.8	40.3

Promedio de tres repeticiones, cada repetición conformada por cuatro plantas. Prueba de Tukey ($p = 0.05$), letras diferentes indican diferencia significativa del factor dosis en los genotipos de cacao.

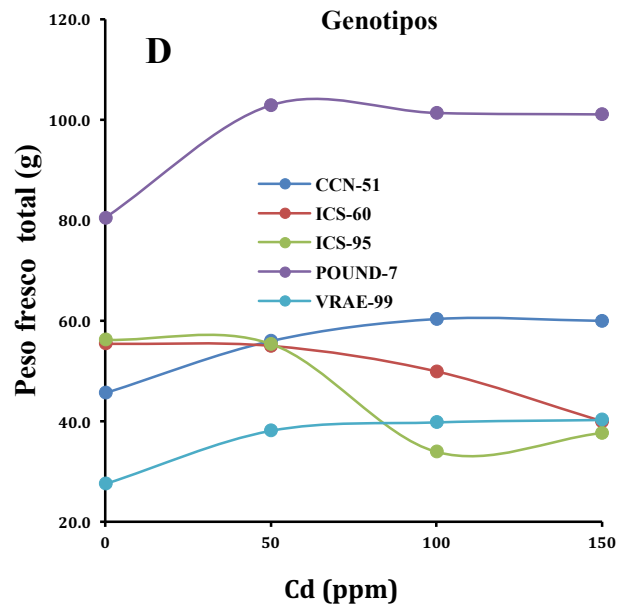
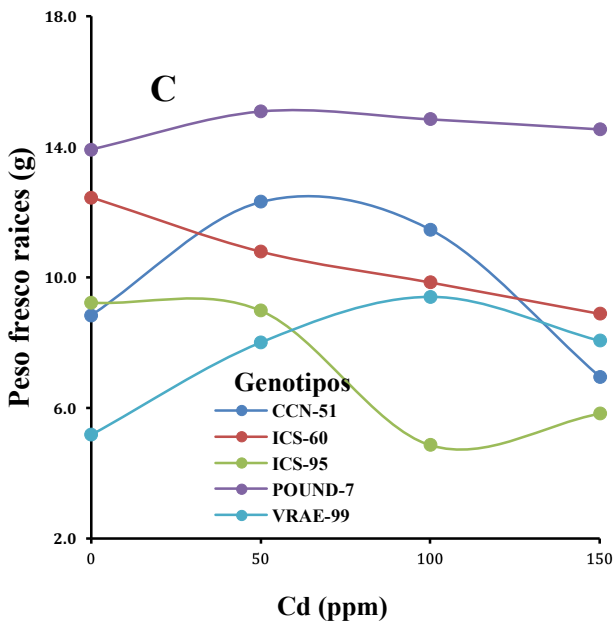
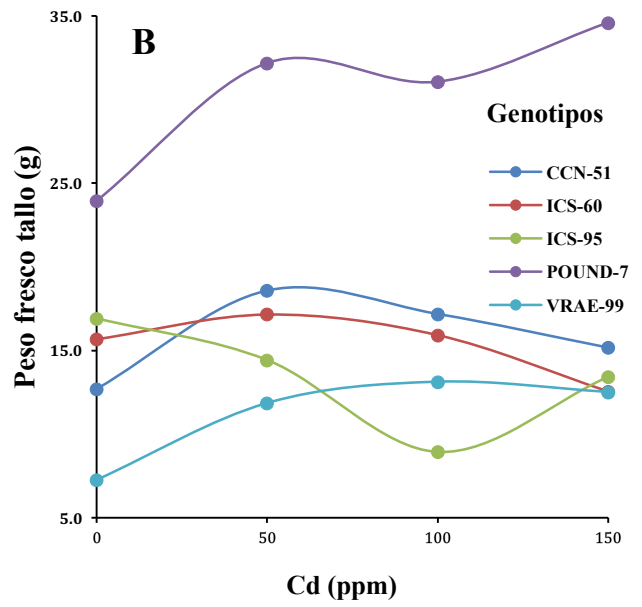
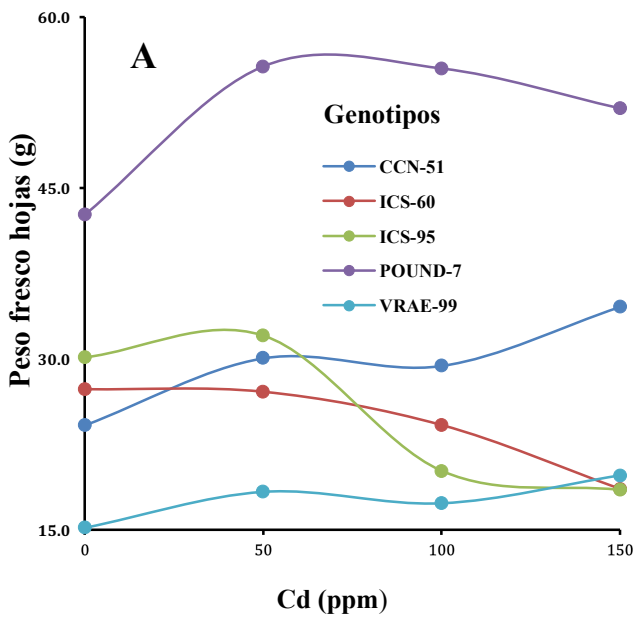


Figura 8: Biomasa fresca (g) de hojas (A), tallo (B), raíz (C) y total (D) de cinco genotipos de cacao en respuesta a dosis crecientes de cadmio en condiciones de vivero.

4.1.6 Efecto de las dosis de cadmio en el rendimiento de materia seca

En los resultados del análisis de varianza para el efecto de las dosis de cadmio aplicadas y de los genotipos estudiados en el rendimiento de materia seca, se observa que las diferencias dentro de cada uno de estos factores en estudio fueron altamente significativas ($p < 0.01$), así como para la interacción dosis por genotipo.

El cadmio tuvo efecto significativo en reducir el peso de la materia seca total en el genotipo ICS-95 a dosis de 100 y 150 ppm, efecto variable en el genotipo ICS-60 en el cual sólo la dosis alta de 150 ppm redujo significativamente el rendimiento de materia seca, mientras que no se encontraron efectos significativos en los genotipos CCN-51 y VRAE- 99 (Tabla 11). En cambio, el genotipo POUND-7 manifestó un efecto positivo ante las dosis de 50 y 150 ppm de cadmio (Tabla 11).

Las diferencias observadas en el efecto de las dosis de cadmio en cada genotipo pueden deberse a la tolerancia propia de cada genotipo al cadmio. Los genotipos susceptibles corresponden al grupo de cacao seleccionado en Trinidad (ICS). En cambio, los genotipos que no son afectados tienen menor crecimiento (medido por la menor materia seca producida). Por otro lado, POUND-7 tiene un crecimiento mucho mayor y la “respuesta positiva” es irregular, evidenciada por la prueba de Tukey; puede deberse al mayor vigor manifestado por este genotipo con respecto a los otros cuatro (ejemplo, en el testigo sin cadmio produjo entre 15 y 140% más materia seca que los otros genotipos). Para explicar los resultados con mayor detalle, se discute la respuesta observada en hojas, tallo y raíces que se presentan en los siguientes párrafos.

La acumulación de la materia seca de hojas (MSH), tallos (MST), raíces (MSR) y el total (PST) se presenta en la Figura 9 y Anexo 5. Se observa que en cada uno de los genotipos de cacao estudiados, los parámetros que más influyeron sobre la materia seca (MS) de las plantas fueron las hojas y el tallo, un incremento de estas dos variables conlleva a un aumento de la materia seca de las plantas. También existen un conjunto de factores inherentes a la planta que influyen notablemente en la producción de materia seca entre los que se encuentran la edad, la distribución de foto-asimilados, la variedad, los contenidos hídricos y nutritivos. Aunque las plantas no requieren cadmio para su crecimiento y desarrollo, el índice de bioacumulación de cadmio en las plantas cultivadas supera a todos los demás elementos traza (Kabata-Pendias y Pendias, 2000; Bingham *et al.* 1975; Kuboi *et al.* 1986).

El peso de la materia seca de hojas (MSH), se presenta en la figura 9A y se observa que en la mayoría de genotipos (CCN-51, ICS-60, ICS-95 y VRAE-99) hubo una disminución de la MSH cuando los niveles de cadmio aumentaron. Los pesos del tratamiento testigo, fueron muy similares a los encontrados con 50 ppm de cadmio y mayores a los reportados con 100 y 150 ppm de cadmio. La excepción fue el POUND-7, que tuvo una respuesta diferente, en este caso, los pesos de MSH fueron mayores cuando se aplicó cadmio, alcanzando un mayor peso con 50 ppm, disminuyó con 100 ppm y aumentó con 150 ppm de cadmio. El peso de la materia seca del tallo (MST) se presenta en la figura 9B y Anexo 5. En este caso, el genotipo CCN-51 mostró un ligero aumento de la MST cuando los niveles de cadmio aumentaron y presenta una respuesta lineal. Un comportamiento similar mostró el genotipo ICS-60, sin embargo, con la dosis más alta de cadmio, disminuyó ligeramente respecto a las dosis de 50 y 100 ppm y en comparación con el tratamiento control. Por el contrario el ICS-95 mostró una disminución de la MST con los tres dosis de contaminación con cadmio (50, 100 y 150 ppm) en comparación con el tratamiento control, pero con la dosis más alta de cadmio, la MST aumentó ligeramente respecto a los niveles bajo y medio de cadmio (50, 100 ppm). El genotipo POUND-7, mostró un aumento de la MST con 50 ppm de cadmio respecto al testigo, para disminuir con los tratamientos de 100 y 150 ppm, pero con una tendencia a aumentar con la última dosis. Finalmente, el genotipo VRAE-99 aumentó la MST con las primeras dosis de cadmio; pero bajó con 150 ppm. Un comportamiento similar al observado en el genotipo ICS-60. El peso de la materia seca de las raíces (MSR), se presenta en la Figura 9C y Anexo 5. El genotipo CCN-51 mostró un ligero aumento de la MSR en los tratamientos 50 y 100 ppm de cadmio; pero disminuyó con la dosis más alta, llegando a tener un MSR menor al testigo. El genotipo ICS-60 tuvo una disminución del peso de la MSR con los tres niveles de cadmio (50, 100, 150 ppm), respecto al tratamiento control. El genotipo ICS-95 mostró los menores pesos de MSR respecto a los otros genotipos y el peso disminuyó con el aumento del cadmio, respecto al tratamiento control. El POUND-7, alcanzó los mayores pesos de MSR con 50 y 150 ppm de cadmio, pero con la dosis intermedia, el peso de la MSR fue prácticamente similar al del tratamiento testigo. El genotipo VRAE-99 mostró una tendencia similar al genotipo CCN-51, pero alcanzó pesos menores de MSR (Figura 9C y Anexo 5).

El peso de la materia seca total (PST) es la suma de las materias secas de hojas, tallos y raíces (Figura 9D y Tabla 11) y se observa el efecto de las dosis crecientes de cadmio sobre los genotipos de cacao. En la Tabla 11 se muestran las diferencias significativas del factor

dosis sobre los genotipos ICS-60, ICS-95 y POUND-7. Se tiene que el POUND-7 muestra los valores más altos de PST, comparados con los otros genotipos, pero la respuesta es irregular con respecto a dosis crecientes de cadmio. A la dosis de 50 y 150 ppm de cadmio, presenta los mayores valores de peso seco, incluso con diferencias significativas sobre las dosis de 0 y 100 ppm. Esto se debe a la influencia que tiene la MSH en el PST, en ambos casos, las curvas son prácticamente similares. Para el genotipo ICS-60 se encuentra un efecto altamente significativo sobre el peso seco cuando las dosis de cadmio son elevadas (150 ppm). Mientras que para el genotipo ICS-95, el efecto altamente significativo se encuentra a partir de la dosis 100 ppm.

En resumen, la planta de cacao tiende a presentar menor materia seca a altas concentraciones de cadmio (a excepción del genotipo POUND-7). Esto coincide con lo mencionado por Rehman *et al.* (2011) al encontrar diferencias significativas de altas concentraciones de cadmio (>40 ug) sobre la materia seca en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* cv. Navodaya). Al igual que en altura de planta, diámetro de tallo, número de hojas y longitud de raíces; para estas variables (peso fresco y materia seca) el objetivo es determinar el efecto que genera las dosis de cadmio sobre los genotipos. Por otro lado, las diferencias estadísticamente significativas observadas en el rendimiento de materia seca al final del experimento, en contraposición a la falta de significación estadística observada para los parámetros altura de planta, diámetro de tallo, número de hojas y longitud de raíces, indican que estos tres últimos no son buenos indicadores del efecto de la aplicación del cadmio en el crecimiento de la planta.

Tabla 11: Efecto de dosis crecientes de cadmio en el peso de materia seca (g) de cinco genotipos de cacao.

Genotipo	Dosis de Cd (ppm)			
	0	50	100	150
CCN-51	12.3	12.29	12.90	10.57
ICS-60	12.2ab	13.24a	12.22ab	9.36b
ICS-95	14.2c	13.09c	7.75d	8.41d
POUND-7	16.3g	26.89e	17.69g	21.34f
VRAE-99	6.7	8.65	9.41	5.92

Promedio de tres repeticiones, cada repetición conformada por cuatro plantas. Prueba de Tukey ($p = 0.05$), letras diferentes indican diferencia significativa del factor dosis en los genotipos de cacao.

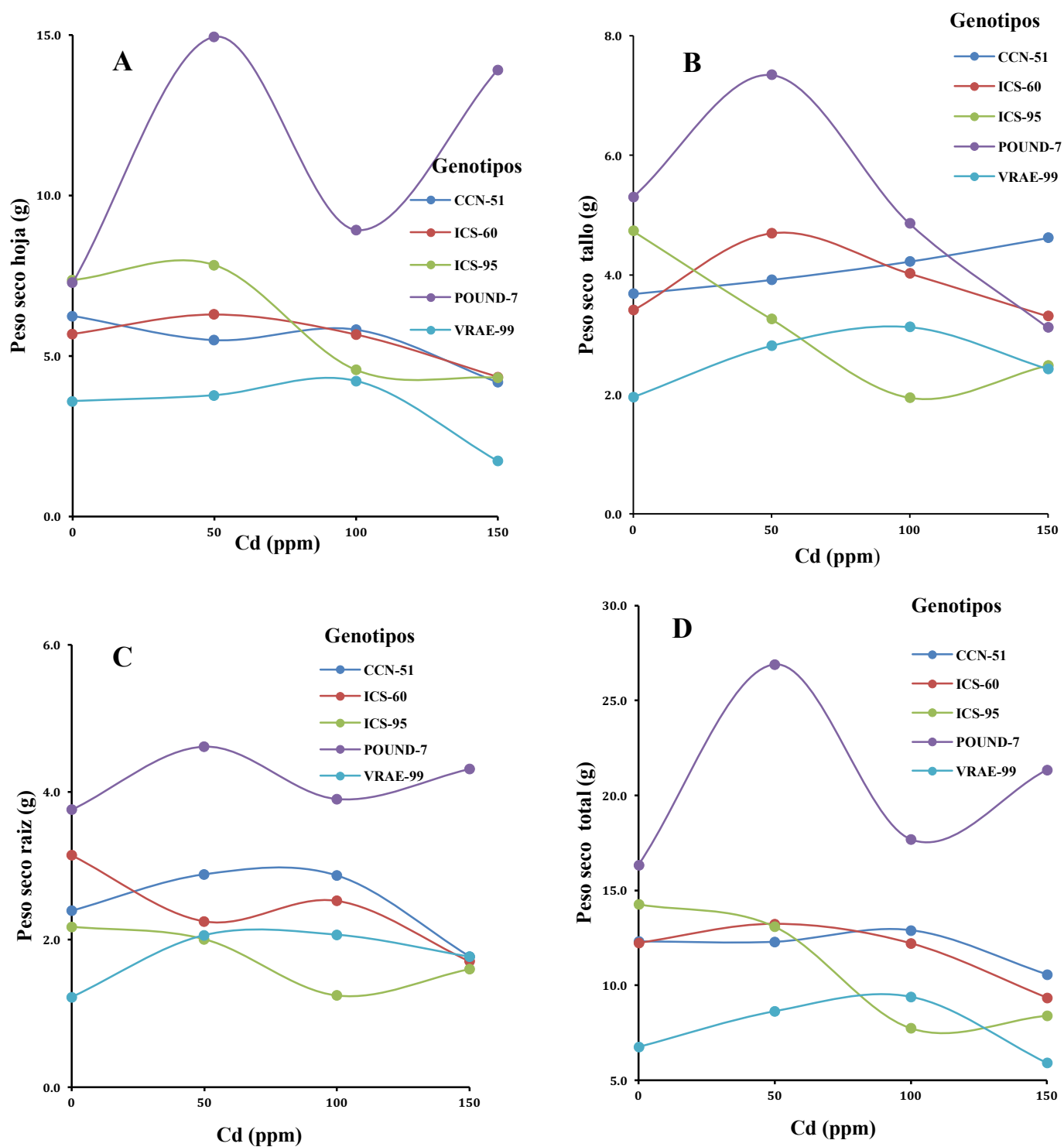


Figura 9: Peso seco promedio de hoja (A), tallo (B), raíz (C) y peso seco total (D) de cinco genotipos de cacao en respuesta a dosis creciente de cadmio en condiciones de

4.2 EFECTO SOBRE LA CONCENTRACION DEL CADMIO EN LA PLANTA

4.2.1 Análisis del contenido de cadmio en los genotipos de cacao

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

En la Tabla 12 se presentan los resultados obtenidos del contenido de cadmio de los cinco genotipos estudiados en la presente investigación. Se encontró que la alta dosis de cadmio contribuyó a su alta concentración en la planta. Como señalan Grant *et al.*, (1998) la cantidad de cadmio acumulada y traslocada en las plantas varía con las especies y con los cultivares, dentro de las especies. Los factores del suelo, ambientales y de manejo impactan en la cantidad de cadmio acumulado en las plantas (Shacklette, 1972); muchas investigaciones, señalan que la disminución del pH del suelo conduce a una mayor concentración de cadmio en las plantas, siempre que otras propiedades del suelo permanezcan sin cambios (Kirkham, 2006; Singh y Myhr, 1998). Al respecto, Choudhary *et al.*, (1995) señalan que entre los factores responsables de la acumulación de cadmio se encuentran el cadmio disponible, el pH y el carbono orgánico en el suelo. Para Rodríguez *et al.*, (2017), la biodisponibilidad del cadmio para la planta depende de factores físicos, químicos y biológicos que modifican su solubilidad y el estado del metal en el suelo.

En el análisis de varianza de la interacción de cinco genotipos de cacao (*Theobroma cacao* L.) con diferentes dosis de cadmio (ppm) para la variable respuesta contenido de cadmio, se observa que la interacción de los factores genotipo y dosis de cadmio resulta altamente significativa ($p=0.00002$), esto representa que hay interacción entre los factores. En el análisis de varianza también se observa que el factor dosis de cadmio y el factor genotipo resultan altamente significativos ($p=0.00002$), lo cual indica que hay un efecto significativo

para ambos factores. En esta ocasión, el objetivo para esta variable respuesta es analizar si alguno de los genotipos presenta menos concentración de cadmio. Por ello, se realizó un análisis de los efectos simples del factor genotipo con el factor principal dosis de cadmio (Anexo 16). Este resultado indica que hay un efecto significativo entre todos los genotipos a las diferentes dosis de cadmio evaluadas (a excepción del testigo). A continuación, se detallará los resultados obtenidos del experimento para esta variable de respuesta.

En la dosis de 50 ppm de cadmio, los genotipos que mostraron mayor contenido de cadmio en su composición fueron CCN-51 y ICS-60 (sin diferencias significativas entre los dos), mientras que el genotipo con menor contenido fue el genotipo POUND-7; mostrando diferencias altamente significativas con los demás genotipos (Tabla 12). Las tendencias cambian en la dosis de 100 ppm de cadmio, ya que el genotipo ICS-95 es el que presenta mayor contenido de cadmio en su composición, seguido por POUND-7, VRAE-99, CCN-51 y ICS-60; respectivamente. En este nivel del factor dosis (100 ppm) hubo diferencias altamente significativas entre todos los genotipos, excepto entre CCN-51 y ICS-60 (Tabla 12). En el último nivel de dosis de cadmio (150 ppm), el genotipo que presenta mayor contenido de cadmio fue POUND-7, seguido por ICS-60, ICS-95, VRAE-99 y CCN-51, respectivamente. En este nivel de dosis de cadmio (150 ppm) hubo diferencias altamente significativas entre todos los genotipos, excepto entre ICS-60 y ICS-95 (Tabla 12). Por ello, se puede inferir que el genotipo POUND-7 es el que presenta más cadmio en su composición total, sin embargo, es importante analizar el comportamiento de cada genotipo. Esto se debe a que cuando se analizó el contenido de cadmio en las hojas en los genotipos; CCN-51 reportó los niveles más altos y varió desde 0.01 hasta 5.32 mg de cadmio/100 g de materia seca (ms), para el testigo y el tratamiento con la dosis más alta de cadmio (150 ppm), respectivamente. El menor contenido correspondió al POUND-7, en la que se registró valores de 0.02, 1.56, 2.17 y 3.56 mg de cadmio/100 g de ms para las dosis de 0, 50, 100 y 150 ppm de cadmio, respectivamente (Anexo 6). El contenido en las raíces, fue mayor comparado con las hojas, pero también varía según el genotipo. En el CCN-51 se reportó los niveles más bajos y varió desde 0.04 hasta 12.46 mg de cadmio/100 g de materia seca (ms), para el testigo y el tratamiento con la dosis más alta de cadmio (150 ppm), respectivamente. El mayor contenido correspondió al POUND-7, en la que se registró valores de 0.04, 4.56, 17.61 y 32.15 mg de cadmio/100 g de ms para las dosis de 0, 50, 100 y 150 ppm de cadmio, respectivamente (Anexo 6).

Es importante notar el contenido diferenciado de cadmio entre los genotipos estudiados. Comparando el nivel de cadmio encontrado en las plantas testigo (0 ppm), con las que recibieron la mayor dosis (150 ppm), se encontró que en el ICS-60 acumuló 247 veces más cadmio que el testigo, lo sigue el CCN-51 con 355 veces más, VRAE-99 con 501 veces más, POUND-7 con 595 veces más, todos valores menores que el ICS-95 que acumuló 815 veces más de cadmio. Resultados similares fueron reportados por otros autores en otros cultivos (Stritsis y Claassen, 2013). Castro *et al.* (2015), reportaron absorción diferenciada de cadmio entre genotipos de cacao, al igual que Chupillon-Cubas *et al.*, (2017), cuando estudiaron seis genotipos de cacao como patrones. En otros cultivos como el trigo la acumulación aparente de cadmio en la raíz y en las hojas de cadmio aplicado al suelo, mostró una tendencia dependiente de la concentración de cadmio en el suelo (Lyubka *et al.*, 2008). Por su parte Gramlich *et al.*, (2017) indican que el efecto del cultivar puede explicarse por capacidades específicas de absorción o por un efecto de crecimiento que se traduce en diferentes tasas de absorción.

En general, todos los genotipos presentan una mayor acumulación de cadmio en las raíces, sin embargo; es importante señalar que algunos autores reportan un mayor contenido de cadmio en la parte aérea de la planta comparado con las raíces (Chupillon-Cubas *et al.*, 2017), probablemente porque consideraron el contenido en hojas y tallos. Pero a pesar del alto contenido de cadmio en las raíces de cacao, esta tiene una alta capacidad de migración y aparentemente se trasloca rápidamente de un órgano a otro (Seth *et al.*, 2012). Estos resultados también mostrarían en forma indirecta la alta movilidad del cadmio en el suelo, en la planta y su fácil absorción por las plantas, el cacao presenta una alta predisposición para absorber Cd^{++} (Rebekic y Loncaric, 2016; Gramlich *et al.*, 2017; Gramlich *et al.*, 2018). El sustrato usado en este experimento fue adecuado para el crecimiento de las plantas, además de la alta concentración del elemento estudiado. Das *et al.*, (1997); Chlopecka *et al.*, (1996) y Grant *et al.*, (2010), señalan que la absorción y distribución de cadmio dentro de la planta depende del tipo de suelo. En este ensayo, el sustrato tuvo un pH de 6.9, pero el pH alto del suelo no siempre reduce la absorción de Cd por las plantas (Eriksson, 1990; Das *et al.*, 1997; MaLaughlin *et al.*, 1996). La Tabla 13 muestra claramente la alta tasa de acumulación de cadmio en las plantas; pero estas no mostraron síntomas evidentes de fitotoxicidad y crecieron adecuadamente.

En resumen, los datos indican que existe un comportamiento diferenciado en los genotipos. A pesar que el POUND-7 es un genotipo que extrae mayor cantidad de cadmio, no es eficiente para traslocarlo hacia la parte aérea, lo cual resulta un comportamiento favorable ya que se evitará su posterior traslocación hacia la mazorca de cacao. Por otro lado, el genotipo CCN-51 presenta el menor contenido de cadmio en la planta, sin embargo; presenta el mayor contenido en las hojas comparado con los otros genotipos, afirmando así; su gran eficiencia para traslocar el cadmio hacia la parte aérea. Por otro lado, se puede inferir que el cadmio en la planta de cacao (*Theobroma cacao* L.) se encuentra en mayor cantidad en la zona radicular. Finalmente, el sustrato fue adecuado para el crecimiento de las plantas y para la absorción, confirmando así que el pH alto del suelo (6.9) no siempre reduce la absorción de Cd por las plantas, aunque dependerá mucho de su concentración en el suelo (Eriksson, 1990; Das *et al.*, 1997; MaLaughlin *et al.*, 1996).

Tabla 12: Contenido de cadmio en cinco genotipos (raíces + parte aérea) al final del experimento (mg/100g m.s.).

Genotipo	Dosis de Cd (ppm)			
	0	50	100	150
CCN-51	0.05	11.73a	14.49fg	17.78k
ICS-60	0.10	12.27a	13.93g	24.71i
ICS-95	0.03	8.48b	21.04d	24.45i
POUND-7	0.06	6.12c	19.77e	35.70h
VRAE-99	0.04	7.56b	15.15f	20.04j

Promedio de tres repeticiones, cada repetición conformada por cuatro plantas. Prueba de Tukey ($p = 0.05$), letras diferentes indican diferencia significativa del factor dosis en los genotipos de cacao.

Tabla 13: Contenido de cadmio en hojas y raíces de cacao según la dosis empleada en el ensayo.

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

4.2.2 Análisis de la concentración de cadmio en el sustrato

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

Como se ha señalado anteriormente, el sustrato estuvo compuesto por tierra de una plantación de cacao + guano de ovino + arena (en una proporción 3:2:1), sus características físico químicas al inicio y al final del experimento, se presentan en la Tabla 14. Corresponde a la clase textural de arena franca, con predominancia de arena y baja en arcilla; un sustrato suelto y de buena aireación. Las propiedades químicas, muestran un pH neutro; la materia orgánica está en niveles altos, aumenta de 4.1 % a 6.8 %, en tratamiento control, pero tiene a disminuir con las dosis crecientes de cadmio. El contenido de P (ppm) en general es muy alto, eso se debe probablemente a la fertilización con 100 mg/kg de P_2O_5 , pero esta disminuye conforme las dosis de cadmio aumentan desde 131 ppm en el sustrato inicial, 100.4 ppm en el tratamiento control a 86.2, 84.9 y 85.0 en los tratamientos que llevaron cadmio. El K disponible en el sustrato al inicio es alto, con una tendencia similar que el P, que disminuye con la adición del cadmio. El suelo usado para la preparación del sustrato se colectó de 0-15 cm de profundidad donde se encuentran las mayores concentraciones de cadmio en las zonas cacaoteras (Huauya y Huamani, 2014; Huamani *et al.*, 2012; Chávez *et al.*, 2015; Arévalo *et al.*, 2017; Barraza *et al.*, 2017; Tantalean y Huayhua, 2017). En este caso el análisis inicial de cadmio en el suelo mostró un contenido bajo (0.42 ppm) de este elemento y el análisis de cadmio residual mostró contenidos altos de cadmio, los cuales están relacionados directamente con la dosis de cadmio aplicado al sustrato al inicio del experimento. A excepción de los tratamientos testigo (en las que no se adiciona cadmio) los niveles encontrados fueron bajos como se observa en la Tabla 15.

Entre los diversos parámetros del suelo que afectan la disponibilidad de cadmio, está la reacción del suelo, el pH es considerado como el más importante (Chávez *et al.*, 2015) y muchas investigaciones señalan que la disminución del pH del suelo conduce a una mayor concentración de cadmio en las plantas (Kirkham, 2006; Choudhary *et al.*, 1995; Singh y Myhr, 1998). La movilidad del cadmio en el suelo aumenta constantemente con la disminución del pH; pero el alto pH del suelo no siempre reduce la absorción de Cd por las

plantas como en este caso (Eriksson, 1990; Das *et al.*, 1997; McLaughlin *et al.*, 1996; Chlopecka *et al.*, 1996; Sauvé *et al.*, 2000; Grant *et al.*, 2010; Crozier, 2015; Scaccabarozzi *et al.*, 2020). Respecto a la materia orgánica (MO), Florida *et al.* (2019), encontraron una correlación negativa no significativa entre la MO del suelo y el contenido de cadmio en el suelo y las almendras de cacao.

El cadmio, es un metal pesado reconocido como extremadamente contaminante de los suelos agrícolas (Afolayan, 2018; Xu *et al.*, 2015). Se considera contenidos “normales” para suelos agrícolas un máximo de 2 mg/kg de cadmio total; para la Unión Europea es de 3 mg/kg (Miranda *et al.*, 2008). En general, la presencia de más de 5–10 mg/kg de cadmio en el suelo agrícola tiene efectos adversos en los cultivos (Siedlecka, 1995; Singh y Tuteje, 2011). En nuestro caso, a pesar de estos altos niveles de adición de cadmio al sustrato no se observó síntomas de fitotoxicidad durante el crecimiento de los cinco genotipos de cacao. Esto coincide con lo mencionado por Rehman *et al.* (2011) al no encontrar diferencias significativas de las dosis de cadmio sobre el crecimiento en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* cv. Navodaya), pero encontró diferencias en el área foliar y en la floración. Al respecto se ha informado varios efectos fitotóxicos directos e indirectos causados por el exceso de cadmio en las plantas perturbando así una serie de procesos físicos y biológicos (Rodríguez *et al.*, 2017; Fernandez *et al.*, 2013). Además, la absorción de Fe, Mn, Cu y Zn se ve afectada por el estrés de cadmio, afectando el transporte de estos elementos desde las raíces hasta las partes aéreas (Aravind y Prasad, 2005; Wu *et al.*, 2005; Tran y Popova, 2013; Lopes *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2016).

Tabla 14: Principales características físico-químicas del sustrato determinadas al inicio del experimento (IE) y al final del experimento (FE).

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

Cadmio aplicado al IE (*)

Tabla 15: Contenido residual de cadmio (ppm) en el sustrato al final del experimento, según la dosis estudiada.

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

V. CONCLUSIONES

- Los genotipos estudiados tuvieron una respuesta variable a las diferentes dosis de cadmio probadas. Para las variables altura de planta, diámetro de tallo, número de hojas y longitud de raíces se encontraron efectos significativos entre los genotipos estudiados que se debe a factores genéticos propios, no se deben al efecto de las dosis de cadmio. El POUND-7 fue el genotipo más vigoroso.
- Se encontró diferencias significativas para las variables peso fresco y materia seca en los genotipos ICS-60, ICS-95 y POUND-7. Sin embargo, se observa una disminución en su composición de materia seca a la concentración de 150 ppm de cadmio en todos los genotipos estudiados.
- La capacidad de absorción de cadmio, varió de un genotipo a otro. ICS-95 absorbió más cadmio y el ICS-60, mucho menos; ambos comparados con el testigo. Por otro lado, el genotipo POUND-7 presentó mayor contenido de cadmio en la planta pero con una menor eficiencia de traslocación hacia la parte aérea. Generalmente, la mayor concentración de este elemento se presentó en las raíces; pero en ningún caso, se observaron síntomas de fitotoxicidad.

VI. RECOMENDACIONES

- La importancia del problema del cadmio en cacao, sugiere la necesidad de continuar investigando en este tema.
- Se debería evaluar la capacidad de absorción de una mayor cantidad de genotipos que se puedan usar como patrones (portainjertos) en este cultivo. Deberían usarse otras técnicas, como las soluciones nutritivas para conocer mejor los mecanismos de absorción y evaluar parámetros fisiológicos, asociados con el estrés por cadmio y la resistencia a este elemento.
- La complejidad de este problema, sugiere realizar investigaciones con enfoque multidisciplinario que considere todos los eslabones de la cadena de valor del cacao.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abraham, E.; Cavanagh, J.; Wood, P.; Pearson, A. y Mladenov, P. (2016). Cadmium in New Zealand's agriculture and food systems. In: L.D. Currie and R. Singh (Eds.) Integrated nutrient and water management for sustainable farming. Occasional Report N°. 29. Fertilizer and Lime Research Centre, Massey University, Palmerston North, New Zealand, 13.
2. Afolayan, A. O. (2018). Accumulation of Heavy Metals from Battery Waste in Topsoil, Surface Water, and Garden Grown Maize at Omilende Area, Olodo, Nigeria. *Global Challenges*, 2(3), 1-12. doi: 10.1002/gch2.201700090
3. Aikpokpodion, P.E.; Atewolara-Odule, O.C.; Osobamiro, T.; Oduwole, O.O. y Ademola, S.M. (2013). A survey of copper, lead, cadmium and zinc residues in cocoa beans obtained from selected plantations in Nigeria. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5(6), 88-98.
4. Alloway, B. J. y Steinnes, E. (1999). Anthropogenic Additions of Cadmium to Soils. *Cadmium in Soils and Plants*, 21, 97–123.
5. Almeida, A.A.F. y Valle, R.R. (2008). Ecophysiology of the cacao tree. *Brazilian Journal Plant Physiology*, 19(4), 425-448.
6. Alvarez, J.R. (2018) Acumulación de metals pesados (Pb y Cd) en almendras de cacao durante el proceso de fermentación y secado. Instituto Politécnico de Leiria – Universidad Técnica de Manabi Ecuador, 39p.
7. Alverson, W. S.; Whitlock, B.A.; Nyffeler, R.; Bayer, C. y Baum, D.A. (1999). Phylogeny of the core Malvales: evidence from ndh F sequence data. *American Journal of Botany*, 86(10), 1474–1486. doi:10.2307/2656928
8. Alves, L.R.; Reis, A.R. y Gratao, P.L. (2016). Heavy metals in agricultural soils: from plants to our daily life (a review). *Científica Jaboticabal*, 44(3), 346-361.
9. Aneja, M.; Gianfagna, T. y Ng, E. (1999). The roles of abscisic acid and ethylene in the abscission and senescence of cocoa flowers. *Plant Growth Regulation*. 27, 149-155.

10. Aravind P., y Prasad, M. N. V. (2005). Cadmium-Zinc interactions in a hydroponic system using *Ceratophyllum demersum* L: adaptive ecophysiology, biochemistry and molecular toxicology. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1), 3–20.
11. Arévalo, M.A.; González, D.; S. Maroto; Delgado, T. y Montoya, P. (2017). Manual técnico del cultivo de cacao: prácticas latinoamericanas/Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José, Costa Rica, IICA: 165.
12. Argüello, D.; Chavez, E.; Laurysen, F.; Vanderschueren, R.; Smolders, E. y Montalvo, D. (2019). Soil properties and agronomic factors affecting cadmium concentrations in cacao beans: A nationwide survey in Ecuador. *Science Total Environment*, 649(16), 120-127.
13. Asomaning, E.J.A.; Kwakwa, R.S. y Hutcheon, W.V. (1971). Physiological studies on an Amazon shade and fertilizer trial at the Cocoa Research Institute of Ghana. *Ghanaian Journal Agricultural Science*, 4, 47-64.
14. Barraza, F.; Schreck, E.; Lévêque, T.; Uzu, G.; López, F.; Ruales, J.; Prunier, J.; Marquet, A. y Maurice, L. (2017). Cadmium bioaccumulation and gastric bioaccessibility in cacao: A field study in areas impacted by oil activities in Ecuador. *Environmental Polish*, 229, 950-963.
15. Baryla, A.; Carrier, P., Franck, F.; Coulomb, C.; Sahut, C. y Havaux, M. (2001). Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: causes and consequences for photosynthesis and growth. *Planta*, 212, 696–709. doi: 10.1007/s004250000439
16. Batista, L.P. y Alvim, R. (1981). Efeitos da intensidade luminosa e do genótipo sobre o crescimento em altura do fuste do cacauero. *Revista Theobroma*, 11(1), 61-76.
17. Beer, J.W. (1987). Advantages, disadvantages and desirable characteristics of shade trees for coffee, cacao and tea. *Agroforestry Systems*, 5(1), 3-13.
18. Benavides, M.; Gallego, S. y Tomaro, M. (2005). Cadmium toxicity in plants. *Brazilian Journal Plant Physiology*, 17(1), 21–34.
19. Benedetto, A. y J. Tognetti. (2016). Técnicas de análisis de crecimiento de plantas: su aplicación a cultivos intensivos. RIA- Universidad de Buenos Aires-Argentina, 25.

20. Benke, M.B.; Indraratne, S.P., Hao, X., Chang, C y Goh, T.B. (2008). Trace element changes in soil after long-term cattle manure applications. *Journal of Environmental Quality*, 37(3), 798-807.
21. Bhattacharjee, R. y Kumar, P.L. (2007). Cacao. In genome mapping and molecular breeding in plants, Volume 6 Technical Crops C. Kole (Ed.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 127-142.
22. Bingham, F. T.; Page, A.L.; Mahler, R.J. y Ganje, T.J. (1975). Growth and Cadmium Accumulation of Plants Grown on a Soil Treated with a Cadmium-Enriched Sewage Sludge1. *Journal of Environment Quality*, 4(2), 207.
23. Bonaparte, E.E.N.A. (1975). Yield gradients in cocoa (*Theobroma cacao* L.) shade and fertilizer experiments. *Acta Horticulturae*, (49), 251-258.
24. Bonomelli, C; Bonilla, C. y Valenzuela, A. (2003). Efecto de la fertilización fosforada sobre el contenido de cadmio en cuatro suelos de Chile. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, Brasilia, 38(10), 1179-1186.
25. Castro, A.V.; Almeida, A.A.F; Pirovani, C.P; Reis, G.S.M; Almeida, N.M y Mangabeira, P.A.O. (2015). Morphological, biochemical, molecular and ultrastructural changes induced by Cd toxicity in seedlings of *Theobroma cacao* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 115, 174–186.
26. Cataldo, C.A.; Garland, T.R y Wildung, R. (1981). Cadmium distribution and chemical fate in soybean plants. *Plant Physiology*, 68, 835–839.
27. Chan, D. y Hale, B. (2004). Differential accumulation of Cd in durum wheat cultivars; uptake and retraslocation as sources of variation. *Journal of Experimental Botany*, 55, 2571-2579.
28. Chang, A. C., Page, A.L; Foster, K.W y Jones, T.E. (1982). A comparison of cadmium and zinc accumulation by four cultivars of barley grown in sludge-amended soils. *Journal Environmental Quality*, (11): 409–412.
29. Chavez, E.; He, Z. L.; Stoffella, P. J.; Mylavarapu, R. S.; Li, Y. C.; Moyano, B. y 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.
30. Chlopecka, A.; Bacon, J.R; Wilson, M.J. y Kay, J. (1996). Forms of cadmium, lead and zinc in contaminated soils of south-western Poland Forms of cadmium, lead and zinc in contaminated soils of south-western Poland. *Journal Environmental Quality*, 25(1), 69-79.

31. Choudhary, M.; Bailey, L. D.; Grant, C. A. y Leisle, D. (1995). Effect of Zn on the concentration of Cd and Zn in plant tissue of two durum wheat lines. *Canadian Journal of Plant Science*, 75(2), 445–448.
32. Chupillon-Cubas, J.; C.O. Arévalo-Hernández, E.; Arévalo-Gardini, A. Farfán-Pinedo y Baligar, V. (2017). Acumulación de cadmio en seis genotipos de cacao utilizados como patrón. International Symposium on Cocoa Research (ISCR), Lima - Perú.
33. Clarke, J.M.; Leisle, D.; DePauw, R.M y Thiessen, L. L. (1997). Registration of five pairs of durum wheat genetic stocks near-isogenic for cadmium concentration. *Crop Science*, 37(1), 297.
34. Clemens, S; Palmgreen, M y Krämer, U. (2002). A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends in Plant Science*, 7(7), 309-315
35. Clement, C.; De Cristo-Araújo, M.; Coppens D'Eeckenbrugge, G.; Alves Pereira, A. y Picanço-Rodrigues, D. (2010). Origin and Domestication of Native Amazonian Crops. *Diversity*, 2(1), 72–106.doi:10.3390/d2010072
36. Crozier, J. (2015). Heavy Metals in Cocoa. International Workshop on possible EU regulations on cadmium in cocoa and chocolate products 3rd y 4th May, 16.
37. Cuatrecasas, J. (1964). Cacao and its allies: a taxonomic revision of the genus Theobroma. Bulletin of the United States National Museum. *Smithsonian Institution Press*, 35, 379-614.
38. Curguz, V.; Raicevic, V.; Veselinovic, M.; Tabakovic-Tosic, M. y Vilotic, D. (2012). Influence of heavy metals on seed germination and growth of piceaabies. *Journal Environmental Quality*, 12(2), 355- 361.
39. DalCorso, G.; Farinati, S.; Maistri, S. y Furini, A. (2008). How Plants Cope with Cadmium: Staking All on Metabolism and Gene Expression. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50(10), 1268–1280.
40. Das, P.; Samantaray, S. y Rout, G.R. (1997). Studies on cadmium toxicity in plants: a review. *Environmental Polish*, 98(1), 29-36.
41. Daymond, A.J. y Hadley, P. (2004). The effects of temperature and light integral on early vegetative growth and chlorophyll fluorescence of four contrasting genotypes of cacao (*Theobroma cacao*). *Annals of Applied Biology*, 145(3), 257-262.

42. Dias, L.A.S.; Kageyama, P.Y. y G.C.T.Castro GCT. (1997). Divergência genética multivariada na preservação de germoplasma de cacau (*Theobroma cacao* L.). *Agrotrópica*, 9, 29-40.
43. Dowdy, R. H. y Larson, W. E. (1975). The Availability of Sludge-Borne Metals to Various Vegetable Crops¹. *Journal of Environment Quality*, 4(2), 278. doi:10.2134/jeq1975.00472425000400020032
44. Enríquez, G. (1985). Curso sobre el cultivo de Cacao. Turrialba, Costa Rica. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Serie de Materiales de Enseñanza No 22. CATIE – Turrialba-Costa Rica, 239.
45. Eriksson J.; Oborn, I.; Jansson, G. y Andersson, A. (1990). Factors influencing Cd-content in crops. Results from Swedish field investigations. *Swedish Journal Agricultural Research*, 26, 125–33.
46. Fang, Z.; Lou, L.; Tai, Z; Wang, Y.; Yang, L.; Hu, Z. y Cai, Q. (2017). Comparative study of Cd uptake and tolerance of two Italian ryegrasses (*Lolium multiflorum*) cultivars. *Peer Journal*, 5, e3621. doi 10.7717/peerj3621
47. FAO/OMS. (2018). Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias comité del CODEX sobre contaminantes de los alimentos. Documento de debate sobre el desarrollo de un código de prácticas para prevenir y reducir la contaminación del cacao por el cadmio. Tema 16 del programa CX/CF 18/12/16, 10.
48. Fauziah, C.I.; Rozita, O; Zaayah, S.; Anuar, A.R. y Shamshuddin, J. (2001). Heavy metals content in soils of peninsular Malaysia grown with cocoa and cocoa tissues. *Malaysia Journal Soil Science*, 5, 47–58.
49. Fernández, R. L. M. (2010). Programa de desarrollo alternativo empleando como base el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) en el departamento de San Martín-oficina regional de Tocache.
50. Florida, N.; Claudio, S. y Gómez, R. (2018). El pH y la absorción de cadmio en almendras de cacao orgánico (*Theobroma cacao* L.) en Leoncio Prado, Huánuco, Perú. *Folia Amazónica*, 27 (1), 1-8
51. Galvao, L. y Corey, O. (1987). Cadmio, serie vigilancia 4. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Metepec, México, 69.
52. Galyuon, I.K.A.; McDavid, C.R; Lopez F.B. y Spence, J.A. (1996). The effect of irradiance level on cocoa (*Theobroma cacao* L.): I. Growth and leaf adaptations. *Tropical Agriculture*, 73, 23-28.

53. Gamboa, R.J. (2015). Comportamiento en vivero de cuatro clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) sobre diferentes patrones en Satipo. (Tesis Ingeniero Agrónomo). Lima- Perú. Universidad Nacional Agraria La Molina.
54. García, C.L.F. (1991). Mejoramiento genético. Cultivo moderno de cacao (*Theobroma cacao* L.). Facultad de Agronomía-Tingo María. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 1-4p.
55. García, I y Dorronsoro, C. (2011). Contaminación de los suelos. Tema 15: Contaminación por metales pesados. <http://edafología.urg.es/conta/tema15/introd.htm>.
56. García, J.R. y Nicolella, G. (1985). Correlação entre algumas medidas dendrométricas, origem genética e produção de frutos em cacauzeiros. *Revista Theobroma*, 15, 113-124.
57. García, L.; Sayan, A.; Obando, H.; Gonzales, C.; Rosa-Chavez, C. y Llanos, B. (2010). Cultivares de cacao del Perú (Primera edición ed., Vol. 1). QyP Impresores S.R.L. 111p.
58. Gill, S.S; Khan, N.A. y Tuteja, N. (2011). Differential cadmium stress tolerance in five indian mustard (*Brassica juncea* L.) cultivars. *Plant Signalling and Behaviour*, 6, 293-300.
59. Gonzáles, D. y Zapata, O. (2008). Mecanismos de tolerancia a elementos potencialmente tóxicos en plantas. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 82, 53-61.
60. Gramlich, A., Tandy, S., Andres, C., Chincheros Paniagua, J., Armengot, L., Schneider, M. y Schulin, R. (2017). Cadmium uptake by cocoa trees in agroforestry and monoculture systems under conventional and organic management. *Science of Total Environment*, 580, 677–686.
61. Gramlich, A.; Tandy, S.; Gauggel, C.; Lopez, M.; Perla, D.; Gonzalez, V. y Schulin, R. (2018). Soil cadmium uptake by cocoa in Honduras. *Science of the Total Environment*, 612(15), 370-378.
62. Grant, C.A.; Buckley, W.T; Bailey, L. D. y Selles, F. (1998). Accumulation du cadmium dans les plantes cultivées. *Canadian Journal Plant Science*, 78, 1-17.
63. Hahne, H y Kroontje, W. (1973). Significance of pH and chloride concentration on the behavior of heavy metal pollutants: Mercury (II), cadmium (II), zinc (II), and lead (II). *Journal Environmental Quality*, 2, 444-450.

64. Harrison, H.A. y Staub, J.E. (1986). Effects of sludge, bed, and genotype on cucumber growth and elemental concentration of fruit and peel. *Journal American Society for Horticultural Science*, 11, 205-211.
65. Harrison, H.A. (1986). Carrot response to sludge application and bed type. *Journal American Society for Horticultural Science*, 11, 211–215.
66. Hartmann, H. y Kester, D.E. (1987). *Propagación de plantas* (2da Edición). University of California.
67. Hasenstein, K.H. y Zavada, M.S. (2001). Auxin modification of the incompatibility response in *Theobroma cacao*. *Physiology of Plants*, 112, 113-118.
68. He, Q.B. y Singh, B.R. (1994). Crop uptake of cadmium from phosphorus fertilizers: I. Yield and cadmium content. *Water Air Soil Polish*, 74, 251–265.
69. He, Z. L.; Xu, H. P.; Zhu, Y. M.; Yang, X. y Chen, G. C. (2005). Adsorption-Desorption Characteristics of Cadmium in Variable Charge Soils. *Journal of Environmental Science and Health*, 40(4), 805–822. doi:10.1081/ese-200048273
70. Huamani, H.A.; Huauya, M.Á.; Mansilla, L.G.; Florida, N. y Neira, G.M. (2012). Presencia de metales pesados en cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Acta Agronómica*, 64(4), 339-344.
71. Huauya, M. y Huamani, H. (2014). Macrofauna edáfica y metales pesados en el cultivo de cacao, *Theobroma cacao* L. (Malvaceae). *The Biologist*, 12(1), 45-55.
72. ICCO. (26 de Marzo de 2013). Growing Cocoa. Climate conditions and soil conditions. <https://www.icco.org/about-cocoa/growing-cocoa.html>
73. ICCO. (31 de Mayo de 2019). Production of cocoa beans. Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics, Vol. XLV, No.1, Cocoa year 2018/19. <https://www.icco.org/about-us/icco-news/408-may-2019-quarterly-bulletin-of-cocoa-statistics.html>.
74. ICT. (2003). Informe Anual del Proyecto “Renovación y rehabilitación de plantaciones de cacao en la cuenca del Huallaga”. Instituto de cultivos tropicales. Tarapoto – Perú. 58p.
75. ICT. (2004). CACAO. Manejo Integrado y Transferencia de Tecnología en la Amazonía Peruana. Tarapoto-Perú. 184p.
76. Iwaro A.D.; Singh, V.; Barath, S. y Jugmohan, N. (2001). Germplasm evaluation at the International Cocoa Genebank. Trinidad for resistance to *Phytophthora* pod rot. In: Annual Report 2000 of the Cocoa Research Unit., University of the West Indies, Trinidad, 3440.

77. Jarvis, S.C.; Jones, L.H.P. y Hopper, M.J. (1976). Cadmium uptake from solution by plants and its transport from roots to shoots. *Plant Soil*, 44, 179–191.
78. Jones, K. C., y Johnston, A. E. (1989). Cadmium in cereal grain and herbage from long-term experimental plots at Rothamsted, UK. *Environmental Polish*, 57(3), 199–216. doi:10.1016/0269-7491(89)90012-2
79. Kabata-Pendias, A. y Pendias, H. (2000). Trace elements in soils and plants. (3rd Ed.) CRC Press. Boca Ratón, Florida, USA, 432.
80. Kirkham, M.B. (2006). Cadmium in plants on polluted soils: Effects of soil factors, hyperaccumulation, and amendmets. *Geoderma*, 137(1-2), 19–32. doi: 10.1016/j.geoderma.2006.08.024
81. Köppen, W y Geiger, L. (1900). Versuch einer Klassifikation der Klimate, vorzugsweise nach ihren Beziehungen zur Pflanzenwelt. *Geographische Zeitschrift*. 29 (6), 593-611.
82. Krantev, A.; Yordanova, R.; Janda, T. y Szalai, G. (2008). Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. *Journal of plant physiology*, 165(9), 920-931.
83. Kuboi, T.; Noguchi, A. y Yazaki, J. (1986). Family-dependent cadmium accumulation characteristics in higher plants. *Plant Soil*, 92, 405–415.
84. Lachenaud, P. y Zhang, D. (2008). Genetic diversity and population structure in wild stands of cacao trees (*Theobroma cacao* L.) in French Guiana. *Annual for Science*, 32, 65-310.
85. Lachenaud, P.; Moolledhar, V. y Couturier, C. (1997). Les cacaoyers spontanés de Guyane. Nouvelles prospections. *Plant Rech. Dévelop*, 4, 25-30.
86. Lanza, J.G; Churión, P.C; Liendo, N.J. y López, V.H. (2016). Evaluación del contenido de metales pesados en cacao (*Theobroma cacao* L.) de Santa Bárbara del Zulia, Venezuela. *Saber, Universidad de Oriente*, 28 (1), 106-115.
87. Leite, J.O. y Valle, R.R. (2000). Relações entre a precipitação, o lençol freático e a produção de cacau na Bahia. *Agrotrópica*, 12, 67-74.
88. Li, B.; Quan-Wang, C.; Liu, H.; Li, H.X.; Yang, J.; Song, W.P; Chen, L. y M. Zeng. (2014). Effects of Cd ions on root anatomical structure of four rice genotypes. *Journal of Environmental Biology*, 35, 751-757.
89. Li, Y-M.; Chaney, R.L; Schneiter, A.A y Miller, J.F. (1995). Genotypic variation in kernel cadmium concentration in sunflower germplasm under varying soil conditions. *Crop Science*, 35, 137–141.

90. Li, Y-M.; Chaney, R.L.; Schneiter, A.A.; Elias, E. y Green, C.E. (1993). Genetic and soil factors related to Cd levels in sunflower kernels and durum wheat. *Agronomy Abstract*, 12, 277.
91. Lipoth, S.L. y Schoenau, J.J. (2007). Copper, zinc, and cadmium accumulation in two prairie soils and crops as influenced by repeated applications of manure. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 170, 378-386.
92. Llor Solórzano, R.G.; Fouet, O.; Lemainque, A.; Pavek, S.; Boccara, M.; Argout, X.; Amores, F.; Courtois, B.; Risterucci, A.M y Lanaud, C. (2012). Insight into the wild origin, migration and domestication history of the fine flavor nacional *Theobroma cacao* L. variety from Ecuador. *PLoS ONE*, 7(11), e48438.
93. Lopes Júnior, C.A.; Mazzafera, P. y Arruda, M.A.Z. (2014). A comparative ionic approach focusing on cadmium effects in sunflowers (*Helianthus annuus* L.). *Journal of Environmental and Experimental Botany*, 107, 180–186. DOI 10.1016/j.envexpbot.2014.06.002.
94. Lugon-Moulin, N.; Ryan, L.; Donini, P. y Rossi, L. (2006). Cadmium content of phosphate fertilizers used for tobacco production. *Agronomy for Sustainable Development*, 26, 151–155.
95. Lyubka S., Donka, S.; Ivanka, Y.; Tsvetanka, B. y Andon, V. (2008). Characterization of cadmium uptake by roots of durum wheat plants. *Journal of Central European Agriculture*, 9(3), 533-538.
96. Marita, J.M.; Nienhuis, J.; Pires, J.L y Aitken, W.M. (2001). Analysis of genetic diversity in *Theobroma cacao* with emphasis on witches' broom disease resistance. *Crop Science*, 41, 1305-1316.
97. McHugh, J.P. y Spanier, J.G. (1994). Isolation of cadmium sensitive mutants in *Chlamydomonas reinhardtii* by transformation/insertional mutagenesis. *FEMS Microbiology Letters*, 124, 239-244.
98. McKenna, I.M.; Chaney, R.L. y Williams, F.M. (1993). The effect of cadmium and zinc interactions on the accumulation and tissue distribution of zinc and cadmium in lettuce and spinach. *Environmental Polish*, 79, 113–120.
99. McLaughlin, M. J.; Maier, N.A.; Freeman, K.; Tiller, K.G.; Williams, C.M. y Smart, M.K. (1995). Effect of potassic and phosphatic fertilizer type, fertilizer Cd concentration and zinc rate on cadmium uptake by potatoes. *Fertilizer Research*, 40, 63–70.

100. McLaughlin, M.J.; Tiller, K.G.; Naidu, R. y Stevens, D.P. (1996). Review: the behaviour and environmental impact of contaminants in fertilizers. *Australian Journal Soil Research*, 34, 1–54.
101. Meter, A.; Atkinson, J.R. y Laliberte, B. (2019). Cadmio en el cacao de América Latina y el Caribe. Análisis de la investigación y soluciones potenciales para la mitigación. Caracas. <http://scioteca.caf.com/handle/123456789/1505>
102. MINAGRI. (2004). Manual del cultivo cacao. Programa para el Desarrollo de la Agricultura. Perú, 22p.
103. MINAGRI. (2010). Dinámica agropecuaria. Oficina de estudios económicos y estadísticos. Lima-Perú, 92p.
104. MINAGRI. (2018). Lineamientos de muestreo para la determinación de niveles de cadmio en suelos, hojas, granos y productos derivados del cacao. DGA, Lima-Perú, 18p.
105. MINAGRI. (2019). Protocolos de muestreo para la determinación de niveles de cadmio en suelos, hojas, agua y granos de cacao. DGA, Lima-Perú, 62p.
106. Miranda, R.A.C.; Milde, L.C.E.; Bichara, A.L y Cornell, S. (1994). Daily characterisation of air temperature and relative humidity profiles in a cocoa plantation. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 29, 345-353.
107. Mite, M. y Durango, W. (noviembre, 2010). Avances del monitoreo de presencia de cadmio en almendras de cacao, suelos y aguas en Ecuador. XII Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo, Santo Domingo.
108. Motamayor, J. C., Lachenaud, P., Da Silva e Mota, J.W., Loor, R., Kuhn, D.N., Brown, J.S. y Schnell, R.J. (2008). Geographic and Genetic Population Differentiation of the Amazonian Chocolate Tree (*Theobroma cacao* L). *PLoS ONE*, 3(10), 3311. doi: 10.1371/journal.pone.0003311
109. Motamayor, J.C. y Lanaud, C. (2002). Molecular analysis of the origin and domestication of *Theobroma cacao* L. In *Managing Plant Genetic Diversity*; Engels, J.M.M., Ramanatha Rao, V., Brown, A.H.D., Jackson, M.T., Eds.; IPGRI: Rome, Italy, (2002), 77-87.
110. Motamayor, J.C.; Risterucci, A.M; Lopez, P.A; Ortiz, C.F; Moreno, A. y Lanaud, C. (2002). Cacao domestication. I. The origin of the cacao cultivated by the Mayas. *Heredity*, 89, 380-386.
111. Moussar, H.R. y El-Gamal, S.M. (2010). Effect of salicylic acid pretreatment on cadmium toxicity in wheat. *Biologia Plantarum*, 54 (2), 315-320.

112. Mullins, G.L.; Sommers, L.E. y Barber, S.A. (1986). Modelling the plant uptake of cadmium and zinc from soils treated with sewage sludge. *Journal of Soil Science*, 50, 1245–1250.
113. Nicholson, F.; Chambers, B.; Williams, J. y Unwin, R. (1999). Heavy metal contents of livestock feeds and animal manures in England and Wales. *Bioresource Technology*, 70(1), 23–31. doi:10.1016/s0960-8524(99)00017-6
114. Orhue, E.R. y Uzu, O.F. (2011). Fate of some heavy metals in soils: a review. *Journal Applied in Natural Science*, 3 (1), 131-138.
115. Ortiz, D; Rascitti, T; McCue, K y Ow, D. 1995. Transport of Metal-binding Peptides by HTM1, A Fission Yeast ABC-type vacuolar membrane protein. *The Journal of Biological Chemistry*, 270 (9), 4721-4728.
116. Page, A. L., Bingham, F. T., y Nelson, C. (1972). Cadmium Absorption and Growth of Various Plant Species as Influenced by Solution Cadmium Concentration¹. *Journal of Environment Quality*, 1(3), 288. doi:10.2134/jeq1972.00472425000100030017
117. Paredes, N. 2009. Manual del cultivo del cacao para la amazonia ecuatoriana. Manual N° 76. INIAP (Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias). Estación Experimental Central de la Amazonia-DENAREF, 43p.
118. Penner, G. A., Bezte, L. J., Leisle, D., y Clarke, J. (1995). Identification of RAPD markers linked to a gene governing cadmium uptake in durum wheat. *Genome*, 38(3), 543–547. doi:10.1139/g95-070
119. Pettersson, O. (1977). Differences in cadmium uptake between plant species and cultivars. *Swedish Journal Agricultural Research*, 7, 21–24.
120. Ramesh, S.A. (2003). Differential Metal Selectivity and Gene Expression of Two Zinc Transporters from Rice. *Plant Physiology*, 133(1), 126–134. doi:10.1104/pp.103.026815
121. Ramos, I.; Esteban, E.; Lucena, J. J. y Gárate, A. (2002). Cadmium uptake and subcellular distribution in plants of *Lactuca* sp. Cd–Mn interaction. *Plant Science*, 162(5), 761–767. doi:10.1016/s0168-9452(02)00017-1
122. Ramtahal, R.; Yen, I.C.; Bekele, I.; Bekele, F.; Wilson, L.; Maharaj, K. y Harryninan, L. (2016). Relationships between Cadmium in Tissues of Cacao Trees and Soils in Plantations of Trinidad and Tobago. *Food and Nutrition Sciences*, 7, 37-43.

123. Rascio, N. y NavarI-Izzo, F. (2011). Heavy metal hyper accumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science*, 180, 169–181.
124. Rebekic, A. y Loncaric, Z. (2016). Genotypic difference in cadmium effect on agronomic traits and grain zinc and iron concentration in winter wheat. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 28(11), 772-778. doi: 10.9755/ejfa.2016-05-475
125. Rehman, F.; Khan, F.; Varshney, D.; Naushin, F. y Rastogi, J. (2011). Effect of cadmium of the growth of tomato. *Biology and Medicine*, 3(2), 187-190.
126. Retamal-Salgado, J., Matus, I.; Walter, I. y Hirzel, J. (2017). Absorption and distribution of cadmium of three maize hybrids in three environments. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 17 (2), 266-278.
127. Rodríguez, H.S. (2017). Dinámica del cadmio en suelos con niveles altos del elemento, en zonas productoras de cacao de Nilo y Yacopí, Cundinamarca. (Tesis para ingeniero agrónomo). Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias Agrarias Bogotá, Colombia.
128. 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. Dirección de Estudios Económicos e Información Agraria, 90.
129. Sager, M. (2007). Trace and nutrient elements in manure, dung and compost samples in Austria. *Journal of Soil Biology and Biochemistry*, 39, 1383–1390.
130. Sangwan, P.; Mor, V.; Soni, R. y Dhankhar, R. (2013). Toxicity of cadmium in plants. *International Journal Current Microbiology and applied science*, 5(9): 27014-27017.
131. Sanità di Toppi, L y Gabbrielli, R. (1999). Response to cadmiun in higher plants. *Enviromental and Experimental Botany*, 1(41), 105-130
132. Sauvé, S.; Hendershot, W.; y Allen, H.E. (2000). Solid-Solution Partitioning of Metals in Contaminated Soils: Dependence on pH, Total Metal Burden, and Organic Matter. *Environmental Science y Technology*, 34(7), 1125–1131. doi:10.1021/es9907764
133. Scaccabarozzi, D.; Castillo, L.; Aromatise, A.; Milne, L.; Búllon Castillo, A.; y Muñoz-Rojas, M. (2020). Soil, Site, and Management Factors Affecting Cadmium Concentrations in Cacao-Growing Soils. *Agronomy*, 10(6), 806. doi:10.3390/agronomy10060806

134. Seth, C. S.; Remans, T.; Keunen, E.; Jozefczak, M.; Gielen, H.; Opdenakker, K. y Cuypers, A. (2011). Phytoextraction of toxic metals: a central role for glutathione. *Plant, Cell y Environment*, 35(2), 334–346. doi:10.1111/j.1365-3040.2011.02338.x
135. Sghayar, S.; Ferri, A.; Lancilli, C.; Lucchini, G.; Abruzzese, A.; Porrini, M.; Ghnaya, T.; Nocito, F.F; Abdelly, C. y Sacchi, G.A. (2014). Analysis of cadmium translocation, partitioning and tolerance in six barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars as a function of thiol metabolism. *Biology and Fertility of Soils*, 3, 311-320.
136. Shacklette, H.T. (1972). Cadmium in plants-contributions to geochemistry. Geological Survey Bulletin 1314-G. Library of Congress catalog-card No. 72-600270: 28.
137. Shi, G; Liu, C.; Cui, M.; Ma, Y. y Cai, Q. (2012). Cadmium tolerance and bioaccumulation of 18 hemp accessions. *Applied Biochemistry Biotechnology*, 168, 163-173.
138. Siedlecka, A. (1995). Some aspects of interactions between heavy metals and plant mineral nutrients. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 64, 265–272.
139. Singh B.R. y Myhr, K. (1998). Cadmium uptake by barley as affected by Cd sources and pH levels. *Geoderma*, 84, 185–194.
140. Singh, K. y Tuteje, N. (2011). Cadmium stress tolerance in crop plants. Probing the role of sulfur. *Plant Signaling y Behavior*, 6(2), 215-222.
141. Soria, J.N. (1970). Principal varieties of cocoa cultivated in tropical America. *Cocoa Growers' Bull*, 19, 12-21.
142. Soria, S.J.; Wirth, W.W y Pinho, A.F.S. (1985). A polinização do cacaueiro no Recôncavo Baiano, Brasil. 1. Entomofauna comparada com a do Sul da Bahia. *Revista Theobroma*, 15, 1-7.
143. Sounigo, O.; Lachenaud, P.; Bastide, P.; Cila, C.; N’Goran, J. y Lanaud, C. (2003). Assessment of the value of doubled haploids as progenitors in cocoa (*Theobroma cacao* L.) breeding. *Journal of Applied Genetic*, 44, 339-353.
144. Stacey, S.P., M.J. McLaughlin & G.M. Hettiarachchi. 2010. Fertilizer-Borne Trace Element Contaminants in Soils. In Trace Elements in Soils. P.S. Hooda (ed.). *Blackwell Publishing, Ltd.* 135- 154.
145. Stenstrom, T. y Lonsjo, H. (1974). Cadmium availability to wheat: A study with radioactive tracers under field conditions. *Ambio*, 3, 87–90.

146. Stritsis, C. y Claassen, N. (2013). Cadmium uptake kinetics and plants factors of shoot Cd concentration. *Plant Soil*, 367, 591–603.
147. Tantalean, E. y Huauya, M.A. (2017). Distribución del contenido de cadmio en los diferentes órganos del cacao CCN-51 en suelo aluvial y residual en las localidades de Jacintillo y Ramal de Aspuzana. *Revista de Investigación en Agroproducción Sustentable*, 1(2), 69-78.
148. Tran, T.A. y Popova, L.V. (2012). Functions and toxicity of cadmium in plants: recent advances and future prospects. *Turkish Journal of Botany*, 37, 1-13.
149. UNION EUROPEA (UE). (2014). Reglamento (UE) N° 488/2014 de la comisión de 12 de mayo de 2014 que modifica el reglamento (CE) N° 1881/2006 por lo que respecta al contenido máximo de cadmio en los productos alimenticios. Diario Oficial de la Unión Europea L 138/75.
150. Uraguchi, S. y Fujiwara, T. (2012). Cadmium transport and tolerance in rice: perspectives for reducing grain cadmium accumulation. *Rice*, 5(1), 100-112.
151. Uraguchi, S.; Mori, S.; Kuramata, M.; Kawasaki, A.; Arao, T. y 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.
152. Vázquez-Ovando, J.A; Molina-Freaner, F.; Nuñez-Farfán, J.; Ovando-Medina, I. y Salvador-Figueroa, M. (2014). Genetic identification of Theobroma cacao L. tres with high criollo ancestry in Soconusco, Chiapas, Mexico. *Genetics and molecular research*, 13(4), 10404-10414.
153. Vernon, A.J. (1967). Yield and light relationships in cocoa. *Tropical Agriculture*, 44, 223-228.
154. Villarroel, L.; Chang, A. y Amrhein, C. (1993). Cd and Zn phytoavailability of a field-stabilized sludge-treated soil. *Soil Science*, 155(3), 197-205
155. Vogel, M. (1975). Recherche du déterminisme du rythme de croissance du cacaoyer. *Café, Cacao, Théobrom*, 19, 265-290.
156. Wahid, A.; Arshad, M. y Farooq, M. (2009). Cadmium phytotoxicity: responses mechanisms and mitigation strategies: a review. *Organic Farming, Pest control and remediation of soil pollutants*. Dordrecht, Netherlands, Springer, 371-403.
157. Wang M.J. (1997). Land application of sewage sludge in China. *The Science of the Total Environment*, 197, 149–160.

158. Wu, F.; Dong, J.; Qian, Q.Q. y Zhang, G.P. (2005). Subcellular distribution and chemical form of Cd and Cd-Zn interaction in different barley genotypes. *Chemosphere*, 60, 1437-1446.
159. Wu, H., Wang, J.; Li, B.; Ou, Y.; Jiang, W.; Liu, D. y Zou, J. (2016). Uptake and Accumulation of Cadmium and Relative Gene Expression in Roots of Cd-resistant *Salix matsudana* Koidz. *Polish Journal Environmental Studies*, 25(6), 2717-2723.
160. Wyszowska, J.; Borowik, A.; Kucharski, M. y Kucharski, J. (2013). Effect of cadmium, copper and zinc on plants, soil microorganisms and soil enzymes. *Journal of Elementology science*, 5(2), 769–796. doi: 10.5601/jelem.2013.18.4.455
161. Xu, Y.G.; Yu, W.T; Ma, Q.; y Zhou, H. (2016). Potential risk of cadmium in a soil-plant system as a result of long-term (10 years) pig manure application. *Plant, Soil and Environment*, 61(8), 352–357. doi:10.17221/100/2015-pse
162. Yadav, S.R. (2010). Heavy metals toxicity in plants: An overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. *South African Journal of Botany*, 76, 167–179.
163. Yang, X.; Baligar, V. C.; Martens, D. C. y Clark, R. B. (1995). Influx, transport, and accumulation of cadmium in plant species grown at different Cd²⁺ activities. *Journal of Environmental Science and Health*, 30(4), 569–583. doi:10.1080/03601239509372954
164. Zhang, D.; Gardini, E.A.; Baligar, V.C; Bailey, B.A. y Meinhardt L.W. (2011). Dissecting genetic structure in farmer selections of *Theobroma cacao* L. in the Peruvian Amazon: implications for on farm conservation and rehabilitation. *Tropical Plant Biology*, 4, 106-116.
165. Zhang, H., Guo, Q.; Yang, J.; Chen, T.; Zhu, G.; Peters, W.; Wei, R.; Tian, L.; Wang, C.; Tan, D.; Ma, J.; Wang, G. y Wan, Y. (2014). Cadmium accumulation and tolerance of two castor cultivars in relation to antioxidant systems. *Journal of Environment Science*, 26, 2048–2055. doi 10.1016/j.jes.2014.08.005.
166. Zug, K.L.M., Huamaní, H.A; Meyberg, F.; Cierjacks, J.S y Cierjacks, A. (2019). Cadmium accumulation in peruvian cacao (*Theobroma cacao* L.) and opportunities for mitigation. *Water, Air, and Soil Polish*, 230, 72. doi.org/10.1007/s11270-019-4109-x.
167. Zuidema, P. A.; Leffelaar, P. A.; Gerritsma, W.; Mommer, L.; y Anten, N. P. R. (2005). A physiological production model for cocoa (*Theobroma cacao* L.): model presentation, validation and application. *Agricultural Systems*, 84(2), 195–225. doi:10.1016/j.agsy.2004.06.015

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: Altura de planta promedio de cinco genotipos de cacao en respuesta a cuatro dosis de contaminación con cadmio en tres momentos de evaluación.

ALTURA DE PLANTA (cm)												
Genotipo	Primera evaluación				Segunda evaluación				Tercera evaluación			
	Cd (ppm)				Cd (ppm)				Cd(ppm)			
	0	50	100	150	0	50	100	150	0	50	100	150
CCN-51	14.48	14.53	14.41	15.85	22.90	22.67	26.66	27.28	34.46	37.19	39.50	39.90
ICS-60	15.07	16.38	15.63	12.88	27.16	26.63	28.68	24.84	39.65	38.79	38.70	34.86
ICS-95	14.36	14.96	11.62	11.44	27.57	23.80	18.64	26.18	41.83	35.13	25.53	39.53
POUND-7	18.03	16.67	15.38	15.69	37.38	36.34	32.90	36.40	52.15	59.33	53.32	53.53
VRAE-99	11.65	12.27	15.06	12.27	23.35	20.16	32.90	21.83	26.22	29.92	46.98	34.38

ANEXO 2: Diámetro de tallo promedio de cinco genotipos de cacao en respuesta a cuatro dosis de contaminación con cadmio en tres momentos de evaluación.

DIÁMETRO DE TALLO (mm)												
Genotipo	Primera evaluación				Segunda evaluación				Tercera evaluación			
	Cd (ppm)				Cd (ppm)				Cd(ppm)			
	0	50	100	150	0	50	100	150	0	50	100	150
CCN-51	4.14	4.04	4.19	4.70	6.51	6.96	7.13	7.18	8.1	8.47	9.12	8.83
ICS-60	4.9	4.56	4.78	4.32	6.18	7.05	6.98	5.44	9.54	8.74	9.57	7.16
ICS-95	4.24	4.55	3.64	3.87	6.41	6.21	5.09	5.35	7.97	8.18	6.57	7.53
POUND-7	4.42	4.22	4.34	4.35	8.72	8.71	8.68	6.56	10.51	11.02	10.50	9.31
VRAE-99	4.03	4.51	4.31	3.89	5.18	6.52	7.87	5.91	6.06	8.16	8.78	6.23

ANEXO 3: Número de hojas promedio de cinco genotipos de cacao en respuesta a cuatro dosis de contaminación con cadmio en tres momentos de evaluación.

NÚMERO DE HOJAS												
Genotipo	Primera evaluación				Segunda evaluación				Tercera evaluación			
	Cd (ppm)				Cd (ppm)				Cd(ppm)			
	0	50	100	150	0	50	100	150	0	50	100	150
CCN-51	6.75	7.69	8.75	8.47	13.67	13.86	17.17	16.39	17.58	18.89	21.00	20.03
ICS-60	9.31	9.92	8.67	7.08	16.19	15.58	16.08	13.83	20.67	19.00	20.17	16.67
ICS-95	8.19	7.67	7.00	7.06	14.44	15.08	11.75	15.25	21.17	16.75	13.69	18.19
POUND-7	8.33	9.06	9.44	8.72	17.17	19.86	20.11	18.28	23.42	25.72	25.44	24.44
VRAE-99	5.58	8.52	8.17	6.97	10.08	13.83	14.67	14.67	14.44	17.42	18.83	17.00

ANEXO 4: Peso fresco promedio de hojas, tallo y raíces de cinco genotipos de cacao en respuesta a la contaminación con dosis creciente de cadmio.

Genotipos	Dosis de Cd (ppm)	Peso fresco (g):			
		Hojas	Tallos	Raíces	Total
CCN-51	0	24.18	12.69	8.83	45.71
	50	30.07	18.57	12.31	60.95
	100	29.40	17.17	11.47	58.03
	150	34.58	15.16	6.95	56.69
ICS-60	0	27.36	15.67	12.44	55.47
	50	27.13	17.15	10.78	55.07
	100	24.21	15.92	9.84	49.97
	150	18.59	12.54	8.88	40.02
ICS-95	0	32.13	16.90	9.23	56.25
	50	31.30	14.41	8.89	55.44
	100	20.20	8.92	4.87	33.95
	150	19.73	13.40	5.83	37.72
POUND-7	0	42.66	23.96	13.91	80.53
	50	55.69	31.19	15.08	102.96
	100	55.52	31.07	14.84	101.42
	150	52.02	34.59	14.53	101.14
VRAE-99	0	15.17	7.26	5.18	27.6
	50	18.32	11.85	8.01	38.18
	100	17.32	13.13	9.41	39.85
	150	19.76	12.51	8.06	40.33

ANEXO 5: Peso seco promedio de hojas, tallo y raíces de cinco genotipos de cacao en respuesta a la contaminación con dosis creciente de cadmio.

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

ANEXO 6: Contenido de cadmio (mg/100g MS) en hojas y raíces de cinco genotipos de cacao en respuesta a la contaminación con dosis creciente de cadmio.

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

ANEXO 7: Análisis de varianza del efecto de cuatro dosis de cadmio sobre la altura (cm) en plantas de cacao.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F calculado	P	Signific.
Dosis	3	50	16.8	0.214	0.886	
Genotipo	4	3250	812.6	10.349	7.54e-06	***
Dosis: Genotipo	12	1379	114.9	1.463	0.179	
Error	40	3141	78.5			
C.V = 22.042						
P = 0.05						

ANEXO 8: Análisis de varianza del efecto de cuatro dosis de cadmio sobre el diámetro de tallo (mm) en plantas de cacao.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F calculado	P	Signific.
Dosis	3	9.35	3.115	2.111	0.114	
Genotipo	4	85.97	21.492	14.564	2.01e-07	***
Dosis: Genotipo	12	21.36	1.78	1.206	0.313	
Error	40	59.03	1.476			
C.V = 14.43						
P = 0.05						

ANEXO 9: Análisis de varianza del efecto de cuatro dosis de cadmio sobre el número de hojas en plantas de cacao.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F calculado	P	Signific.
Dosis	3	2.5	0.82	0.069	0.976	
Genotipo	4	463.5	115.87	9.709	1.39e-05	***
Dosis: Genotipo	12	172.6	14.38	1.205	0.313	
Error	40	477.4	11.93			
C.V = 17.69						
P = 0.05						

ANEXO 10: Análisis de varianza del efecto de cuatro dosis de cadmio sobre la longitud de raíces en plantas de cacao.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F calculado	P	Signific.
Dosis	3	41.6	13.87	1.483	0.234	
Genotipo	4	173.6	43.4	4.64	0.0036	**
Dosis: Genotipo	12	198.5	16.54	1.768	0.08805	
Error	40	374.2	9.35			
C.V = 10.45						
P = 0.05						

ANEXO 11: Análisis de varianza del efecto de cuatro dosis de cadmio sobre el peso fresco en plantas de cacao.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F calculado	P	Signific.
Dosis	3	554	185	3.678	0.019	*
Genotipo	4	25868	6467	128.69	2e-16	***
Dosis: Genotipo	12	2908	242	4.822	7.72e-05	***
Error	40	2010	50			
C.V = 12.46						
P = 0.05						

ANEXO 12: Análisis de varianza del efecto de cuatro dosis de cadmio sobre la materia seca en plantas de cacao.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F calculado	P	Signific.
Dosis	3	113.8	37.94	13.486	3.17e-06	***
Genotipo	4	1099.1	274.79	97.682	2e-16	***
Dosis: Genotipo	12	241.1	20.09	7.142	9.94e-07	***
Error	40	112.5	2.81			
C.V = 13.33						
P = 0.05						

ANEXO 13: Análisis de varianza del efecto de cuatro dosis de cadmio sobre el contenido de cadmio en las plantas de cacao.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F calculado	P	Signific.
Dosis	3	4941	1647	9600.4	2e-16	***
Genotipo	4	179	44.7	260.3	2e-16	***
Dosis: Genotipo	12	608	50.7	295.4	2e-16	***
Error	40	7	0.2			
C.V = 3.27						
P = 0.05						

ANEXO 14: Análisis de comparación entre los efectos simples del factor dosis de cadmio (ppm) con el factor principal genotipo para la variable respuesta peso fresco.

CCN-51					
Comparación de dosis de Cd	Estimados	SE	df	t. ratio	p valor
0-50	-10.303	5.79	40	-1.78	0.2977
0-100	-14.677	5.79	40	-2.536	0.0695
0-150	-14.31	5.79	40	-2.472	0.0799
50-100	-4.373	5.79	40	-0.756	0.8737
50-150	-4.007	5.79	40	-0.692	0.8995
100-150	0.367	5.79	40	0.063	0.9999
ICS-60					
Comparación de dosis de Cd	Estimados	SE	df	t. ratio	p valor
0-50	0.403	5.79	40	0.07	0.9999
0-100	5.507	5.79	40	0.951	0.7774
0-150	15.453	5.79	40	2.67	0.0512
50-100	5.103	5.79	40	0.882	0.8143
50-150	15.05	5.79	40	2.6	0.0601
100-150	9.947	5.79	40	1.718	0.3278
ICS-95					
Comparación de dosis de Cd	Estimados	SE	df	t. ratio	p valor
0-50	0.81	5.79	40	0.14	0.999
0-100	22.3	5.79	40	3.853	0.0022
0-150	18.533	5.79	40	3.202	0.0137
50-100	21.49	5.79	40	3.713	0.0034
50-150	17.723	5.79	40	3.062	0.0197
100-150	-3.767	5.79	40	-0.651	0.9147
POUND-7					
Comparación de dosis de Cd	Estimados	SE	df	t. ratio	p valor
0-50	-22.433	5.79	40	-3.876	0.0021
0-100	-20.897	5.79	40	-3.61	0.0045
0-150	-20.613	5.79	40	-3.561	0.0052
50-100	1.537	5.79	40	0.265	0.9933
50-150	1.82	5.79	40	0.314	0.9891
100-150	0.283	5.79	40	0.049	1
VRAE-99					
Comparación de dosis de Cd	Estimados	SE	df	t. ratio	p valor
0-50	-10.577	5.79	40	-1.827	0.2758
0-100	-12.25	5.79	40	-2.116	0.1654
0-150	-12.733	5.79	40	-2.2	0.1407
50-100	-1.673	5.79	40	-0.289	0.9915
50-150	-2.157	5.79	40	-0.373	0.9821
100-150	-0.483	5.79	40	-0.084	0.9998

ANEXO 15: Análisis de comparación entre los efectos simples del factor dosis de cadmio (ppm) con el factor principal genotipo para la variable respuesta peso seco.

CCN-51					
Comparación de dosis de Cd	Estimados	SE	df	t. ratio	p valor
0-50	0.0233	1.37	40	0.017	1
0-100	-0.59	1.37	40	-0.431	0.9728
0-150	1.7367	1.37	40	1.268	0.5881
50-100	-0.6133	1.37	40	-0.448	0.9697
50-150	1.7133	1.37	40	1.251	0.5987
100-150	2.3267	1.37	40	1.699	0.3376
ICS-60					
Comparación de dosis de Cd	Estimados	SE	df	t. ratio	p valor
0-50	-1.0033	1.37	40	-0.733	0.8834
0-100	0.02	1.37	40	0.015	1
0-150	2.8767	1.37	40	2.101	0.1704
50-100	1.0233	1.37	40	0.747	0.8773
50-150	3.88	1.37	40	2.833	0.0348
100-150	2.8567	1.37	40	2.086	0.1751
ICS-95					
Comparación de dosis de Cd	Estimados	SE	df	t. ratio	p valor
0-50	1.1733	1.37	40	0.857	0.8268
0-100	6.5167	1.37	40	4.759	0.0001
0-150	5.86	1.37	40	4.279	0.0006
50-100	5.3433	1.37	40	3.902	0.002
50-150	4.6867	1.37	40	3.422	0.0076
100-150	-0.6567	1.37	40	-0.48	0.9632
POUND-7					
Comparación de dosis de Cd	Estimados	SE	df	t. ratio	p valor
0-50	-10.55	1.37	40	-7.704	<.0001
0-100	-1.3467	1.37	40	-0.983	0.7597
0-150	-4.9967	1.37	40	-3.649	0.004
50-100	9.2033	1.37	40	6.72	<.0001
50-150	5.5533	1.37	40	4.055	0.0012
100-150	-3.65	1.37	40	-2.665	0.0518
VRAE-99					
Comparación de dosis de Cd	Estimados	SE	df	t. ratio	p valor
0-50	-1.8833	1.37	40	-1.375	0.5219
0-100	-2.6467	1.37	40	-1.933	0.231
0-150	0.8467	1.37	40	0.618	0.9257
50-100	-0.7633	1.37	40	-0.557	0.944
50-150	2.73	1.37	40	1.994	0.2075
100-150	3.4933	1.37	40	2.551	0.0672

ANEXO 16: Análisis de comparación entre los efectos simples del factor genotipo con el factor principal dosis de cadmio para la variable respuesta contenido de cadmio (mg/100 g MS).

0 ppm					
Comparación de genotipos de cacao	Estimados	SE	df	t. ratio	p valor
CCN-51 - ICS-60	-0.05133	0.338	40	-0.152	0.9999
CCN-51-ICS-95	0.01533	0.338	40	0.045	1
CCN-51-POUND-7	-0.013	0.338	40	-0.038	1
CCN-51-VRAE-99	0.01167	0.338	40	0.034	1
ICS-60- ICS-95	0.06667	0.338	40	0.197	0.9996
ICS-60-POUND-7	0.03833	0.338	40	0.113	1
ICS-60-VRAE-99	0.063	0.338	40	0.186	0.9997
ICS-95-POUND-7	-0.02833	0.338	40	-0.084	1
ICS-95-VRAE-99	-0.00367	0.338	40	-0.011	1
POUND-7-VRAE-99	0.02467	0.338	40	0.073	1
50 ppm					
Comparación de genotipos de cacao	Estimados	SE	df	t. ratio	p valor
CCN-51 - ICS-60	-0.05133	0.338	40	-0.152	0.9999
CCN-51-ICS-95	0.01533	0.338	40	0.045	1
CCN-51-POUND-7	-0.013	0.338	40	-0.038	1
CCN-51-VRAE-99	0.01167	0.338	40	0.034	1
ICS-60- ICS-95	0.06667	0.338	40	0.197	0.9996
ICS-60-POUND-7	0.03833	0.338	40	0.113	1
ICS-60-VRAE-99	0.063	0.338	40	0.186	0.9997
ICS-95-POUND-7	-0.02833	0.338	40	-0.084	1
ICS-95-VRAE-99	-0.00367	0.338	40	-0.011	1
POUND-7-VRAE-99	0.02467	0.338	40	0.073	1
100 ppm					
Comparación de genotipos de cacao	Estimados	SE	df	t. ratio	p valor
CCN-51 - ICS-60	-0.05133	0.338	40	-0.152	0.9999
CCN-51-ICS-95	0.01533	0.338	40	0.045	1
CCN-51-POUND-7	-0.013	0.338	40	-0.038	1
CCN-51-VRAE-99	0.01167	0.338	40	0.034	1
ICS-60- ICS-95	0.06667	0.338	40	0.197	0.9996
ICS-60-POUND-7	0.03833	0.338	40	0.113	1
ICS-60-VRAE-99	0.063	0.338	40	0.186	0.9997
ICS-95-POUND-7	-0.02833	0.338	40	-0.084	1
ICS-95-VRAE-99	-0.00367	0.338	40	-0.011	1
POUND-7-VRAE-99	0.02467	0.338	40	0.073	1
150 ppm					
Comparación de genotipos de cacao	Estimados	SE	df	t. ratio	p valor
CCN-51 - ICS-60	-0.05133	0.338	40	-0.152	0.9999
CCN-51-ICS-95	0.01533	0.338	40	0.045	1
CCN-51-POUND-7	-0.013	0.338	40	-0.038	1
CCN-51-VRAE-99	0.01167	0.338	40	0.034	1
ICS-60- ICS-95	0.06667	0.338	40	0.197	0.9996
ICS-60-POUND-7	0.03833	0.338	40	0.113	1
ICS-60-VRAE-99	0.063	0.338	40	0.186	0.9997
ICS-95-POUND-7	-0.02833	0.338	40	-0.084	1
ICS-95-VRAE-99	-0.00367	0.338	40	-0.011	1
POUND-7-VRAE-99	0.02467	0.338	40	0.073	1