

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**“BIORREMEDIACIÓN MEDIANTE *Trichoderma* spp., *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus subtilis* PARA REDUCIR CONCENTRACIONES DE CADMIO EN ESPÁRRAGO”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE:  
INGENIERA AGRÓNOMA**

**KASANDRA NATALY RODRÍGUEZ VILLANUEVA**

**LIMA- PERÚ**

**2022**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**

**FACULTAD DE AGRONOMIA**

**“BIORREMEDIACIÓN MEDIANTE *Trichoderma* spp., *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus subtilis* PARA REDUCIR CONCENTRACIONES DE CADMIO EN ESPÁRRAGO”**

**KASANDRA NATALY RODRÍGUEZ VILLANUEVA**

Tesis para optar el título de:

**INGENIERA AGRÓNOMA**

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

.....

**Dr. Oscar Oswaldo Loli Figueroa**  
**PRESIDENTE**

.....

**Dra. Luz Leonor Mattos Calderón**  
**ASESORA**

.....

**Ing. Mg. Sc. Carlos Alberto Cadenas Giraldo**  
**MIEMBRO**

.....

**Ing. Mg. Sc. Lily Denise Tello Peramas**  
**MIEMBRO**

LIMA- PERÚ

2022

## **DEDICATORIA**

Dedico esta tesis a mi madre y hermana que son mi motor y soporte; ellas son mi todo.

También a todas las personas que siempre me alentaron a salir adelante a pesar de las adversidades y formaron parte de mi formación como profesional y ser humano.

Finalmente, dedico esta tesis a todas y todos aquellos que creen que no pueden lograr sus objetivos; siempre hay una oportunidad para empezar nuevamente mientras estemos vivos.

## **AGRADECIMIENTO**

A mi madre y hermana por todo el incondicional amor y apoyo otorgado durante esta etapa.

A mi patrocinadora, la Doctora Luz Leonor Mattos Calderón, por haberme brindado su enseñanza, orientación, confianza, tiempo, paciencia y apoyo constante para la ejecución del presente trabajo.

A Silvestre Perú S.A.C, empresa que financió la investigación, en especial a los ingenieros Juan Carlos Meneses, Carlos Huamán, Christian Hostia, Alonso Cáceres, Pavel Córdova y a la Licenciada Rosa Zamudio por su total apoyo en la ejecución del presente trabajo.

Al Doctor Federico Alexis Dueñas Dávila por su tiempo, confianza, su muy valiosa enseñanza y colaboración en la ejecución del presente trabajo.

A la empresa Floridablanca, en especial al ingeniero Flavio de la Cruz y todo el personal del fundo Santa Mónica, por su apoyo incondicional en las labores realizadas y su calidez, preocupación y amistad brindada durante mi estancia en Santiago. Los tendré siempre presentes.

A mis profesores, principalmente de la Facultad de Agronomía, por la amistad y entrega absoluta en la enseñanza brindada durante toda mi etapa universitaria.

A mis amigos y compañeros que estuvieron presentes durante todo este proceso de aprendizaje mediante llamadas, palabras de aliento, preocupación y apoyo, para que esta investigación salga adelante.

## ÍNDICE GENERAL

<b>I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
1.1. OBJETIVO GENERAL .....	2
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	2
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>3</b>
2.1. EL CULTIVO DE ESPÁRRAGO: CARACTERÍSTICAS E IMPORTANCIA....	3
2.1.1. El cultivo de espárrago .....	3
2.1.2. Distribución .....	3
2.1.3. Taxonomía.....	4
2.1.4. Morfología.....	4
2.1.5. Requerimientos edafoclimáticos .....	6
2.1.6. Requerimientos nutricionales .....	8
2.1.7. Fenología del espárrago .....	10
2.1.8. Importancia.....	11
2.2. EL CADMIO (Cd).....	13
2.2.1. Origen del Cd en el ambiente .....	14
2.2.2. Movilidad de Cd en el ambiente .....	15
2.2.3. El Cd y las plantas .....	19
2.2.4. El Cd en el espárrago .....	23
2.2.5. Problemas en el ser humano asociados al Cd.....	24
2.3. <i>Trichoderma</i> spp.....	25
2.3.1. Generalidades .....	25
2.3.2. Taxonomía.....	26
2.3.3. Ciclo de vida.....	26
2.3.4. Morfología.....	27
2.3.5. Ecología.....	27
2.3.6. Interacción con la planta .....	28
2.4. <i>Pseudomonas fluorescens</i> .....	28
2.4.1. Generalidades .....	28
2.4.2. Taxonomía.....	29
2.4.3. Ciclo de vida.....	29
2.4.4. Morfología.....	30
2.4.5. Ecología.....	30

2.4.6. Interacción con la planta .....	30
2.5. <i>Bacillus subtilis</i> .....	31
2.5.1. Generalidades .....	31
2.5.2. Taxonomía.....	31
2.5.3. Ciclo de vida.....	32
2.5.4. Morfología.....	33
2.5.5. Ecología.....	33
2.5.6. Interacción con la planta .....	33
2.6. <i>Trichoderma</i> spp., <i>Pseudomonas fluorescens</i> y <i>Bacillus subtilis</i> EN LA BIORREMEDIACIÓN DE METALES PESADOS .....	34
2.7. Productos con <i>Trichoderma</i> spp., <i>Pseudomonas fluorescens</i> y <i>Bacillus subtilis</i> USADOS PARA LA BIORREMEDIACIÓN DE Cd .....	39
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>40</b>
3.1. DESCRIPCIÓN DEL CASO A ESTUDIAR.....	40
3.1.1. Ubicación de la zona experimental .....	40
3.1.2. Características del suelo .....	41
3.1.3. Características del agua de riego .....	43
3.1.4. Características climáticas de la zona experimental .....	44
3.1.5. Características del cultivar .....	47
3.1.6. Manejo agronómico.....	47
3.1.7. Riego .....	48
3.1.8. Fertilización y aplicación de enmiendas .....	48
3.1.9. Manejo de plagas y enfermedades .....	49
3.1.10. Manejo de plantas invasoras .....	49
3.2. MATERIALES Y EQUIPOS .....	49
3.3. MÉTODOS.....	50
3.3.1. Tratamientos.....	50
3.3.2. Características del campo experimental.....	50
3.3.3. Diseño experimental.....	50
3.4. PROCEDIMIENTO .....	52
3.4.1. Instalación del ensayo y establecimiento del campo de espárrago .....	52
3.4.2. Toma de muestras de suelo para determinar la concentración de Cd .....	52
3.4.3. Toma de muestras de agua para determinar la concentración de Cd .....	53
3.4.4. Toma de muestras de los fertilizantes usados en la campaña para determinar	

las concentraciones de Cd .....	53
3.4.5. Extracción de follaje para determinar la concentración de Cd.....	54
3.4.6. Extracción de turiones y coronas para determinar la concentración de Cd ...	54
3.4.7. Aplicación de los productos .....	54
3.4.8. Toma de datos para obtener los parámetros de rendimiento y calibre en turiones de espárrago.....	55
3.4.9. Cálculo de los Factores de Traslocación (TF) y Bioconcentración (BCF) ....	55
3.5. PARÁMETROS EVALUADOS.....	56
3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	56
3.6.1. Modelado.....	56
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>57</b>
4.1. FACTOR DE TRANSLOCACIÓN (TF) Y FACTOR DE BIOCONCENTRACIÓN (BCF) DE Cd EN EL ESPÁRRAGO.....	57
4.2. DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE CADMIO (Cd) en mg/kg DE TURIONES DE ESPÁRRAGO.....	61
4.3. DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE CADMIO EN mg/kg EN CORONAS DE ESPÁRRAGO .....	64
4.4. DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE CADMIO EN mg/kg EN SUELO.....	68
4.5. DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE CADMIO (ppm) EN EL AGUA DE RIEGO USADA EN TODA LA CAMPAÑA DE ESPÁRRAGO .....	72
4.6. DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE CADMIO (ppm) EN LOS FERTILIZANTES USADOS EN TODA LA CAMPAÑA DE ESPÁRRAGO Y LOS g Cd/ha PROVENIENTES DE ESTOS FERTILIZANTES.....	72
4.7. DETERMINACIÓN DEL PESO DE TURIONES (g) PARA 18 DÍAS DE COSECHA .....	73
4.8. DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE TURIONES PARA 18 DÍAS DE COSECHA .....	74
4.9. DETERMINACIÓN DEL CALIBRE DE TURIONES PARA 18 DÍAS DE COSECHA .....	75
4.10. DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO PARCIAL EN kg/ha DE TURIONES PARA 18 DÍAS DE COSECHA .....	77

<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>78</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>79</b>
<b>VII. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>80</b>
<b>VIII. ANEXOS .....</b>	<b>93</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Factores hídricos en el cultivo de espárrago .....	8
Tabla 2: Extracción promedio de nitrógeno, fósforo y potasio en kg/ha para un rendimiento de 15 t/ha .....	9
Tabla 3: Importancia de algunos macro y micro nutrientes en el cultivo de espárrago .....	9
Tabla 4: Sintomatología de acuerdo a la deficiencia de algunos elementos importantes en el cultivo de espárrago .....	10
Tabla 5: Ubicación Geográfica donde se llevó a cabo el ensayo .....	40
Tabla 6: Características físicas y químicas del suelo experimental.....	42
Tabla 7: Comparación entre los valores obtenidos del análisis de agua para riego del fundo y los valores según decretos supremos de los años 2008 y 2017 .....	44
Tabla 8: Variables climatológicas de la zona experimental – mayo 2019 a octubre 2019 .....	45
Tabla 9: Unidades de fertilizantes usadas en la campaña de espárrago .....	48
Tabla 10: Materiales y equipos usados en el ensayo .....	49
Tabla 11: Descripción de los tratamientos .....	50
Tabla 12: Características del campo experimental .....	50
Tabla 13: Parámetros de rendimiento a evaluar .....	56
Tabla 14: Calibres para turiones de espárrago .....	56
Tabla 15: Factor de Bioconcentración (BCF) de Cd en follaje de espárrago a los 89 DDS .	58
Tabla 16: Factor de Bioconcentración (BCF) y factor de translocación (TF) de Cd en corona y turiones de espárrago a los 138 DDS y 160 DDS.....	59
Tabla 17: Análisis de varianza en turiones de espárrago (ANOVA) .....	61
Tabla 18: Comparación entre parejas de las concentraciones de Cd en turiones de espárragos en el tiempo .....	61
Tabla 19: Prueba de Dunnett para la concentración de Cd en turiones de espárrago.....	62
Tabla 20: Análisis de variancia en coronas de espárrago (ANOVA).....	65
Tabla 21: Comparación entre parejas de las concentraciones de Cd en coronas de espárragos en el tiempo .....	65
Tabla 22: Prueba de Dunnett para la concentración de Cd en coronas de espárrago .....	66
Tabla 23: Análisis de variancia en suelo de espárrago (ANOVA).....	69
Tabla 24: Comparación entre parejas de las concentraciones de Cd en el suelo en el tiempo .....	69

Tabla 25: Prueba de Dunnett para la concentración de Cd en suelo .....	69
Tabla 26: Concentraciones de Cd (ppm) y g Cd/ha del agua de riego para una campaña de espárrago.....	72
Tabla 27: Concentración de Cd (ppm) en fertilizantes y g Cd/ha para una campaña de espárrago.....	73

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Distribución del espárrago ( <i>Asparagus officinalis</i> ) en todo el mundo.....	3
Figura 2: Morfología del espárrago. Imágenes correspondientes al campo en donde se realizó el estudio (Fundo Santa Mónica).....	5
Figura 3: Descripción de las etapas fenológicas del cultivo de espárrago .....	11
Figura 4: a. Producción de espárrago en el mundo (Total) 2018. b. Producción de Espárragos: Los 10 productores principales del Mundo 2018. c. Producción de Espárragos en Perú 2010-2018 .....	13
Figura 5: Concentraciones de Cd y otros metales traza en soluciones de equilibrio de podzol gleico arenoso .....	16
Figura 6: Impacto de los potenciales redox en la solubilidad de los metales trazas del suelo en agua a pH 5.0 y 8.0.....	18
Figura 7: Representación esquemática de los mecanismos de ingreso, secuestro y translocación del Cd en raíces .....	21
Figura 8: Patrón de crecimiento o rendimiento en función a la concentración de Cd en los cultivos.....	23
Figura 9: Ciclo de vida asexual de <i>Trichoderma</i> sp. ....	26
Figura 10: Formación de endosporas del género <i>Bacillus</i> .....	32
Figura 11: Mecanismos de resistencia bacteriana intracelular o extracelular para metales pesados. Para el Cd incluye bombas de flujo, precipitación como sales metálicas, secuestro por parte de la sustancia polimérica extracelular (EPS).....	36
Figura 12: Productos del Grupo Silvestre usados en la agricultura.....	39
Figura 13: Ubicación de la parcela experimental: a) Mapa del Perú, b) Departamento de Ica, c) Distrito de Santiago y d) Vista aérea de la ubicación de campo experimental....	40
Figura 14: Comparación entre las temperaturas máximas, medias y mínimas registradas entre los meses de mayo y octubre, tiempo de duración de la campaña de espárrago .....	46
Figura 15: Comparación entre las humedades relativas máximas, medias y mínimas registradas entre los meses de mayo y octubre, tiempo de duración de la campaña de espárrago.....	46
Figura 16: Relación entre la temperatura media y la humedad relativa media registradas entre los meses de mayo y octubre, tiempo de duración de la campaña de espárrago .....	47
Figura 17: Distribución de los tratamientos y bloques .....	51

Figura 18: Diagrama de distribución de los tratamientos y bloques en el campo experimental .....	51
Figura 19: Factor de Bioconcentración (BCF) de Cd medidos en follaje a 89 días después de soltado el campo (DDS) .....	58
Figura 20: Factor de Bioconcentración (BCF) de Cd medidos en corona y turión a 138 y 160 días después de soltado el campo (DDS) .....	59
Figura 21: Factor de Translocación (TF) de Cd medido a 138 y 160 días después de soltado el campo (DDS) .....	60
Figura 22: Comparación de las medias marginales estimadas de las concentraciones de Cd (ppm) en turiones de espárrago de 138 y 160 días después de soltado el campo (DDS) .....	62
Figura 23: Comparación de las medias marginales estimadas de las concentraciones de Cd (ppm) en coronas de espárrago de 138 y 160 días después de soltado el campo (DDS) .....	66
Figura 24: Comparación de las medias marginales estimadas de las concentraciones de Cd (ppm) en suelo de 89, 138 y 160 días después de soltado el campo (DDS) .....	70
Figura 25: Peso de turiones de espárrago medido en 18 días de cosecha .....	74
Figura 26: Número de turiones de espárrago por tratamiento en 18 días de cosecha .....	75
Figura 27: Calibre de turiones de espárrago por tratamientos para 18 días de cosecha .....	76
Figura 28: Comparación entre calibres para 18 días de cosecha.....	76
Figura 29: Rendimiento de espárrago por tratamiento para 18 días de cosecha .....	77
Figura 30: Muestreo de suelo .....	113
Figura 31: Preparación de productos correspondientes a los tratamientos.....	113
Figura 32: Lote donde se realizó el ensayo .....	113
Figura 33: Aplicación de los productos en las parcelas experimentales .....	113
Figura 34: Preparación de los productos para la aplicación de los mismos .....	114
Figura 35: Muestras de follaje obtenidos de las parcelas experimentales.....	114
Figura 36: Muestras de suelo obtenidos de las parcelas experimentales.....	114
Figura 37: Última aplicación de los productos realizada después del chapodo .....	114
Figura 38: Personal del fundo cosechando turiones de las parcelas experimentales .....	115
Figura 39: Medida del calibre de los turiones utilizando un vernier .....	115
Figura 40: Turiones cosechados por tratamientos .....	115
Figura 41: Vista del campo experimental durante la cosecha .....	115

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Cronograma de actividades durante el ensayo.....	93
Anexo 2: Pruebas de normalidad para la concentración de Cd en turiones de espárrago, coronas de espárrago y suelo .....	94
Anexo 3: Pruebas de homogeneidad de variancia para las concentraciones de Cd en turiones de espárrago, coronas de espárrago y suelo.....	96
Anexo 4: Prueba de Tukey para las concentraciones de Cd en turiones de espárrago.....	97
Anexo 5: Prueba de Tukey para las concentraciones de Cd en coronas de espárrago .....	98
Anexo 6: Prueba de Tukey para las concentraciones de Cd en el suelo.....	99
Anexo 7: Pruebas de Tukey y Duncan para las concentraciones de Cd en turiones de espárrago, coronas de espárrago y suelo .....	100
Anexo 8: ANOVA del peso, número, calibre y rendimiento de turiones de espárrago para 18 días de cosecha .....	102
Anexo 9: Análisis de concentraciones de Cd en turiones de espárrago en los diferentes tratamientos .....	104
Anexo 10: Análisis de concentraciones de Cd en follaje de espárrago en los diferentes tratamientos .....	106
Anexo 11: Análisis de concentraciones de Cd en coronas de espárrago en los diferentes tratamientos .....	107
Anexo 12: Análisis de Salinidad y análisis de concentraciones de Cd en suelo en los diferentes tratamientos.....	109
Anexo 13: Registro fotográfico realizado durante el ensayo en el año 2019 .....	113

## RESUMEN

El cadmio (Cd.), que en la agricultura resulta importante debido a su persistencia y toxicidad, puede ser causante de graves problemas en la salud del ser humano, entre ellos el cáncer. Debido a esta problemática, se realizó un ensayo para poder determinar si microorganismos como *Trichoderma* spp., *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus subtilis* son capaces de reducir las concentraciones de Cd en el cultivo de espárrago. El experimento se llevó a cabo en Ica, en el año 2019, en el fundo Santa Mónica de la empresa Floridablanca. Se realizó un DBCA utilizando los tratamientos T1 y T2 (TRICOX 1 y 2 kg); T3 y T4 (BIODELTA 1 y 2kg); T5 y T6 (BIO-SPLENT 1 y 2 kg) y T0 (Testigo).

Luego de analizar los resultados, se pudo determinar que, a nivel de suelo, turiones y coronas de espárrago, no hubo una diferencia significativa en las concentraciones de Cd de los tratamientos contra el testigo, pero en el caso de las coronas si hubo una diferencia significativa entre los tratamientos T1 contra T3 y T4; T4 contra T2, T5 y T6. Con respecto a las concentraciones obtenidas en el tiempo, considerando inicio y fin de cosecha, dentro de cada tratamiento, la reducción de Cd si fue significativa a nivel de turiones, coronas y suelo, pero a nivel de turiones no parece haber una influencia de los microorganismos utilizados con el fin de reducir Cd, pues dicha reducción fue mayor en el testigo que en los tratamientos. Por el contrario, a nivel de corona y suelo, hubo una reducción del metal en todos los tratamientos y esta fue mayor que en los testigos, donde se apreció un incremento. Además, se pudo determinar a partir del Factor de Translocación (TF) y Factor de Bioconcentración (BCF), que el espárrago es una planta hiperacumuladora en ciertas etapas de su desarrollo. Esta característica resulta importante debido a que hay estudios que evidencian que los microorganismos podrían colaborar con plantas hiperacumuladoras a la absorción de metales como el Cd. Finalmente, no se encontraron diferencias significativas en el peso, número de turiones, calibre y rendimiento parcial del espárrago. Así mismo, se determinó la presencia de Cd en los fertilizantes utilizados en la campaña y el agua de riego, por tanto, estos son potenciales fuentes de Cd en el suelo.

**Palabras Clave:** Cadmio, espárrago, biorremediación, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningi*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*.

## ABSTRACT

Cadmium (Cd.), which is important in agriculture due to its persistence and toxicity, may cause health problems in humans, including cancer. Due to this problematic, a test was carried out to determine if microorganisms such as *Trichoderma* spp., *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* are capable of reducing the concentrations of Cd in asparagus. The experiment was carried out in Ica, 2019 at the Floridablanca company. DBCA was performed using treatments T1 and T2 (TRICOX 1 and 2 kg); T3 and T4 (BIODELTA 1 and 2kg); T5 and T6 (BIO-SPLENT 1 and 2 kg) and T0 (Control). After analyzing the results, it was determine that, at the soil level, shoots and asparagus crowns, there was no significant difference in the Cd concentrations of the treatments against the control, but in the case of the crowns there was a difference significant between treatments T1 and T3, and T4; and T4 and T2, T5 and T6. Regarding the concentrations obtained over time, considering the beginning and end of harvest, within each treatment, the reduction of Cd was significant at the level of shoots, crowns and soil, but at the level of shoots there does not seem to be an influence of the microorganisms used in order to reduce Cd, since this reduction was greater in the control than in the treatments. On the contrary, at the crown and soil level, there was a reduction of the metal in all the treatments and this was greater than in the controls, where an increase was observed. Also, it was possible to determine from the Translocation Factor (TF) and Bioconcentration Factor (BCF), that asparagus is a hyperaccumulator plant at certain stages of its development. This characteristic is important because there are studies that show that microorganisms could collaborate with hyperaccumulating plants to absorb metals such as Cd. Finally, no significant differences were found in weight, number of shoots, size and partial yield of asparagus. Likewise, the presence of Cd in the fertilizers used in the campaign and the irrigation water was determined, therefore, these are potential sources of Cd in the soil.

**Keywords:** Cadmium, asparagus, bioremediation, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koniingi*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*.

## I. INTRODUCCIÓN

Algunos metales pesados, como el cadmio (Cd), son considerados uno de los contaminantes más tóxicos en el ambiente por tener efectos nocivos a nivel de toda la cadena trófica (Beltrán y Gómez, 2016). El Cd, que en la agricultura resulta importante debido a su persistencia y toxicidad, puede ser causante de graves problemas en la salud del ser humano, entre ellos el cáncer (Organización Mundial de la Salud [OMS], s. f.). Este metal, desde la revolución industrial, ha sido liberado al ambiente, principalmente en procesos de manufactura, eliminación de aguas residuales domésticas e industriales y aplicación de fertilizantes fosforados (Beltrán y Gómez, 2016). La Unión Europea, a través del Reglamento (CE) n° 1881/2006, modificado por el Reglamento (UE) N° 488/2014 de la Comisión, determina niveles permisibles de Cd en tallos jóvenes de hortalizas, como es el caso del espárrago y desde el día 1° de enero de 2019, ha determinado niveles máximos de mg/kg de Cd para cacao (Diario Oficial de la Unión Europea, 2014), debido a las altas concentraciones del metal que se están detectando. Actualmente, en zonas de Ica, se ha registrado este problema en el cultivo de espárrago, lo cual ha ocasionado que algunos envíos hayan sido rechazados una vez que han llegado al puerto de destino. En el 2017, las exportaciones de espárrago disminuyeron debido a la antigüedad de las plantaciones y en cierta medida el reemplazo del cultivo por otros más rentables (Redagícola, 2018); si a esto agregamos los problemas de contaminación por Cd, traería consecuencias adversas para nuestra economía pues, Perú se posiciona como el segundo productor de espárragos y el primer exportador a nivel mundial (Food and Agriculture Organization [FAO], 2020).

Según menciona Sankarammal, Thatheyus y Ramya (2014) la mayoría de los métodos físico-químicos para la eliminación de Cd parecen ser costosos, ineficaces y laboriosos. La biorremediación, usada para la remoción de metales pesados, se ha considerado una alternativa segura y económica a las estrategias físico-químicas. Algunas investigaciones han podido comprobar que ciertos microorganismos, como bacterias de los géneros

*Pseudomonas* y *Bacillus* (Guerra, Sandoval, Manrique y Barrera, 2014) y hongos del género *Trichoderma* (Beltrán y Gómez, 2016), han sido efectivos para la reducción en las concentraciones de Cd, actuando como biorremediadores de suelo.

Esto daría paso a nuevas alternativas para poder enfrentar este problema de contaminación, ya que, al llevar a cabo la biorremediación se puede evitar un efecto nocivo a largo plazo a otros organismos, así como a recursos naturales, recuperando el equilibrio ecológico existente en el medio ambiente y contribuyendo a los objetivos de desarrollo sostenible planteados por la Agenda 2030, aprobada por la Asamblea General de las Naciones Unidas.

### **1.1. OBJETIVO GENERAL**

- Determinar la influencia de la aplicación de *Trichoderma* spp., *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus subtilis* en las concentraciones de Cd en los turiones de espárrago, pertenecientes a una plantación en Ica.

### **1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar las concentraciones de Cd en mg/kg en coronas y turiones de espárrago, así como también en el suelo, luego de la aplicación de *Trichoderma* spp., *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus subtilis*.
- Determinar el peso, número y calibre de turiones de espárrago, luego de la aplicación de *Trichoderma* spp., *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus subtilis*.
- Determinar el rendimiento en kg/ha de turiones de espárrago, luego de la aplicación de *Trichoderma* spp., *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus subtilis*.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

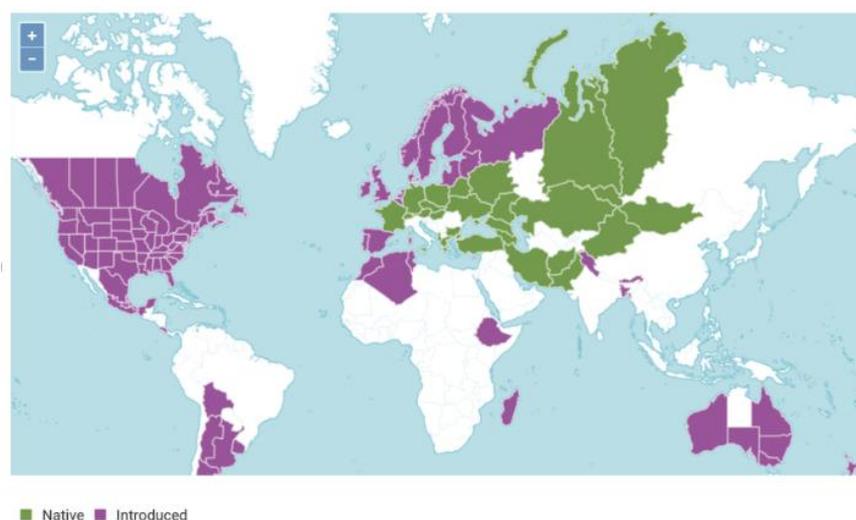
### 2.1. EL CULTIVO DE ESPÁRRAGO: CARACTERÍSTICAS E IMPORTANCIA

#### 2.1.1. El cultivo de espárrago

El espárrago (*Asparagus officinalis*), es un cultivo alimenticio del cual se consume únicamente los turiones. Sin embargo, esta especie también se usa como fuente de bioactivos medicinales; forma parte de la medicina tradicional china. El espárrago ha sido cultivado y cosechado durante miles de años por muchas civilizaciones, incluidos los egipcios, los antiguos griegos y romanos. A mediados del siglo XIX se da la introducción del espárrago a Norte América (Pegiou, Mumm, Acharya, de Vos y Hall, 2020).

#### 2.1.2. Distribución

El espárrago es una planta herbácea perenne y se cree que su origen es el Mediterráneo Oriental, sin embargo, crece también en Europa Central, el Cáucaso y Asia Occidental. Hace siglos fue llevado a Norteamérica, el norte de Europa y partes de América del Sur, el norte de África y Australia (Pegiou et al., 2020). Se puede observar su distribución en la Figura 1.



**Figura 1: Distribución del espárrago (*Asparagus officinalis*) en todo el mundo**

*Nota:* De color verde, áreas nativas y de color púrpura, áreas introducidas.

FUENTE: Pegiou et al. (2020)

### **2.1.3. Taxonomía**

Según la United States Department of Agriculture (USDA, s. f.), el espárrago tiene la siguiente clasificación taxonómica:

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

Superdivisión: Spermatophyta

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Liliales

Familia: Liliaceae

Género: *Asparagus* L.

Especie: *A. officinalis* L.

### **2.1.4. Morfología**

Según Loayza (2006) y Nuñez et al. (2008) citados por Fernandez (2015), la morfología del espárrago se aprecia en la Figura 2 y se describe de la siguiente forma:

#### **a. Sistema radicular y yemas**

Consta de un sistema rizomático subterráneo en forma de plataforma del cual surgen las raíces principales, las cuales acumulan reservas que servirán para la próxima producción de turiones. De las raíces nacen las raicillas y pelos absorbentes, encargados de absorber agua y nutrientes. En conjunto, a la plataforma rizomática y a los dos tipos de raíces se le conoce como “corona”. Las yemas son los órganos de donde brotan los turiones, que luego serán los futuros tallos ramificados de la planta. Según Begum, Sindhu, Giri, Umera, Gauthami et al., (2017), la raíz muestra presencia de tricomas de recubrimiento.

#### **b. Tallos**

También llamados turiones. Estos pueden ser blancos (desarrollados bajo tierra) y verdes (cuando crecen libremente en el exterior). Portan ramas laterales provistas de hojas escuamiformes que son en realidad tallos modificados como cladodios; estos miden de 0.5 a 1.5 cm y los tallos presentan tricomas glandulares (Begum et al., 2017).

### c. Hojas

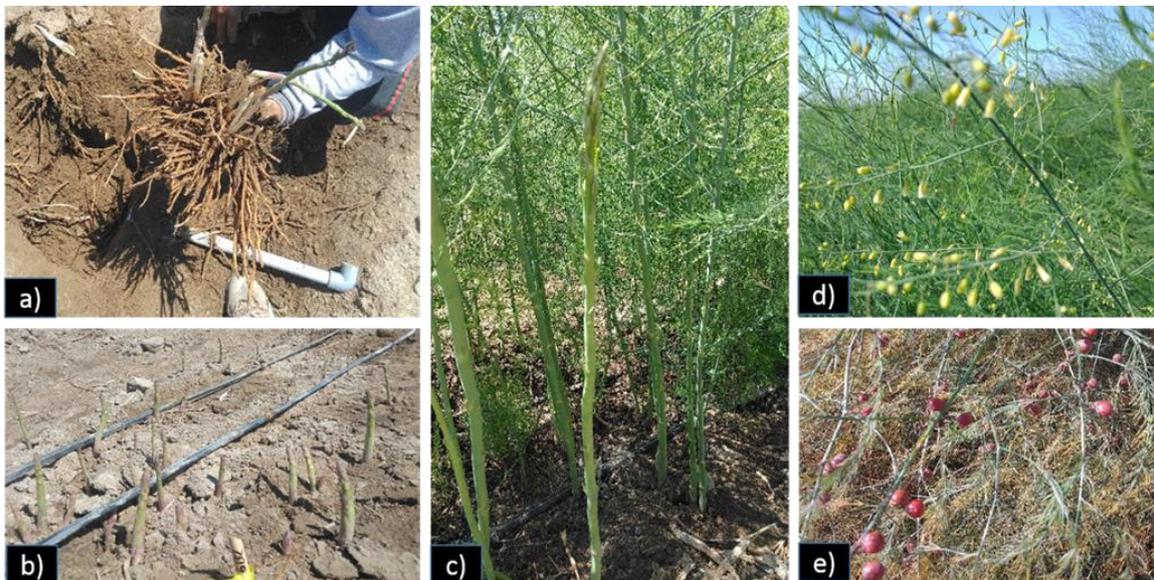
Son pequeñas, de color blanquecino a verde intenso y están dispuestas alrededor de los tallos, apareciendo como escamas triangulares en las yemas. El llamado follaje, está constituido por ramas principales y secundarias, las cuales tienen verticilos que están cubiertos de filocladios (tallos modificados) que cumplen las funciones de protección, alimentación e intercambio gaseoso.

### d. Flor

Es una planta dioica, aunque también hay la existencia plantas hermafroditas. Las flores masculinas son acampanuladas y las femeninas, semiglobosas. Tienen polinización cruzada, con un elevado porcentaje de alogamia.

### e. Frutos

Baya redonda (0.5 cm. de diámetro), de color verde al principio y roja en la maduración, redondeada y formada por tres compartimentos, en cada uno de los cuales existe una o dos semillas negras en forma triangular. Las semillas son de color pardo oscuro o negras y con forma entre poliédrica y redonda, teniendo un elevado poder germinativo.



**Figura 2: Morfología del espárrago. Imágenes correspondientes al campo en donde se realizó el estudio (Fundo Santa Mónica)**

*Nota:* a) sistema radicular y yemas, b) tallos (turiones), c) hojas, d) flores y e) frutos.

## **2.1.5. Requerimientos edafoclimáticos**

### **2.1.5.1. Clima**

La planta crece tanto en climas templados (Europa y Estados Unidos) o subtropicales, incluso en climas tropicales (Perú, Colombia, Venezuela). Según Delgado de la Flor et al. (1993) citado por Moreno (2017), los periodos de estrés ocasionados por el frío, serán reemplazados por sequía o podas en países como Perú. La temperatura óptima de crecimiento está en el rango de 14 y 25 °C, con una mínima de 10°C y una máxima de 30 °C; además, son favorables temperaturas entre 8 y 26 °C (Loayza, 2006 y Delgado de la Flor citado por Rosales, 2017). Si las temperaturas fueran más altas, se favorece el desarrollo vegetativo, por tanto puede ser favorable para acortar el tiempo entre cosechas debido al crecimiento más acelerado. Según Montes y Holle (1978) citado por Cabrera (1993), temperaturas mayores a 30 °C promueven el rameo y deshidratación del turión. A 40 °C, los brotes de apenas 5 cm. de emergencia sobre el suelo, ramean. El mejor rendimiento se da a temperaturas medias (20-25 °C) durante el día y bajas (8-10 °C) durante la noche. Según Benson (1987) citado por Cabrera (1993), a nivel de corona se necesita una temperatura crítica de 10 a 11 °C antes que empiece el crecimiento de los turiones. Las temperaturas bajas (10-15 °C) afectan la calidad de turiones antes de la cosecha, provocando una mayor concentración de antocianinas en las escamas que le da un color púrpura al turión. Souther (1987) citado por Cabrera (1993) menciona que, para el crecimiento óptimo del turión, las temperaturas para suelo y aire van de 18 a 30 °C. A temperaturas de suelo menores a 10 °C se detiene el crecimiento de las yemas y el crecimiento del turión continuará de forma lenta. Con respecto a la humedad, esta debe ser baja en la época de descanso de la planta y alta en la época de cosecha, para evitar así la deshidratación rápida de los turiones (Delgado de la Flor et al., 1987 citado por Cabrera, 1993). El Instituto Peruano de Espárrago y Hortalizas (IPEH, 2011) citado por Moreno (2017), menciona que para el crecimiento de turiones, la humedad relativa óptima está entre 60 y 70 %.

### **2.1.5.2. Suelo**

Se debe considerar un suelo con las mejores características que se adapten al cultivo debido a que este va a crecer durante muchos años sobre el mismo terreno. Según Loayza (2006), el espárrago necesita una textura ligera (arenosa), con buena aireación y drenaje. Según Montes y Holle (1987) citados por Cabrera (1993), los mejores suelos para el espárrago son los franco arenosos pues, al ser bien aireados y secar rápido, no forman costra en la superficie

y por tanto, resultan tener una labranza menos laboriosa y de menor costo. Con respecto al pH, los valores entre 6.2 y 7.8 son los más adecuados (Moreno, 2017). En cuanto a la salinidad, para una conductividad eléctrica (CE) superior a 4.1 dS/m, por cada unidad de incremento en la CE, el rendimiento del cultivo disminuye en un 2 %, afectando principalmente el peso de los turiones (Loayza, 2006); esto concuerda con muchas investigaciones que han demostrado que 4.1 dS/m es el umbral de tolerancia, pero a pesar de ello, el espárrago no muestra síntomas sino hasta un valor igual o mayor de 10 dS/m de CE (Sanchez, 1992 citado por Cabrera, 1993). Sanchez (2006) menciona que el espárrago tolera una CE, en extracto de saturación, mayor a 8 dS/m y menor a 12 dS/m. Según Delgado de la Flor et al., (1987) citado por Cabrera (1993), el espárrago es resistente a un alto contenido de alcalinidad y salinidad. Por ser un cultivo perenne, tendrá un alto requerimiento de materia orgánica pues, el nitrógeno mejora el rendimiento al promover el crecimiento vegetativo, tener una mayor eficacia fotosintética y mayor formación de proteínas (Sánchez, 2015). Con respecto al porcentaje de sodio intercambiable (PSI), si este alcanza valores mayores a 15 %, causa efectos directos a la planta (quemaduras de hojas de la parte basal a la parte apical) e indirectos al suelo (dispersión de las partículas, concretamente la permeabilidad y el drenaje); además, una alta concentración de sodio está asociada a un pH superior a 8,3 donde disminuye la absorción de la mayoría de nutrientes de la planta. Con respecto al boro, el espárrago es exigente en la nutrición del mismo debido a que es rico en pectina en las paredes celulares (Ramírez, 2020) y, según Moreno (2017), en suelos salinos se requiere alto contenido de este elemento. Para Sanchez (1992) citado por Cabrera (1993), el umbral de tolerancia de boro para el espárrago en el suelo es de 10 a 15 ppm. En relación a la capacidad de intercambio catiónico (CIC), Azabache (2003) menciona que para suelos francos los valores de la CIC se encuentran entre 10-15 cmol(+)/kg suelo, pero Sanchez (2006) menciona valores de CIC entre 5-10 cmol(+)/kg, específicamente para suelos franco arenosos. En suelos con baja CIC, la capacidad de retención de cationes es menor.

### **2.1.5.3. Agua**

Según Sanchez (2006), la calidad de agua depende de sus características físicas y químicas y de los problemas potenciales que pueden generar en el cultivo, suelos y sistema de riego. Para FUNDEAGRO (1983) y Benson (1987) citados por Cabrera (1993), la salinidad puede ser perjudicial dando como sintomatología la aparición de quemaduras de los brotes tiernos; pero en el caso del crecimiento del espárrago, la calidad de agua no es un factor limitante y

al parecer es minimizada por la habilidad de la planta para controlar la absorción de sodio. Para aliviar el estrés en la planta, la relación de absorción de sodio (RAS) deber ser inferior a 9 pero de preferencia menor a 3. Además, el espárrago es tolerante al boro en el agua, ya que niveles de hasta 3 ppm no causan perjuicio. Según Delgado de la flor et al. (1993) citados por Moreno (2017), el espárrago contiene 90% de humedad en sus brotes, por tanto se justifica la necesidad de agua pues, a falta de esta, la deshidratación afectará a los turiones evitando la absorción de nutrientes y por tanto reduciendo la calidad. Loayza (2006) afirma que la calidad de los turiones (longitud, peso, apariencia física) dependerá de un buen suministro y almacenamiento de agua en el suelo; sin embargo, el espárrago es sensible a asfixia radicular por tanto, no deber presentarse encharcamientos. Debido a la gran superficie de follaje que tiene el espárrago, se presenta una alta evapotranspiración, lo que hace que necesite riegos fuertes (Delgado de la Flor et al., 1993 citado por Cabrera, 1993). Benson (1987) citado por Cabrera (1993), afirma que una baja humedad en el suelo disminuye el volumen celular y la presión de turgor del turión, lo que resulta en menor cantidad de turiones con diámetros inferiores. Según el Ministerio Nacional de Desarrollo y Riego [MIDNAGRI], (s. f.), el Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología [SENAMHI] (s.f.) y Cabrera (1993) se muestra en la Tabla 1 un resumen de los factores hídricos para espárrago:

**Tabla 1: Factores hídricos en el cultivo de espárrago**

<b>Factores Hídricos</b>	<b>Óptimo</b>	<b>Favorable</b>	<b>Desfavorable</b>
Sales	<3.0 dS/m	3.0-6.0 dS/m	>6.0 dS/m
RAS	<3.0	3.0-6.0	>6.0
Nivel de Boro	<3.0 ppm	3.0-6.0 ppm	>6.0 ppm
Cantidad m <sup>3</sup> /ha	Gravedad: 15 500 Goteo: 9 000		

FUENTE: Adaptado del Ministerio Nacional de Desarrollo y Riego [MIDNAGRI], (s. f.); Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología (SENAMHI, s.f.) y Cabrera (1993).

### 2.1.6. Requerimientos nutricionales

En el espárrago, la formación de carbohidratos producidos en la fotosíntesis, son trasladados vía floema a la raíz. Estos serán almacenados en el rizoma y raíces reservantes, aportando en el crecimiento de turiones. En la Tabla 2 se observa la extracción promedio de nitrógeno, fósforo y potasio en el cultivo de espárrago para un rendimiento de 15t/ha. (Sánchez, 2015 y Jiménez, s.f.) En las tablas 3 y 4 se describe la importancia, sintomatología y deficiencia

de algunos macro y micro nutrientes. Estudios realizados en torno a la extracción del cultivo de espárrago coinciden en el hecho de que la extracción es baja por parte de los turiones.

**Tabla 2: Extracción promedio de nitrógeno, fósforo y potasio en kg/ha para un rendimiento de 15 t/ha**

Rendimiento (t/ha)	Extracción en kg/ha		
	Nitrógeno	Fósforo	Potasio
15	300	75	325

FUENTE: Adaptado de Sánchez (2015) y Jiménez (s.f.).

**Tabla 3: Importancia de algunos macro y micro nutrientes en el cultivo de espárrago**

Elemento	Importancia
<b>Nitrógeno</b>	Importante en el rendimiento Promueve crecimiento vegetativo Favorece a la fotosíntesis y formación de proteínas
<b>Fósforo</b>	Importante en cuestión a energía Responsable del metabolismo de la planta Favorece crecimiento y desarrollo de la raíz
<b>Potasio</b>	Importante para la calidad Participa en el transporte de carbohidratos y en la fisiología de la regulación estomática Regula la actividad de más de 60 enzimas Promueve la resistencia a enfermedades, clima
<b>Zinc</b>	Activador enzimático Importante en la formación de complejos
<b>Hierro</b>	Activador enzimático Participa en la síntesis de clorofila
<b>Cobre</b>	Activador enzimático
<b>Manganeso</b>	Activador enzimático
<b>Cloro</b>	Agente osmótico, ayuda en el turgor de la planta
<b>Boro</b>	Activador enzimático Fertilidad del tubo polínico
<b>Molibdeno</b>	Activador enzimático
<b>Sodio</b>	Escencial en plantas halófitas, remeplaza funciones del potasio

FUENTE: Adaptado de Sánchez (2015) y Jiménez (s.f.).

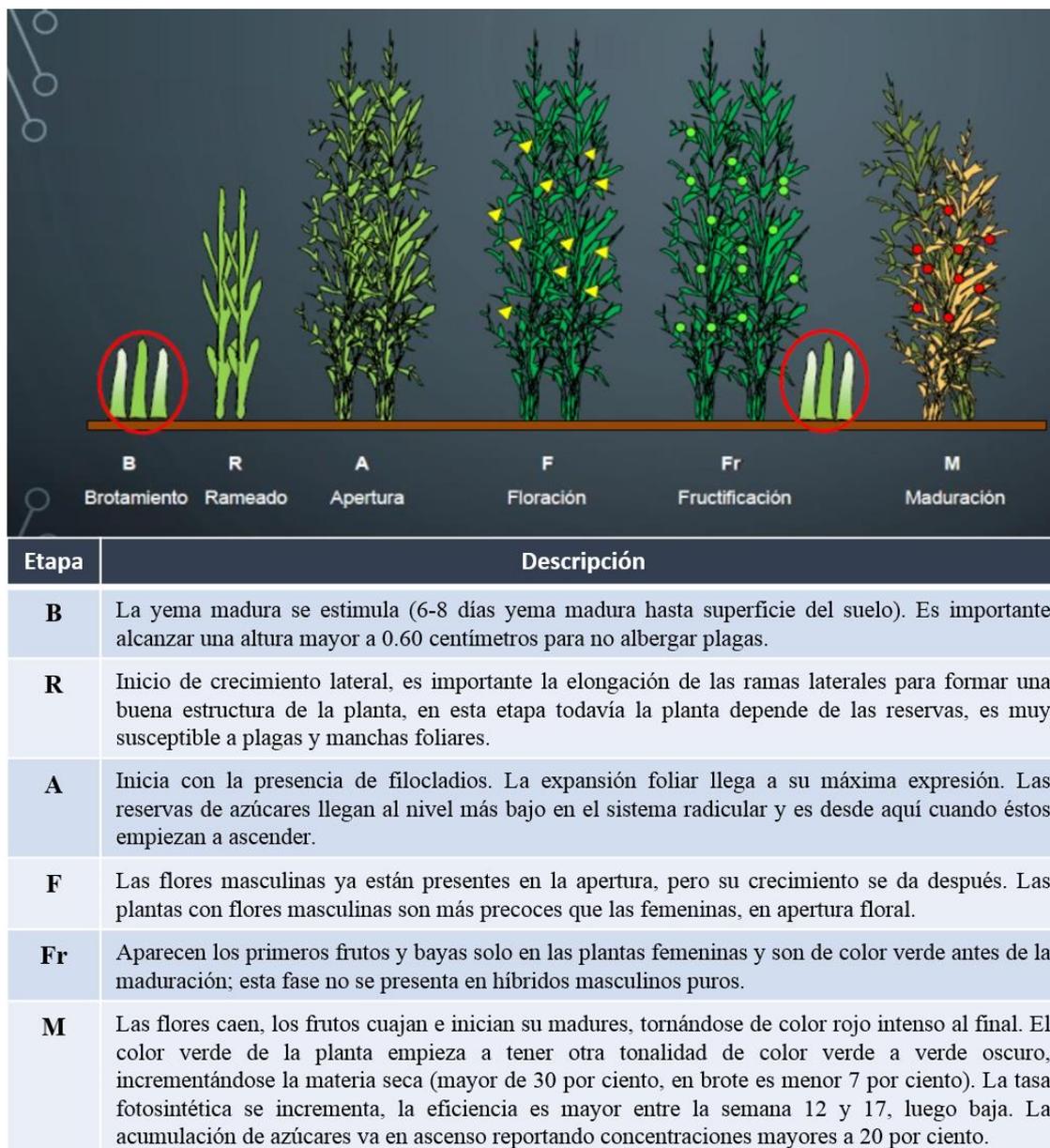
**Tabla 4: Sintomatología de acuerdo a la deficiencia de algunos elementos importantes en el cultivo de espárrago**

<b>Elemento</b>	<b>Sintomatología - Deficiencia</b>
<b>Nitrógeno</b>	Amarillamiento de las hojas más viejas evolucionando a las intermedias y jóvenes
<b>Fósforo</b>	Clorosis de los filocladios más periféricos, evolucionando hacia anaranjado.
<b>Potasio</b>	Clorosis y luego secamiento gradual de los brotes jóvenes a los más viejos.
<b>Calcio</b>	Clorosis terminal de filocladios intermedios y apicales, posteriormente color ceniza.
<b>Magnesio</b>	Coloración anaranjada de filocladios en el tercio basal de la planta y secamiento de la parte terminal.
<b>Azufre</b>	Reducción del número de filocladios y clorosis terminal
<b>Boro</b>	Activador enzimático

FUENTE: Adaptado de Sánchez (2015) y Jiménez (s.f.).

### **2.1.7. Fenología del espárrago**

Según Alva y León (2008) citados por Fernandez (2015), el Manual de Observaciones Fenológicas del Ministerio Nacional de Desarrollo y Riego (MIDNAGRI) y el Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología (SENAMHI) (2011), en la Figura 3 se describen las siguientes etapas fenológicas:



**Figura 3: Descripción de las etapas fenológicas del cultivo de espárrago**

FUENTE: Adaptado de Fernandez (2015), el Manual de Observaciones Fenológicas del SENAMHI y MINAGRI (2011)

## 2.1.8. Importancia

### 2.1.8.1. En la nutrición y salud humanas

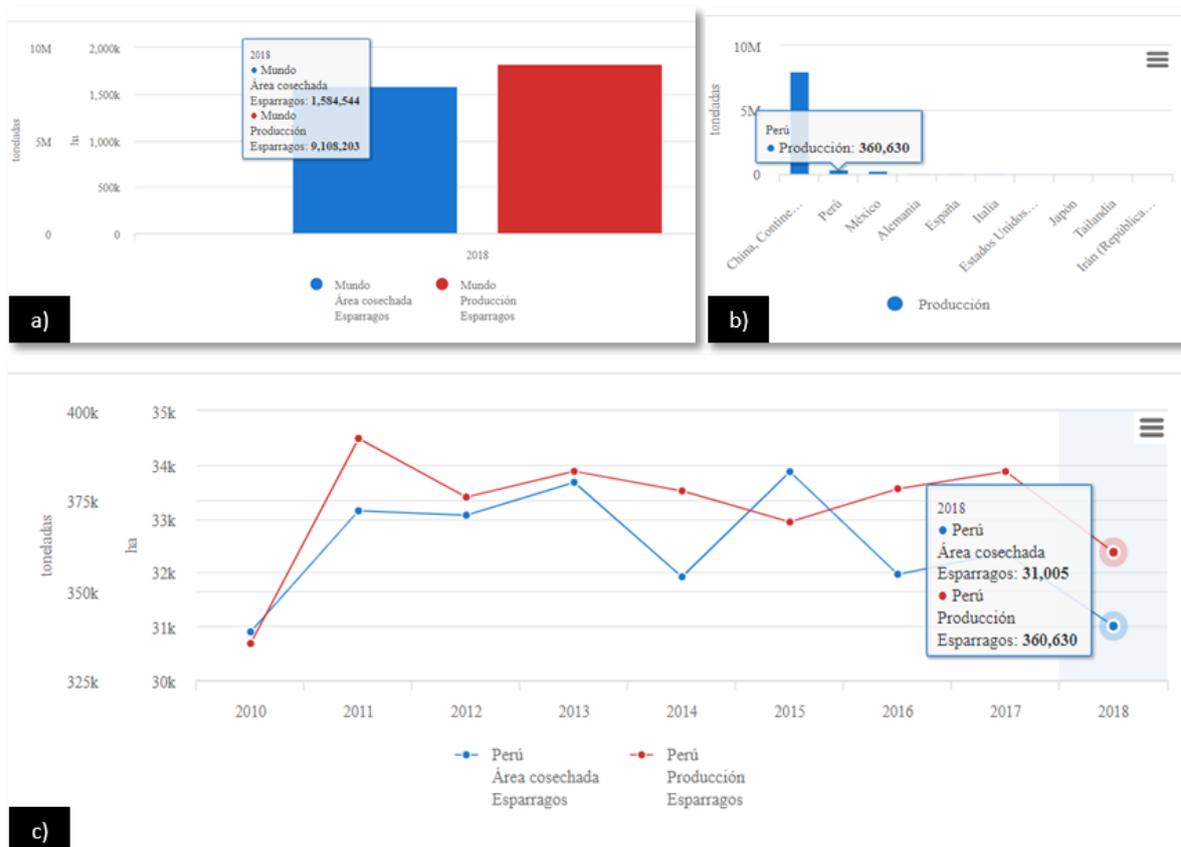
Según el MINAGRI (s. f.) el espárrago es un alimento rico en fibra, vitamina C, vitamina B1 (Tiamina), vitamina B6, es bajo en grasa, no contiene colesterol y es muy bajo en calorías. Con respecto al potasio, aporta 10 % del requerimiento diario del organismo, también aporta flúor, cobre, zinc, manganeso y yodo. El espárrago es rico en glutatión, que es un tri-péptido no proteínico formado por los aminoácidos L-cisteína, ácido L-glutámico y glicina, y actúa

como antioxidante intracelular, participando en la destrucción de compuestos tóxicos y sustancias químicas que contienen oxígeno como el peróxido de hidrógeno, esto gracias a la enzima glutatión peroxidasa; además contiene saponinas, que son compuestos fitoquímicos bioactivos, reconocidos científicamente como antitumorales y que reducen los niveles de colesterol. También contiene rutina, flavonoide de propiedades antioxidantes y antitumorales. Por tanto, el espárrago se puede considerar un alimento anticancerígeno (Barahona, 2009).

#### **2.1.8.2. Económica**

Las mayores regiones de producción de espárrago son China, Europa Occidental, Norte América y Perú (Pegiou et al., 2020). A nivel mundial la producción de espárrago se estimó para el 2018 en casi 9,1 millones de toneladas, siendo China el mayor productor (7,9 millones de toneladas) seguido de Perú (360 mil toneladas) (FAO, 2018), de esta forma nos posicionamos como el segundo productor de espárrago a nivel mundial. Para el año 2018, el área cosechada de espárrago fue de 31 mil ha y la producción fue de 360 mil toneladas con un rendimiento de 11.6 t/ha (ver Figura 4). Para el 2019 el área cosechada aumentó a 31.7 mil ha, la producción aumentó a 366 mil toneladas, pero el rendimiento se redujo a 11.5 t/ha FAO, (2020). Para el año 2019, las exportaciones de espárrago fresco ascendieron a 131,351 toneladas por 396 millones de dólares, además Perú se posicionó como primer exportador a nivel mundial. Si bien somos un país líder en exportación de este cultivo, México resulta ser una fuerte competencia en la exportación de espárrago verde fresco ya que también lo produce todo el año y en temas logísticos le es más favorable a los EEUU, además de la cercanía de ambos países; esta resulta ser la mayor ventaja de México, aunque, el hecho de no destinar espárrago a la industria, les puede traer complicaciones, a diferencia de Perú que, si enfrenta una sobreproducción, puede destinarla a ser procesada y no variar tanto el precio Redagrícola (2019). El espárrago fue el quinto producto agrícola de exportación más importante del Perú. Estados Unidos se mantiene como principal destino de exportación y España, por primera vez desplazó a los Países Bajos y se convirtió en el segundo destino del espárrago peruano; el tercer y cuarto puesto lo ocuparían los Países Bajos y el Reino Unido respectivamente. Con respecto al precio de exportación, este fue de US\$2.71 /kg para Estados Unidos, US\$2.87 /kg para España, US\$3.98 /kg para los Países Bajos y US\$4.26 /kg para el Reino Unido (El Economista, 2020). El precio del espárrago va desde los US\$1.2 /kg comprado del predio del productor hasta los US\$11.5 /kg en el comercio electrónico

(Redagrícola, 2019).



**Figura 4: a. Producción de espárrago en el mundo (Total) 2018. b. Producción de Espárragos: Los 10 productores principales del Mundo 2018. c. Producción de Espárragos en Perú 2010-2018**

FUENTE: FAO (2018).

## 2.2. EL CADMIO (Cd)

Los metales pesados son propios de la naturaleza y se caracterizan por tener un peso atómico entre 63.5 (Cu) y 200.59 (Hg) g/mol, una alta densidad (mayor a 4 g/cm<sup>3</sup>) (Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico [MITECO], s. f.). El Cd, perteneciente al grupo IIB de la tabla periódica de elementos químicos, es considerado un metal pesado debido a que cuenta con una alta densidad de 8.642 g/cm<sup>3</sup> y un peso atómico relativo de 112.41 g/mol (Tiwari et al., 2014). Fue descubierto en Alemania por Frederick Stromeyer (1897), quien lo encontró como impureza de algún compuesto de zinc (Zn) (Godt et al., 2006). Este metal raramente se encuentra en su forma pura, sus minerales comunes son la greenockita, CdS; octavita, CdSe; y la monteponita, CdO. El Cd es considerado como uno

de los metales más ecotóxicos que causan efectos adversos en los procesos biológicos de humanos, animales y plantas (Kabata-Pendias, 2010). El Cd puede encontrarse en el agua contenida en el suelo, adsorbido en superficies orgánicas e inorgánicas, como parte de minerales, precipitado con otros compuestos del suelo o incorporado a estructuras biológicas; pero su biodisponibilidad dependerá de factores físicos, químicos y biológicos que modificaran su solubilidad y el estado del metal en el suelo (Christensen y Haung, 1999 citado por Rodríguez, Martínez, Romero, Del Río y Sandalio, 2008).

## **2.2.1. Origen del Cd en el ambiente**

### **2.2.1.1. Fuentes naturales**

La concentración media de Cd, que se encuentra distribuido en la corteza terrestre, es de 0.1 a 0.5 mg/kg (Agency for Toxic Substances and Disease Registry [ATSDR], 2012). Su abundancia en rocas sedimentaria e ígneas no excede 0.3 mg/kg (Bautista, 1999). Casi todos los compuestos de Zn pueden tener de 0.1 a 0.3 % de Cd, así mismo puede encontrarse en minerales de plomo y cobre, pero las concentraciones son más bajas (Sánchez, 2016). Es un componente natural en el océano con niveles promedio entre menores a 5 y 110 ng/L con niveles más altos reportados cerca de las zonas costeras y en fosfatos y fosforitas marinas (Morrow, 2001 citado por ATSDR, 2012). El desgaste y erosión de las rocas como el posterior transporte del metal a los océanos, ocasionan gran parte de la dispersión de Cd al ambiente. Sin embargo, la actividad volcánica es considerada la mayor fuente natural de liberación de Cd a la atmósfera (Sánchez, 2016) aunque, para Gramlich et al. (2018) citados por FONTAGRO (2020), los suelos volcánicos tienen menor concentración de Cd que los suelos aluviales; las rocas sedimentarias tienen mayor concentración de Cd que las rocas ígneas. Según una entrevista en la revista Redagrícola, el Dr. Oscar Loli, investigador de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), supone que en el caso de Ica el agua proviene de la sierra alta, la cual es de origen volcánico y por tanto esta sería la fuente principal de Cd (Ortiz, 2018).

### **2.2.1.2. Fuentes antropogénicas**

Estos metales, desde la revolución industrial, han sido liberados al ambiente, principalmente en procesos de manufactura, eliminación de aguas residuales domésticas e industriales y aplicación de fertilizantes fosforados (Beltrán y Gómez, 2016). Según Kabata-Pendias y Pendias (2001), en los fertilizantes de fosfato, la cantidad de Cd va de 7 a 170 ppm. En

Europa y América del Norte, los fertilizantes se consideran la principal fuente de insumos de metales pesados, especialmente Cd en Australia y Nueva Zelanda. Además, el Cd se origina principalmente en las rocas de fosfato utilizadas para la fabricación del fertilizante (Bolan et al., 2014). Según Lightbourn (2017), muchos fertilizantes provienen de residuos de minería los cuales contienen sales con una concentración elevada de elementos traza tóxicos; además, no se realiza una distinción entre drenaje fluvial y drenaje sanitario y se termina utilizando dicha agua para el riego. Un estudio reportó que, en Europa, las concentraciones de Cd en fertilizantes fosfatados estuvieron en el rango de <0.1 a 120 mg Cd/kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> con una media de 36 mg Cd/kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Usando esta cifra media, el aporte anual de Cd a los suelos europeos cultivables, se estimó alrededor de 0.8 g Cd/ha/año (Sánchez, 2016).

### **2.2.2. Movilidad de Cd en el ambiente**

El Cd es un metal encontrado en la corteza terrestre y está asociado a minerales de zinc, plomo y cobre. Cuando el Cd ingresa al ambiente, este es emitido al suelo, al agua y aire mediante la extracción y refinación de metales no ferrosos, fabricación y aplicación de fertilizantes fosfatados, combustión de combustibles fósiles y la incineración y eliminación de desechos (ATSDR, 2012). Según la ATSDR (2016) el Cd puede tener los siguientes destinos:

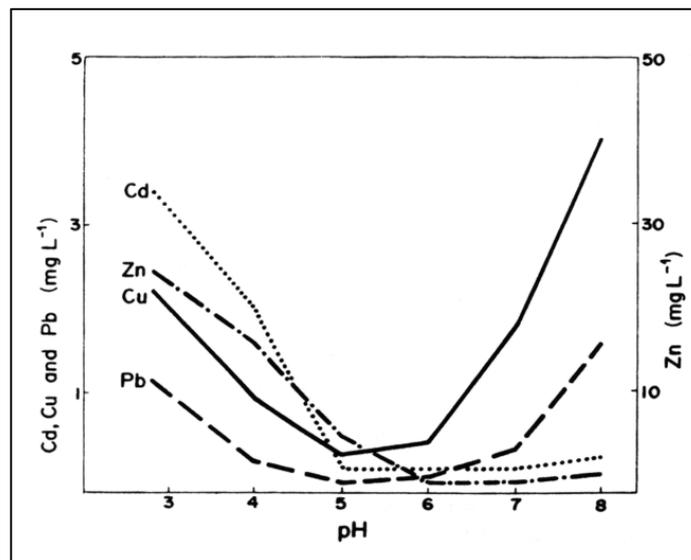
#### **2.2.2.1. Aire**

El Cd (como óxido, cloruro y sulfato) existirá como partículas o vapores (de procesos de alta temperatura). En la atmósfera se puede transportar grandes distancias donde se depositará sobre la superficie del suelo o sobre las masas de agua.

#### **2.2.2.2. Suelo**

El Cd, ingresa a las capas del suelo a través de una serie de vías incluidas la deposición aérea y la lixiviación o descomposición de las partes aéreas de las plantas, la utilización de desechos, aplicación de pesticidas y fertilizantes; y por aguas fluviales y acumulación de sedimentos (Kabata-Pendias y Pendias, 2001). Se cree el mayor riesgo de salud que existe es la contaminación por Cd en el suelo. Bajo condiciones inducidas por el hombre, es probable que el Cd se acumule en la superficie. Sin embargo, elevados niveles de Cd también puede deberse a su origen litogénico (Kabata-Pendias, 2010). El Cd puede viajar a través del

suelo, pero su movilidad va a depender de algunos factores como el pH, el potencial redox, la capacidad de intercambio catiónico, óxidos e hidróxidos (principalmente Fe, Mn y Al) y el contenido de materia orgánica (Bolan et al., 2014), a la cual se une fuertemente quedando inmóvil en el suelo y pudiendo ser absorbido por las plantas. La absorción de minerales del suelo se observa principalmente para el  $\text{Cd}^{2+}$ , pero se ha encontrado que los ácidos húmicos y el pH pueden afectar su concentración en la solución suelo (Cabrera et al., Mench y Martin, citados por Song et al., 2017). El pH del suelo es considerado el mayor factor que controla la absorción total y relativa del Cd. La solubilidad del Cd y otros metales en trazas a menudo se muestran como una función del pH afectado por la cantidad y el tipo de materia orgánica, como se puede ver en la Figura 5 aunque, en algunos estudios, la asociación de materia orgánica con Cd fue relativamente baja comparada con otros metales (Kabata-Pendias y Pendias, 2001). Según Lightbourn (2017), a un pH ácido se mejora tanto la solubilidad de los metales como su absorción por las raíces de las plantas.



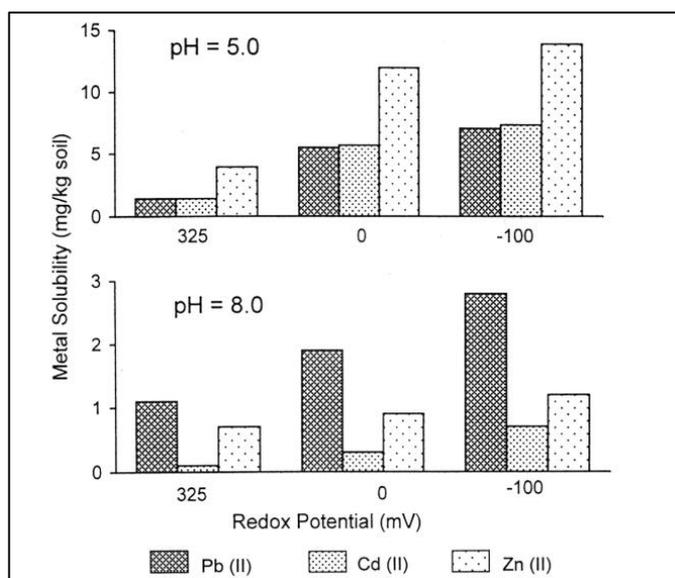
**Figura 5: Concentraciones de Cd y otros metales traza en soluciones de equilibrio de podzol gleico arenoso**

FUENTE: Kabata – Pendias y Pendias (2001)

En suelos alcalinos, con presencia de carbonatos y fosfatos, el Cd puede precipitar siendo menos móvil. Además, se favorece en estos suelos, la formación de especies hidroxilo monovalentes como  $\text{Cd OH}^+$ , que fácilmente no pueden ocupar los sitios de unión en los complejos de intercambio catiónico. Por otro lado, a medida que aumenta la alcalinidad disminuye la adsorción de Cd, probablemente debido a la competencia con los iones  $\text{Ca}^{2+}$  y

$Mg^{2+}$  (Kabata-Pendias y Pendias, 2001). Con respecto a los fertilizantes fosfatados, estos tienen como componente principal el  $Ca_3(PO_4)_2$  y el Ca es reemplazado por el Cd, es así que existen rocas fosfóricas que contienen Cd y por tanto los fertilizantes, pero este Cd no es rápidamente disponible para la planta. Un estudio con fertilizantes fosfatados menciona que tomaría mínimo 166 años para que pase los límites permisibles (FONTAGRO, 2020). Otros estudios indican que el uso de fertilizantes fosfatados inmoviliza el Cd en el suelo y que, diez veces el incremento en la concentración de Ca en el suelo reduce en tres veces la capacidad de adsorción de Cd (Kabata-Pendias, 2010). Según Lightbourn (2017), el uso de ácido sulfúrico, ácido fosfórico y ácido nítrico, como prácticas realizadas en suelos alcalinos, hacen que los metales pesados sean más asimilables, ya que, se está desregulando el suelo y retirando la biota natural. Según Clark et al., (2007) y Bravo et al., (2014) citados por Huaraca, Pérez, Bustinza y Pampa, (2020), con respecto a las enmiendas orgánicas, estas tienen la propiedad de inmovilizar el Cd a través de procesos de adsorción, complejación y precipitación. Estas tienen la función de incrementar los sitios de unión, el potencial de hidrógeno del suelo, formar complejos estables y disminuir la biodisponibilidad de Cd (Kabata-Pendias y Mukherjee, 2007 citados por Huaraca et al., 2020). Algunas enmiendas orgánicas son el biochar, compost, vermicompost, residuos de cultivos, abonos de estiércol, entre otras (Huaraca et al., 2020).

En una tesis realizada por Balta (2019), se muestra el uso de biocarbón (biochar) y carbón activado como enmiendas, mostrando este último mejores resultados en la reducción de la absorción de Cd, pero según lo mencionado por Loli (2020) la producción de este carbón, debido a la volatilización del Cd que normalmente se da a  $760^{\circ}C$ , estaría ocasionando contaminación atmosférica. Arguello et al. (2019) citado por FONTAGRO (2020) muestra estudios donde la tasa de transferencia del Cd de la hoja a la almendra de cacao disminuye a mayores dosis de Mn en la planta. Según Taylor y Percival (2001), entre el 55 y 90 % de Cd en la solución suelo está presente como ion de metal libre  $Cd^{+2}$  y está fácilmente disponible para las plantas. La movilidad del Cd aumenta en suelos mal aireados ( $Eh < 100$  mV) aunque también la solubilidad del mismo aumentó con un Eh hasta  $> 200$  mV; además, las condiciones ácidas y reductoras del suelo son más favorables para la solubilización del Cd y el efecto del pH es más significativo que del potencial redox (ver Figura 6). Por otro lado, el  $Cd^{+2}$  puede formar complejos más fácilmente con Cl, Br,  $NO_2$  y  $NH_3$  (Kabata-Pendias y Pendias, 2001).



**Figura 6: Impacto de los potenciales redox en la solubilidad de los metales trazas del suelo en agua a pH 5.0 y 8.0**

FUENTE: Kabata-Pendias y Pendias (2001)

Con respecto a la salinidad, según McLaughlin et al. (1994) citados por Kabata-Pendias y Pendias (2001), las plantas absorben más Cd en los suelos afectados por sal ya que el cloruro forma complejos fuertes con el Cd ( $\text{CdCl}^+$ ,  $\text{CdCl}_2^0$ ,  $\text{CdCl}_3^-$ ,  $\text{CdCl}_4^{2-}$ ) y por tanto se moviliza y aumenta su fitodisponibilidad. Para Kabata-Pendias y Pendias (1991) los niveles considerados fitotóxicos en suelos para Cd son 3 mg/kg (Olivares et al., 2013) pero, para la Comunidad Europea, el nivel crítico de Cd disponible en suelos es de 0.8 mg/kg (Subero, 2013 citado por Tantalean y Huauya, 2017). Según la Resolución Ministerial N° 0451-2018-MINAGRI, mencionada por Solis (2019) en una publicación realizada en el Instituto Nacional de Calidad (INACAL), se establece un procedimiento para el muestreo de suelos y evaluación de la existencia de concentraciones de Cd mayores a lo establecido por los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) de 1,4 mg/kg para suelo agrícola (D.S. 012-2017 MINAM). El ECA utiliza el método EPA 3050 en el cual se va a requerir de 1 a 2 gramos de peso húmedo o 1 gramo de peso seco; dicha muestra se digiere con ácido nítrico y peróxido de hidrógeno. Para el análisis FLAA (Espectrometría de absorción atómica con llama) se agrega ácido clorhídrico al digestato. En un paso opcional para aumentar la solubilidad de algunos metales, este digestato se filtra y el papel de filtro y los residuos se enjuagan, primero con HCl caliente y luego con agua de reactivo caliente. Luego, el digestato se diluye hasta un volumen final de 100 mL (EPA, 2015).

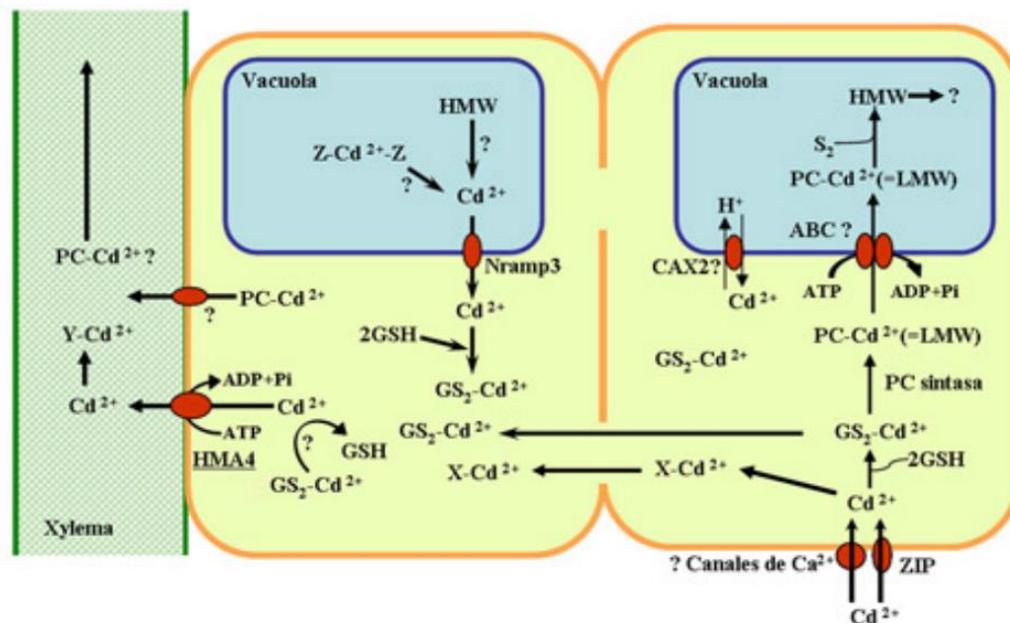
### **2.2.2.3. Agua**

El Cd puede encontrarse como ion hidratado o complejo iónico asociado a otras sustancias orgánicas o inorgánicas. Los compuestos que son solubles van a moverse en el agua; mientras que, los insolubles, se depositarán como sedimento. Se han informado de niveles elevados de Cd en las fuentes de agua cercanas a las industrias que emiten este metal (Sánchez, 2016). Según estudios llevados a cabo por Wahla y Kirkham (2008), el riego con agua que contenía NaCl aumentó la concentración de Cd en el agua de drenaje por encima de los estándares de agua potable; de esta forma se concluyó que el agua salubre incrementa la movilidad del metal y contamina el agua de drenaje.

### **2.2.3. El Cd y las plantas**

El Cd es considerado un elemento no esencial para el metabolismo de las plantas y afecta el crecimiento de las mismas y, al ser no esencial, se presume que no existen mecanismos de entrada específicos (Rodríguez et al., 2008). La acumulación del Cd en los vegetales va a depender tanto de su biodisponibilidad en el ambiente como en los procesos fisiológicos (Chan y Hale, 2004). La forma biodisponible de Cd es la forma iónica aunque se ha demostrado una mejorada captación por ligando (Berkelaar y Hale, 2003 citado por Chan y Hale, 2004). Se conoce que una gran proporción del Cd se acumula en los tejidos radiculares, incluso cuando este ingresa vía foliar pero, en un estudio realizado, esto no se reportó en plantas de arroz cuando se aplicó Cd a las hojas (Kabata-Pendias, 2010). En *Phaseolus vulgaris*, se ha reportado que el 98 % del Cd total se retuvo en las raíces (gran parte en los apoplastos o vacuolas), mientras que solo el 2% del Cd se traslocó al brote (Ouariti et al., citado por Song et al., 2017). Para Chan y Hale (2004) citados por Rodríguez et al. (2008) el Cd, secuestrado por la vacuola, se acumula de preferencia en la raíz y una pequeña parte pasará al resto de la planta, primero en tallos, luego en hojas y finalmente a frutos y semillas. Se afirma que pequeñas cantidades son transportadas a los brotes y que la acumulación de Cd en el fruto podría ocurrir a través del transporte por el floema (Cataldo et al., 1983 y Hart et al., 1998 citados Sanita di Toppi y Gabbrielli, 1999). El metal se unirá primero a la pared de las células de la raíz y la captación del Cd<sup>+2</sup> es probable que sea a través de transportadores secundarios como proteínas de canal y/o proteínas transportadoras acopladas a H<sup>+</sup>. Esta captación de los transportadores se da gracias a la fuerza impulsora del interior de la membrana plasmática (Hirsch et al., 1998 citado por Clemens, Palmgren y Krämer, 2002). Algunas proteínas encargadas de la entrada del Cd a la célula son el transportador específico

de calcio LCT1 y la IRT1 que pertenece a la familia de proteínas transportadoras de zinc y hierro; otra familia de transportadores es la NRAMP, localizada en la membrana de la vacuola la cual estaría implicada en la movilización del metal y no en el ingreso a la raíz (Clemens et al., 1998, Guerinot, 2000 y Thomine et al., 2003 citados por Rodríguez et al., 2008). En arroz se ha detectado a la proteína OsNRAMP1 como transportadora de Cd en las raíces (Takahashi et al., 2011 citados por Slamet, Johnson, Impa y Tsakirpaloglou, 2015), además, según Tiwari et al., (2014) esta proteína puede ofrecer la movilización rápida de metales tóxicos en tejidos aéreos, reduciendo el grado de toxicidad. La movilización del Cd se da por quelantes o por acidificación de la rizosfera, este ion hidratado o como complejo de quelato será absorbido a través de sistemas de captación presentes en la membrana plasmática. Dentro de la célula, el Cd puede coordinarse con ligandos de S (lo cual también afirma Kabata-Pendias, 2010) como el glutatión (GSH) o fitoquelatinas (PCs) y ácidos orgánicos como el citrato (Clemens, 2006 y Domínguez-Solís et al., 2004 citados por Rodríguez et al., 2008). Las metalotioneínas (MTs), proteínas ricas en cisteína, son otras posibles moléculas responsables de la quelación y así, los complejos Cd-ligando pueden ser transportados al interior de la vacuola o a otras células (Shah y Nongkynrh, 2007 citados por Rodríguez et al., 2008). Otro posible mecanismo de entrada del Cd a la vacuola es a través de un cotransportador  $Cd^{2+}/H^{+}$  presente en la membrana. Los transportadores de cationes CAX, implicados en el transporte de Ca a la vacuola, también transportan metales como Cd. Desde la raíz, el Cd se transporta al brote a través del xilema, ya sea vía apoplasto o simplasto y, dentro de este, estará como ion hidratado o como complejo de quelato metálico (ver Figura 7) (Salt y Wagner, 1993; Clemens, 2020 y Park et al., 2005 citados por Rodríguez et al., 2008). Posteriormente, pasará a las hojas y se moverá de célula a célula a través de plasmodesmos. De preferencia, se almacena en los tricomas, como se reportó en *Brassica juncea*, donde la acumulación de Cd era 40 veces mayor en los tricomas en comparación con el total de hojas; los tricomas serían importantes con respecto al almacenamiento y desintoxicación de metales (Salt et al., 1995 citados por Clemens, Palmgren, y Krämer, 2002). La tasa de acumulación del metal se supone está afectada por la movilización y absorción del suelo, compartimentación y secuestro dentro de la raíz, eficiencia de la carga y transporte del xilema, distribución entre los sumideros de metal en las partes aéreas, secuestro y almacenamiento en células foliares. Para Kabata-Pendias y Pendias (2001), en muchos estudios se ha demostrado que hay diferencia entre especies de plantas, etapa de desarrollo y entre genotipos de una especie con respecto a la absorción de metales como el Cd.



**Figura 7: Representación esquemática de los mecanismos de ingreso, secuestro y translocación del Cd en raíces**

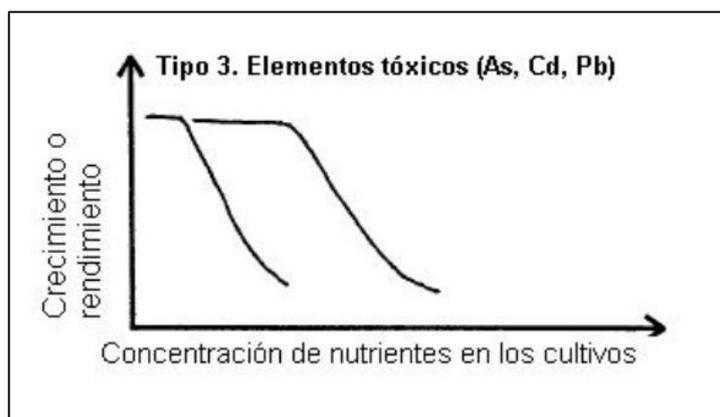
FUENTE: Rodríguez et al. (2008).

La distribución del Cd hacia los órganos de la planta es bastante variable; existe un transporte rápido de la raíz hacia la parte aérea de la planta, en particular a las hojas (Kabata-Pendias, 2010). El Cd puede alterar la absorción de minerales por las plantas a través de sus efectos sobre la disponibilidad de minerales del suelo, o a través de una reducción en la población de microbios del suelo (Moreno et al., 1999 citados por Benavides, Gallego y Tomaro, 2005). Puede interferir con la entrada, transporte y uso de elementos esenciales tales como Ca, Mg, P y K, lo cual conlleva a un desequilibrio nutricional e hídrico en las plantas (Poschenrieder et al. 1989; Sandalio et al. 2001; Singh y Tewari 2003 citados por Rodríguez et al., 2008 y Das et al., 1997 citados por Benavides et al. 2005). La fotosíntesis se ve afectada debido a la inhibición de la reductasa Fe (III) en la raíz, lo cual induce a la deficiencia de Fe (II), esto se puede evidenciar mediante la clorosis de la planta; también dicha clorosis puede ser causada por deficiencia de fosfatos o reducción del transporte de Mn. La membrana plasmática también se ve afectada ya que, se reduce la actividad de la ATPasa, produciendo alteraciones. Se ocasionan desequilibrios en el metabolismo del cloroplasto, inhibiendo la síntesis de clorofila y reduciendo la actividad de enzimas implicadas en la fijación de CO<sub>2</sub>. Además, el Cd reduce la absorción y transporte de nitrato de la raíz a los brotes, mediante la inhibición de la actividad de la nitrato reductasa (Benavides et al., 2005; Goldbol y Hutterman, 1985; Astolfi et al., 2005, Fodor et al., 1995 y Gouia et al., 2002 citados por

Rodríguez et al., 2008). En general, la apertura estomática, la fotosíntesis y la transpiración se verán afectadas (Sandalo, Dalurzol, Gómez, Romero-Puertas, y Del Río, 2001) además, provoca el enrollamiento de hojas y reduce el crecimiento ya que, se produce una inhibición irreversible de la bomba de protones, lo cual ocasiona una supresión de la tasa de crecimiento de elongación de las células, especialmente en los tallos (Okamoto, 1992, 1993 citados por Sanita di Toppi y Gabbrielli, 1999). Con respecto a las estrategias de tolerancia al Cd, se puede dar por la reducción del transporte del metal al interior de la célula y/o una mayor capacidad para secuestrarlo. La raíz puede inmovilizar el Cd a través de las pectinas de la pared celular o por carbohidratos (mucílago y calosa). La acumulación del Cd en los tricomas también es un mecanismo de inmovilización. Si el Cd ingresa a la célula, este puede ser secuestrado por ácidos orgánicos, aminoácidos, fitoquelatinas y metalotioneínas, para luego ser compartimentalizado en la vacuola y prevenir la toxicidad (Benavides et al., 2005; Salt et al., 1995 y Thomine et al., 2000 citados por Rodríguez et al., 2008). Para Kloke et al. (1984) citados por Kabata-Pendias y Pendias (2001), las concentraciones fitotóxicas de Cd, para especie sensibles, es de 5 a 10 ppm, mientras que para Manicol y Beckett (1985) citados por el mismo autor, los valores críticos de Cd son de 10 a 20 ppm. Kabata-Pendias y Pendias (2001) y Verbruggen et al. (2009) citados por Rascio y Navari (2011), indican que para que una planta sea hiperacumuladora de Cd, las concentraciones deben ser mayores a 100 ppm en sus órganos y la planta no ser afectada. Según la revisión realizada por Medina y Montano (2013), existen factores que permiten conocer la capacidad que tienen las plantas para absorber y traslocar metales del suelo a la planta como el factor de bioconcentración (BCF), que mide la capacidad de captación de un metal por una planta (raíz y parte aérea), con relación a la concentración del metal en el suelo. Así, si el valor es mayor a 1, indicará que la especie será potencialmente hiperacumuladora y si es menor a 1, será exclusora. El otro es el llamado factor de translocación (TF) que es el cociente entre la concentración del metal de los órganos aéreos y la raíz. Valores mayores a 1, indican la translocación de la raíz a la parte aérea y se puede tratar de una planta hiperacumuladora, aunque esta característica no es determinante. Una planta hiperacumuladora tiene la característica de tener un rápido crecimiento, tener un amplio rango de adaptación climática y la capacidad de absorber grandes volúmenes de agua lo que les permite manejar altas cantidades de contaminantes disueltos (Maiti et al, 2004; Kavamura y Esposito, 2010 citados por Beltrán y Gómez, 2016). La participación de ligandos como citrato, nicotilamina, histidina y asparagina ayudan al transporte de metales pesados desde el espacio extracelular hacia el interior de la célula; el proceso se da fundamentalmente en la savia del xilema, desde la raíz hasta el apoplasto de

las hojas donde son eliminados o transformados por las células foliares (Rascio y Navari, 2011 citados por Beltrán y Gómez, 2016).

Con respecto a presencia de Cd durante toda la etapa del cultivo, para Chen (2000) la absorción de Cd es mayor en las primeras etapas de crecimiento y disminuye en las últimas etapas, como se puede apreciar en la Figura 8.



**Figura 8: Patrón de crecimiento o rendimiento en función a la concentración de Cd en los cultivos**

FUENTE: Adaptado de Chen (2000)

#### 2.2.4. El Cd en el espárrago

La primera vez que el Cd causó un problema en la agroexportación peruana fue en el pimiento, el cual fue rechazado con concentraciones por encima de 0.25 ppm. Luego con el cacao, en especial con compradores de dos países: Reino Unido y Alemania. Ahora, también, este problema se encuentra en el espárrago, con algunos envíos que han sido rechazados una vez que han llegado al puerto de destino (Ortiz, 2018). Debido a esto, se requiere hacer mayor investigación con respecto a disminuir las concentraciones de Cd en el espárrago y, aunque actualmente no existe en la normatividad peruana determinación sobre los niveles máximos permitidos para la presencia de Cd en este cultivo, el artículo 15° del Reglamento de Inocuidad Alimentario menciona que *“Los alimentos agropecuarios primarios que se consuman en el mercado nacional, incluyendo los importados, no deben exceder los límites máximos permisibles de residuos químicos y otros contaminantes, fijados en la norma nacional o en ausencia de esta, los establecidos por el Codex Alimentarius. Para los alimentos agropecuarios primarios que se destinen a la exportación, además de cumplir con*

*la normatividad nacional, deben cumplir con lo establecido en las regulaciones del país de destino” (D.S. N°004-2011-AG, 2011).*

La Unión Europea, a través del Reglamento (CE) n° 1881/2006, modificado por el Reglamento (UE) N° 488/2014 de la Comisión, ha determinado niveles máximos de mg/kg de Cd para tallos jóvenes de 0.1 mg/kg (Diario Oficial de la Unión Europea, 2014). El espárrago es una de las plantas más ricas en glutatión, el cual actúa como un potente antioxidante intracelular reduciendo especies reactivas del oxígeno (Barahona, 2009). A partir del glutatión se sintetizan las fitoquelatinas por medio de la enzima fitoquelatina sintasa (Grill et al., citado por Sanita di Toppi y Gabbrielli, 1999). Estas fitoquelatinas quelan el Cd y de esta forma el metal puede ingresar a la vacuola previniendo su toxicidad y volviendo a la planta más tolerante (Pomponi et al., 2006 citados por Rodríguez et al., 2008). Por otro lado, el espárrago contiene un aminoácido llamado asparagina (Lea, Sodek, Parry, Shewry y Halford, 2007) el cual, según Botari y Festa (1996) citados por Sharma y Dietz (2006), puede formar ligando con el Cd, Pb y Zn; este estudio se realizó a nivel invitro. Smirnoff y Stewart (1987) citados por Sharma y Dietz (2006) mencionan que cuando se forma el complejo Zn-asparagina, la toxicidad por Zn se reduce. Para Hsu y Kao (2003) citados por Hédiji et al. (2010), los niveles de asparagina aumentan cuando una planta tiene exposición a Cd, esto también lo afirma Chaffei et al. (2004) citados por Lea et al. (2007), aduciendo que en raíces de tomate el Cd indujo un aumento de 10 veces la concentración de asparagina. Costa y Spitz (1997) citados por Hédiji et al., (2010), afirman que la asparagina podría participar en el proceso de desintoxicación de Cd, ya sea directamente o por medio de biosíntesis de péptidos quelantes. Tomando en cuenta la salud humana, niveles altos de asparagina están relacionados con la proliferación de aminoácidos de las células cancerígenas (Krall, Xu, Graeber, Braas y Christofk, 2016) ya que esta es precursora de la acrilamida la cual, según La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, 2004), ha clasificado como “probablemente cancerígena para el ser humano” (Lea et al., 2007).

#### **2.2.5. Problemas en el ser humano asociados al Cd**

Según Díaz y Arceo (2018), el Cd es uno de los responsables de lesiones renales y la progresión de la enfermedad renal crónica (ERC); además, la Organización Mundial de la Salud (OMS) (s. f.), afirma que este metal tiene efectos tóxicos en los sistemas óseo y

respiratorio, siendo clasificado como cancerígeno para los seres humanos. El Cd puede ingresar al cuerpo al ser inhalado, por contacto dermal o ingestión. Al ser ingerido, una pequeña cantidad de Cd en los alimentos y el agua, entre el 1 a 10%, ingresará al cuerpo a través del tracto digestivo (ATSDR, 2012). Ingresa por la vía gástrica con un mecanismo de daño que incluye: disfunción por formación de radicales libres, apoptosis o activación por vía de las caspasas, desnaturalización proteica y por disminución de la resistencia transepitelial (Díaz y Arceo, 2017 citados por Casteblanco, 2018). El Cd, está considerado dentro de las diez sustancias más tóxicas que afectan a la salud pública (OMS, s.f). Según Lightbourn, Amarillas, León (2018) los niveles mínimos de riesgo (NMR) de Cd para el ser humano es 0.0001 mg/kg/día. Según la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), la ingesta semanal tolerable de Cd es de 2.5 ug/kg de peso corporal, que es una cantidad que puede ingerir una persona semanalmente, durante toda su vida, sin manifestar efectos adversos (Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición [Aesan], 2020).

### **2.3. *Trichoderma* spp.**

#### **2.3.1. Generalidades**

Especies fúngicas pertenecientes al género *Trichoderma*, son de ocurrencia mundial y fácilmente aisladas del suelo (Howell, 2007). Se caracterizan por ser saprófitos y debido a su gran capacidad de descomponer materia orgánica, sobreviven en suelos con diferentes cantidades de esta (Martínez, Infante y Peteira, 2015). Además de la materia orgánica, consumen otros hongos y nutrientes secretados por las raíces (La Universidad del Zulia, 2009).

El género *Trichoderma* se describió por Persoon en 1794. Posteriormente Rifai, en 1969, lo revisó y propuso nueve especies agregadas dentro de las cuales se encuentran *Trichoderma koningii* Rifai y *Trichoderma harzianum* Rifai. Estas especies se identificaron teniendo en cuenta diferencias morfológicas y fisiológicas; sin embargo, con la taxonomía establecida sobre caracteres morfológicos, no se diferencian satisfactoriamente las especies en el género (Martínez et al., 2015). El género *Trichoderma* se puede encontrar tanto fuera como dentro de la rizósfera, y es en la rizósfera donde puede colonizar y proteger las raíces de las plantas.

### 2.3.2. Taxonomía

Según el portal de Index Fungorum (2017) citado por Hernández, Arias, Rosique y Pacheco (2018), se presenta la siguiente taxonomía:

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Subdivisión: Pezizomycotina

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

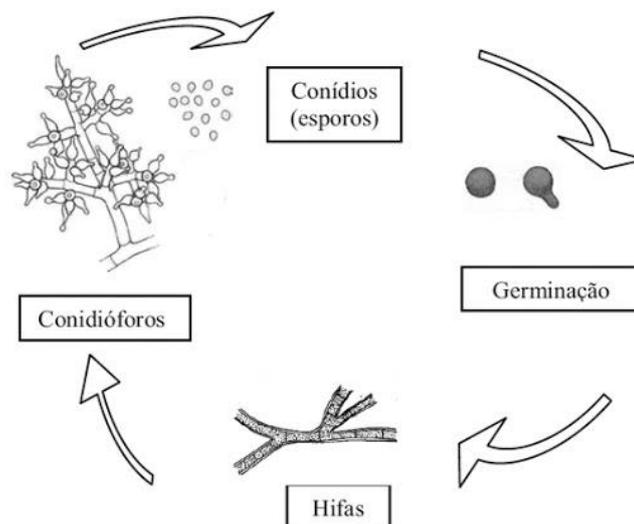
Familia: Hypocraceae

Género: *Trichoderma*

Especie: *T. harzianum*, *T. koningii*, entre otros.

### 2.3.3. Ciclo de vida

En la Figura 9, se muestra el ciclo de vida de *Trichoderma* sp. que inicia cuando el hongo crece y se ramifica como una hifa fúngica que mide de 5-10  $\mu$  de diámetro. La esporulación asexual ocurre cuando gran número de las esporas de 3-5  $\mu$  de diámetro son liberadas. Se forman clamidosporas intercaladas, de forma individual, aunque a veces dos o más clamidosporas se pueden fusionar (Romero, Huerta, Damián, Dominínguez y Arellano, 2009).



**Figura 9: Ciclo de vida asexual de *Trichoderma* sp.**

FUENTE: BIOSIEMBRA (2014).

#### 2.3.4. Morfología

Martínez et al. (2015), señala que las colonias de los aislamientos de *Trichoderma* son de crecimiento rápido. Son de color blanco y se tornan verde oscuro con abundante esporulación. En agar de papa y dextrosa (PDA), este hongo no presenta micelio aéreo y su pigmentación varía de verde oscuro a verde claro; también puede tornarse amarillento. Durante su desarrollo y crecimiento produce hifas de 5 -10 micrómetros de ancho que conforman el micelio septado, con paredes compuestas por quitina y glucano. Sus conidióforos tienen forma cónica. Produce abundantes conidios asexuales unicelulares de color verde o hialino, lisos o con paredes muy poco ásperas, subglobosos, cilíndricos, oblongos, con diámetro promedio de 3 a 5 micrómetros. Pueden producir clamidosporas, las cuales se caracterizan por ser estructuras de supervivencia. Sus estructuras de esporulación son los conidios, que son de 5 a 10 veces más pequeños que las clamidosporas, pues estas poseen grandes reservas de lípidos (La Universidad del Zulia, 2009). Para Infante, Martínez, Gonzáles y Reyes (2002), “ (...) las especies de *Trichoderma* producen tres tipos de propágulos: hifas, clamidosporas y conidios (...)” (p. 16).

#### 2.3.5. Ecología

Factores como la temperatura, el pH, la humedad relativa, iluminación y diferentes sustratos son importantes conocer para lograr una máxima efectividad en la supervivencia del hongo (Martínez et al, 2015). Para el género *Trichoderma* se menciona que la temperatura óptima se encuentra de 25 a 30°C, pero esto no garantiza que sean óptimas para expresar su antagonismo, ya que, se encontró que la habilidad antagónica fue casi nula a los 30°C. Danielson y Davey (1973), mencionan que *T. harzianum* puede tolerar temperaturas de 36 – 38°C. El portal de La Universidad del Zulia (2009), menciona que la temperatura óptima para *T. harzianum* es de 20°C y para *T. koningii* la temperatura máxima varía de 21 a 35 °C y crece mucho mejor que las otras especies a 7°C; además, según Guigón et al., 2010, la temperatura óptima de crecimiento en seis especies de *Trichoderma*, entre ellas *T. harzianum*, fue de 30°C. Con respecto al pH, algunas especies de *Trichoderma* son muy comunes en suelos con pH ácido (Benítez, 2004 citado por Tovar, 2008). Dentro la revisión realizada por Argumedo, Alarcón, Ferrera y Peña (2009), el género *Trichoderma* se puede adaptar y sobrevivir a condiciones extremas de temperatura, pH y salinidad.

### **2.3.6. Interacción con la planta**

Las especies de *Trichoderma* crecen fácilmente con el sistema de raíces de las plantas, por ejemplo, *Trichoderma koningii* es considerado como excelente colonizador de raíces (Howell, 2007). La rizosfera es el mayor nicho ecológico de este género pues, se sienten atraídos por otras especies fúngicas como presa y los propios nutrientes derivados de las raíces (Druzhinina et al., 2011 citados por Gupta et al., 2014). *Trichoderma* no actúa como hongo simbiote y algunos géneros como *T. koningii* y *T. harzianum* son capaces de degradar sustratos lignocelulósicos (Universidad de Concepción [Udec], 2017). *Trichoderma* puede actuar por competencia, micoparasitismo, crecimiento quimiotrófico, reconocimiento, adhesión y enrollamiento, antibiosis en favor de la planta (Argumero-Delira et al., 2009 citado por Hernández, Ferrera, y Alarcón (2019) e Infante, Martínez, Gonzáles y Reyes, 2002). Torres De la Cruz et al., (2015) y Sharma et al., (2017) citados por Hernández et al., (2019), mencionan que *Trichoderma* favorece el crecimiento de las plantas a través de la producción de auxinas, giberelinas, ácidos orgánicos (glucónico, fumárico y cítrico) los cuales disminuyen el pH del suelo favoreciendo la solubilización de fosfatos, Mg, Fe y Mn. Altamore et al. (1996) citados por La Universidad del Zulia (2009), mencionan que *Trichoderma* tiene la capacidad de solubilizar Mn sin importar el pH del medio ni la disponibilidad del elemento. Ya que el Mn es un elemento importante para la fotosíntesis, el metabolismo del nitrógeno y la síntesis de los compuestos aromáticos como precursores de aminoácidos y hormonas, de fenoles y de lignina, *Trichoderma* aporta en la disponibilidad de este elemento para la planta. Lo et al. (1996) citados por La Universidad del Zulia (2009) afirman que *Trichoderma* incrementa la absorción de nutrientes a través del mejoramiento del desarrollo radicular promoviendo así la disponibilidad de nutrientes necesarios.

## **2.4. *Pseudomonas fluorescens***

### **2.4.1. Generalidades**

Su actividad enzimática convierte a las *Pseudomonas* en un grupo de microorganismos importante, debido a que son responsables de la degradación aeróbica de muchos compuestos en diversos ecosistemas (Nava-Pérez et al., citado por Pérez, Coto, Echemendía y Ávila, 2015). El género *Pseudomonas* pertenece a las bacterias Gram-negativas. En 1996, Moore et al., diferenciaron 2 grupos intergenéricos basados en la secuencia del gen 16S rRNA del grupo de *Pseudomonas sensu stricto* (= el presente género *Pseudomonas*): el grupo denominado *P. aeruginosa* y el otro grupo *P. fluorescens* cada uno con especies provenientes

de diferentes linajes (Slabbinck y Baets, 2010). Esta bacteria es utilizada en la biosorción de Ni y bioacumulación de Pb (Lopez et al., 2000 y Al-Aoukaty et al., 1991 citados por Ferreira (2016). *P. fluorescens* es considerada una bacteria promotora del crecimiento de las plantas (PGPB) y el género se conoce como agente potencial de control biológico (Wu et al., 2020).

#### **2.4.2. Taxonomía**

Según Brenner et al., citado por Slabbinck y Baets (2010) se presenta la siguiente taxonomía:

Reino: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Pseudomonadales

Familia: Pseudomonaceae

Género: *Pseudomonas*

Especie: *P. fluorescens*

#### **2.4.3. Ciclo de vida**

Las especies de *Pseudomonas*, igual que todas las bacterias, se reproducen de forma asexual por fisión binaria. En la primera fase de la fisión binaria, la bacteria duplica su ADN. Presentan un único cromosoma circular que, por la actividad de las enzimas de replicación, empieza a copiarse.

Los cromosomas replicados se van hacia los extremos de la célula, posteriormente se genera un septo y se origina una nueva pared celular para formar las dos células hijas.

En especies de *Pseudomonas*, se dan diversos mecanismos de recombinación genética que garantizan la ocurrencia de variabilidad en organismos de reproducción asexual. Entre estos mecanismos está la transformación (fragmentos de ADN exógeno pueden entrar a las bacterias), la transducción (intercambio de ADN entre bacterias por un virus) y la conjunción (transferencia de ADN de una bacteria donadora a una receptora) (Gómez, 2018).

#### **2.4.4. Morfología**

Los miembros del género *Pseudomonas* son bastones típicamente rectos o ligeramente curvados con flagelos polares, presentan un mecanismo aeróbico (respiratorio), pero ninguna especie es fermentativa (Slabbinck y Baets, 2010). Sus flagelos polares hacen posible su movimiento activo en líquido. Su pigmento fluorescente (fluoresceína) la hace reaccionar frente a la luz ultravioleta ( Madigan, 2005. citado por Pérez et al., 2015).

#### **2.4.5. Ecología**

Son bacterias saprofíticas, se pueden encontrar en ecosistemas acuáticos y en el suelo, no forman esporas y el rango de temperatura más favorable para su desarrollo es de 25 a 30°C, aunque puede crecer desde 5 a 42°C. Requieren un pH neutro y no crecen en condiciones ácidas ( $\text{pH} \leq 4,5$ ). Abundan en la superficie de las raíces ya que, son versátiles en su metabolismo y pueden utilizar varios sustratos producidos por las mismas, interactuando de forma asociativa con la planta (Madigan, 2005. citado por Pérez et al., 2015)

#### **2.4.6. Interacción con la planta**

*P. fluorescens* puede actuar en beneficio de las plantas debido a su gran capacidad para solubilizar fósforo. La bacteria puede realizar esta actividad a través de dos vías: la primera es la producción de ácidos orgánicos (cítrico, oxálico, glucónico) que actúan sobre el pH del suelo, favoreciendo la solubilización del fósforo inorgánico y liberando el fosfato al suelo. Estos ácidos rompen las uniones entre los cationes  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$  unidos a las arcillas y los aniones fosfatos liberándolos a la solución suelo favoreciendo la solubilización del fósforo inorgánico (Adhya et al., 2015 citados por Ayubb, Cerra, Chamorro y Pérez, 2017). La otra vía es a través de las fosfatasas, estas son enzimas hidrolasas (monoesterasas y diesterasas fosfóricas) que actúan sobre las uniones ésteres, liberando los grupos fosfatos de la materia orgánica a la solución suelo. A través de ambas vías se genera una mayor cantidad de fosfato, disponible para ser absorbido por las raíces de las plantas (Cornelis, 2008 citado por Pérez et al., 2015). También destaca por la producción de sustancias estimuladoras del crecimiento como son las auxinas, giberelinas y citoquininas. Además, también producen aminoácidos y promotores específicos del crecimiento vegetal. Según Adhya et al. (2015) y Mossialos et al. (2000) citados por Ayubb et al. (2017), *P. fluorescens* promueve el crecimiento vegetal a través de las pruebas de fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato y producción de sideróforos como las pioverdinas y quinolabactinas que promueven el crecimiento y

biocontrol en plantas. La síntesis de sideróforos ayuda a su vez en la captura de Fe, ayudando así en el desarrollo de la planta (Pérez et al., 2015). También se han realizado estudios donde se ha encontrado que *P. fluorescens* puede actuar como patógeno y causar daños en la agricultura (Molan e Ibrahim, 2007 citados por Pérez et al., 2015), pero se sugiere hacer más investigación al respecto.

## **2.5. *Bacillus subtilis***

### **2.5.1. Generalidades**

El género *Bacillus* está altamente presente en la rizósfera de diversos cultivos debido a su capacidad de formación de esporas que le da una ventaja de supervivencia en la rizósfera vegetal (Calvo y Zúñiga, 2010). Es un género de bacterias Gram-positiva y fue reportado por primera vez por Cohn (1872), quien lo describió como bacterias productoras de endosporas resistentes al calor. Actualmente, el género incluye más de 336 especies las cuales, por su similitud genética, pueden clasificarse en distintos grupos, siendo uno de los más destacados los bacilos ambientales que son caracterizados por su presencia en distintos hábitats, como el grupo de *Bacillus sensu stricto* donde encontramos a *Bacillus subtilis* (Alcaraz et al. 2010, citados por Villarreal et al., 2018). Las especies de este género también se deben adaptar a cambios bruscos de temperatura, para esto cuentan con genes de shock térmico inducibles que incluyen proteínas chaperonas y proteasas. Al ser metabólicamente muy diversos pueden tener una colonización exitosa en el ambiente rizosférico. La solubilización de fosfato, la síntesis de fitohormonas como el ácido indol acético y la capacidad de controlar algunos hongos patógenos en la rizósfera son algunos mecanismos promotores de crecimiento identificados en el género *Bacillus*, se encuentran la (Petersohn et al., Chatli et al. Larrea y Vessey citados por Calvo y Zúñiga, 2010). Según Roongsawang et al., (2002), *Bacillus subtilis* es considerada una especie halotolerante (soporta grandes cantidades de sal) y productora de grandes cantidades de biosurfactantes. Es por estas características que es considerada una bacteria promotora de crecimiento de plantas (PGPB), colonizando la raíz y beneficiando a la misma (Humaira et al., 2020).

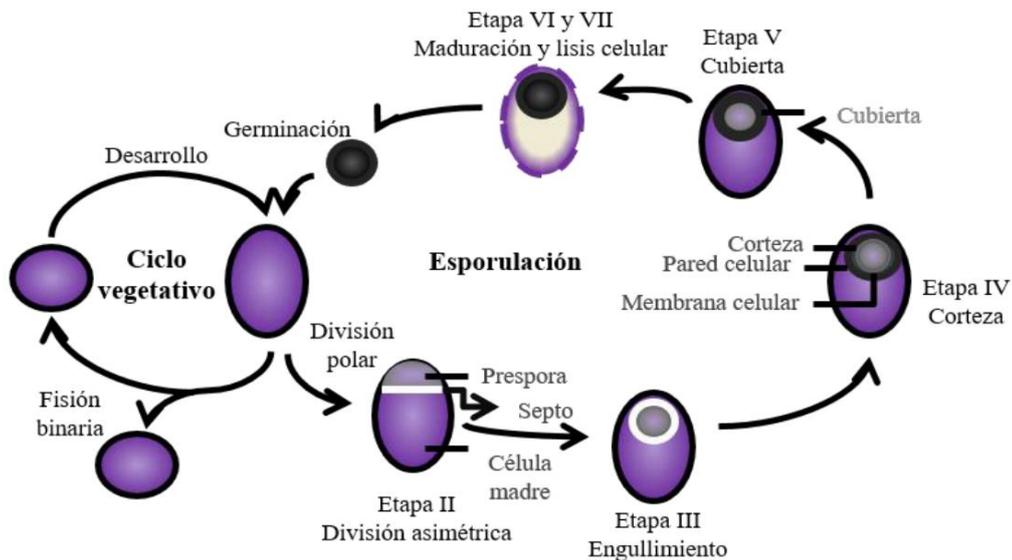
### **2.5.2. Taxonomía**

Según Maughan y Van der Auwera, citados por Villarreal et al., (2018), se presenta la siguiente taxonomía:

Reino: Bacteria  
 Filo: Firmicutes  
 Clase: Bacilli  
 Orden: Bacillales  
 Familia: Bacillaceae  
 Género: *Bacillus*  
 Especie: *B. subtilis*

### 2.5.3. Ciclo de vida

El ciclo de vida de este género está conformado por dos fases: crecimiento vegetativo y esporulación. En la primera fase se da un crecimiento exponencial de la bacteria, mediante fisión binaria, al encontrarse en un medio con condiciones favorables para su desarrollo. La segunda fase se da como una estrategia de supervivencia ante condiciones adversas, de esta forma la célula vegetativa inicia la formación de endosporas. Cuando las condiciones mejoran, la espora germina y *B. subtilis* vuelve a entrar a la fase vegetativa (ver Figura 10) (Errigton, 2003; Tejera-Hernández et al., 2011; CALS, 2016 citados por Villarreal et al., 2018 y Angert, 2005; Rojas y Heydrich, 2011 citados por Nagua, 2016).



**Figura 10: Formación de endosporas del género Bacillus**

FUENTE: Villarreal (2018).

#### **2.5.4. Morfología**

Según la descripción realizada por López (2015), en el grupo de *Bacillus subtilis*, los organismos poseen células menores a 1 µm de ancho por 2-3 µm de largo, tienen forma de barra con bordes redondeados y se encuentran de forma individual o formando pequeñas cadenas. En el centro de la célula se puede observar una espora de forma esférica la cual no modifica la forma de la célula. La pared celular es gruesa y está constituida por peptidoglucano o mureína. De la superficie celular se desprenden unas prolongaciones, los flagelos. Estos contribuyen a la movilidad de la célula. El tamaño promedio de las colonias puede ser de 2 a 4 mm de diámetro.

#### **2.5.5. Ecología**

Debido a su habilidad para formar endosporas, lo cual le da resistencia y potencia su aislamiento en diferentes hábitats, este género se encuentra ampliamente distribuido a nivel mundial en diversos ecosistemas. Nagua (2016) menciona que estas endosporas son muy resistentes al calor. Ya que la mayoría de las especies del género *Bacillus* son saprófitas, el suelo es considerado el principal reservorio ya que de este pueden utilizar la gran diversidad de sustratos orgánicos. Su crecimiento óptimo ocurre a pH neutro, presenta un amplio intervalo de temperaturas de crecimiento, aunque la mayoría son mesófilas (temperaturas entre 30° y 45°C) (McSpadden y Tejera-Hernández et al. citados por Villarreal et al., 2018). Son mesofílicos con respecto a la temperatura y neutrófilo con respecto al pH para el crecimiento, mientras que a menudo es tolerante a niveles de pH más altos (Public Health England, 2018).

#### **2.5.6. Interacción con la planta**

Según Corrales, et al., (2017), el género *Bacillus* está relacionado con la capacidad fijadora de nitrógeno y solubilizadora de fosfato, brindando así beneficios en la agricultura y al medio ambiente. Los suelos agrícolas tienen cantidades de fosfatos insolubles que solo pueden ser aprovechados por las plantas mediante la acción enzimática microbiana. Las fitasas, producidas por *Bacillus* desempeñan un papel muy importante en la nutrición de las plantas mejorando la disponibilidad de fósforo, por lo que son usadas como biofertilizantes. Además, son promotores de crecimiento en plantas debido a los mecanismos de resistencia sistémica inducida que poseen frente a bacterias y hongos patógenos, virus sistémicos, nematodos de la raíz y relacionado con las actividades físico-químicas de las enzimas

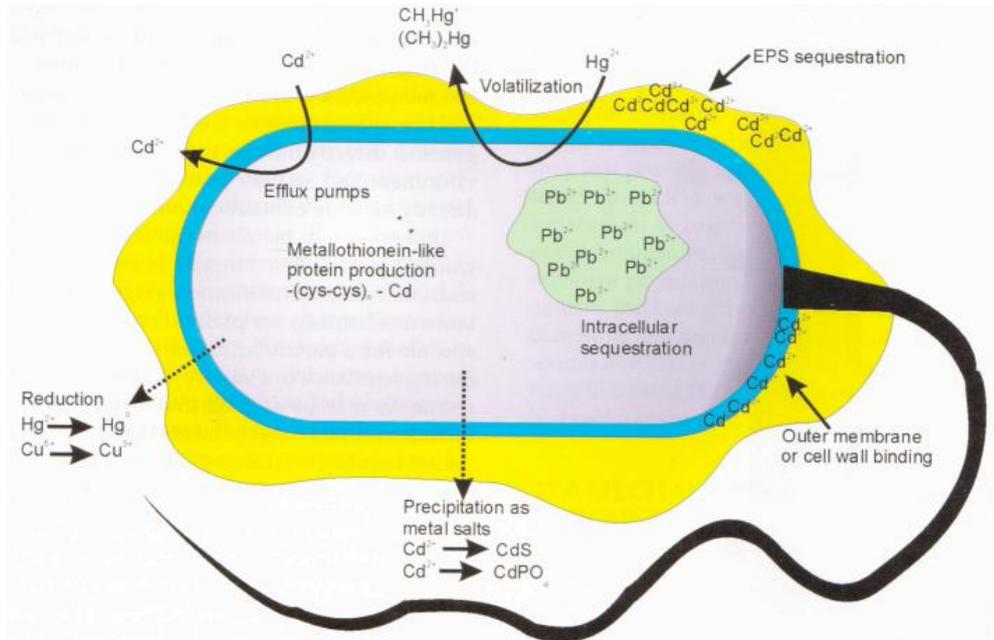
nitrogenadoras y fosforiladoras. Nagua (2016) menciona el potencial que tiene *Bacillus subtilis* para producir compuestos bioactivos reconocidos por combatir patógenos y al instalarse en la raíz y hojas, induce a la planta a producir fitoalexinas que dan resistencia al ataque patógenos como hongos y nematodos.

## **2.6. *Trichoderma* spp., *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus subtilis* EN LA BIORREMEDIACIÓN DE METALES PESADOS**

La biorremediación hace uso de organismos vivos, específicamente microorganismos o plantas y las enzimas que estos pueden producir o inducir a fin de reducir la contaminación por metales pesados como el Cd (Universidad de Concepción [Udec], 2017). Generalmente, se requiere de sustancias sintéticas para el tratamiento de zonas contaminadas por metales pesados que, si bien pueden ser efectivas, pueden también ser tóxicas y destructivas para la estructura física, química y biológica de suelos y aguas. El uso de sustancias biológicas contribuye a una solución amigable con el medio ambiente (Giraldo, Gutiérrez y Merino, 2014) y la biorremediación puede ser una alternativa eficaz y económica ante estas sustancias sintéticas. En los últimos años se ha realizado trabajos de investigación en los que, con éxito, se logró biorremediar suelos contaminados (Benyahia y Embaby, 2016 citados por Casteblanco, 2018). Dentro de la biorremediación, uno de los organismos más utilizados son las bacterias ya que, tienen un corto tiempo de regeneración, son capaces de utilizar múltiples sustratos para su crecimiento y tienen un pequeño tamaño (Rejith y Hatha, 2017). Un estudio realizado en laboratorio con *Pseudomonas* sp. describe la producción de biosurfactantes llamados rhamnolípidos, los cuales pueden unirse a iones metálicos específicos como el Cd y removerlos de suelos y aguas contaminados. En este estudio se pudo observar que, a mayor concentración de rhamnolípidos, la remoción de Cd era mayor y a mayores concentraciones de pH esta remoción mejoraba (Giraldo et al., 2014). Una dificultad que se puede presentar en la biorremediación es el largo tiempo que debe pasar para que se observen los efectos, sin embargo, algunas bacterias como *Pseudomonas* sp. o *Bacillus subtilis* favorecen la eficiencia de este proceso y aumentan la producción de biomasa vegetal mediante tres mecanismos: incremento de la superficie de la raíz y producción de pelos radiculares, incremento de la disponibilidad de los metales e incremento en la transferencia de metales solubles, desde la rizosfera hasta la planta (Ahemad, 2015 citado Casteblanco, 2018); además, las plantas hiperacumuladoras pueden trabajar asociadas a estas bacterias y de esta forma favorecer los procesos de biorremediación (Casteblanco,

2018). Los microorganismos cuentan con amplias capacidades metabólicas que les permiten utilizar diferentes tipos de sustratos, con el objetivo de obtener energía y en muchos casos transformarlos. El Cd es uno de los metales pesados que actúa como sustrato y puede ser inmovilizado o transformado por estos organismos (Castebianco, 2018). Según Zhenh et al. (2008) citados por Beltrán y Gómez (2016), la capacidad de remoción de metales por bacterias y hongos es superior a la reportada con métodos fisicoquímicos convencionales y esta puede ser selectiva teniendo en cuenta la capacidad metabólica de cada especie biorremediadora y el tipo de metal. Para AGRORUM (2020), las bacterias realizan secuestro del Cd dejándolo no disponible ya que, es ligado a la estructura de los microorganismos. Gracias a algunas bacterias, las formas solubles del Cd fueron transformadas en no asimilables por las plantas.

En un ensayo de biosorción de Cd por cepas fúngicas de *Trichoderma*, realizado por Guerra et al. (2014) se obtuvo que éstas tuvieron una captación de hasta 96 % del metal en su biomasa fúngica. Esta biosorción se da gracias a la capacidad de la membrana plasmática de absorber metales pesados mediante transporte pasivo. Según Bolan et al., (2014) los microorganismo pueden alterar la toxicidad, solubilidad en agua y la movilidad del elemento. Rajendran et al. (2003) citados por Beltrán y Gómez (2016) afirman que estos microorganismos cuentan con mecanismos enzimáticos y no enzimáticos para remover metales en solución. Para la Udec (2017), una de las formas en las que las bacterias ayudan a la inmovilización de metales pesados es que estas quedan unidas a las partículas de arcilla a través de puentes de cationes, principalmente cationes divalentes como el Cd, Cu, Mg a través de flujo de metales por la membrana celular; de esta forma, se impide el traslado de estos metales a otra parte de la solución suelo o una transferencia hacia las plantas. Las bacterias utilizan una variedad de mecanismos, ya sea intracelulares o extracelulares, para resistir y desintoxicar metales nocivos (ver Figura 11).



**Figura 11: Mecanismos de resistencia bacteriana intracelular o extracelular para metales pesados. Para el Cd incluye bombas de flujo, precipitación como sales metálicas, secuestro por parte de la sustancia polimérica extracelular (EPS)**

FUENTE: Field (s.f)

Con respecto al Cd, este genera un flujo hacia afuera de la célula bacteriana. Para un estudio realizado con *B. subtilis*, no hay diferencias significativas en la captura de Cd en dos estadios fisiológicos diferentes, esto dependerá del microorganismo y sus características genéticas; además, la mejor captura del metal se da a valores de 6.0 y 7.0 de pH y 6 horas son suficientes para obtener los máximos valores de la captura de Cd (Pérez et al., 2020). Se dice que las bacterias moderadamente halófilas o tolerantes a la salinidad son una buena opción para la biorremediación en ambientes salinos (Oren et al., 1992 y Onishi et al., 1984 citados por Rejith y Hatha, 2017), este es el caso de *B. subtilis* y *Pseudomonas* sp., donde se mostró una disminución de la toxicidad por Cd. Para Nies (1995) y Nies y Silver (1989), la resistencia de Cd en las bacterias se da por la salida del metal, la cual se ve facilitada por las ATPasas del tipo P, los transportadores CBA y transportadores quimiosmótico facilitadores de la difusión de cationes (CDF); además, los sistemas de captación de Mg y/o Mn también son responsables de la captación de Cd. Según Guerra et al. (2014), el género *Trichoderma* mostró un alto porcentaje (96.06%) de biosorción de Cd.

La unión de los metales a la superficie celular de los microorganismos, será a través de interacciones electrostáticas, fuerzas de Van der Waals, unión covalente, interacciones redox, precipitación extracelular o combinaciones de estos. Los grupos de la pared celular de las bacterias cargados negativamente (carboxilo, hidroxilo, fosfato y amino) adsorben los iones metálicos los cuales serán retenidos (Blanco, 2000 y Wase y Forster, 1997 citados por Rajendran, Muthukrishnan y Gunasekaran, 2003). Algunos microorganismos pueden bioacumular, es decir, a través de un sistema de transporte de membrana, internalizar el Cd presente en el entorno celular, con gasto de energía a través del sistema H<sup>+</sup>-ATPasa. El metal será secuestrado en el citoplasma por proteínas ricas en grupos sulfhidrilos (metalotioneínas) o puede ser compartimentado dentro de la vacuola, en el caso de los hongos (Lovley, 2000 citado por Marrero, Díaz y Coto, 2009). Estudios realizados muestran que en bacterias gram positivas (*B. subtilis*), los principales sitios de unión de cationes para las paredes celulares son los grupos carboxilo de peptidoglicano, mientras que en las gram negativas (*P. fluorescens*) son los grupos fosfato; en hongos, la quitina (Korshunova et al., 1999 citados por Wu et al., 2010). Los microorganismos no degradan los metales sino transforman de un estado de oxidación o complejo orgánico a otro. Al alterar su estado de oxidación, el metal puede volverse (i) más soluble en agua y ser eliminado por lixiviación, (ii) inherentemente menos tóxico, (iii) menos soluble en agua de modo que precipite y luego se vuelva menos biodisponible o removido del sitio contaminado, o (iv) volatilizado y removido del área contaminada (Garbisu y Alkorta, 1997 citados por Garbisu y Alkorta, 2003). Un ensayo realizado en laboratorio demuestra la capacidad de *B. subtilis* para la remoción de Cd, esta retención del catión "...puede ser por la presencia de ácidos teicoicos y teicurónico, asociados con los derivados de azúcares N-acetil murámico y N-acetil glucosamina, que son una fuente de grupos fosfatos y carboxilos que ofrecen carga negativa a la superficie celular" (Pérez et al., 2020, p. 329). Además, con respecto al pH, los mejores resultados de remoción se dieron a pH neutro y esto puede ser debido a la menor cantidad de H<sup>+</sup> en la solución, lo cual reduce la competencia con el ion metálico, además según Ghaima et al. (2017) citados por Pérez et al. (2020) la menor protonación en los sitios activos de la biomasa da lugar a un predominio de grupos cargados negativamente en la superficie celular lo que provoca una intensificación de las fuerzas electrostáticas involucradas en el proceso de captura del Cd. Con respecto a *T. harzianum*, un estudio realizado revela que el hongo se ve afectado por el Cd, aunque es tolerante pues, continúa creciendo durante varios días. Usa mecanismos de resistencia al metal como transporte del Cd al espacio extracelular, conjugación de Cd con glutatión seguido de compartimentación en vacuolas y bombeo fuera de la célula,

precipitación por producción de sulfuro y alivio de los efectos por el regulación al alza de proteínas antioxidantes, sistemas de reparación del ADN y proteínas de control de calidad de plegamiento (Harumi et al., 2020). En un estudio realizado en Polonia, se hizo comparación entre biomasa hambrienta y biomasa muerta de *T. koningii*, en donde se obtuvo que la primera fue mayor en un 90% con respecto a la segunda en la inmovilización de Cd. Se utilizó el micelio hambriento pues, se consideró que representaba uno de los estados fisiológicos de los hongos que se encuentra en el suelo (Kurek y Majewska, 2004). Kurek et al. (1996) y Morley y Gadd (1195) citados por Kurek y Majewska, (2004), afirman que la capacidad de absorción de Cd por los hongos es mayor a los de los constituyentes abióticos como las arcillas y también mayor que la biomasa bacteriana hambrienta. Esto se debe a la pared celular de los hongos que está constituida por diferentes polímeros que contienen diferentes grupos funcionales y que difieren en la distribución de la carga y tienen capacidad de unión a metales (Gadd, 1990; Volensky y Schiewer, 1998 citados por Kurek y Majewska, 2004). Se realizó un estudio de laboratorio con *P. fluorescens* en donde se exhibió una eliminación de 99 % de Cd y, además, la suplementación de azúcares mejoró la biomasa de la bacteria, teniendo en primera instancia a la sacarosa. La bacteria pudo tolerar hasta 1000 ppm de concentración de Cd y el porcentaje de eliminación de Cd se redujo cuando las concentraciones de este disminuyeron a 250 ppm, esto indicó que la remoción fue más eficiente a concentraciones más altas de Cd. Esta capacidad para remover iones metálicos de soluciones acuosas está influenciado por la temperatura, pH y concentraciones de biomasa (Sankarammal, Thatheyus y Ramya, 2014). Un estudio reciente prueba la efectividad de *P. fluorescens* para promover las fotosíntesis, mejorar la biomasa y acumulación de Cd en *Sedum alfredii*, una planta considerada hiperacumuladora, pudiendo así lograr una fitorremediación mejorada. Ya en estudios previos con una PGPB *P. putida*, se logró promover el contenido de clorofila, peso seco y acumulación de Cd en *Eruca sativa*, otra planta hiperacumuladora. De igual forma, otro estudio con otra PGPB endofítica *Sphingomonas* sp. promovió la eficiencia fotosintética, mejoro la biomasa y la acumulación de Cd también en *Sedum alfredii* (Kamran et al., 2015 y Wu et al., 2018 citados por Wu et al., 2020). Un estudio realizado en España, por Alcántara et al. (2006), sostiene que *B. subtilis* y *P. fluorescens* son bacterias tolerantes a metales y, una población mixta formada por estas cepas tolerantes, modificó de forma favorable la respuesta del girasol a la concentración acumulada de elementos tóxicos y a sus parámetros de crecimiento.

## 2.7. PRODUCTOS CON *Trichoderma* spp., *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus subtilis* USADOS PARA LA BIORREMEDIACIÓN DE Cd

Actualmente en el Perú, a nivel comercial, existen productos biológicos usados en la agricultura, tal es el caso de TRICOX, BIODELTA Y BIO-SPLENT, como se muestran en la Figura 12.

Producto	Descripción
<p><b>TRICOX®</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>Fungicida – nematicida. Ingrediente activo: <i>Trichoderma koningii</i> (<math>3 \times 10^7</math> conidias/gr), <i>Trichoderma harzianum</i> (<math>3 \times 10^7</math> conidias/gr), Mg, Zn y Mn.</li> <li>Ligeramente tóxico.</li> <li>Los microorganismos de TRICOX® se encuentran en la forma de esporas, las cuales están protegidas de las condiciones adversas y germinan automáticamente tan pronto como el medio ambiente se vuelve favorable. Tienen la capacidad de multiplicarse en el suelo y colonizar las raíces.</li> <li>Desplaza al fitopatógeno mediante la competencia directa por nutrientes, exclusión de sitio, colonización, causando una inhibición del desarrollo del patógeno; por hiperparasitismo sobre el patógeno inhibiendo el crecimiento micelial; por antibiosis, mediante la cual produce antibióticos y enzimas degradadoras de la pared celular del fitopatógeno.</li> <li>Al mismo tiempo, la actividad de los ingredientes activos en el suelo, mejoran el vigor y la salud de las plantas.</li> <li>La dosis comercial para espárrago es 1kg/ha.</li> </ul>
<p><b>BIODELTA 10 WP®</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>Fungicida – nematicida. Ingrediente activo: <i>Pseudomonas fluorescens</i>.</li> <li>Restringe el crecimiento del patógeno en la raíz de la planta.</li> <li>Secretan una enzima, que disuelve las paredes de la célula del patógeno.</li> <li>Los exudados químicos de la bacteria interfieren con la germinación de esporas y su mecanismo de crecimiento.</li> <li>Produce diferentes pigmentos sideróforos que actúan promoviendo el crecimiento y sanidad en las plantas (secuestran el Fe que es un elemento limitante para el crecimiento de patógenos en la rizósfera).</li> <li>Induce mecanismos de defensa en las plantas (resistencia sistémica inducida) y degrada los pesticidas del suelo, además de detoxificar el suelo con metales pesados.</li> <li>También solubiliza el Fósforo orgánico e inorgánico, el Fosfato liberado es aprovechado por la planta.</li> <li>Es una rizobacteria promotora de crecimiento (PGPR).</li> <li>Se registra una dosis de 10-15 kg/ha para vid.</li> </ul>
<p><b>BIO-SPLENT® 70 WP</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>Fungicida. Ingrediente activo: <i>Bacillus subtilis</i> AP-01 (<math>1 \times 10^9</math> ufc/g).</li> <li>Induce la resistencia sistémica natural de plantas o resistencia sistémica adquirida contra patógenos.</li> <li>Este tipo de bacterias pueden detener la germinación de las esporas del patógeno, a través de la disrupción del tubo germinativo en crecimiento e inhibiendo la unión del hongo a la hoja.</li> <li>Esta libera subtilina que actúa sobre la pared celular de hongos, así mismo es antagonista de muchos hongos patógenos vegetales, logrando a través de diversos mecanismos que incluyen competencia de nutrientes, exclusión de sitio, colonización de la bacteria en el patógeno y/o la liberación de componentes celulares durante el crecimiento.</li> <li>Se registra una dosis de 1.5 kg/200L para espárrago.</li> </ul>

**Figura 12: Productos del Grupo Silvestre usados en la agricultura**

FUENTE: Adaptado de <https://silvestre.com.pe>

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. DESCRIPCIÓN DEL CASO A ESTUDIAR

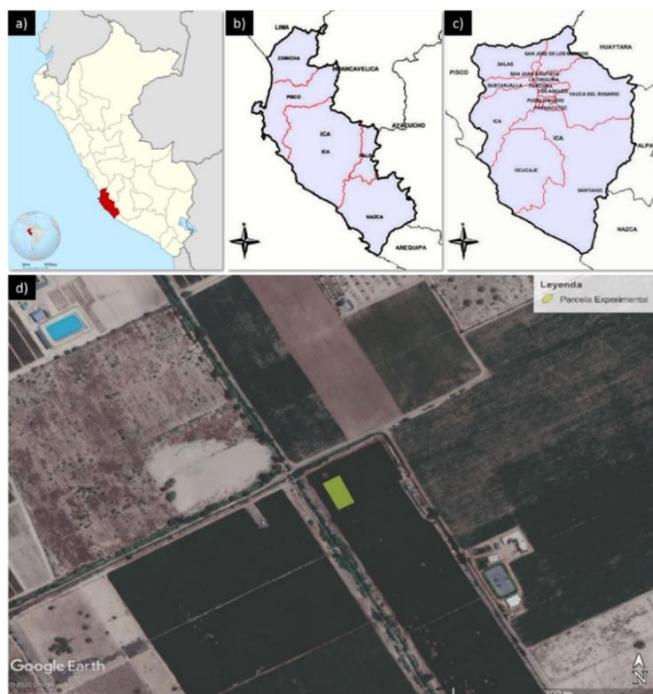
##### 3.1.1. Ubicación de la zona experimental

El presente trabajo de investigación se realizó en el Lote 1 de un campo de espárrago del fundo SANTA MÓNICA, de la empresa FLORIDABLANCA S.A.C., ubicada en el distrito de Santiago, provincia de Ica, departamento de Ica; entre los meses de mayo y octubre (2019). Ver ubicación geográfica y de la parcela experimental en las Tabla 5 y Figura 13.

**Tabla 5: Ubicación Geográfica donde se llevó a cabo el ensayo**

Ubicación Geográfica		
Longitud Sur	Longitud Oeste	Altitud
14°16'17.16"S	75°38'39.51"O	376 m.s.n.m

FUENTE: Google Earth.



**Figura 13: Ubicación de la parcela experimental: a) Mapa del Perú, b) Departamento de Ica, c) Distrito de Santiago y d) Vista aérea de la ubicación de campo experimental.**

FUENTE: Google Earth.

### 3.1.2. Características del suelo

Según la clasificación Soil Taxonomy ( United States Department of Agriculture [USDA] y Natural Resources Conservation Service [NRCS], 2014) , los suelos pertenecen al orden de los Entisoles, los cuales son suelos jóvenes, de origen reciente y se originan de materiales que han sido depositados por los ríos que fluyen desde las vertientes occidentales de los Andes. Tiene un régimen de temperatura isotérmico, es decir, la temperatura media anual del suelo es igual o mayor de 15 °C, pero menor de 22 °C.

Para la caracterización físico-química del suelo, se realizó un muestreo al azar del área de estudio, previo a la fase experimental. La muestra fue procesada en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Universidad Nacional Agraria La Molina (LASPAF-UNALM). Los resultados obtenidos del análisis se muestran en la Tabla 6. El suelo presenta una textura franco arenosa, la que es apropiada para el cultivo de espárrago, según afirman Cabrera (1993), Sanchez (2006) y Peña (2017). El valor de la CE en el extracto de saturación es 24.80 dS. m<sup>-1</sup>, lo cual indica que es un suelo fuertemente salino, además estaría fuera de los umbrales que menciona Sánchez (2006), a pesar que Cabrera (1993) menciona que el espárrago puede ser tolerante a una alta salinidad. Ya que el PSI está por debajo de 15 %, este suelo se considera únicamente salino. El pH es de 7.17 lo cual clasifica a este suelo como ligeramente alcalino y estaría dentro del rango más adecuado para el espárrago. El porcentaje de materia orgánica es bajo por tanto, la disponibilidad de nitrógeno en el suelo será limitada. Para el espárrago es recomendable suelos con mayor cantidad de materia orgánica pues, el nitrógeno mejora el rendimiento al promover el crecimiento vegetativo, tener una mayor eficacia fotosintética y mayor formación de proteínas. La CIC es de 8 cmol(+)/kg, es considerada baja y se encuentra dentro del rango característico para suelo francos arenosos mencionado por Azabache (2003) y Sánchez (2006); este valor puede beneficiar a la fertilización ya que, los elementos no estarán tan sujetos a procesos de adsorción. Los contenidos de fósforo y potasio son altos. La relación K/Mg (0.88) indica una deficiencia de Mg y la relación Ca/Mg (6.48) se encuentra en el rango de 5 a 9 y es clasificada como normal. El porcentaje de CaCO<sub>3</sub> es bajo.

**Tabla 6: Características físicas y químicas del suelo experimental**

Variables	Unidad	Valor	
C.E. (1:1)	dS. m <sup>-1</sup>	8.77	
Arena	%	77	
Análisis	Limo	%	13
Mecánico	Arcilla	%	10
	Textura	Fco. Arenoso	
pH (1:1)		7.17	
CaCO <sub>3</sub>	%	0.7	
M.O	%	0.42	
P	mg.kg <sup>-1</sup>	17.0	
K	mg.kg <sup>-1</sup>	479	
	CIC	8.00	
	Ca <sup>2+</sup>	6.03	
Cationes	Mg <sup>2+</sup>	0.93	
Cambiables	K <sup>+</sup>	cmol.kg suelo <sup>-1</sup>	0.82
	Na <sup>+</sup>		0.22
	Al <sup>+3</sup> +H <sup>+</sup>		0.00
Suma de cationes	cmol.kg suelo <sup>-1</sup>	8.00	
Suma de bases	cmol.kg suelo <sup>-1</sup>	8.00	
Sat. de bases	%	100	
Saturación	%	33	
pH (ES)		7.10	
C.E. (ES)	dS. m <sup>-1</sup>	24.80	
	Ca <sup>2+</sup>	167.5	
	Mg <sup>2+</sup>	33.33	
Cationes Solubles	K <sup>+</sup>	meq.l <sup>-1</sup>	7.41
	Na <sup>+</sup>		95.87
	SUMA		304.11
	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>		4.94
	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>		0.00
Aniones Solubles	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	meq.l <sup>-1</sup>	2.92
	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>		32.29
	Cl		265.00
	SUMA		304.11
	Boro soluble	mg.kg <sup>-1</sup>	2.58
	Yeso soluble	%	0.03

FUENTE: Laboratorio de análisis de suelos, plantas, agua y fertilizantes

– UNALM

### 3.1.3. Características del agua de riego

En la Tabla 7 se muestran los valores obtenidos en el análisis del agua de riego del área experimental en comparación a los valores establecidos por el MINAM. Según las Normas de Riverside, para evaluar la calidad de las aguas de riego, basados en el RAS y la conductividad, el agua utilizada en el ensayo está clasificada como C<sub>2</sub>-S<sub>1</sub>, es decir es un agua de salinidad media, apta para el riego, que en ciertos casos puede ser necesario emplear volúmenes de agua en exceso y utilizar cultivos tolerantes a la salinidad como el espárrago. La muestra fue procesada en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Universidad Nacional Agraria La Molina (LASPAF-UNALM). Al comparar estos resultados con los Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para el Agua, mencionados en el Decreto Supremo N° 002-2008-MINAM (El Peruano, 2008) y Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM (El Peruano, 2017), se obtuvo que el pH es 6.23, lo que estaría por debajo del rango establecido de 6.5 a 8.5 para riego de vegetales. Con respecto a la CE, esta tiene un valor de 6.25 dS/m, considerada muy alta y la cual es generalmente no aceptable a excepción de plantas muy tolerantes a sales como lo es el espárrago; lo establecido para agua de riego en vegetales indica que debe ser menor a 2.5 dS/m pero, según menciona Cabrera (1993), entre 3 y 6 dS/m es un rango favorable para el espárrago. En cuanto al calcio, el parámetro indicado es de 10 meq/L, lo cual está por debajo de lo obtenido en el laboratorio, que fue 41 meq/L. El sulfato obtenido es de 12.4 meq/L, valor que está por debajo de lo establecidos para agua de riego en plantas que es de 20.82 meq/L. Con respecto a los nitratos, se obtuvo 0.5 meq/L; esta cantidad es mayor al parámetro establecido que es 0.16 meq/L. Se puede apreciar que el agua de riego no cuenta con carbonatos y con respecto a los bicarbonatos, estos tienen un valor de 3.22 meq/L lo cual está por debajo de 8.49 meq/L, valor establecido por la norma. Para Cabrera (1993) el rango favorable de Boro pen el espárrago está entre 3.0 y 6.0 ppm, valores muy por encima del resultado del análisis. El RAS obtenido es de 3.15 el cual entra dentro del rango favorable para el espárrago según Cabrera (1993). Con respecto al contenido de Cd, según MINAM (2017), para riego de vegetales se tiene como límite de concentración 0.01 mg/L en el agua.

**Tabla 7: Comparación entre los valores obtenidos del análisis de agua para riego del fundo y los valores según decretos supremos de los años 2008 y 2017**

<b>Determinación</b>	<b>Valor en Agua de riego del fundo</b>	<b>Valor según DSN° 002-2008-MINAM y 004-2017-MINAM</b>
pH	6.23	6.5-8.5
C.E. (dS/m)	6.25	2.5
Calcio (meq/L)	41	10
Magnesio (meq/L)	11.17	**
Potasio (meq/L)	0.23	
Sodio (meq/L)	16.09	8.69
SUMA DE CATIONES	68.49	
Nitratos (meq/L)	0.5	0.16
Carbonatos (meq/L)	0	0.17
Bicarbonatos (meq/L)	3.22	8.49
Sulfatos (meq/L)	12.4	20.82
Cloruros (meq/L)	52	14.1
SUMA DE ANIONES	68.12	
Sodio (%)	23.49	
RAS	3.15	
Boro (ppm)	0.58	1
Clasificación	F.C	

FUENTE: Adaptación del Laboratorio de análisis de suelos, plantas, agua y fertilizantes – UNALM, el DSN° 002-2008-MINAM y el DSN° 004-2017 MINAM.

### **3.1.4. Características climáticas de la zona experimental**

La cuenca del río Ica, corresponde a la zona de desierto seco tropical de aridez permanente, con escasas lluvias durante el año y de clima templado cálido.

Los datos de las principales variables climatológicas, correspondiente a la zona experimental durante el periodo del cultivo (mayo 2019- octubre 2019), se obtuvieron en la estación meteorológica BETA SANTIAGO, ubicada cerca al fundo. Estos datos fueron recopilados del portal web del SENAMHI (ver Tabla 8).

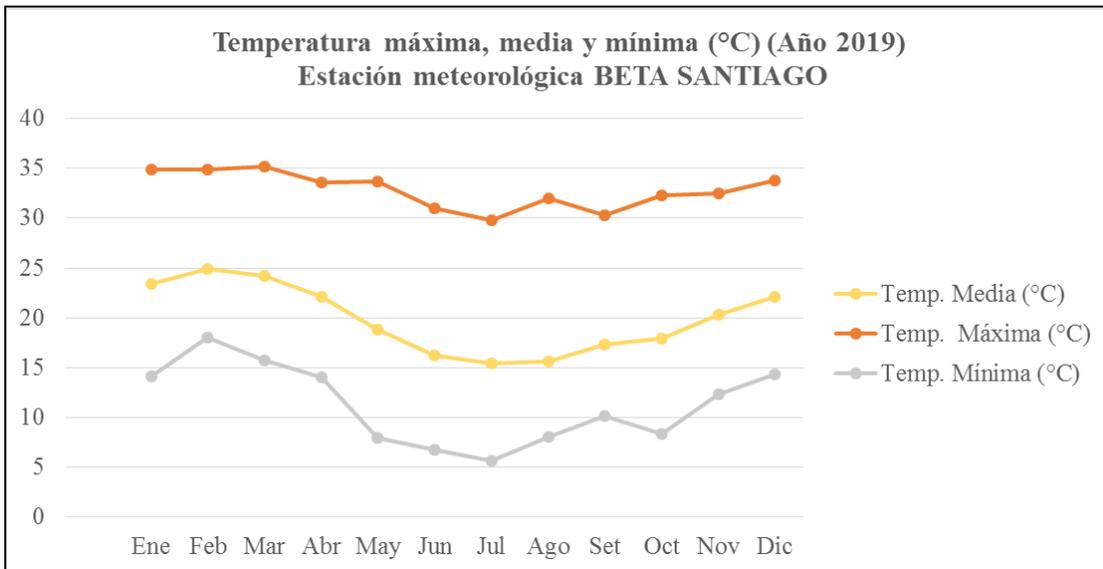
La campaña se inició en abril del 2019, pero la instalación de la tesis se realizó en mayo del mismo año, con una temperatura media mensual de 18.8 °C (temperatura media más alta), disminuyendo en junio a 16.2 °C, en julio a 15.4 °C (temperatura media más baja), aumentando en agosto a 15.6 °C, en setiembre a 17.3 °C y en octubre a 17.9 °C. En la Tabla 8 se puede observar que las temperaturas medias no están dentro del rango óptimo para un

buen rendimiento del espárrago, según lo que menciona Cabrera (1993). En los meses de junio (6.8 °C) y julio (5.7 °C) se pueden observar temperaturas mínimas por debajo de los 8 °C, valor mínimo mencionado por Cabrera (1993) para un buen rendimiento; y, en la totalidad de meses, a excepción de julio (29.8 °C), se registró temperaturas máximas por encima de 30°C, valor máximo mencionado por Loayza (2006). Estos valores de temperatura máxima por encima de lo descrito en la literatura, pueden favorecer en la etapa de crecimiento para acortar el tiempo entre cosechas ya que, habrá un mayor desarrollo vegetativo. En los meses de cosecha que fueron setiembre y octubre, las temperaturas promedio fueron de 17.3 y 17.9 °C respectivamente y sólo a finales de cosecha la temperatura máxima sobrepasó los 30°C, lo cual pudo promover el rameo y deshidratación del turión como los menciona Cabrera (1993). Con respecto a la humedad, esta fue óptima en los meses de cosecha: setiembre (69 %) y octubre (67 %), valores que entran dentro del rango óptimo mencionado por Moreno (2017). En la Figura 14, se puede apreciar la comparación entre las temperaturas máximas, medias y mínimas; en la Figura 15, la comparación entre las humedades relativas máximas, medias y mínimas y en la Figura 16, la relación entre la temperatura media y la humedad relativa media del año 2019.

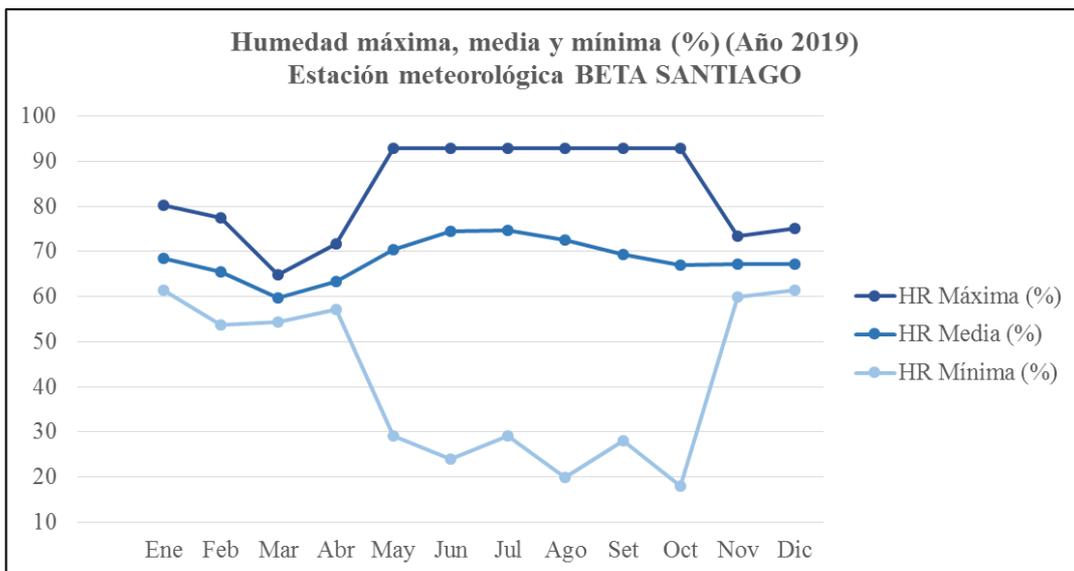
**Tabla 8: Variables climatológicas de la zona experimental – mayo 2019 a octubre 2019**

Mes	Temp. Media (°C)	Temp. Máxima (°C)	Temp. Mínima (°C)	HR Media (%)	HR Máxima (%)	HR Mínima (%)	Precipitación Media (mm)
<b>Ene</b>	23.4	34.9	14.1	68	80	61	0.1
<b>Feb</b>	24.9	34.9	18.0	65	78	54	0.3
<b>Mar</b>	24.2	35.2	15.7	60	65	54	0.0
<b>Abr</b>	22.1	33.6	14.0	63	72	57	0.0
<b>May</b>	18.8	33.7	8.0	70	93	29	0.0
<b>Jun</b>	16.2	31.0	6.8	75	93	24	0.0
<b>Jul</b>	15.4	29.8	5.7	75	93	29	0.0
<b>Ago</b>	15.6	32.0	8.1	73	93	20	0.0
<b>Set</b>	17.3	30.3	10.2	69	93	28	0.0
<b>Oct</b>	17.9	32.3	8.4	67	93	18	0.0
<b>Nov</b>	20.3	32.5	12.4	67	73	60	0.5
<b>Dic</b>	22.1	33.8	14.3	67	75	61	0.1

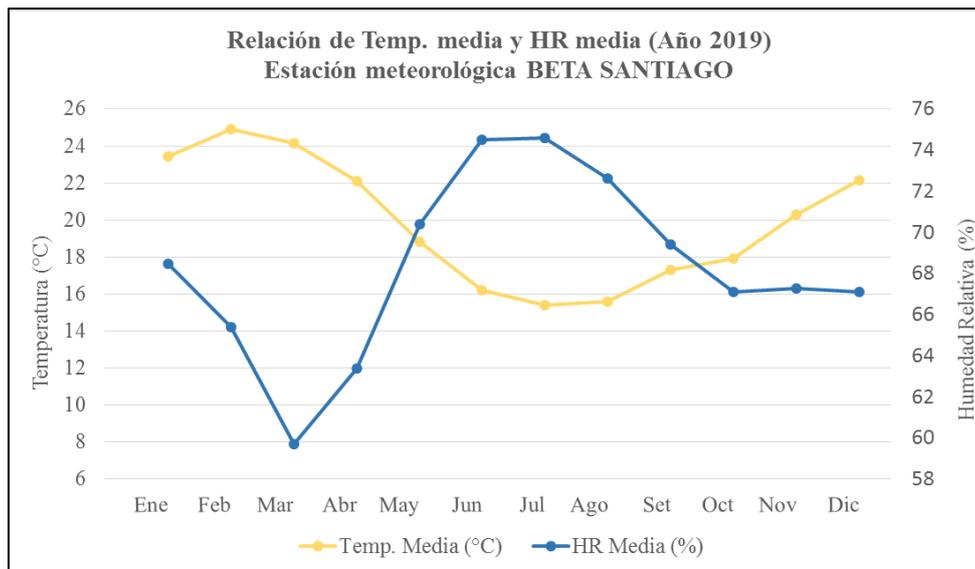
FUENTE: Estación meteorológica BETA SANTIAGO – Santiago, Ica



**Figura 14: Comparación entre las temperaturas máximas, medias y mínimas registradas entre los meses de mayo y octubre, tiempo de duración de la campaña de espárrago**



**Figura 15: Comparación entre las humedades relativas máximas, medias y mínimas registradas entre los meses de mayo y octubre, tiempo de duración de la campaña de espárrago**



**Figura 16: Relación entre la temperatura media y la humedad relativa media registradas entre los meses de mayo y octubre, tiempo de duración de la campaña de espárrago**

### 3.1.5. Características del cultivar

El cultivar UC-157 F1 es lanzado en el año 1974 en la Universidad de California, obtenido del cruce entre las líneas M-120 por F-10 (Delgado de la Flor, 1992 citado por Cabrera 1993). En el Perú, es el cultivar más sembrado habiendo desplazado al cultivar Mary Washington (Agrobanco, 2007). Presenta turiones de color verde oscuro con coloración verde en la punta, turiones lisos cilíndricos de puntas cerradas y bajo contenido de fibra. Es un cultivo precoz, apropiado para climas cálidos, de alta producción. Es tolerante a Fusarium y no es resistente a la Roya. (Delgado de la Flor, 1992 citado por Cabrera 1993).

### 3.1.6. Manejo agronómico

Durante el crecimiento y desarrollo vegetativo del cultivo de espárrago cv. UC-157, en el fundo “Santa Mónica”, se siguen una serie de actividades agronómicas cuyos detalles se mencionan en el Cronograma de Actividades en el Anexo 1. La esparraguera fue instalada mediante coronas en diciembre del 2013 y la instalación de la tesis se llevó a cabo a los 5 años y medio de edad del cultivo. En el fundo se realizan dos campañas al año.

### 3.1.7. Riego

El sistema de riego es por goteo y el agua proviene de un pozo en el subsuelo con capacidad para 4 ha. Generalmente el fundo utiliza de 10000 a 12000 m<sup>3</sup>/campaña/ha. Al inicio de la campaña, diariamente se riega de 80 a 100 m<sup>3</sup> hasta llegar a 600m<sup>3</sup>. Se utilizan cintas de riego y el caudal de un gotero es 1 L/hr., se tienden dos cintas por surco y por hora el riego es de 25 m<sup>3</sup>/ha. Luego del riego inicial de 600 m<sup>3</sup>, se pasa a un riego de 80 m<sup>3</sup> diarios. Todo va a depender de las recomendaciones que el asesor del fundo otorgue. El riego se da una sola vez por las mañanas. En invierno, el riego puede bajar a 60 m<sup>3</sup>. Un mes antes del chapodo, el riego disminuye a 50 m<sup>3</sup>. Aproximadamente una semana antes del chapodo se corta el riego cuatro o cinco días y luego se tienden las mangueras y se riega con 600 m<sup>3</sup> para iniciar la cosecha. Al iniciar la cosecha, el riego se mantendrá en 80 m<sup>3</sup> o 100 m<sup>3</sup> y en invierno, 60 m<sup>3</sup>.

### 3.1.8. Fertilización y aplicación de enmiendas

Según la recomendación del asesor, pasada la primera semana de haber soltado el campo, se aplicará por dos o tres semanas seguidas treinta unidades de P y sesenta unidades de N, semanalmente. Después de la segunda o tercera semana se inicia con la aplicación de Ca, Mg y B, durante cuatro semanas. Se seguirá aplicando la misma cantidad de P, pero se reduce a diez unidades la aplicación de N y el K se aplica del día cincuenta al día noventa. Además, se aplica 90 L de ácidos húmicos como enmienda, dividida en 3 aplicaciones cada semana a partir de la tercera semana de haber soltado el campo. Los fertilizantes utilizados se muestran en la Tabla 9.

**Tabla 9: Unidades de fertilizantes usadas en la campaña de espárrago**

Fertilizante	Kg-L/ha	Nitrógeno	Fósforo	Potasio	Calcio	Magnesio	Boro	Azufre
Ácido fosfórico	289.13		176.40					
Ácido bórico	35.30						6.00	
Nitrato de amonio	787.80	260.00	23.60					
Nitrato de calcio	333.30	40.00			80.00			
Huma Gro Super K	61.50			400.00				
Sulfato de magnesio	312.50					50.00		5.00
<b>Unidades por campaña/ha</b>		300.00	200.00	400.00	80.00	50.00	6.00	5.00

FUENTE: Fundo Santa Mónica, año 2019 – Floridablanca

### 3.1.9. Manejo de plagas y enfermedades

Al primer día de haber soltado el campo, se realiza una aplicación de preventivos como Clorpirifos e Imidacloprid para controlar *Elasmopalpus* y *Prodiplosis*. La aplicación se realiza en las noches y cada siete días o cuatro días si es verano. La aplicación para *Elasmopalpus* se repite al quinto día. Estos productos también serán utilizados para trips. También, si la campaña es de invierno, se hacen aplicaciones preventivas para *Stemphylium* utilizando Mancozeb, Propiconazol o la rotación de estos; luego se aplicará Tebuconazol o Difeconazol. No se aplica ningún producto hasta 45 días antes de la cosecha. Durante la cosecha se utilizaron repelentes a base de ajo y ají para controlar trips.

### 3.1.10. Manejo de plantas invasoras

Del segundo al cuarto día de haber soltado el campo, se realiza un deshierbo manual para controlar plantas invasoras como “pata de gallina” y “rabo de zorro”. Este deshierbo se realiza una vez al mes.

## 3.2. MATERIALES Y EQUIPOS

Los principales materiales y equipos utilizados en el ensayo se presentan detallados en la Tabla 10.

**Tabla 10: Materiales y equipos usados en el ensayo**

Materiales y equipos	Elemento	Descripción y uso	Cantidad en el campo experimental
<b>Material Vegetal</b>	Plantas de espárrago variedad UC-157 F1	Plantas de cinco años de edad	75 plantas
<b>Microorganismos</b>	Tricox	<i>Trichoderma koningii</i> y <i>Trichoderma harzianum</i>	121.5 mL
	Biodelta 10 WP	<i>Pseudomonas fluorescens</i> .	121.5 g
	Bio-splent 70 WP	<i>Bacillus subtilis</i>	121.5 g
	Baldes con medida	Mezcla de productos	03
<b>Material de campo</b>	Azúcar	Activador de microorganismos	364.5 g
	Pala	Muestreo de suelo	01
	Libreta de campo	Registro de datos	01
	Bolsas de polietileno	Para muestras de turiones y suelo	varias
	Cinta métrica	Delimitación de tratamientos	01
	<b>Equipos</b>	Balanza de precisión	Peso de turiones
Vernier		Calibre de turiones	01
Cinta de riego		Riego de la parcela	315 m
Refractómetro		Medición de Grados Brix	01
Mochila de aplicación		Aplicación de productos	01
Cámara fotográfica		Fotografías del ensayo	01
Ordenador		Uso del <i>software</i> IBM -SPSS	01

### 3.3. MÉTODOS

#### 3.3.1. Tratamientos

En el siguiente trabajo se evaluaron tres productos y dos dosis de cada uno, lo cual se detalla en la Tabla 11.

**Tabla 11: Descripción de los tratamientos**

Tratamientos	Producto	Dosis Kg/ha ó L/ha
T0	Testigo	0
T1	TRICOX	1
T2	TRICOX	2
T3	BIODELTA® 10WP	1
T4	BIODELTA® 10WP	2
T5	BIO-SPLENT 70WP	1
T6	BIO-SPLENT 70WP	2

#### 3.3.2. Características del campo experimental

En la Tabla 12, se detallan las características de las parcelas y el diseño del campo experimental utilizado en el ensayo.

**Tabla 12: Características del campo experimental**

<b>De la Parcela</b>	Número de plantas por parcela	75
	Largo efectivo	15.00 m
	Ancho efectivo	1.80 m
	Área efectiva	27.00 m <sup>2</sup>
<b>Del Bloque</b>	Número de parcelas por bloque	7
	Área del bloque	540.00 m <sup>2</sup>
<b>Del Ensayo</b>	Número de parcelas	21
	Número de bloques	3
	Área del bloque	540.00 m <sup>2</sup>
	Área efectiva del ensayo	1620.00 m <sup>2</sup>

#### 3.3.3. Diseño experimental

El diseño experimental empleado en el presente trabajo de investigación fue el diseño de bloques completamente al azar (DBCA) con tres repeticiones. En la Figura 17, se muestra la distribución de los bloques y tratamientos y, en la Figura 18, se muestra un diagrama de la distribución de los tratamientos y bloques, así como su entorno de ubicación.

T1	T3	T5	T7	T2	T4	T6	<b>BI</b>
T2	T4	T6	T1	T3	T7	T5	<b>BII</b>
T7	T6	T3	T5	T4	T3	T1	<b>BIII</b>

**Figura 17: Distribución de los tratamientos y bloques**



**Figura 18: Diagrama de distribución de los tratamientos y bloques en el campo experimental**

### **3.4. PROCEDIMIENTO**

#### **3.4.1. Instalación del ensayo y establecimiento del campo de espárrago**

Se procedió a marcar el campo para separar los tratamientos, eligiendo un área del terreno en la que hubiera uniformidad de plantas; se obvió aquellas partes del campo donde no hubo crecimiento de plantas o estas no eran homogéneas entre sí. Posteriormente, se hizo medición de las hileras y se definieron los bordes de cada tratamiento y bloque. Para diferenciar los tratamientos, se colocó etiquetas al inicio y fin de cada hilera, en la base de la misma planta. Luego del chapodo, se colocó estacas al inicio y fin de cada hilera de tratamientos. El campo ya contaba con una plantación de espárragos de cinco años de edad. El distanciamiento entre plantas fue de 1.80m entre surcos y 0.20m entre plantas.

#### **3.4.2. Toma de muestras de suelo para determinar la concentración de Cd**

Se realizó un muestreo de suelo, antes de aplicar los tratamientos, para determinar la caracterización general del campo. Se procedió a limpiar la superficie de donde se iba a obtener al azar cada muestra simple, llevando a cabo un patrón de cuadrícula, a una profundidad de 30 cm, con el uso de una lampa se realizó un hueco en forma de “V”, se tomó de una de las paredes una porción de 3 cm de espesor. Luego de obtener 36 sub muestras, estas se colocaron sobre un costal, se procedió a homogenizar y se formó un círculo dividiéndolo en 4 cuadrantes, eliminando los cuadrantes opuestos y mezclando los restantes. Se repitió el procedimiento hasta obtener una muestra de 1 kg, la cual se colocó en una bolsa de polietileno, se identificó y fue llevada al laboratorio, para el respectivo análisis de características físicas y químicas. La metodología antes mencionada se realizó en base a la guía metodológica realizada por Barrueta (2013).

Para determinar las concentraciones de Cd, se realizó un muestreo de identificación a nivel de superficie de las 21 parcelas. Se tomó sub muestras de 3 puntos de las áreas de los tratamientos a evaluar, las cuales medían 27 m<sup>2</sup> (cada una), obteniéndose muestras de 500 g por cada parcela. La metodología antes mencionada se realizó en base al protocolo de muestreo de suelos con Cd del MIDAGRI (2017). Las muestras siguientes, para medir concentraciones de Cd, se tomaron a mitad de la fase de desarrollo, al inicio y fin de cosecha. Los análisis fueron realizados en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Universidad Nacional Agraria La Molina (LASPAF-UNALM). En el laboratorio se realizó el método interno del laboratorio ME. LE – 03 para digestión vía

húmeda, en mezcla nitro – perclórica en relación 1:5 respectivamente, donde se pesa 2 gramos de la muestra, se echa 15 mL de la mezcla y se coloca en una plancha a 180° C, para luego proceder a la lectura en el espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer Analyst 200. Se utilizó el método ME.LF – 09. El límite de detección del Cd es de 0.1 mg/kg; el de cuantificación es de 0.2 mg/kg. Según los Estándares de Calidad Ambiental (ECA), se establece un límite de concentración de Cd en suelos agrícolas de 1.4 mg/kg.

### **3.4.3. Toma de muestras de agua para determinar la concentración de Cd**

Las muestras se obtuvieron del agua de pozo utilizada para el riego el cultivo y fueron colectadas a inicio y fin de campaña. Con estas muestras se pudo realizar, además, el análisis estándar del agua. Para determinar la concentración de Cd, la muestra fue centrifugada a 10,000 rpm durante 5 minutos y, posteriormente, se procedió a realizar la lectura directamente con el espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer Analyst 200. El límite de detección del Cd es de 0.1 mg/kg; el de cuantificación es de 0.2 mg/kg. Los análisis fueron realizados en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Universidad Nacional Agraria La Molina (LASPAF-UNALM). La metodología realizada en este laboratorio coincide con la mencionada en la guía metodológica de muestreo de detección de Cd en agua, realizada por Barrueta (2013), aunque, también se menciona que se debe realizar una digestión ácida según normativa de la EPA 200.7. Según los Estándares de Calidad Ambiental (ECA), se establece un límite de concentración de Cd, en aguas para riego, de 0.01 mg/L (MINAM, 2017).

### **3.4.4. Toma de muestras de los fertilizantes usados en la campaña para determinar las concentraciones de Cd**

Las muestras se obtuvieron de los fertilizantes usados en la plantación de espárrago pertenecientes a dicha campaña, estos pudieron haber tenido variación con respecto a campañas pasadas. Según menciona Barrueta (2013), la técnica recomendada es la ICP, aunque también se utiliza la Espectrometría de Absorción Atómica. Los análisis fueron realizados en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Universidad Nacional Agraria La Molina (LASPAF-UNALM) en donde se aplicó la misma metodología usada para suelo y/o agua, ya que el laboratorio no tiene una metodología específica para fertilizantes.

### **3.4.5. Extracción de follaje para determinar la concentración de Cd**

Se tomaron muestras de follaje de 20 g por planta de un total de 15 plantas, haciendo un total de 300 g de follaje por parcela. El follaje se extrajo del tercio medio de la planta y se procedió a extraer hojas sanas y maduras de los lados noreste y suroeste. La metodología usada en laboratorio para hallar las concentraciones de Cd fue la misma que se usó en suelo; método ME. LE – 03 para digestión vía húmeda, en mezcla nitro – perclórica y el método ME.LF – 09, para la lectura en un espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer Analyst 200. El límite de detección del Cd es de 0.1 mg/kg; el de cuantificación es de 0.2 mg/kg. Los análisis fueron realizados en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Universidad Nacional Agraria La Molina (LASPAF-UNALM).

### **3.4.6. Extracción de turiones y coronas para determinar la concentración de Cd**

Se tomaron muestra de turiones al azar de cada parcela y una muestra de corona por parcela:

- A los 10 días de inicio de cosecha (momento al que se denomina “reventón”)
- A final de cosecha

Se realizó la misma metodología utilizada en suelo y follaje. Los análisis fueron realizados en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Universidad Nacional Agraria La Molina (LASPAF-UNALM).

### **3.4.7. Aplicación de los productos**

Los productos a aplicar fueron:

- TRICOX (Fungicida – nematicida que contiene a los hongos *Trichoderma hazianum* y *Trichoderma koningii*)
- BIODELTA® 10WP (nematicida – fungicida producido que contiene la bacteria *Pseudomonas fluorescens*)
- BIO-SPLENT 70WP (fungicida biológico que contiene la bacteria *Bacillus subtilis*)

Los productos fueron disueltos en agua y se agregó azúcar para poder activar a los microorganismos presentes en los mismos. El gasto de agua calculado en campo fue de 1 L en un metro lineal ya que, al tener un sistema de riego por goteo, el campo siempre se

encuentra húmedo y el producto no tendría mayor complicación para llegar a las raíces. En cada aplicación, según sea el tratamiento, se agregó 0.18 y 3.6 mL/L de TRICOX y 0.18 y 3.6 g/L en el caso de BIODelta Y BIO-SPLENT; la cantidad de azúcar fue la misma cantidad de 0.18 y 3.6 g/L dependiendo los tratamientos de 1 y 2 kg/L respectivamente. Para la aplicación del producto, se utilizó una mochila de 20 L de capacidad y un trabajador del fundo como personal de apoyo. En el Anexo 1, se precisan las fechas en que fueron realizadas las aplicaciones y en la tablas 10 y 11 las cantidades y dosis usadas de estos productos.

#### **3.4.8. Toma de datos para obtener los parámetros de rendimiento y calibre en turiones de espárrago**

Desde el inicio hasta el final de cosecha, diariamente se recolectaron muestras de turiones de espárrago, de cada tratamiento, para obtener los datos del peso, número y calibre. La cosecha de espárrago se realizó dos veces al día, a las 6 y 14 horas. Luego de la cosecha se procedió a contar los turiones por tratamiento, pesarlos en una balanza electrónica y medir el calibre con un vernier electrónico.

#### **3.4.9. Cálculo de los Factores de Traslocación (TF) y Bioconcentración (BCF)**

Estos cálculos se realizaron en función a la revisión de Medina y Montano (2013):

$$TF = \frac{\text{Concentración en la parte aérea de la planta}}{\text{Concentración en la raíz de la planta}}$$

Si el **TF** > 1, alto potencial hiperacumulador

Si el **TF** < 1, alto potencial fitoestabilizador

$$BCF = \frac{\text{Concentración en el tejido de la planta}}{\text{Concentración en el suelo}}$$

Si **BCF** > 1, potencialmente hiperacumulador

Según Nández (2016) citado por Leon (2017), la planta se clasifica como:

**Indicadora:** concentración en suelos/agua > concentración en la raíz.

**Tolerante:** concentración en la raíz > concentración en el suelo.

**Hiperacumuladora:** concentración en la parte aérea (hojas, tallos) > concentración en la raíz.

### 3.5. PARÁMETROS EVALUADOS

El rendimiento y la calidad de los turiones fueron los parámetros evaluados en el ensayo. En las tablas 13 y 14 se detallan los parámetros evaluados en el ensayo.

**Tabla 13: Parámetros de rendimiento a evaluar**

<b>Parámetros de Rdto.</b>	<b>Unidad</b>
Rendimiento total	kg/ha
Número de turiones	/
Peso promedio de turiones	g.

**Tabla 14: Calibres para turiones de espárrago**

<b>Clase</b>	<b>Diámetro (mm)</b>
Small	6 a 8
Standard	9 a 12
Large	13 a 16
Extra Large	17 a 20
Jumbo	20 a más

FUENTE: Floridablanca S.A.C (2019)

### 3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

#### 3.6.1. Modelado

Se estableció un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) con tres bloques y siete tratamientos por cada bloque conforme se aprecia en las Figuras 22 y 23. Inicialmente se realizaron dos pruebas: La prueba de Normalidad y la prueba de Homogeneidad de varianzas; con los resultados de ambas pruebas los datos que se obtuvieron de las variables consideradas en el ensayo fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA) y se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey, T de Dunnet y Duncan, considerando un nivel de significancia del 95 %, para el cual se usó el software IBM SPSS Statistics versión 25.

## **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **4.1. FACTOR DE TRANSLOCACIÓN (TF) Y FACTOR DE BIOCONCENTRACIÓN (BCF) DE Cd EN EL ESPÁRRAGO**

Antes de revisar los resultados del comportamiento de los microorganismos en la reducción de las concentraciones de Cd en suelo, corona y turiones de espárrago, se procedió a calcular el TF y BCF con las medias de las concentraciones de Cd obtenidas en laboratorio, a fin de identificar si la planta de espárrago es hiperacumuladora de este metal.

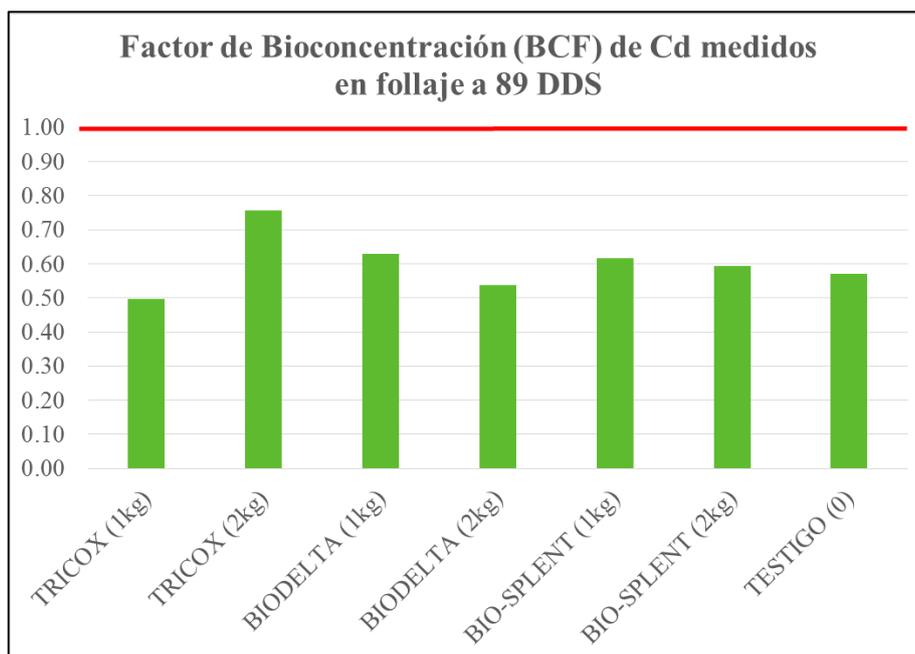
En la Tabla 15 se observan los valores del BCF en follaje a los 89 DDS (días después de soltado el campo), donde se aprecia que, para los distintos tratamientos y el testigo, el espárrago no se comporta como una planta hiperacumuladora al ser el BCF menor a 1; esto se puede reflejar de forma más clara en la Figura 19. En la Tabla 16, se muestran los resultados del TF y BCF en corona y turiones al inicio de cosecha (138 DDS), donde se aprecia que el espárrago es una planta tolerante al Cd, pues en la clasificación del BCF las concentraciones medias de la corona son mayores a la del suelo; además, es hiperacumuladora, ya que los valores obtenidos del TF fueron mayores a 1 a excepción de las condiciones dadas por los tratamientos con BIODELTA (1 y 2 kg), donde el TF es menor a 1, es decir, la planta tiene un potencial fitoestabilizador y no hiperacumulador (ver Figura 21). A medida que transcurre el tiempo se puede apreciar que, a final de cosecha (160 DDS), el TF resulta menor a 1, por tanto, el espárrago pierde el carácter de hiperacumulador. Sólo con los tratamientos TRICOX (1 y 2 kg) el BCF de la corona es menor a 1 por lo tanto se clasifica como una planta indicadora. En los demás tratamientos, al ser las concentraciones de Cd de la corona mayores a las concentraciones del metal en el suelo, se las clasifica como plantas tolerantes (ver Tabla 16 y Figura 20). En la Figura 20, se puede observar gráficamente que con respecto al BCF en corona, los tratamientos con bacterias (BIODELTA Y BIOSPLENT a 1 y 2 kg), al igual que el testigo, superan el valor de 1; en cambio, los tratamientos con hongos (TRICOX 1 y 2 kg) no superan el valor de 1, es decir, las concentraciones en la corona son menores a las del suelo.

**Tabla 15: Factor de Bioconcentración (BCF) de Cd en follaje de espárrago a los 89 DDS**

	Tratamiento	Suelo (ppm)	Follaje (ppm)	BCF (follaje)	Clasif. BCF
Concentración de Cd 89 DDS	T1: TRICOX (1 kg)	2.47	1.23	0.50	No Hiperac.
	T2: TRICOX (2 kg)	2.30	1.74	0.76	No Hiperac.
	T3: BIODELTA (1 kg)	2.52	1.58	0.63	No Hiperac.
	T4: BIODELTA (2 kg)	2.76	1.49	0.54	No Hiperac.
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	2.55	1.58	0.62	No Hiperac.
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	2.59	1.53	0.59	No Hiperac.
	T0: TESTIGO	2.46	1.40	0.57	No Hiperac.

FUENTE: Valores medios obtenidos a partir de los resultados de las concentraciones de Cd en follaje emitidas por el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Universidad Nacional Agraria La Molina (LASPAF-UNALM) usando los métodos ME. LF – 03 y ME. LF - 09 descritos en los puntos 3.3.4.2 y 3.3.4.5. Valores de BCF obtenidos del cálculo descrito en el punto 3.3.4.8 de la presente. BCF > 1, potencialmente hiperacumuladora.

DDS: Días después de soltado el campo



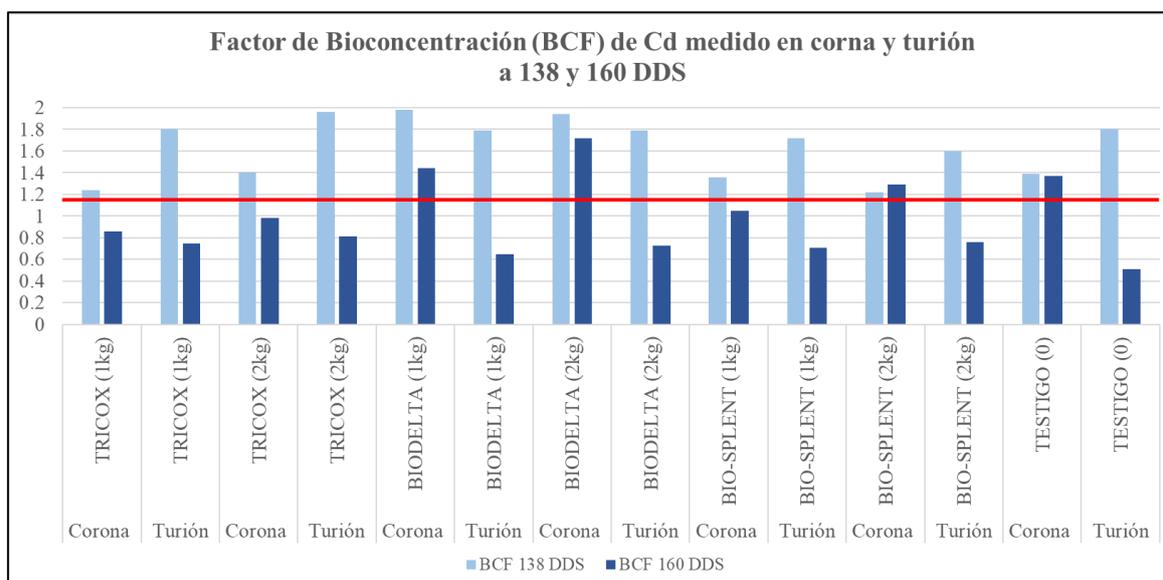
**Figura 19: Factor de Bioconcentración (BCF) de Cd medidos en follaje a 89 días después de soltado el campo (DDS)**

**Tabla 16: Factor de Bioconcentración (BCF) y factor de translocación (TF) de Cd en corona y turiones de espárrago a los 138 DDS y 160 DDS**

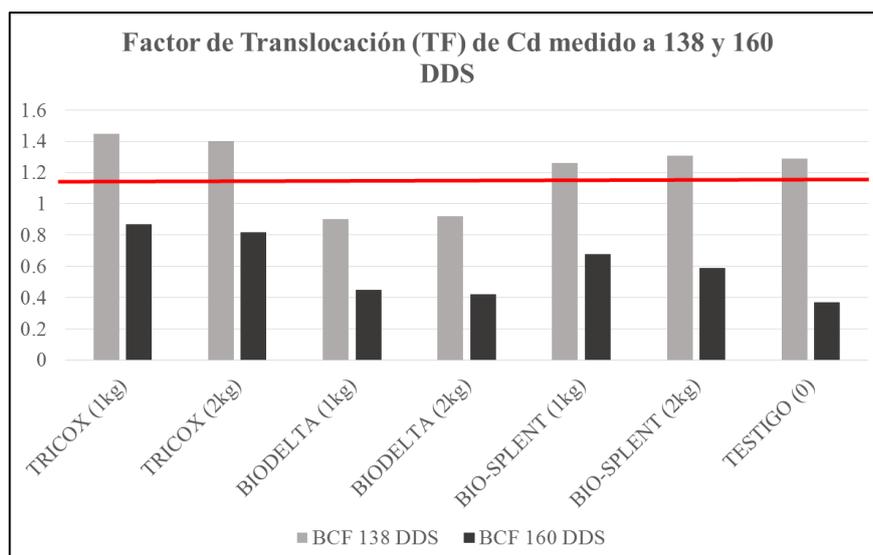
	Tratamiento	Suelo (ppm)	Corona (ppm)	Turión (ppm)	TF	Clasif. TF	BCF (corona)	BCF (turión)	Clasif. BCF
<b>Concentración de Cd 138 DDS</b>	T1: TRICOX (1 kg)	2.47	3.06	4.44	1.45	Hiperac.	1.24	1.80	Tolerante/Hiperac.
	T2: TRICOX (2 kg)	2.30	3.21	4.50	1.40	Hiperac.	1.40	1.96	Tolerante/Hiperac.
	T3: BIODelta (1 kg)	2.52	4.99	4.50	0.90	Fitoestab.	1.98	1.79	Tolerante
	T4: BIODelta (2 kg)	2.76	5.36	4.95	0.92	Fitoestab.	1.94	1.79	Tolerante
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	2.55	3.48	4.38	1.26	Hiperac.	1.36	1.72	Tolerante/Hiperac.
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	2.59	3.16	4.14	1.31	Hiperac.	1.22	1.60	Tolerante/Hiperac.
	T0: TESTIGO	2.46	3.41	4.41	1.29	Hiperac.	1.39	1.80	Tolerante/Hiperac.
<b>Concentración de Cd 160 DDS</b>	T1: TRICOX (1 kg)	2.33	2.00	1.75	0.87	Fitoestab.	0.86	0.75	Indicadora
	T2: TRICOX (2 kg)	2.56	2.51	2.06	0.82	Fitoestab.	0.98	0.81	Indicadora
	T3: BIODelta (1 kg)	2.48	3.56	1.60	0.45	Fitoestab.	1.44	0.65	Tolerante
	T4: BIODelta (2 kg)	2.45	4.22	1.79	0.42	Fitoestab.	1.72	0.73	Tolerante
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	2.63	2.77	1.87	0.68	Fitoestab.	1.05	0.71	Tolerante
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	2.43	3.12	1.85	0.59	Fitoestab.	1.29	0.76	Tolerante
	T0: TESTIGO	2.74	3.75	1.40	0.37	Fitoestab.	1.37	0.51	Tolerante

FUENTE: Valores obtenidos a partir de los resultados de las concentraciones de Cd en corona y turiones emitidas por el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Universidad Nacional Agraria La Molina (LASPAF-UNALM) usando la metodología descrita en los puntos 3.3.4.2 y 3.3.4.5. Valores de TF y BCF obtenidos del cálculo descrito en el punto 3.3.4.8 de la presente Tesis. TF > 1, alto potencial hiperacumulador, TF < 1, alto potencial fitoestabilizador, BCF > 1, potencialmente hiperacumuladora.

DDS: Días después de soltado el campo



**Figura 20: Factor de Bioconcentración (BCF) de Cd medidos en corona y turión a 138 y 160 días después de soltado el campo (DDS)**



**Figura 21: Factor de Translocación (TF) de Cd medido a 138 y 160 días después de soltado el campo (DDS)**

En la Figura 21 se puede observar que sólo a los 138 DDS (inicio de cosecha), en los tratamientos con BIODELTA (1 y 2 kg) el TF es menor a 1, es decir, las concentraciones medias de Cd en los turiones son menores a las de la corona.

Según los datos anteriores, se observa que la hiperacumulación del Cd no se da de igual forma en las diferentes fases de desarrollo del cultivo. Tal como cita Beltrán y Gómez (2016), en estudios realizados por otros investigadores, el espárrago cumpliría con las características de una planta hiperacumuladora al tener un rápido crecimiento, un amplio rango de adaptación climática y la capacidad de absorber grandes volúmenes de agua lo que le permitiría manejar grandes cantidades del metal disuelto. Muchos estudios describen lo que ocurre en plantas que sufren de fitotoxicidad por Cd, estas características no fueron visibles a simple vista en las plantas de espárrago evaluadas, esto puede deberse a que las concentraciones de Cd no superaron siquiera los límites de concentraciones fitotóxicas para plantas sensibles, como menciona Kabata-Pendias y Pendias (2001) (5 – 10 ppm) o Manicol y Beckett (1985) (10 – 20 ppm), pero además el espárrago es una planta tolerante al metal y en cierta etapa, como se pudo observar a inicio de cosecha, es hiperacumuladora.

#### 4.2. DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE CADMIO (Cd) EN mg/kg DE TURIONES DE ESPÁRRAGO

Luego de verificar que se cumplieran los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas (ver anexos 2 y 3), se realizó el análisis de varianza (ANOVA), con medidas repetidas, en donde se puede observar que, a un nivel de significancia de 0.05, a lo largo del tiempo, sí hay diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), pero a nivel de tratamientos no hay diferencias significativas ( $p > 0.05$ ), por tanto los tratamientos no están influyendo en la reducción de las concentraciones de Cd a lo largo del tiempo en los turiones de espárrago (ver tablas 17 y 18). Este cambio en el tiempo se puede apreciar gráficamente en la Figura 22, en donde se ve una reducción de las concentraciones de Cd en turiones incluido el testigo. En el Anexo 4 se muestra la prueba de Tukey en donde se observa que no hay diferencia significativa entre tratamientos. En cuanto a la prueba de Dunnett (ver Tabla 19), tampoco se observan diferencias significativas de los tratamientos contra el testigo.

**Tabla 17: Análisis de varianza en turiones de espárrago (ANOVA)**

Origen		Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Parámetro sin centralidad	Potencia observada <sup>a</sup>
<b>cdtur_tiempo</b>	Esfericidad asumida	77.384	1	77.384	259.583	0.000	259.583	1.000
	Greenhouse-Geisser	77.384	1.000	77.384	259.583	0.000	259.583	1.000
	Huynh-Feldt	77.384	1.000	77.384	259.583	0.000	259.583	1.000
	Límite inferior	77.384	1.000	77.384	259.583	0.000	259.583	1.000
<b>cdtur_tiempo * t</b>	Esfericidad asumida	0.920	6	0.153	0.514	0.788	3.085	0.151
	Greenhouse-Geisser	0.920	6.000	0.153	0.514	0.788	3.085	0.151
	Huynh-Feldt	0.920	6.000	0.153	0.514	0.788	3.085	0.151
	Límite inferior	0.920	6.000	0.153	0.514	0.788	3.085	0.151
<b>Error (cdtur_tiempo)</b>	Esfericidad asumida	4.174	14	0.298				
	Greenhouse-Geisser	4.174	14.000	0.298				
	Huynh-Feldt	4.174	14.000	0.298				
	Límite inferior	4.174	14.000	0.298				

Nota: a. Se ha calculado utilizando  $\alpha = .05$

**Tabla 18: Comparación entre parejas de las concentraciones de Cd en turiones de espárragos en el tiempo**

(I) cdtur_tiempo		Diferencia de medias	Desv. Error	Sig. <sup>b</sup>
138 DDS	160 DDS	2,715*	0.168	0.000
160 DDS	138 DDS	-2,715*	0.168	0.000

Nota: Se basa en las medias marginales estimadas

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.

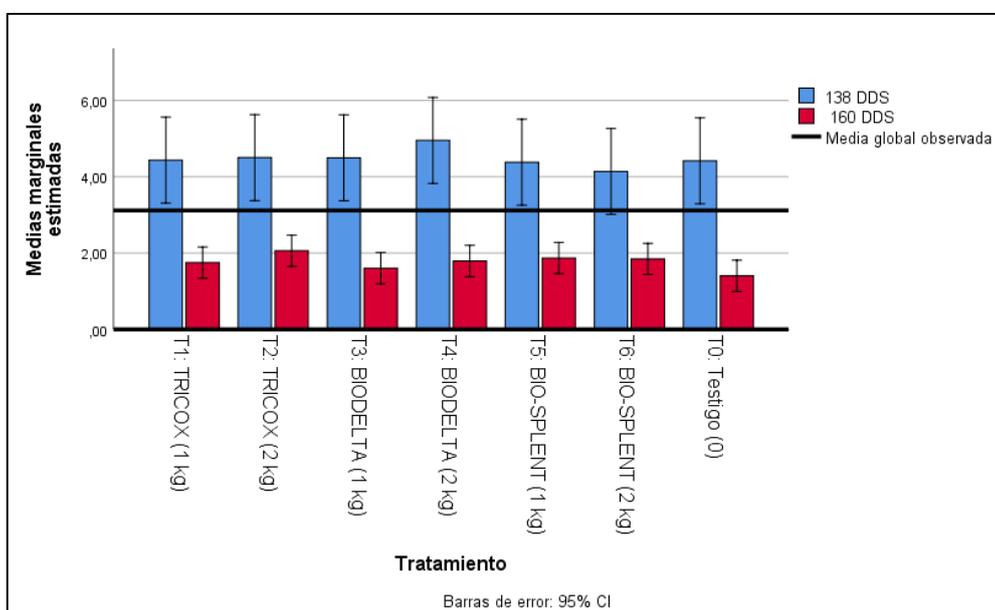
b. Ajuste para varias comparaciones: menor diferencia significativa

DDD: Días después de soltado el campo

**Tabla 19: Prueba de Dunnett para la concentración de Cd en turiones de espárrago**

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias	Desv. Error	Sig.
T1: TRICOX (1 kg)	Testigo (0)	0.182	0.462	0.997
T2: TRICOX (2 kg)	Testigo (0)	0.372	0.462	0.915
T3: BIODELTA (1 kg)	Testigo (0)	0.140	0.462	0.999
T4: BIODELTA (2 kg)	Testigo (0)	0.463	0.462	0.816
T5: BIO-SPLENT (1 kg)	Testigo (0)	0.215	0.462	0.993
T6: BIO-SPLENT (2 kg)	Testigo (0)	0.083	0.462	1.000

*Nota:* Se basa en las medias observadas. La prueba t de Dunnett tratan de un grupo como de un control, y comparan todos los demás grupos con este.



**Figura 22: Comparación de las medias marginales estimadas de las concentraciones de Cd (ppm) en turiones de espárrago de 138 y 160 días después de soltado el campo (DDS)**

Al parecer, la reducción de Cd en el tiempo no estuvo influenciada por los tratamientos, es posible que tal reducción pudo deberse a factores como la propia fisiología de la planta y la biodisponibilidad del metal, tal como lo mencionan Chan y Hale (2004). Según Chen (2000), la absorción de Cd disminuye conforme el cultivo va creciendo, lo cual se puede apreciar en la Figura 8, aunque no hay un estudio específico en el espárrago.

Según la revisión realizada por Chan y Hale (2004), Rodríguez et al. (2008) y Kabata-

Pendias (2010), la presencia de Cd en los turiones de espárrago podría explicarse por el metal que ingresó a la planta y que no fue secuestrado en la raíz, además se menciona que pequeñas cantidades de Cd son traslocadas de la raíz al resto de la planta. La translocación de Cd desde la raíz a los brotes puede estar asociada a la inducción de fitoquelatinas a las cuales se unirá e ingresará a la vacuola; este proceso puede estar vinculado o no a la transpiración. Cabe resaltar que el espárrago es rico en glutatión el cual sirve como sustrato para la formación de fitoquelatinas las cuales, según revisión de Sunción (2017), se incrementan a la exposición de Cd. El Cd pasará de la raíz a los turiones a través del xilema como ion hidratado o complejo de quelato metálico, ya sea vía apoplasto o simplasto. El ingreso del metal dependerá de ciertos factores como su movilización y absorción desde el suelo, la compartimentación y secuestro dentro de la raíz, eficiencia de la carga y transporte del xilema y distribución entre los sumideros de metal en las partes aéreas (Kabata-Pendias y Pendias, 2001). Tal como lo mencionan Begum et al. (2017), los turiones de espárrago presentan tricomas glandulares y según Clemens et al. (2002) el Cd, de preferencia se acumula en los tricomas, los cuales desempeñan un rol importante en el almacenamiento y desintoxicación de metales; es por ello que, también se puede justificar la presencia de Cd en estos órganos. Por otro lado, Kabata-Pendias (2010) afirma que la distribución de Cd hacia los órganos de la planta es bastante variable con respecto a su tasa de transporte.

El espárrago contiene asparagina (Lea et al., 2007), la cual puede formar ligandos con el Cd, Pb y Zn (Sharma y Dietz, 2006). Estos autores también mencionan que cuando se forma el complejo Zn-asparagina, la toxicidad por Zn se reduce, por tanto esto podría suceder de igual forma con el Cd ya que, estos metales son muy similares y tienen estrecha relación y, para Hédiji et al., (2010), los niveles de asparagina aumentan cuando una planta tiene exposición a Cd, pudiendo esta participar en el proceso de desintoxicación del metal, ya sea directamente o por medio de biosíntesis de péptidos quelantes. Según Beltrán y Gómez (2016) los metales como el Cd pueden pasar de la raíz hasta las hojas a través del xilema, formando ligandos con citrato, nicotilamina, histidina y asparagina, llegando al apoplasto de las hojas para luego ser eliminados o transformados por células foliares. Aún es importante realizar estudios para determinar si el aumento en los niveles de asparagina en los exudados de las raíces de las plantas es un mecanismo para quelar iones de Cd y no más bien una disfunción de las membranas de la planta por la exposición al Cd (Costa et al., 1997 citados por Sanita di Toppi y Gabrielli, 1999).

Con respecto a los microorganismos (hongos y bacterias) utilizados en los tratamientos, si bien algunos autores como Beltrán y Gómez (2016) mencionan que pueden ser efectivos en su capacidad de remoción de metales pesados, siendo aún más eficaces que los métodos fisicoquímicos convencionales, o Rejith y Hatha (2017) quienes mencionan que *B. subtilis* y *Pseudomonas* sp., bacterias halófilas, son buenas en la biorremediación en ambientes salinos, hay que tener en cuenta que, según menciona Casteblanco (2018), en el caso de las bacterias, estas se asocian a plantas hiperacumuladoras favoreciendo la biorremediación es decir la absorción de Cd por parte de estas. Esto no es un proceso conveniente para el espárrago pues, en vez de utilizar esta planta para la fitorremediación, se desea que las concentraciones de Cd disminuyan en los turiones los cuales son órganos de consumo humano. Otros estudios recientes descritos por Wu et al. (2002) afirman que *P. fluorescens*, entre otras bacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPB), contribuyeron a promover la fotosíntesis, mejorar la biomasa y la acumulación de Cd en plantas hiperacumuladoras; además, estas bacterias, son tolerantes a altas concentraciones del metal (Ayubb et al., 2017) a diferencia de *B. subtilis* que, según menciona Lim et al. (2013) citados por Khan et al. (2019), disminuye su crecimiento en presencia de Cd<sup>+2</sup>; esto puede deberse al estrés oxidativo inducido por ROS que prevalece en las comunidades microbianas del suelo o al consumo de energía metabólica para resistir la absorción y reducción de metales. Si bien no hay diferencias significativas, en la Figura 22 se puede apreciar gráficamente que la reducción de Cd en el testigo es mayor a la de los otros tratamientos; esto puede estar relacionado con los microorganismos utilizados en los tratamientos, y a que estos hayan colaborado en la acumulación del metal.

#### **4.3. DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE CADMIO EN mg/kg EN CORONAS DE ESPÁRRAGO**

Luego de verificar que se cumplieran los supuestos de normalidad y homogeneidad de variancias (ver anexos 2 y 3), se realizó el análisis de variancia (ANOVA) con medidas repetidas en donde se puede observar que, a un nivel de significancia de 0.05, a lo largo del tiempo si hay diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), pero a nivel de tratamientos no hay diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en las concentraciones de Cd en coronas (ver tablas 20 y 21). En el Anexo 5 se observa en la prueba de Tukey que hay diferencias significativas entre los tratamientos T1 contra T3 y T4, T4 contra T2, T5 y T6. En la Tabla 22 se puede observar en la prueba de Dunnett que no hay diferencias significativas de ninguno de los tratamientos

contra el testigo. En la Figura 23 se puede observar que con la aplicación de todos los tratamientos a excepción del testigo las concentraciones de Cd en corona disminuyen. Además, las mayores concentraciones de Cd en corona a inicio de cosecha (139 DDS) se presentan en los tratamientos T3 y T4 (BIODELTA de 1 y 2kg) que se encuentran por encima de la media global observada, esto se puede comparar con la Tabla 16 en donde se observa que el TF es menor a 1 en estos tratamientos, por tanto, hubo una menor traslocación de Cd desde la corona hasta los turiones, a diferencia de los demás tratamientos y el testigo. En el caso de los tratamientos T1 y T2 (TRICOX de 1 y 2 kg), a los 160 DDS presentan valores por debajo de la media global observada y del resto de tratamientos. Esto sugiere que las *Trichodermas* sp. pudieran tener una mejor respuesta en la reducción de Cd a nivel de corona.

**Tabla 20: Análisis de variancia en coronas de espárrago (ANOVA)**

Origen		Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Parámetro sin centralidad	Potencia observada <sup>a</sup>
<b>cdcor_tiempo</b>	Esfericidad asumida	4.801	1	4.801	10.973	0.005	10.973	0.868
	Greenhouse-Geisser	4.801	1.000	4.801	10.973	0.005	10.973	0.868
	Huynh-Feldt	4.801	1.000	4.801	10.973	0.005	10.973	0.868
	Límite inferior	4.801	1.000	4.801	10.973	0.005	10.973	0.868
<b>cdcor_tiempo * t</b>	Esfericidad asumida	3.563	6	0.594	1.357	0.297	8.144	0.366
	Greenhouse-Geisser	3.563	6.000	0.594	1.357	0.297	8.144	0.366
	Huynh-Feldt	3.563	6.000	0.594	1.357	0.297	8.144	0.366
	Límite inferior	3.563	6.000	0.594	1.357	0.297	8.144	0.366
<b>Error (cdcor_tiempo)</b>	Esfericidad asumida	6.125	14	0.438				
	Greenhouse-Geisser	6.125	14.000	0.438				
	Huynh-Feldt	6.125	14.000	0.438				
	Límite inferior	6.125	14.000	0.438				

Nota: a. Se ha calculado utilizando alpha = .05

**Tabla 21: Comparación entre parejas de las concentraciones de Cd en coronas de espárragos en el tiempo**

(I) cdcor_tiempo		Diferencia de medias	Desv. Error	Sig. <sup>b</sup>
138 DDS	160 DDS	,676*	0.204	0.005
160 DDS	138 DDS	-,676*	0.204	0.005

Nota: Se basa en las medias marginales estimadas

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.

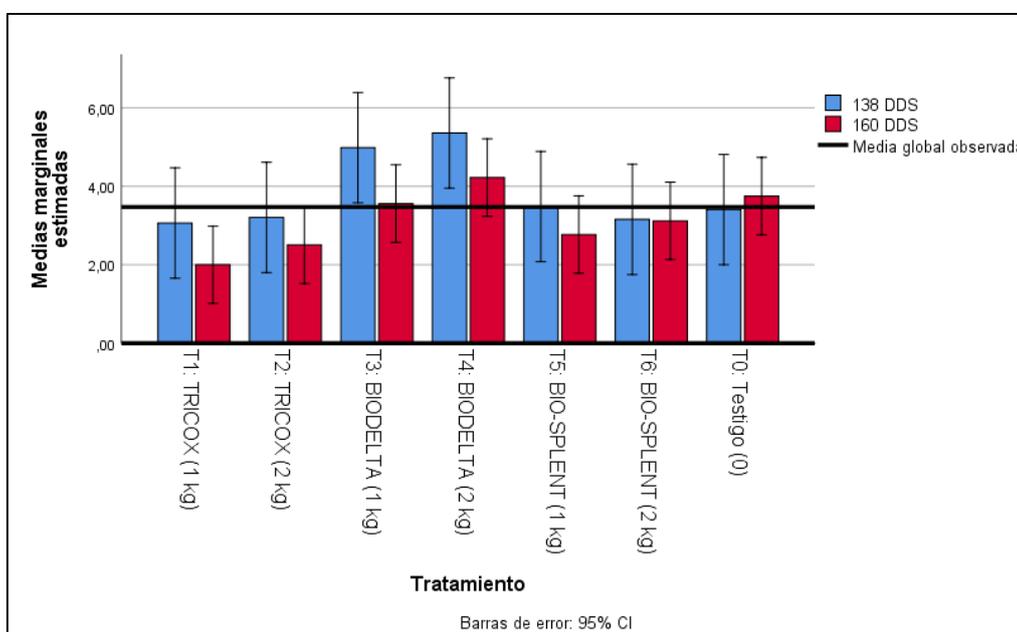
b. Ajuste para varias comparaciones: menor diferencia significativa

DDD: Días después de soltado el campo

**Tabla 22: Prueba de Dunnett para la concentración de Cd en coronas de espárrago**

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias	Desv. Error	Sig.
T1: TRICOX (1 kg)	Testigo (0)	-1.047	0.704	0.505
T2: TRICOX (2 kg)	Testigo (0)	-0.722	0.704	0.803
T3: BIODELTA (1 kg)	Testigo (0)	0.695	0.704	0.825
T4: BIODELTA (2 kg)	Testigo (0)	1.213	0.704	0.369
T5: BIO-SPLENT (1 kg)	Testigo (0)	-0.452	0.704	0.967
T6: BIO-SPLENT (2 kg)	Testigo (0)	-0.440	0.704	0.971

*Nota:* Se basa en las medias observadas. La prueba t de Dunnett tratan de un grupo como de un control, y comparan todos los



**Figura 23: Comparación de las medias marginales estimadas de las concentraciones de Cd (ppm) en coronas de espárrago de 138 y 160 días después de soltado el campo (DDS)**

Actualmente, no hay estudios acerca de la presencia de Cd en las coronas de espárrago, pero diversas investigaciones mencionan la presencia de este metal en las raíces de otras plantas, señalando que es el órgano que más acumula Cd y gran parte de este sería secuestrado en las vacuolas; el resto del metal pasaría luego a otros órganos de la planta, primero en tallos, seguido de hojas y finalmente en frutos y semillas (Kabata-Pendias, 2010; Song et al., 2017 y Rodríguez et al., 2008). Según la revisión realizada por Rodríguez et al. (2008), la movilización del Cd se da por quelantes o por acidificación de la rizosfera y el ion hidratado

o como complejo de quelato, será absorbido a través del sistema de captación localizado en la membrana plasmática. Dentro de la célula el Cd puede coordinarse con ligandos de azufre como el glutatión o fitoquelatinas (PCs) y ácidos orgánicos como el citrato. Otras posibles moléculas responsables de la quelación son las metalotioneinas (MTs), las cuales son proteínas ricas en cisteínas. Así, los complejos Cd-ligando pueden ser transportados al interior de la vacuola o a otras células. Según lo descrito por Barahona (2009), el espárrago es rico en glutatión (GHS) por tanto, se podría formar el ligando Cd-GSH y ser transportados a la vacuola, o a partir del glutatión se podrían formar las fitoquelatinas, permitiendo de esta forma la reducción del Cd. Al igual que ocurre con los turiones, según Begum et al. (2017) la raíz del espárrago muestra presencia de tricomas de recubrimiento, por tanto estos podrían actuar a favor de la inmovilización del Cd.

En la Figura 23 se puede apreciar gráficamente la reducción de las concentraciones de Cd en el tiempo, donde se puede apreciar que con todos los tratamientos hubo una reducción del metal a excepción del testigo; esto difiere de lo ocurrido en los turiones por tanto, a nivel de corona, si se aprecia la acción de los microorganismos, esto puede ser debido a que actúan a nivel de rizosfera. Una de las razones que podría explicar esta reducción, en el caso de las bacterias, es que estas se unen a las partículas de arcilla a través de cationes divalentes como el  $Cd^{2+}$  y de esta forma se impide el traslado del metal a otras partes de la solución suelo o a una transferencia hacia planta. Otra razón, según lo mencionado por AGRORUM (2020), es que las bacterias ligan el Cd a sus estructuras dejándolo no disponible, es decir, las formas solubles serán transformadas en no asimilables para la planta, actuando mejor a un pH alcalino. Por otro lado, los sideróforos producidos por *P. fluorescens*, ayudan a capturar algunos iones metálicos como el  $Cd^{+2}$ , de esta forma se vuelve menos disponible para la planta, además esta bacteria produce ácidos orgánicos que acidifican la rizósfera y, como menciona Rodríguez et al. (2008), esto genera la movilización del Cd. La mayor acumulación de Cd en los tratamientos T3 y T4 (BIODELTA 1 y 2 kg) podría estar de acuerdo con un estudio realizado por Wu et al. (2002) quienes afirman que las *Pseudomonas fluorescens* contribuyeron a la acumulación de Cd en plantas hiperacumuladoras. Para Rejith y Hatha (2017), en el caso de *B. subtilis*, ésta produce biosurfactantes para la biorremediación de metales; de igual forma, *Pseudomonas* sp., produce biosurfactantes llamados ramnolípidos los cuales, como menciona Giraldo et al. (2014), remueven Cd de suelos y aguas contaminadas y a mayores concentraciones de pH, la remoción mejoraba.

Esto sugiere que si bien *P. fluorescens* favorece la acumulación de Cd en plantas, a su vez, por todo lo descrito anteriormente aporta en la reducción.

Según Pérez et al. (2020), en el caso de *B. subtilis*, no hubo diferencias significativas en la captura de Cd en dos estadíos diferentes de la bacteria y la mejor captura del metal se dio a valores de 6.0 y 7.0 de pH. Por otro lado, según lo mencionado por La Universidad del Zulia (2009), el género *Trichoderma* tiene la capacidad de solubilizar Mg, Fe y Mn, por tanto, como menciona AGRORUM (2020) estos cationes pueden competir con el Cd en su disponibilidad para la planta, además también produce ácidos orgánicos que reducen el pH del suelo lo cual ocasiona la movilización del Cd (Rodríguez et al., 2008). Además, tienen la capacidad de aumentar la absorción de nitratos y otros iones en la raíz facilitando la adsorción de diversos metales tóxicos como el Cd (Asha et al., 2012). Otros estudios mencionan la capacidad de algunos hongos como *T. harzianum* que inducen el crecimiento de las raíces lo cual facilita la hiperacumulación de metales como el Cd y esto de alguna manera protege del daño oxidativo por una mayor eficiencia en la captación de nutrientes. La biorremediación es un proceso en el cual los efectos se pueden observar a largo plazo, pero *P. fluorescens* y *B. subtilis* favorecen la eficiencia de este proceso a través de mecanismos como el de incrementar la transferencia de metales solubles desde la rizósfera a la planta (Ahemad, 2015 citado Casteblanco, 2018); este proceso no es conveniente si la planta asociada no es fitorremediadora, como en el caso del espárrago.

#### **4.4. DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE CADMIO EN mg/kg EN SUELO**

Luego de verificar que se cumplieran los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas (ver anexos 2 y 3), se realizó el análisis de variancia (ANOVA) con medidas repetidas en donde se puede observar que, a un nivel de significancia de 0.05, a lo largo del tiempo si hay diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), pero a nivel de tratamientos no hay diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en las concentraciones de Cd en suelo (ver tablas 23 y 24). En el Anexo 6 se muestra la prueba de Tukey en donde se puede apreciar que no hay diferencia significativa entre los tratamientos. En cuanto a la prueba de Dunnett (Tabla 25), tampoco se observan diferencias significativas de los tratamientos contra el testigo. En la Figura 24, se puede observar que las concentraciones de Cd se redujeron a lo largo del tiempo a excepción del testigo que, a final de cosecha (160 DDS), supera la media global observada.

Esto podría dar señal de que sí hubo algún tipo de influencia por parte de los microorganismos.

**Tabla 23: Análisis de variancia en suelo de espárrago (ANOVA)**

Origen		Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Parámetro sin centralidad	Potencia observada <sup>a</sup>
cdsuelo_tiempo	Esfericidad asumida	1.120	2	0.560	25.980	0.000	51.960	1.000
	Greenhouse-Geisser	1.120	1.356	0.826	25.980	0.000	35.236	1.000
	Huynh-Feldt	1.120	2.000	0.560	25.980	0.000	51.960	1.000
	Límite inferior	1.120	1.000	1.120	25.980	0.000	25.980	0.997
cdsuelo_tiempo * t	Esfericidad asumida	0.809	12	0.067	3.128	0.006	37.540	0.957
	Greenhouse-Geisser	0.809	8.138	0.099	3.128	0.019	25.458	0.862
	Huynh-Feldt	0.809	12.000	0.067	3.128	0.006	37.540	0.957
	Límite inferior	0.809	6.000	0.135	3.128	0.037	18.770	0.752
Error (cdsuelo_tiempo)	Esfericidad asumida	0.604	28	0.022				
	Greenhouse-Geisser	0.604	18.988	0.032				
	Huynh-Feldt	0.604	28.000	0.022				
	Límite inferior	0.604	14.000	0.043				

Nota: a. Se ha calculado utilizando  $\alpha = .05$

**Tabla 24: Comparación entre parejas de las concentraciones de Cd en el suelo en el tiempo**

(I) cdsuelo_tiempo		Diferencia de medias	Desv. Error	Sig. <sup>b</sup>
89 DDS	138 DDS	,281*	0.059	0.000
	160 DDS	,285*	0.034	0.000
138 DDS	89 DDS	-,281*	0.059	0.000
	160 DDS	0.004	0.040	0.925
160 DDS	89 DDS	-,285*	0.034	0.000
	138 DDS	-0.004	0.040	0.925

Nota: Se basa en las medias marginales estimadas

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.

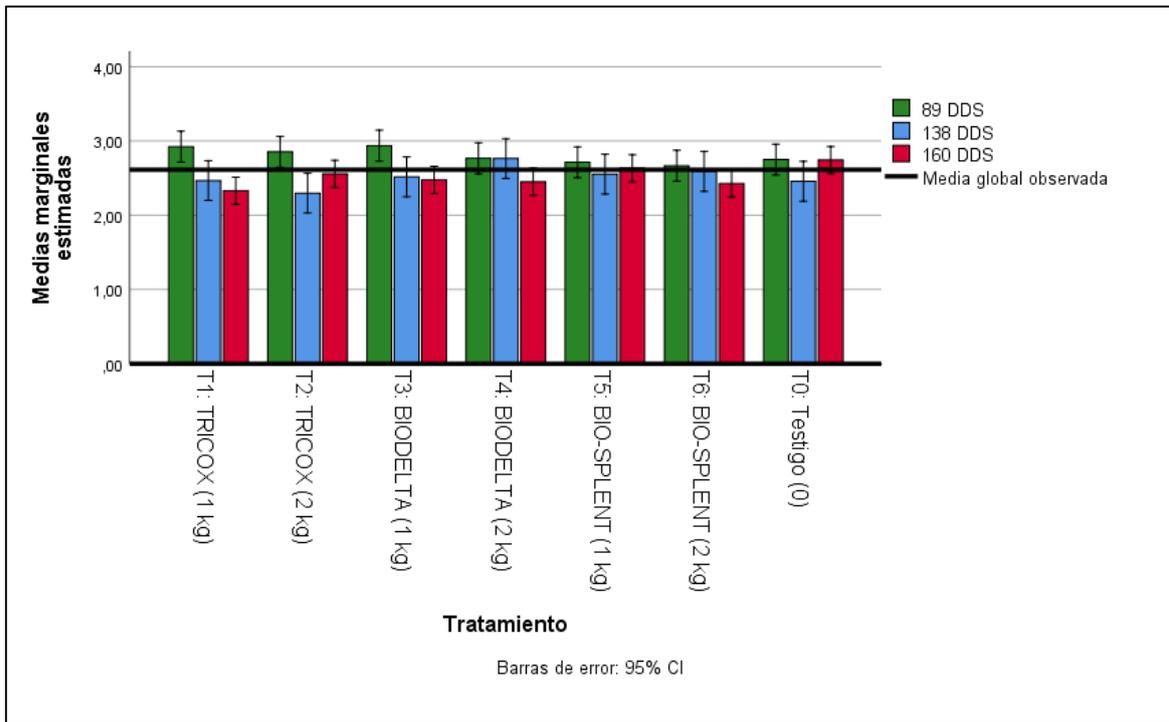
b. Ajuste para varias comparaciones: menor diferencia significativa

DDD: Días después de soltado el campo

**Tabla 25: Prueba de Dunnett para la concentración de Cd en suelo**

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias	Desv. Error	Sig.
T1: TRICOX (1 kg)	Testigo (0)	-0.077	0.109	0.951
T2: TRICOX (2 kg)	Testigo (0)	-0.081	0.109	0.938
T3: BIODDELTA (1 kg)	Testigo (0)	-0.007	0.109	1.000
T4: BIODDELTA (2 kg)	Testigo (0)	0.010	0.109	1.000
T5: BIO-SPLENT (1 kg)	Testigo (0)	-0.017	0.109	1.000
T6: BIO-SPLENT (2 kg)	Testigo (0)	-0.089	0.109	0.911

Nota: Se basa en las medias observadas. La pruebas t de Dunnett tratan de un grupo como de un control, y comparan todos los



**Figura 24: Comparación de las medias marginales estimadas de las concentraciones de Cd (ppm) en suelo de 89, 138 y 160 días después de soltado el campo (DDS)**

La raíz es el órgano que está en contacto con el suelo, es a través de este que ocurrirá una de las formas de ingreso del Cd a la planta. Rodríguez et al., (2008) menciona que el Cd puede encontrarse en el agua contenida en el suelo, adsorbido por superficies orgánicas e inorgánicas o incorporado a estructuras biológicas; además, su biodisponibilidad para la planta va a depender de factores físicos, químicos y biológicos. Para Bolan et al. (2014), la movilidad del Cd dependerá de algunos factores como el pH, siendo para Kabata-Pendias y Pendias (2001), el mayor factor que controla la absorción total y relativa de Cd, aunque la absorción de Cd por la planta sería independiente del pH (Kabata-Pendias, 2010), pues si bien en suelos ácidos la solubilidad del Cd mejora y puede ser absorbido por las raíces de las plantas (Lightbourn, 2017), a medida que aumenta la alcalinidad, disminuye la adsorción de Cd, probablemente debido a la competencia con los iones  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ . En suelos alcalinos también se favorece la formación de especies hidroximonovalentes como el  $\text{CdOH}^+$  (Kabata-Pendias y Pendias, 2001). Según los análisis de suelo realizado en la zona del ensayo, este tiene un pH de 7.17 lo que se califica como ligeramente alcalino y la disponibilidad de Cd en este suelo puede deberse a los factores antes mencionados. Otra forma de ingreso del Cd al suelo es a través de la incorporación de rastrojo de la planta, que se ha dado en campañas anteriores, pero a la fecha esta práctica ya no se realiza. También se menciona que el Cd

ingresa al suelo a través de los fertilizantes fosfatados (ATSDR, 2012), aunque FONTAGRO (2020) explica que el Ca presente en estos es reemplazado por el Cd, pero que este no es realmente disponible para la planta ya que según estudios realizados, tomaría 166 años para que pase los límites permisibles.

Los microorganismos aplicados en los tratamientos, según la literatura mencionada, solubilizan el fosfato y por tanto, según Kabata-Pendias (2010), esto favorecería a la reducción del Cd a lo largo del tiempo. Además, otro estudio reporta que 10 veces el incremento de la concentración de Ca en el suelo reduce en tres veces la capacidad de adsorción del Cd y, debido a que los niveles de Ca en los análisis de agua de laboratorio se obtuvieron mayores al parámetro indicado por el MINAM, esto podría explicar la disponibilidad de Cd para las plantas.

En el ensayo se aplicó ácido fosfórico y según Lightbourn (2017) al aplicar este ácido en suelos alcalinos se logra que los metales pesados sean más asimilables por la planta, ya que se está desregulando el suelo y retirando la biota natural. En el ensayo se aplicó ácidos húmicos que, según Ottos (2018), adsorben Cd pero en menor cantidad que los ácidos fúlvicos y las huminas. La adsorción se daría por los grupos funcionales carboxilos, hidroxilos y fenólicos de las huminas que se unen a los metales. Además, al ser las huminas fuente de carbono, estas mejoran la población microbiana y a mayor actividad biológica mayor acumulación de Cd. Según AGRORUM (2020), al quedar secuestrado el Cd en la solución suelo habrá disponibilidad no solo de Ca sino también de Mn y Zn que por su estructura química pueden competir con el Cd en lo que respecta a la absorción por la raíz. Según los análisis realizados, se obtuvo una CE de 24.80 dS. m<sup>-1</sup> en extracto de saturación lo cual clasifica a este suelo como fuertemente salino, esto resulta ser un problema pues, para McLaughlin et al. (1994) citados por Kabata-Pendias y Pendias (2001), la fitodisponibilidad del Cd aumenta debido a que este forma complejos con el cloruro ( $\text{CdCl}^+$ ,  $\text{CdCl}_2^0$ ,  $\text{CdCl}_3^-$ ,  $\text{CdCl}_4^{2-}$ ). La afinidad de los cloruros por formar complejos fácilmente solubles con Cd es motivo de preocupación medioambiental. Para Oren et al. (1992) citados por Rejith y Hatha (2017), las bacterias moderadamente halófilas o halotolerantes son una mejor opción para la biorremediación en ambientes salinos, esto pudo ser un posible efecto de la disminución en las concentraciones de Cd en todos los tratamientos a excepción del testigo a lo largo del tiempo. La no disminución de las concentraciones de Cd en las plantas testigo pueden estar

dadas por la salinidad del suelo que, según Smolders (2001), aumenta la absorción de Cd por las plantas. Este autor también menciona que se encontraron altas concentraciones de Cd en cultivos con suelos salinos por cloruros y deficiencia de Zn.

#### **4.5. DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE CADMIO (ppm) EN EL AGUA DE RIEGO USADA EN TODA LA CAMPAÑA DE ESPÁRRAGO**

Como resultado del análisis de concentraciones de Cd en el agua de riego utilizada en la campaña de espárrago, se puede apreciar en la Tabla 26 los valores obtenidos en las dos mediciones realizadas, una a inicio y otra a final de cosecha. Estos valores son mayores a 0.01 ppm, valor establecido en la norma al año 2017 por lo tanto el agua utilizada no es apta, pues pasa los límites permisibles. Dado que se utiliza un máximo de 12000 m<sup>3</sup> de agua por campaña, el agua estaría aportando un máximo de 600 g Cd/ha/año (2 campañas), valor obtenido tomando los datos de la Tabla 26.

**Tabla 26: Concentraciones de Cd (ppm) y g Cd/ha del agua de riego para una campaña de espárrago**

<b>Muestra de agua de riego</b>	<b>Cd (ppm)</b>	<b>g Cd/ha</b>	<b>Cd (ppm) según DSN° 004-2017-MINAM</b>
Inicio de cosecha	0.02	240	0.01
Final de cosecha	0.025	300	

FUENTE: Valores obtenidos a partir de los resultados de las concentraciones de Cd en el agua de riego emitidos por el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Universidad Nacional Agraria La Molina (LASPAF-UNALM) usando el método ME. LF - 09 descrito en el punto 3.3.4.3.

#### **4.6. DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE CADMIO (ppm) EN LOS FERTILIZANTES USADOS EN TODA LA CAMPAÑA DE ESPÁRRAGO Y LOS G CD/HA PROVENIENTES DE ESTOS FERTILIZANTES**

Como resultado del análisis de concentraciones de Cd en los fertilizantes utilizados en la campaña, se puede apreciar en la Tabla 27 que todos contienen Cd. También se puede observar la cantidad de fertilizante, en kg/ha, que fueron añadidos en la campaña.

**Tabla 27: Concentración de Cd (ppm) en fertilizantes y g Cd/ha para una campaña de espárrago**

Fertilizante	Dosis (kg-L/ha)	Cd (ppm)	g Cd/ha
Ácido fosfórico	289.13	3.91	1.13
Ácido Bórico	35.3	0.1	0.00
Nitrato de Amonio	787.8	0.23	0.18
Nitrato de Calcio	333.3	5.23	1.74
Huma Gro Super K	61.5	2.05	0.13
Sulfato de Magnesio	312.5	1.55	0.48
		<b>Total</b>	<b>3.67</b>

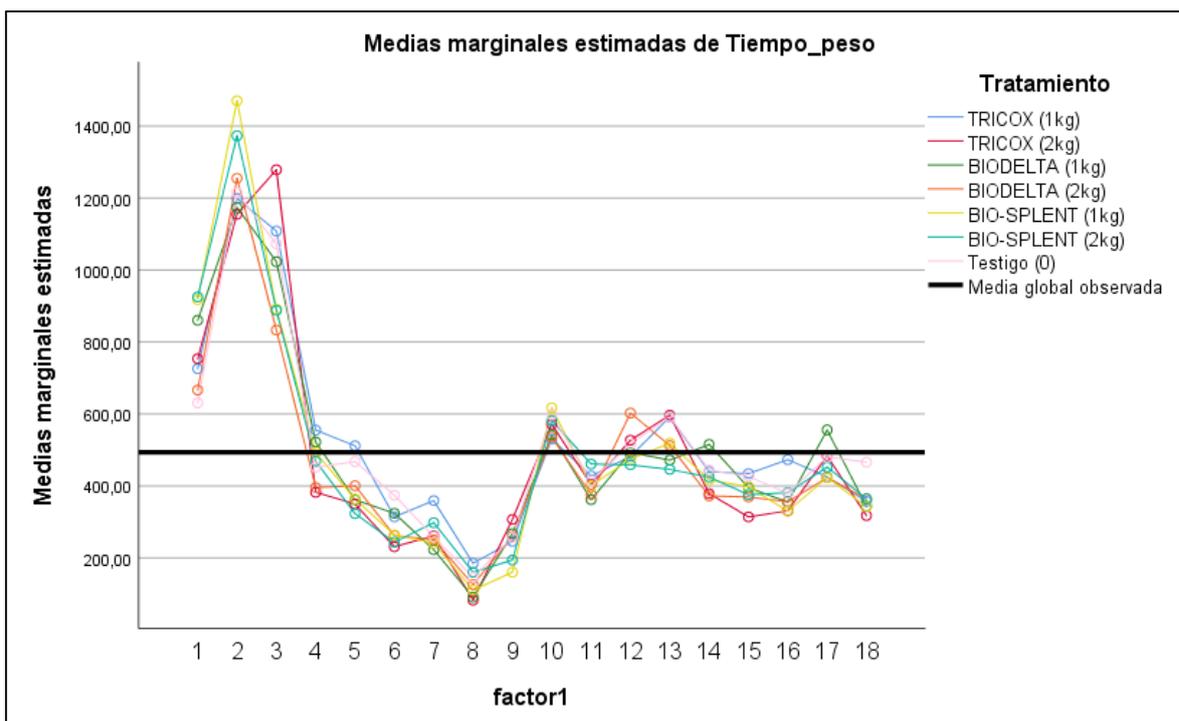
FUENTE: Valores de dosis en kg-L/ha obtenidos del Fundo Santa Mónica de la empresa Floridablanca. Valores obtenidos a partir de los resultados de las concentraciones de Cd los fertilizantes utilizados durante la campaña, emitidos por el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Universidad Nacional Agraria La Molina (LASPAF-UNALM)

El aporte anual de Cd a los suelos cultivables de Europa a través de fertilizantes fosfatados es de 0.8 g Cd/ha/año para el consumo medio europeo, llegando a ser 1.6 g Cd/ha/año para la producción de papa (Sánchez, 2016). Según los resultados anteriores, sólo con la aplicación de ácido fosfórico se obtiene 1.13 g Cd/ha/campaña, es decir, 2.26 g Cd/ha/año, esta cifra estaría por encima de la media europea para fertilizantes fosfatados. En la Tabla 27, se puede apreciar el aporte de Cd con todos los fertilizantes utilizados en la campaña y, debido a que se realizan dos campañas anuales de espárrago, el aporte anual de Cd sería de 7.34 g Cd/ha/año, cantidad por encima a la reportada por Sánchez (2016) en Europa, que fue de 0.5 – 4.4 g Cd/ha/año, pero muy por debajo del valor que se obtiene proveniente del agua de riego que fue de 600 g Cd/ha/año.

#### **4.7. DETERMINACIÓN DEL PESO DE TURIONES (g) PARA 18 DÍAS DE COSECHA**

Luego de verificar que se cumplieran los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, se realizó el análisis de variancia (ANOVA) con medidas repetidas en donde se puede observar que, a un nivel de significancia de 0.05, a lo largo del tiempo si hay diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), pero a nivel de tratamientos no hay diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) con respecto al peso de los turiones (ver Anexo 8). En la prueba de Tukey no se encontró diferencias significativas entre los tratamientos. En cuanto a la prueba

de Dunnett no se encontraron diferencias significativas de los tratamientos contra el testigo. En la Figura 25 se puede apreciar una tendencia al aumento del peso, siendo máxima en el segundo día de medición correspondiente al día 10 de cosecha donde se denomina el “reventón”, para luego disminuir llegando a su mínimo en el día 8 de medición correspondiente al día 16 de cosecha y finalmente tiende a aumentar y mantenerse relativamente constante hasta los días finales de cosecha.



**Figura 25: Peso de turiones de espárrago medido en 18 días de cosecha**

#### **4.8. DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE TURIONES PARA 18 DÍAS DE COSECHA**

Luego de verificar que se cumplieran los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, se realizó el análisis de varianza (ANOVA) con medidas repetidas en donde se puede observar que, a un nivel de significancia de 0.05, a lo largo del tiempo si hay diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), pero a nivel de tratamientos no hay diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) con respecto al peso de los turiones (ver Anexo 8). En la prueba de Tukey no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. En cuanto a la prueba de Dunnett no se encontraron diferencias significativas de los tratamientos contra el testigo. En la Figura 26 se puede apreciar una tendencia similar a la ocurrida en el peso, pero se puede apreciar que en la etapa del “reventón” hay una marcada diferencia del tratamiento

T5 (BIO-SPLENT de 1kg) con respecto a los demás tratamientos y el testigo.

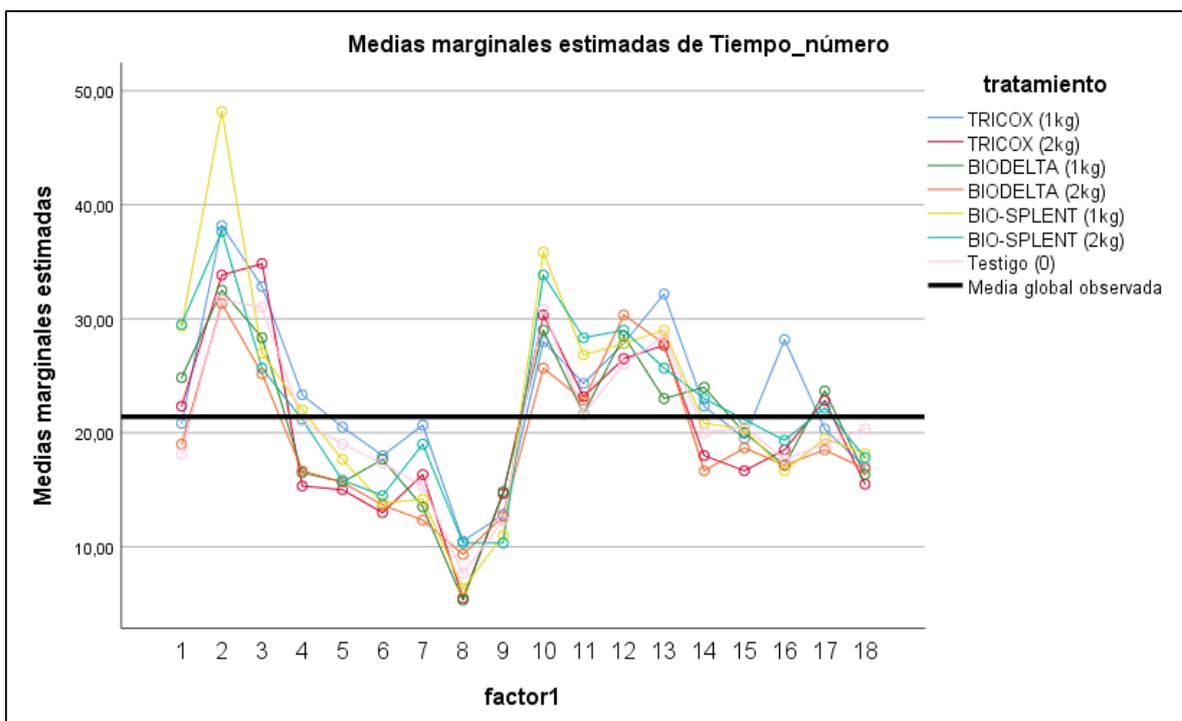
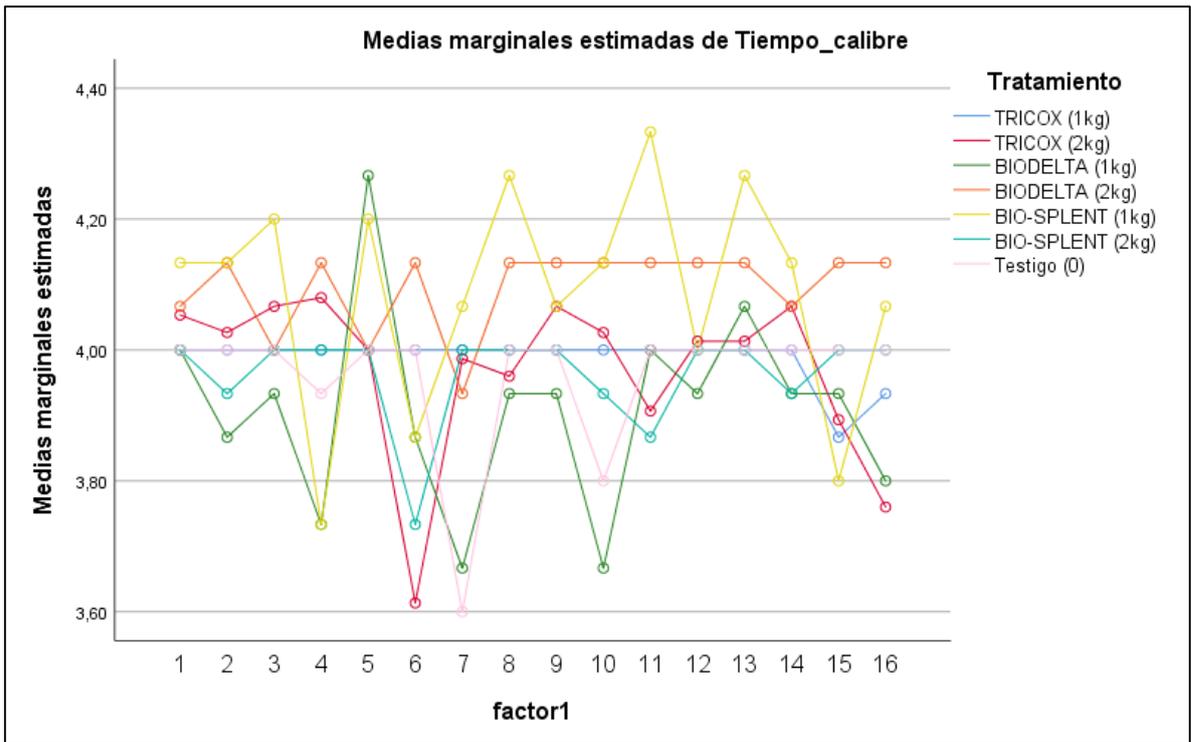


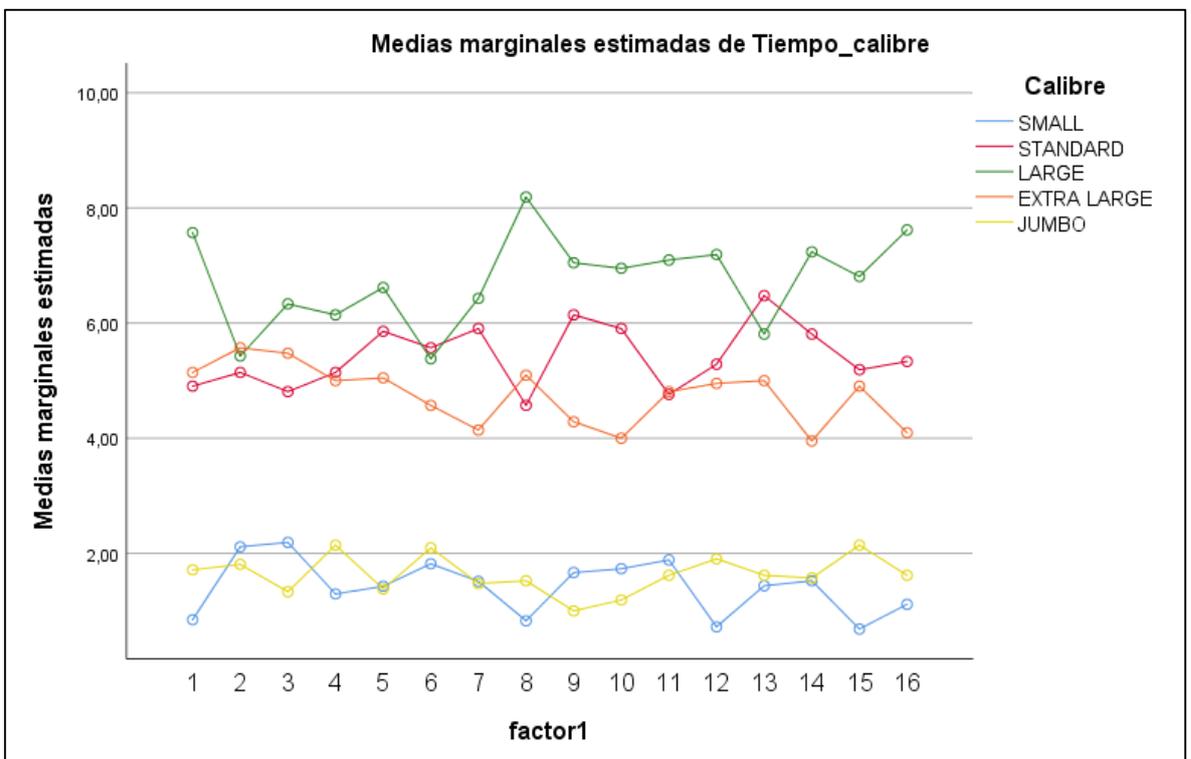
Figura 26: Número de turiones de espárrago por tratamiento en 18 días de cosecha

#### 4.9. DETERMINACIÓN DEL CALIBRE DE TURIONES PARA 18 DÍAS DE COSECHA

Luego de verificar que se cumplieran los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, se realizó el análisis de variancia (ANOVA) con medidas repetidas en donde se puede observar que, a un nivel de significancia de 0.05, a lo largo del tiempo si hay diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), pero a nivel de tratamientos no hay diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) con respecto al calibre de los turiones (ver Anexo 8). En la prueba de Tukey no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. En cuanto a la prueba de Dunnett no se encontraron diferencias significativas de los tratamientos contra el testigo. En la Figura 27 se puede apreciar el calibre de los turiones según los tratamientos aplicados y en la Figura 28 se puede apreciar que, por nivel de producción en el calibre respecto al tiempo, se obtuvo una mayor cantidad de turiones con calibre LARGE, seguido de STANDARD y luego de EXTRA LARGE. Los calibres SMALL Y JUMBO se presentaron en menores cantidades, esto siendo indistinto del tratamiento del que provenían los resultados.



**Figura 27: Calibre de turiones de espárrago por tratamientos para 18 días de cosecha**



**Figura 28: Comparación entre calibres para 18 días de cosecha**

#### 4.10. DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO PARCIAL EN kg/ha DE TURIONES PARA 18 DÍAS DE COSECHA

Luego de verificar que se cumplieran los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, se realizó el análisis de variancia (ANOVA) con medidas repetidas en donde se puede observar que, a un nivel de significancia de 0.05, a lo largo del tiempo si hay diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), pero a nivel de tratamientos no hay diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) con respecto al peso de los turiones (ver Anexo 8). En la prueba de Tukey no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. En cuanto a la prueba de Dunnett no se encontraron diferencias significativas de los tratamientos contra el testigo. En la Figura 29 se puede apreciar una tendencia similar a la ocurrida en el peso.

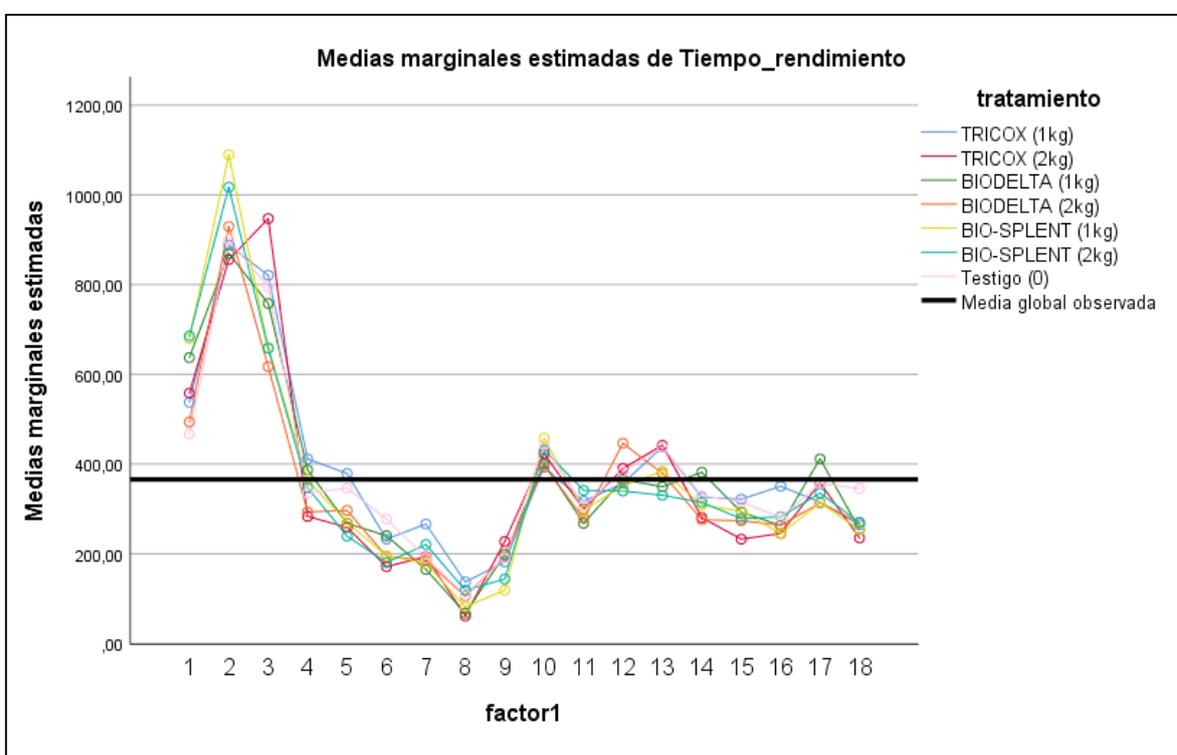


Figura 29: Rendimiento de espárrago por tratamiento para 18 días de cosecha

## V. CONCLUSIONES

- A nivel turiones no hubo influencia de los microorganismos presentes en los tratamientos, contra el testigo.
- A nivel corona, hubo diferencias significativas entre *Pseudomonas fluorescens* contra *Trichoderma* spp. y *Bacillus subtilis* en las concentraciones de Cd. A nivel suelo no hubo diferencias significativas
- Se determinó el peso, calibre, número de turiones y rendimiento parcial de espárrago no hallándose diferencias significativas entre los tratamientos.
- Es posible la influencia de los microorganismos en la reducción de Cd a los largo del tiempo a nivel de coronas y suelo ya que, en los resultados de ambos no hubo reducción de Cd en el testigo y dicha reducción no fue significativa en comparación a los demás tratamientos.
- Se determinó que la planta de espárrago es hiperacumuladora al analizar su Factor de Translocación (TF) y Factor de Bioconcentración (BCF).
- Se determinó que el agua y los fertilizantes utilizados en la campaña son fuentes de Cd, aportando el agua mayor contenido del metal en comparación a los fertilizantes utilizados en dicha campaña.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Al ser este un primer ensayo del uso de bacterias y hongos para la reducción de las concentraciones de Cd en espárrago, es premeditado afirmar si se usó o no la dosis correcta de los productos. Se debe realizar mayor investigación al respecto.
- Realizar investigación con respecto a la característica de hiperacumulación en la planta de espárrago, a fin de conocer mejor su comportamiento en sus diferentes estadios fenológicos, ya que los factores de Transferencia y Bioconcentración no son suficientes para determinar dicha característica.
- Realizar mediciones tanto de la concentración total de Cd como de la concentración biodisponible.
- Realizar investigación en ambientes controlados con respecto a la acumulación de Cd en el espárrago a diferentes concentraciones del metal para determinar los valores a partir de los cuales hay daño en la planta.
- Realizar análisis nutricionales a los turiones de espárrago a fin de conocer la situación de elementos esenciales tales como Ca, Mg, P, K y agua, y si este es causante de desequilibrios nutricionales e hídricos en la planta. Así mismo, realizar análisis a las coronas a fin de comprobar que el ingreso de Cd no interfiera con la absorción y transporte de nitratos.
- Hacer un seguimiento más exhaustivo de la situación de los microorganismos y sus condiciones luego de las aplicaciones.
- Realizar ensayos utilizando microorganismos asociados.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

- Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN). (2020). Cadmio. Recuperado de [https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad\\_alimentaria/ampliacion/cadmio.htm](https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/ampliacion/cadmio.htm)
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2012). *Toxicological Profile For Cadmium*. Recuperado de <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=48&tid=15>
- Agrobanco. (2007). *Cultivo del espárrago*. Perú. Recuperado de [https://www.agrobanco.com.pe/pdfs/publicacionagroinforma/2\\_cultivo\\_del\\_esparrago.pdf](https://www.agrobanco.com.pe/pdfs/publicacionagroinforma/2_cultivo_del_esparrago.pdf)
- AGRORUM. (2020, 27 de abril). *Análisis de Cadmio en Cacao* [Video]. Perú. Recuperado de <https://www.youtube.com/watch?v=QndFEg7KPm4>
- Alcántara, E.; Barra, R.; Benlloch, M.; Ginhas, A.; Jorrín, V.; Lora, A.; ... Romera, J. (2006). Estudios orientados al desarrollo de técnicas de descontaminación metálica mediante fitoextracción inducida y continua de los suelos afectados por el vertido de las minas de Aznal Collar, C. Recuperado de [http://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/consolidado/publicacionesdigitales/90-513\\_CIENCIA\\_Y\\_RESTAURACION\\_DEL\\_RIO\\_GUADIAMAR/90-513/25\\_ESTUDIOS\\_ORIENTADOS\\_AL\\_DESARROLLO\\_DE\\_TECNICAS\\_DE\\_DESCONTAMINACION\\_METALICA.PDF](http://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/consolidado/publicacionesdigitales/90-513_CIENCIA_Y_RESTAURACION_DEL_RIO_GUADIAMAR/90-513/25_ESTUDIOS_ORIENTADOS_AL_DESARROLLO_DE_TECNICAS_DE_DESCONTAMINACION_METALICA.PDF)
- Argumedo, R.; Alarcón, A.; Ferrera, R. & Peña, J. (2009). El género fúngico *Trichoderma* y su relación con contaminantes orgánicos e inorgánicos. *Rev. Int. Contam. Ambient*, 25(4), 257-269. Recuperado de <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v25n4/v25n4a6.pdf>
- Ayubb, N.; Cerra, A.; Chamorro, L. & Pérez, A. (2017). Resistencia a cadmio (Cd) de bacterias endófitas y bacterias rizosféricas aisladas a partir de *Oriza sativa* en Colombia. *Revista Colombiana de Ciencia Animal - RECIA*, 9(2), 281. <https://doi.org/10.24188/recia.v9.n2.2017.610>

- Azabache, A. (2003). *Fertilidad de suelos para una agricultura sostenible*. Perú: Universidad Nacional del Centro.
- Balta, R. (2019). *El carbón activado y el biocarbón en la asimilación del cadmio por el tomate (*Solanum lycopersicum L.*) bajo el invernadero*. (Tesis para optar el título de ingeniero) Universidad Nacional Agraria la Molina, Lima, Perú. Recuperado de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3874/balta-crisologo-rafael-ananias.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Barahona, S. (2009, junio). Espárragos: antioxidantes y antitumorales. *Discovery Salud*. Recuperado de <https://www.dsalud.com/reportaje/esparragos-antioxidantes-y-antitumorales/>
- Barrueta, S. (2013). Guía Metodológica para el muestreo y detección de cadmio en suelos, agua, fertilizantes, almendras de cacao y productos derivados. *Presidencia del Consejo de Ministros – Comisión Nacional para el Desarrollo y Vida Sin Drogas*. Recuperado de <https://www.slideshare.net/RIICCHPeru/gua-metodologica-muestreo-y-deteccion-de-cadmio>
- Bautista, F. (1999, enero). Introducción al estudio de la contaminación del suelo por metales pesados. *ResearchGate*. Recuperado de [https://www.researchgate.net/publication/236954595\\_Introduccion\\_al\\_estudio\\_de\\_la\\_contaminacion\\_del\\_suelo\\_por\\_metales\\_pesados](https://www.researchgate.net/publication/236954595_Introduccion_al_estudio_de_la_contaminacion_del_suelo_por_metales_pesados)
- Begum, A.; Sindhu, K.; Giri, K.; Umera, F.; Gauthami, G.; Kumar, J.V.; ... Dutt, R. (2017). Pharmacognostical and Physio-Chemical Evaluation of Indian Asparagus officinalis Linn Family Lamiaceae. *ResearchGate*, 9(3), 327-336. <https://doi.org/10.25258/phyto.v9i2.808>
- Beltrán, M. & Gómez, A. (2016). Biorremediación de Metales Pesados Cadmio (Cd), Cromo (Cr) y Mercurio (Hg), Mecanismos Bioquímicos e Ingeniería Genética: Una Revisión. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 12(2), 172-197. <https://doi.org/10.18359/RFCB.202>
- Benavides, M.; Gallego, S. & Tomaro, M. (2005). Cadmium toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1), 21-34. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202005000100003>
- Bolan, N.; Kunhikrishnan, A.; Thangarajan, R.; Kumpiene, J.; Park, J.; Makino, T.; ... Scheckel, K. (2014). Remediation of heavy metal(loid)s contaminated soils - To mobilize or to immobilize. *Journal of Hazardous Materials*, 266, 141-166. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.12.018>

- Cabrera, V. (1993). *Análisis de los Factores de Producción en Espárrago en la Pampa de Villacurí (Ica, Perú)*. (Tesis para optar el título de ingeniero) Universidad Nacional Agraria la Molina, Lima, Perú. Recuperado de [https://dairymgt.info/publications/common\\_files/tesisvi.pdf](https://dairymgt.info/publications/common_files/tesisvi.pdf)
- Calvo, P. & Zúñiga, D. (2010). Caracterización fisiológica de cepas de *Bacillus* spp. aisladas de la rizósfera de papa (*Solanum tuberosum*). *Ecología Aplicada*, 9(1-2), 31. <https://doi.org/10.21704/rea.v9i1-2.393>
- Castebianco, J. (2018). Técnicas de Remediación de Metales Pesados con Potencial Aplicación en el Cultivo de Cacao. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*, 27(1), 21-35. <https://doi.org/10.17163/lgr.n27.2018.02>
- Chan, D. & Hale, B. (2004). Differential accumulation of Cd in durum wheat cultivars: Uptake and retranslocation as sources of variation. *Journal of Experimental Botany*, 55(408), 2571-2579. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh255>
- Chen, Z.-S. (2000). Relationship between heavy metal concentrations in soils of Taiwan and uptake by crops. *Agricultural Chemistry*, 1-15. Recuperado de <http://www.fftc.agnet.org/library/tb/149/tb149.pdf>
- Clemens, S.; Palmgren, M. & Krämer, U. (2002). A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Plant Science*, 7, 309-315. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.12.008>
- Corrales, L.; Caycedo, L.; Gómez, M.; Ramos, S. & Rodríguez, J. (2017). *Bacillus* spp: una alternativa para la promoción vegetal por dos caminos enzimáticos. *Nova*, 15(27), 45-65. Recuperado de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1794-24702017000100046](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702017000100046)
- Danielson, R. & Davey, C. (1973). Carbon and nitrogen nutrition of *Trichoderma*. *Soil Biology and Biochemistry*, 5(5), 505-515. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(73\)90040-0](https://doi.org/10.1016/0038-0717(73)90040-0)
- Diario Oficial de la Unión Europea. (2014). Reglamento (UE) No 488/2014 de la comisión de 12 de mayo de 2014 que modifica el Reglamento (CE) no 1881/2006 por lo que respecta al contenido máximo de cadmio en los productos alimenticios, pp. 10-14. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.1975>
- Díaz, J. & Arceo, E. (2018). Daño renal asociado a metales pesados: trabajo de revisión. *Revista Nefrología*, 5(1), 43-53. <https://doi.org/10.22265/acnef.5.2.254>
- El Economista. (2020, marzo). Exportaciones de espárragos aumentaron en 5% el 2019.

*Economía*. Recuperado de <https://www.economistaamerica.pe/economia-eAm-peru/noticias/10404820/03/20/Exportaciones-de-esparragos-aumentaron-en-5-el-2019.html>

El Peruano. (2008). Aprueban los Estándares Nacionales de la Calidad Ambiental del Agua. *Normas Legales*. Perú. Recuperado de [http://www.minam.gob.pe/calidadambiental/wp-content/uploads/sites/22/2013/10/ds\\_002\\_2008\\_eca\\_agua.pdf](http://www.minam.gob.pe/calidadambiental/wp-content/uploads/sites/22/2013/10/ds_002_2008_eca_agua.pdf)

El Peruano. (2011). Aprueban Reglamento de Inocuidad Alimentaria. *Normas Legales*. Recuperado de [https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/jer/SECCION\\_NOR\\_AGROA/DS\\_004\\_2011\\_AG\\_Reglamento\\_de\\_Inocuidad\\_Agroalimentaria.pdf](https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/jer/SECCION_NOR_AGROA/DS_004_2011_AG_Reglamento_de_Inocuidad_Agroalimentaria.pdf)

El Peruano. (2017). Criterios para la Gestión de Sitios Contaminados. Perú. Recuperado de [http://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2017/12/ds\\_012-2017-minam.pdf](http://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2017/12/ds_012-2017-minam.pdf)

Fernandez, D. (2015). *Manejo Agronomico Del Esparrago Verde UC 157-F1 En El Distrito de Jayanca*. (Tesis para optar el título de ingeniero) Universidad Nacional Agraria la Molina, Lima, Perú. Recuperado de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/944/F01-F475-T.pdf?sequence=3&isAllowed=y>

Ferreira, M. (2016). *Estudio de las interacciones entre metales de relevancia ambiental y componentes celulares bacterianos, involucrados en procesos de biotratamiento de aguas residuales*. (Tesis para optar el título de Doctor) Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. Recuperado de [https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis\\_n5979\\_Ferreira.pdf](https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis_n5979_Ferreira.pdf)

Food and Agriculture Organization (FAO). (2018). Cultivos. Recuperado de <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC/visualize>

Food and Agriculture Organization (FAO). (2020). Crops. Recuperado de <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>

FONTAGRO. (2020). *Estrategias de mitigación de Cadmio (Cd): Una mirada crítica desde el proyecto Cacao 2030-2050*. [Video]. Ecuador. Recuperado de <https://www.youtube.com/watch?v=cgleDC2zMfE>

Garbisu, C. & Alkorta, I. (2003). Basic concepts on heavy metal soil bioremediation. *ResearchGate*, 3(1), 58-66. Recuperado de [https://www.researchgate.net/publication/266292146\\_Basic\\_concepts\\_on\\_heavy\\_metal\\_soil\\_bioremediation](https://www.researchgate.net/publication/266292146_Basic_concepts_on_heavy_metal_soil_bioremediation)

- Giraldo, D.; Gutiérrez, S. & Merino, F. (2014). Actividad emulsificante y de remoción de metales pesados del ramnolípido producido por *Pseudomonas aeruginosa* PB 25. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 80(1), 35-44. Recuperado de <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v80n1/a05v80n1.pdf>
- Godt, J.; Scheidig, F.; Grosse-Siestrup, C.; Esche, V.; Brandenburg, P.; Reich, A. & Groneberg, D. (2006). The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 22. Recuperado de <https://occup-med.biomedcentral.com/articles/10.1186/1745-6673-1-22#citeas>
- Guerra, B.; Ximena, A.; Meza, S.; Sebastián, L.; González, M.; Patricia, S. & Rangel, B. (2014). Ensayos Preliminares in Vitro De Preliminary Tests in Vitro of Biosorption Cadmium By Native. *Innovaciencia*, 2(1), 53-58. Recuperado de <http://revistas.udes.edu.co/site/index.php/innovaciencia/article/view/256>
- Guigón, C.; Carvajal, E.; Ponce de León, N.; Vargas, F.; Bravo, L. & Guerrero, V. (2010). Microcalorimetric measurement of *Trichoderma* spp. growth at different temperatures. *Elsevier*, 509(1-2), 40-45. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2010.05.018>
- Gupta, V.; Schmoll, M.; Herrera, A.; Upadhyay, R.; Druzhinina, I. & Tuohy, M. (2014). *Biotechnology and Biology of Trichoderma*. USA. Recuperado de <https://books.google.com.pe/books?id=GbxCAgAAQBAJ&pg=PA7&dq=trichoderma&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjz3v-oHpAhVOC98KHXY7CWoQ6AEIUDAF#v=onepage&q=trichoderma&f=false>
- Harumi, L.; Roterdanny, K.; Alves, S.; Stecca, A.; Barbosa, J.; Marcolino, T.; ... De Castro, R. (2020). *Trichoderma harzianum* transcriptome in response to cadmium exposure. *Fungal Genetics and Biology*, 134. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2019.103281>
- Hédiji, H.; Djebali, W.; Cabasson, C.; Maucourt, M.; Baldet, P.; Bertrand, A.; ... Gallusci, P. (2010). Effects of long-term cadmium exposure on growth and metabolomic profile of tomato plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(8), 1965-1974. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.08.014>
- Hernández, L.; Arias, R.; Rosique, J. & Pacheco, C. (2018). Diversidad del género *Trichoderma* (Hypocreaeae) en un área Natural Protegida en Tabasco, México. *Acta Botanica Mexicana*, 167-182. <https://doi.org/10.21829/abm123.2018.1269>
- Hernández, D.; Ferrera, R. & Alarcón, A. (2019). *Trichoderma*: Importancia agrícola, biotecnológica y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. *Chilean J. Agric. Anim. Sci., ex Agro-Ciencia*, 35(1), 98-112. Recuperado de <https://scielo.conicyt.cl/pdf/chjaasc/v35n1/0719-3890-chjaasc-00205.pdf>

- Howell, C.R. (2007). Mechanisms employed by Trichoderma species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *APS Publications*, 87(1), 4-10. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.1.4>
- Huaraca, J.; Pérez, L.; Bustinza, L. & Pampa, N. (2020). Enmiendas orgánicas en la inmovilización de cadmio en suelos agrícolas contaminados: una revisión. *Información tecnológica*, 31(4), 139-152. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642020000400139>
- Humaira, Y.; Naeem, S.; Bakhtawar, M.; Jabeen, Z.; Nosheen, A.; Naz, R.; ... Hassan, M. (2020). Halotolerant rhizobacteria *Pseudomonas pseudoalcaligenes* and *Bacillus subtilis* mediate systemic tolerance in hydroponically grown soybean (*Glycine max* L.) against salinity stress. *PLoS ONE*, 15(4), 1-26. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231348>
- Infante, D.; Martínez, B.; Gonzáles, N. & Reyes, Y. (2002). Mecanismos de Acción de Trichoderma frente a hongos Fitopatógenos. *Revista de Protección Vegetal*, 24(2), 14-21. Recuperado de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1010-27522009000100002](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000100002)
- Kabata-Pendias, A. & Pendias, H. (2001). *Trace Elements in Soils and Plants* (3th ed.). Poland. <https://doi.org/10.1201/b10158-25>
- Kabata-Pendias, A. (2010). *Trace Elements in Soils and Plants* (4th ed.). Poland. Recuperado de [https://books.google.es/books?id=YQfMBQAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q=cadmium&f=false](https://books.google.es/books?id=YQfMBQAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q=cadmium&f=false)
- Khan, A.; Gupta, A.; Singh, P.; Mishra, A.; Ranjan, R. & Srivastava, A. (2019). Siderophore-assisted cadmium hyperaccumulation in *Bacillus subtilis*. *International Microbiology*, 23(2), 277-286. <https://doi.org/10.1007/s10123-019-00101-4>
- Krall, A.; Xu, S.; Graeber, T.; Braas, D. & Christofk, H. (2016). Asparagine promotes cancer cell proliferation through use as an amino acid exchange factor. *Nature Communications*, 7. <https://doi.org/10.1038/ncomms11457>
- Kurek, E. & Majewska, M. (2004). In vitro remobilization of Cd immobilized by fungal biomass. *Geoderma*, 122(2-4 SPEC. IIS.), 235-246. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.01.010>
- La Universidad del Zulia. (2009). Trichoderma en el Control Biológico de Enfermedades de Plantas. Recuperado de <https://www.oocities.org/ecologialuz/trichoderma4.htm>
- Lea, P.; Sodek, L.; Parry, M.; Shewry, P. & Halford, N. (2007). Asparagine in plants. *Annals*

- of Applied Biology, 150(1), 1-26. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2006.00104.x>
- Leon, V. (2017). *Capacidad fitorremediadora de especies altoandinas para suelos contaminados por metales pesados procedentes de la compañía minera Lincuna SAC, en condiciones de Invernadero, 2015-2016*. (Tesis para optar el título de ingeniero) Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo, Ancash, Perú. Recuperado de <http://repositorio.unasam.edu.pe/handle/UNASAM/1900>
- Lightbourn, L.; Amarillas, L. & León, R. (2018). Los Tres Ejes Fundamentales de la Verdadera Sustentabilidad e Inocuidad Alimentaria. México: Instituto De Investigación Lightbourn. Recuperado de [https://www.unifrut.com.mx/symposiums/2018/\(P. S. 2018\) Los Tres Ejes Fundamentales de la Verdadera Sustentabilidad e Inocuidad Alimentaria.pdf](https://www.unifrut.com.mx/symposiums/2018/(P. S. 2018) Los Tres Ejes Fundamentales de la Verdadera Sustentabilidad e Inocuidad Alimentaria.pdf)
- Lightbourn, L. (2017). *Metales pesados y sus efectos fitotóxicos* [Video]. Perú. Recuperado de <https://www.intagri.com/memorias/nutricion-vegetal/metales-pesados-y-sus-efectos-fitotoxicos>
- Loayza, V. (2006). *Espárragos*. (RIPALME, Ed.) (1era ed.). Perú.
- Loli, O. (2020). *Cadmio en el suelo y plantas* [Video]. Facebook Live. Recuperado de <https://www.facebook.com/GICSPERU/videos/347038069747965>
- López, B. (2015). Bacillus subtilis: características, morfología, enfermedades. Recuperado 22 de junio de 2020, de <https://www.lifeder.com/bacillus-subtilis/>
- Marrero, J.; Díaz, A. & Coto, O. (2009). Mecanismos moleculares de resistencia a metales pesados en las bacterias y sus aplicaciones en la biorremediación. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 40(1). Recuperado de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181221644010>
- Martínez, B.; Infante, D. & Peteira, B. (2015). Taxonomía polifásica y variabilidad en el género Trichoderma. *MRevista de Protección Vegetal*, 30(5), 11-22. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v30s1/rpv004s15.pdf>
- Medina, K. & Montano, Y. (2013). *Determinación del factor de bioconcentración y traslocación de metales pesados en el juncus arcticus contaminadas con el pasivo ambiental*. (Tesis para optar el título de ingenieros) Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo, Ancash, Perú. Recuperado de [https://biorem.univie.ac.at/fileadmin/user\\_upload/p\\_biorem/education/research/publications/Theses/Tesis\\_Medina\\_y\\_Montano\\_2014.pdf](https://biorem.univie.ac.at/fileadmin/user_upload/p_biorem/education/research/publications/Theses/Tesis_Medina_y_Montano_2014.pdf)
- Ministerio del Ambiente (MINAM). (2017). Aprueban Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Agua y establecen Disposiciones Complementarias. Recuperado de

- <http://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2017/06/DS-004-2017-MINAM.pdf>
- Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego (MIDAGRI). (s. f.). Información nutricional. Recuperado de <https://www.minagri.gob.pe/portal/23-sector-agrario/cultivos-de-importancia-nacional/186-esparragos?start=2>
- Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego (MIDAGRI). (2017). Protocolo de muestreo de suelos con cadmio de zonas cacaoteras. Recuperado de <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/per186937anx.pdf>
- Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego (MIDAGRI) y Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología (SENAMHI). (s. f.). Requerimientos agroclimáticos del cultivo de espárrago. Perú. Recuperado de <http://minagri.gob.pe/portal/download/pdf/ais-2015/ficha18-esparrago.pdf>
- Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego (MIDAGRI) y Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología (SENAMHI). (2011). Manual de Observaciones Fenológicas. Perú. Recuperado de <https://www.slideshare.net/haydeemelo/manual-fenologico-senamhi-manual-de-observaciones-fenologicas>
- Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico (MITECO). (s. f.). Metales pesados. Recuperado de [https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/atmosfera-y-calidad-del-aire/emisiones/prob-amb/metales\\_pesados.aspx#:~:text=Existen varias maneras de definir,hay otra clasificación referida al](https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/atmosfera-y-calidad-del-aire/emisiones/prob-amb/metales_pesados.aspx#:~:text=Existen varias maneras de definir,hay otra clasificación referida al)
- Moreno, T. (2017). *Aplicación de Citrato de Calcio y Sulfato de Calcio en el Rendimiento y Calidad del Espárrago (Asparagus officinalis L.* (Tesis para optar el título de ingeniero) Universidad Nacional Agraria la Molina, Lima, Perú. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14011>
- Nagua, E. (2016). *Uso de la bacteria Bacillus Subtilis como agente de control Biológico De Hongos Fitopatógenos En Cultivos Tropicales.* (Tesis para optar el título de ingeniero) Universidad Técnica de Machala, Machala, Ecuador. Recuperado de <http://doi.org/10.1016/j.jtusci.2014.04.010>
- Olivares et al. (2013). Niveles de cadmio, plomo, cobre y zinc en hortalizas cultivadas en una zona altamente urbanizada de la ciudad de la Habana, Cuba, 29(4), 285-294. Recuperado de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0188-49992013000400006](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992013000400006)
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y Organización Mundial de la Salud (WHO). Codex Alimentarius, Codex Alimentarius

- Normas Internacionales de los Alimentos. (2015). Recuperado de [http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCODEX%2B2B2B193-1995%252FCXS\\_193s.pdf](http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCODEX%2B2B2B193-1995%252FCXS_193s.pdf)

Organización Mundial de la Salud (OMS). (s. f.-a). Diez sustancias químicas que constituyen una preocupación para la salud pública. Recuperado de [https://www.who.int/ipcs/assessment/public\\_health/chemicals\\_phc/es/](https://www.who.int/ipcs/assessment/public_health/chemicals_phc/es/)

Organización Mundial de la Salud (OMS). (s. f.-b). Programa Internacional de Seguridad de las Sustancias Químicas. Recuperado de [https://www.who.int/ipcs/assessment/public\\_health/cadmium/es/](https://www.who.int/ipcs/assessment/public_health/cadmium/es/)

Ortiz, M. (2018, julio). A la búsqueda del origen del cadmio en el cacao. *Red Agrícola*. Recuperado de <http://www.redagricola.com/pe/a-la-busqueda-del-origen-del-cadmio-en-el-cacao/>

Ottos, E. (2018). *Fraccionamiento densimétrico y químico de la materia orgánica asociado al cadmio en suelo aluvial y residual cacaotero*. (Tesis para optar el título de magister) Universidad Nacional Agraria de la Selva, Huánuco, Perú. Recuperado de [http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/1340/EOD\\_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/1340/EOD_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Pegiou, E.; Mumm, R.; Acharya, P.; de Vos, R. & Hall, R. (2020). Green and white asparagus (*Asparagus officinalis*): A source of developmental, chemical and urinary intrigue. *Metabolites*, 10(1). <https://doi.org/10.3390/metabo10010017>

Peña, J. (2017). *Caracterización de 21 híbridos super machos de espárrago (Asparagus officinalis) para producción en verde bajo las condiciones de Huarney*. (Tesis para optar el grado de ingeniero) Universidad Nacional Agraria la Molina, Lima, Perú. Recuperado de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/3060>

Pérez, L.; Martínez, A.; Salgado, I.; Valdés, L.; Cruz, M.; Allende, S.; ... Carballo, M. (2020). Zinc and cadmium removal by bacteria: Study of factors associated to the process. *Tecnología y Ciencias del Agua*, 11(3), 309-341. <https://doi.org/10.24850/j-tyca-2020-03-09>

Pérez, S.; Coto, O.; Echemendía, M. & Ávila, G. (2015). *Pseudomonas fluorescens* Migula, ¿control biológico o patógeno?: *Pseudomonas fluorescens*, biological control or pathogen? *Revista de Protección Vegetal*, 30(3), 225-234. Recuperado de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1010-27522015000300008](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522015000300008)

- Public Health England. (2018). Identification of *Bacillus* species. *Bacteriology - Identification*, 9(3), 9. <https://doi.org/ID 7>
- Rajendran, P.; Muthukrishnan, J. & Gunasekaran, P. (2003). Microbes in heavy metal remediation. *Indian Journal of Experimental Biology*, 41(9), 935-944. Recuperado de <https://cutt.ly/7k9OJES>
- Ramírez, F. (2020). Curso virtual: Manejo y Nutrición del Espárrago. Recuperado de <https://www.intagri.com/memorias/hortalizas/manejo-nutricion-esparrago>
- Rascio, N. & Navari, F. (2011). Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science*, 180(2), 169-181. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.08.016>
- Redagráfcola. (2018). A la búsqueda del origen del cadmio en el cacao. Recuperado de <http://www.redagricola.com/pe/a-la-busqueda-del-origen-del-cadmio-en-el-cacao/>
- Redagráfcola. (2019). Actores emergentes en el mercado global del espárrago. Recuperado de <https://www.redagricola.com/pe/actores-emergentes-en-el-mercado-global-del-esparrago/>
- Rejith, S. & Hatha, M. (2017, agosto). Cadmium and Lead Tolerance Mechanisms in Bacteria and the Role of Halotolerant and Moderately Halophilic Bacteria in Their Remediation. *Handbook of Metal-Microbe Interactions and Bioremediation*, 575-584. <https://doi.org/10.1201/9781315153353-40>
- Rodríguez, M.; Martínez, N.; Romero, M.; Del Río, L. & Sandalio, L. (2008). Toxicidad del Cadmio en Plantas. *Ecosistemas*, 17(3), 139-146. <https://doi.org/10.7818/re.2014.17-3.00>
- Romero, O.; Huerta, M.; Damián, M.; Dominínguez, F. & Arellano, D. (2009). Características de *Trichoderma harzianum* , como agente limitante en el cultivo de hongos comestibles The characteristics of *Trichoderma harzianum* as a limiting agent in edible mushrooms. *Revista colombiana de biotecnología*, 11(2), 143-151. Recuperado de <https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/11759>
- Roongsawang, N.; Thaniyavarn, J.; Thaniyavarn, S.; Kameyama, T.; Haruki, M.; Imanaka, T.; ... Kanaya, S. (2002). Isolation and characterization of a halotolerant *Bacillus subtilis* BBK-1 which produces three kinds of lipopeptides: Bacillomycin L, plipastatin, and surfactin. *Extremophiles*, 6(6), 499-506. <https://doi.org/10.1007/s00792-002-0287-2>
- Rosales, A. (2017). *Manejo Del Cultivo Del Espárrago En La Region Ica*. (Tesis para optar

- el grado de ingeniero) Universidad Nacional Agraria la Molina, Lima, Perú. Recuperado de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/2994/F01-R683-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Sánchez, G. (2016). *Ecotoxicología del cadmio*. (Tesis para optar el título de farmacéutico) Universidad Complutense, Madrid, España. Recuperado de <https://eprints.ucm.es/id/eprint/49137/>
- Sanchez, J. (2006). *Fertirrigación en el cultivo de Espárrago en Peru* (1era ed). Perú.
- Sánchez, J. (2015). *Fertirrigación del cultivo de espárrago: La experiencia peruana*. Perú.
- Sandalio, L.; Dalurzol, H.; Gómez, M.; Romero, M. & Del Río, L. (2001, enero). Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. *Journal of Experimental Botany*, 43. Recuperado de <https://academic.oup.com/jxb/article/52/364/2115/423999>
- Sanita di Toppi, L. & Gabrielli, R. (1999). Response to cadmium in higher plants. *Environmental and Experimental Botany*, 41, 105-130. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(02\)00681-0](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(02)00681-0)
- Sankarammal, M.; Thatheyus, A. & Ramya, D. (2014). Bioremoval Of Cadmium Using *Pseudomonas fluorescens*. *Open Journal of Water Pollution and Treatment*, 2014(2), 92-100. <https://doi.org/10.15764/wpt.2014.02010>
- Sharma, S.S. & Dietz, K.J. (2006). The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *Journal of Experimental Botany*, 57(4), 711-726. <https://doi.org/10.1093/jxb/erj07>
- Slabbinck, B. & De Baets, B. (2010). Análisis de *Pseudomonas* fitopatógenas usando métodos inteligentes de aprendizaje : Un enfoque general sobre taxonomía y análisis de ácidos grasos dentro del género *Pseudomonas*, 1-16. Recuperado de <https://biblio.ugent.be/publication/1008724>
- Slamet, I.; Johnson, S.; Impa, S. & Tsakirpaloglou, N. (2015). Enriching rice with Zn and Fe while minimizing Cd risk. *Frontiers in Plant Science*, 6(MAR), 1-10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00121>
- Smolders, E. (2001). Cadmium uptake by plants. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 14(2), 177-183. Recuperado de [https://www.researchgate.net/publication/11799510\\_Cadmium\\_uptake\\_by\\_plants](https://www.researchgate.net/publication/11799510_Cadmium_uptake_by_plants)
- Solis, E.C. (2019). Trazabilidad en las Mediciones de Cadmio en Cacao. Perú. Recuperado de <https://www.inacal.gob.pe/repositorioaps/data/1/1/5/jer/eventos/files/14.->

[Trazabilidad en las mediciones de Cd en cacao\\_Elmer Carrasco.pdf](#)

- Song, Y.; Jin, L. & Wang, X. (2017). Cadmium absorption and transportation pathways in plants. *International Journal of Phytoremediation*, 19(2), 133-141. <https://doi.org/10.1080/15226514.2016.1207598>
- Sunci3n, A. (2017). *Actividad catal3tica de la fitoquelatina sintasa en ra3ces y hojas de pl3ntulas de Myrciaria dubia "camu camu" expuestos a metales pesados*. (Tesis para optar el grado de licenciado) Universidad Cient3fica del Per3, Loreto, Per3. Recuperado de <http://repositorio.ucp.edu.pe/bitstream/handle/UCP/191/SUNCI3N-1-Trabajo-Actividad.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Tantalean, E. & Huauya, M. (2017). Distribuci3n del contenido de cadmio en los diferentes 3rganos del cacao CCN-51 en suelo aluvial y residual en las localidades de Jacintillo y Ramal de Aspuzana. *Revista de Investigaci3n en Agroproducci3n Sustentable*, 1(2), 69-78. <https://doi.org/10.25127/aps.20172.365>
- Taylor, M. & Percival, H. (2001). Cadmium in soil solutions from a transect of soils away from a fertiliser bin. *Environmental Pollution*, 113(1), 35-40. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(00\)00170-6](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(00)00170-6)
- Tiwari, M.; Sharma, D.; Dwivedi, S.; Singh, M.; Tripathi, R. & Trivedi, P. (2014). Expression in Arabidopsis and cellular localization reveal involvement of rice NRAMP, OsNRAMP1, in arsenic transport and tolerance. *Plant, Cell and Environment*, 37(1), 140-152. <https://doi.org/10.1111/pce.12138>
- Tovar, J. (2008). *Evaluaci3n de la capacidad antagonista "in vivo" de aislamientos de Trichoderma spp. frente al hongo fitopat3geno Rhizoctonia solani*. (Tesis para optar el t3tulo de microbi3logo agr3cola y veterinario) Pontificia Universidad Javeriana, Bogot3, Colombia. Recuperado de <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8951/tesis98.pdf?sequence=1>
- United States Department of Agriculture (USDA). (s. f.). Natural Resources Conservation Service. Recuperado de <https://plants.sc.egov.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=ASOF>
- United States Department of Agriculture (USDA) y Natural Resources Conservation Service (NRCS). (2014). Claves para la Taxonom3a de Suelos. *Mdp.Edu.Ar*, 339. Recuperado de [https://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE\\_DOCUMENTS/nrcs142p2\\_051546.pdf%0](https://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_DOCUMENTS/nrcs142p2_051546.pdf%0)

[Ahttp://www.mdp.edu.ar/agrarias/grado/723\\_Genesis/archivos/Taxonomia\\_Suelos\\_2010.pdf](http://www.mdp.edu.ar/agrarias/grado/723_Genesis/archivos/Taxonomia_Suelos_2010.pdf)

- United States Environmental Protection Agency (EPA) (2015). Method 3050B. Acid Digestion of Sediments, Sludges and Soils. Recuperado de <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-06/documents/epa-3050b.pdf>
- Universidad de Concepción (UDEC). (2017). *Importancia de Hongos y Bacterias rizosféricas como agentes de tolerancia a metales pesados y promotores del crecimiento vegetal*. [Video]. Chile. Recuperado de [https://www.youtube.com/watch?v=6Zv\\_HK4TMzs](https://www.youtube.com/watch?v=6Zv_HK4TMzs)
- Villarreal, M.; Villa, E.; Cira, L.; Estrada, M.; Parra, F. & De los Santos, S. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 36(1), 95-130. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-5>
- Wahla, I. & Kirkham, M. (2008). Heavy metal displacement in salt-water-irrigated soil during phytoremediation. *Environmental Pollution*, 155(2), 271-283. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.11.020>
- Wu, G.; Kang, H.; Zhang, X.; Shao, H.; Chu, L. & Ruan, C. (2010). A critical review on the bio-removal of hazardous heavy metals from contaminated soils: Issues, progress, eco-environmental concerns and opportunities. *Journal of Hazardous Materials*, 174(1-3), 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.09.113>

## VIII. ANEXOS

**Anexo 1: Cronograma de actividades durante el ensayo**

Actividad	Abril				Mayo				Junio				Julio				Agosto				Septiembre				Octubre			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Soltado de campo				■																								
Control sanitario				■	■	■	■	■	■				■								■							
Deshierbo del campo				■				■				■				■				■				■				
Fertilización				■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■											
Instalación del proyecto					■																							
Muestreo de suelo 1					■																							
Muestreo de follaje					■																							
Aplicación de microorganismos 2								■																				
Muestreo de fertilizantes								■																				
Muestreo de suelo 2								■																				
Aplicación de microorganismos 2											■																	
Aplicación de microorganismos 3															■													
Aplicación de microorganismos 4																			■									
Medición de Grados Brix																			■									
Chapodo																			■									
Aplicación de microorganismos 5																				■								
Cosecha																					■	■	■	■	■	■	■	■

**Anexo 2: Pruebas de normalidad para la concentración de Cd en turiones de espárrago, coronas de espárrago y suelo**

	<b>Tratamiento</b>	<b>Estadístico</b>	<b>gl</b>	<b>Sig.</b>
<b>Concentración de Cd en turiones 138 DDS</b>	T1: TRICOX (1 kg)	0.854	3	0.251
	T2: TRICOX (2 kg)	0.849	3	0.237
	T3: BIODELTA (1 kg)	0.957	3	0.603
	T4: BIODELTA (2 kg)	0.963	3	0.630
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	0.797	3	0.107
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	0.936	3	0.511
	T0: Testigo (0)	1.000	3	0.987
<b>Concentración de Cd en turiones 160 DDS</b>	T1: TRICOX (1 kg)	0.841	3	0.217
	T2: TRICOX (2 kg)	0.999	3	0.938
	T3: BIODELTA (1 kg)	0.956	3	0.597
	T4: BIODELTA (2 kg)	0.791	3	0.093
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	0.750	3	0.000
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	0.948	3	0.560
	T0: Testigo (0)	0.907	3	0.407

DDS: Días después de soltado el campo.

	<b>Tratamiento</b>	<b>Estadístico</b>	<b>gl</b>	<b>Sig.</b>
<b>Concentración de Cd en corona 138 DDS</b>	T1: TRICOX (1 kg)	0.908	3	0.411
	T2: TRICOX (2 kg)	0.937	3	0.515
	T3: BIODELTA (1 kg)	0.821	3	0.165
	T4: BIODELTA (2 kg)	0.981	3	0.734
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	0.925	3	0.471
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	0.922	3	0.461
	T0: Testigo (0)	0.862	3	0.273
<b>Concentración de Cd en corona 160 DDS</b>	T1: TRICOX (1 kg)	0.939	3	0.524
	T2: TRICOX (2 kg)	0.909	3	0.416
	T3: BIODELTA (1 kg)	0.964	3	0.637
	T4: BIODELTA (2 kg)	0.952	3	0.578
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	0.913	3	0.427
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	0.966	3	0.644
	T0: Testigo (0)	0.955	3	0.593

DDS: Días después de soltado el campo.

	<b>Tratamiento</b>	<b>Estadístico</b>	<b>gl</b>	<b>Sig.</b>
<b>Concentración de Cd en suelo 89 DDS</b>	TRICOX (1 kg)	0.765	3	0.034
	TRICOX (2 kg)	0.987	3	0.780
	BIODELTA (1 kg)	0.939	3	0.523
	BIODELTA (2 kg)	0.998	3	0.921
	BIO-SPLENT (1 kg)	0.855	3	0.253
	BIO-SPLENT (2 kg)	0.913	3	0.430
	Testigo (0)	0.862	3	0.274
<b>Concentración de Cd en suelo 138 DDS</b>	TRICOX (1 kg)	0.969	3	0.664
	TRICOX (2 kg)	0.964	3	0.637
	BIODELTA (1 kg)	0.957	3	0.600
	BIODELTA (2 kg)	0.917	3	0.440
	BIO-SPLENT (1 kg)	0.890	3	0.355
	BIO-SPLENT (2 kg)	1.000	3	1.000
	Testigo (0)	0.987	3	0.780
<b>Concentración de Cd en suelo 160 DDS</b>	TRICOX (1 kg)	0.779	3	0.065
	TRICOX (2 kg)	0.832	3	0.194
	BIODELTA (1 kg)	1.000	3	0.959
	BIODELTA (2 kg)	0.750	3	0.000
	BIO-SPLENT (1 kg)	0.770	3	0.045
	BIO-SPLENT (2 kg)	0.904	3	0.398
	Testigo (0)	0.888	3	0.348

DDS: Días después de soltado el campo.

**Anexo 3: Pruebas de homogeneidad de variancia para las concentraciones de Cd en turiones de espárrago, coronas de espárrago y suelo**

		<b>Estadístico de Levene</b>	<b>gl1</b>	<b>gl2</b>	<b>Sig.</b>
<b>Concentración de Cd en turiones 138 DDS</b>	Se basa en la media	2.003	6	14	0.133
	Se basa en la mediana	0.594	6	14	0.730
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	0.594	6	8.405	0.729
	Se basa en la media recortada	1.861	6	14	0.159
<b>Concentración de Cd en turiones 160 DDS</b>	Se basa en la media	1.386	6	14	0.287
	Se basa en la mediana	0.194	6	14	0.973
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	0.194	6	9.338	0.971
	Se basa en la media recortada	1.218	6	14	0.354

Prueba la hipótesis nula de que la varianza de error de la variable dependiente es igual entre grupos.

DDS: Días después de soltado el campo.

		<b>Estadístico de Levene</b>	<b>gl1</b>	<b>gl2</b>	<b>Sig.</b>
<b>Concentración de Cd en corona 138 DDS</b>	Se basa en la media	1.824	6	14	0.166
	Se basa en la mediana	0.665	6	14	0.679
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	0.665	6	8.721	0.681
	Se basa en la media recortada	1.718	6	14	0.189
<b>Concentración de Cd en corona 160 DDS</b>	Se basa en la media	3.256	6	14	0.032
	Se basa en la mediana	1.087	6	14	0.416
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	1.087	6	6.177	0.459
	Se basa en la media recortada	3.052	6	14	0.040

Prueba la hipótesis nula de que la varianza de error de la variable dependiente es igual entre grupos.

DDS: Días después de soltado el campo.

		<b>Estadístico de Levene</b>	<b>gl1</b>	<b>gl2</b>	<b>Sig.</b>
<b>Concentración de Cd en suelo 89 DDS</b>	Se basa en la media	2.931	6	14	0.046
	Se basa en la mediana	0.393	6	14	0.871
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	0.393	6	5.710	0.859
	Se basa en la media recortada	2.566	6	14	0.069
<b>Concentración de Cd en suelo 138 DDS</b>	Se basa en la media	4.903	6	14	0.007
	Se basa en la mediana	1.005	6	14	0.460
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	1.005	6	4.092	0.521
	Se basa en la media recortada	4.435	6	14	0.010
<b>Concentración de Cd en suelo 160 DDS</b>	Se basa en la media	0.759	6	14	0.614
	Se basa en la mediana	0.063	6	14	0.999
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	0.063	6	9.487	0.998
	Se basa en la media recortada	0.640	6	14	0.698

Prueba la hipótesis nula de que la varianza de error de la variable dependiente es igual entre grupos.

DDS: Días después de soltado el campo.

#### Anexo 4: Prueba de Tukey para las concentraciones de Cd en turiones de espárrago

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias	Desv. Error	Sig. <sup>a</sup>
T1: TRICOX (1 kg)	T2: TRICOX (2 kg)	-0.190	0.462	0.687
	T3: BIODELTA (1 kg)	0.042	0.462	0.929
	T4: BIODELTA (2 kg)	-0.282	0.462	0.552
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	-0.033	0.462	0.943
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	0.098	0.462	0.834
	T0: Testigo (0)	0.182	0.462	0.700
T2: TRICOX (2 kg)	T1: TRICOX (1 kg)	0.190	0.462	0.687
	T3: BIODELTA (1 kg)	0.232	0.462	0.624
	T4: BIODELTA (2 kg)	-0.092	0.462	0.845
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	0.157	0.462	0.739
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	0.288	0.462	0.542
	T0: Testigo (0)	0.372	0.462	0.434
T3: BIODELTA (1 kg)	T1: TRICOX (1 kg)	-0.042	0.462	0.929
	T2: TRICOX (2 kg)	-0.232	0.462	0.624
	T4: BIODELTA (2 kg)	-0.323	0.462	0.495
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	-0.075	0.462	0.873
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	0.057	0.462	0.904
	T0: Testigo (0)	0.140	0.462	0.766
T4: BIODELTA (2 kg)	T1: TRICOX (1 kg)	0.282	0.462	0.552
	T2: TRICOX (2 kg)	0.092	0.462	0.845
	T3: BIODELTA (1 kg)	0.323	0.462	0.495
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	0.248	0.462	0.599
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	0.380	0.462	0.424
	T0: Testigo (0)	0.463	0.462	0.333
T5: BIO-SPLENT (1 kg)	T1: TRICOX (1 kg)	0.033	0.462	0.943
	T2: TRICOX (2kg)	-0.157	0.462	0.739
	T3: BIODELTA (1 kg)	0.075	0.462	0.873
	T4: BIODELTA (2 kg)	-0.248	0.462	0.599
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	0.132	0.462	0.780
	T0: Testigo (0)	0.215	0.462	0.649
T6: BIO-SPLENT (2 kg)	T1: TRICOX (1 kg)	-0.098	0.462	0.834
	T2: TRICOX (2 kg)	-0.288	0.462	0.542
	T3: BIODELTA (1 kg)	-0.057	0.462	0.904
	T4: BIODELTA (2 kg)	-0.380	0.462	0.424
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	-0.132	0.462	0.780
	T0: Testigo (0)	0.083	0.462	0.859
T0: Testigo (0)	T1: TRICOX (1 kg)	-0.182	0.462	0.700
	T2: TRICOX (2 kg)	-0.372	0.462	0.434
	T3: BIODELTA (1 kg)	-0.140	0.462	0.766
	T4: BIODELTA (2 kg)	-0.463	0.462	0.333
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	-0.215	0.462	0.649
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	-0.083	0.462	0.859

Se basa en medias marginales estimadas

a. Ajuste para varias comparaciones: menor diferencia significativa (equivalente a sin ajustes).

## Anexo 5: Prueba de Tukey para las concentraciones de Cd en coronas de espárrago

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias	Desv. Error	Sig. <sup>b</sup>
T1: TRICOX (1 kg)	T2: TRICOX (2 kg)	-0.325	0.704	0.652
	T3: BIODELTA (1 kg)	-1,742*	0.704	0.027
	T4: BIODELTA (2 kg)	-2,260*	0.704	0.006
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	-0.595	0.704	0.412
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	-0.607	0.704	0.404
	T0: Testigo (0)	-1.047	0.704	0.159
T2: TRICOX (2 kg)	T1: TRICOX (1 kg)	0.325	0.704	0.652
	T3: BIODELTA (1 kg)	-1.417	0.704	0.064
	T4: BIODELTA (2 kg)	-1,935*	0.704	0.016
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	-0.270	0.704	0.707
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	-0.282	0.704	0.695
	T0: Testigo (0)	-0.722	0.704	0.323
T3: BIODELTA (1 kg)	T1: TRICOX (1 kg)	1,742*	0.704	0.027
	T2: TRICOX (2 kg)	1.417	0.704	0.064
	T4: BIODELTA (2 kg)	-0.518	0.704	0.474
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	1.147	0.704	0.126
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	1.135	0.704	0.129
	T0: Testigo (0)	0.695	0.704	0.341
T4: BIODELTA (2 kg)	T1: TRICOX (1 kg)	2,260*	0.704	0.006
	T2: TRICOX (2kg)	1,935*	0.704	0.016
	T3: BIODELTA (1 kg)	0.518	0.704	0.474
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	1,665*	0.704	0.033
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	1,653*	0.704	0.034
	T0: Testigo (0)	1.213	0.704	0.107
T5: BIO-SPLENT (1 kg)	T1: TRICOX (1 kg)	0.595	0.704	0.412
	T2: TRICOX (2kg)	0.270	0.704	0.707
	T3: BIODELTA (1 kg)	-1.147	0.704	0.126
	T4: BIODELTA (2 kg)	-1,665*	0.704	0.033
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	-0.012	0.704	0.987
	T0: Testigo (0)	-0.452	0.704	0.532
T6: BIO-SPLENT (2 kg)	T1: TRICOX (1 kg)	0.607	0.704	0.404
	T2: TRICOX (2kg)	0.282	0.704	0.695
	T3: BIODELTA (1 kg)	-1.135	0.704	0.129
	T4: BIODELTA (2 kg)	-1,653*	0.704	0.034
	T5: BIO-SPLENT (1kg)	0.012	0.704	0.987
	T0: Testigo (0)	-0.440	0.704	0.542
T0: Testigo (0)	T1: TRICOX (1 kg)	1.047	0.704	0.159
	T2: TRICOX (2 kg)	0.722	0.704	0.323
	T3: BIODELTA (1 kg)	-0.695	0.704	0.341
	T4: BIODELTA (2 kg)	-1.213	0.704	0.107
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	0.452	0.704	0.532
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	0.440	0.704	0.542

Se basa en medias marginales estimadas

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.

b. Ajuste para varias comparaciones: menor diferencia significativa (equivalente a sin ajustes).

## Anexo 6: Prueba de Tukey para las concentraciones de Cd en el suelo

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias	Desv. Error	Sig. <sup>a</sup>
T1: TRICOX (1 kg)	T2: TRICOX (2 kg)	0.004	0.109	0.968
	T3: BIODELTA (1 kg)	-0.070	0.109	0.532
	T4: BIODELTA (2 kg)	-0.087	0.109	0.441
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	-0.060	0.109	0.591
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	0.012	0.109	0.912
	T0: Testigo (0)	-0.077	0.109	0.494
T2: TRICOX (2 kg)	T1: TRICOX (1 kg)	-0.004	0.109	0.968
	T3: BIODELTA (1 kg)	-0.074	0.109	0.507
	T4: BIODELTA (2 kg)	-0.091	0.109	0.418
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	-0.064	0.109	0.565
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	0.008	0.109	0.944
	T0: Testigo (0)	-0.081	0.109	0.470
T3: BIODELTA (1 kg)	T1: TRICOX (1 kg)	0.070	0.109	0.532
	T2: TRICOX (2 kg)	0.074	0.109	0.507
	T4: BIODELTA (2 kg)	-0.017	0.109	0.881
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	0.010	0.109	0.928
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	0.082	0.109	0.464
	T0: Testigo (0)	-0.007	0.109	0.952
T4: BIODELTA (2 kg)	T1: TRICOX (1 kg)	0.087	0.109	0.441
	T2: TRICOX (2 kg)	0.091	0.109	0.418
	T3: BIODELTA (1 kg)	0.017	0.109	0.881
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	0.027	0.109	0.811
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	0.099	0.109	0.381
	T0: Testigo (0)	0.010	0.109	0.928
T5: BIO-SPLENT (1 kg)	T1: TRICOX (1 kg)	0.060	0.109	0.591
	T2: TRICOX (2 kg)	0.064	0.109	0.565
	T3: BIODELTA (1 kg)	-0.010	0.109	0.928
	T4: BIODELTA (2 kg)	-0.027	0.109	0.811
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	0.072	0.109	0.519
	T0: Testigo (0)	-0.017	0.109	0.881
T6: BIO-SPLENT (2 kg)	T1: TRICOX (1 kg)	-0.012	0.109	0.912
	T2: TRICOX (2 kg)	-0.008	0.109	0.944
	T3: BIODELTA (1 kg)	-0.082	0.109	0.464
	T4: BIODELTA (2 kg)	-0.099	0.109	0.381
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	-0.072	0.109	0.519
	T0: Testigo (0)	-0.089	0.109	0.429
T0: Testigo (0)	T1: TRICOX (1 kg)	0.077	0.109	0.494
	T2: TRICOX (2 kg)	0.081	0.109	0.470
	T3: BIODELTA (1 kg)	0.007	0.109	0.952
	T4: BIODELTA (2 kg)	-0.010	0.109	0.928
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	0.017	0.109	0.881
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	0.089	0.109	0.429

Se basa en medias marginales estimadas

a. Ajuste para varias comparaciones: menor diferencia significativa (equivalente a sin ajustes).

**Anexo 7: Pruebas de Tukey y Duncan para las concentraciones de Cd en turiones de espárrago, coronas de espárrago y suelo**

	Tratamiento	N	Subconjunto	
			1	
HSD Tukey <sup>a,b</sup>	T0: Testigo (0)	3	2.910	
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	3	2.993	
	T3: BIODELTA (1 kg)	3	3.050	
	T1: TRICOX (1 kg)	3	3.092	
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	3	3.125	
	T2: TRICOX (2kg)	3	3.282	
	T4: BIODELTA (2 kg)	3	3.373	
	Sig.		0.945	
Duncan <sup>a,b</sup>	T0: Testigo (0)	3	2.910	
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	3	2.993	
	T3: BIODELTA (1 kg)	3	3.050	
	T1: TRICOX (1 kg)	3	3.092	
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	3	3.125	
	T2: TRICOX (2kg)	3	3.282	
	T4: BIODELTA (2 kg)	3	3.373	
	Sig.		0.383	

Se visualizan las medias de las concentraciones de Cd en turiones de espárrago para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .320.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.

b. Alfa = .05.

	Tratamiento	N	Subconjunto		
			1	2	3
HSD Tukey <sup>a,b</sup>	T0: Testigo (0)	3	2.5317		
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	3	2.8567		
	T3: BIODELTA (1 kg)	3	3.1267		
	T1: TRICOX (1 kg)	3	3.1383		
	T5: BIO-SPLENT (1kg)	3	3.5783		
	T2: TRICOX (2kg)	3	4.2733		
	T4: BIODELTA (2 kg)	3	4.7917		
	Sig.		0.072		
Duncan <sup>a,b</sup>	T0: Testigo (0)	3	2.5317		
	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	3	2.8567	2.8567	
	T3: BIODELTA (1 kg)	3	3.1267	3.1267	
	T1: TRICOX (1 kg)	3	3.1383	3.1383	
	T5: BIO-SPLENT (1kg)	3	3.5783	3.5783	3.5783
	T2: TRICOX (2kg)	3		4.2733	4.2733
	T4: BIODELTA (2 kg)	3			4.7917
	Sig.		0.198	0.089	0.123

Se visualizan las medias de las concentraciones de Cd en coronas de espárrago para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .320.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.

b. Alfa = .05.

	<b>Tratamiento</b>	<b>N</b>	<b>Subconjunto 1</b>
HSD Tukey <sup>a,b</sup>	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	3	2.561
	T2: TRICOX (2kg)	3	2.569
	T1: TRICOX (1 kg)	3	2.573
	T5: BIO-SPLENT (1 kg)	3	2.633
	T3: BIODelta (1 kg)	3	2.643
	T0: Testigo (0)	3	2.650
	T4: BIODelta (2 kg)	3	2.660
	Sig.		0.966
Duncan <sup>a,b</sup>	T6: BIO-SPLENT (2 kg)	3	2.561
	T2: TRICOX (2kg)	3	2.569
	T1: TRICOX (1 kg)	3	2.573
	T5: BIO-SPLENT (1kg)	3	2.633
	T3: BIODelta (1 kg)	3	2.643
	T0: Testigo (0)	3	2.650
	T4: BIODelta (2 kg)	3	2.660
	Sig.		0.430

Se visualizan las medias de las concentraciones de Cd en suelo para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .018.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.

b. Alfa = .05.

## Anexo 8: ANOVA del peso, número, calibre y rendimiento de turiones de espárrago para 18 días de cosecha

### Pruebas de efectos intra-sujetos

Medida: Tiempo\_peso

Origen		Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
factor1	Esfericidad asumida	54930471,81	17	3231204,224	103,388	,000
	Greenhouse-Geisser	54930471,81	5,392	10187525,36	103,388	,000
	Huynh-Feldt	54930471,81	7,581	7245726,969	103,388	,000
	Límite inferior	54930471,81	1,000	54930471,81	103,388	,000
factor1 * t	Esfericidad asumida	2974587,427	102	29162,622	,933	,662
	Greenhouse-Geisser	2974587,427	32,352	91945,581	,933	,576
	Huynh-Feldt	2974587,427	45,487	65394,937	,933	,598
	Límite inferior	2974587,427	6,000	495764,571	,933	,484
Error(factor1)	Esfericidad asumida	18595721,70	595	31253,314		
	Greenhouse-Geisser	18595721,70	188,718	98537,234		
	Huynh-Feldt	18595721,70	265,338	70083,153		
	Límite inferior	18595721,70	35,000	531306,334		

### Pruebas de efectos intra-sujetos

Medida: Tiempo\_número

Origen		Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
factor1	Esfericidad asumida	34904,381	17	2053,199	37,609	,000
	Greenhouse-Geisser	34904,381	6,130	5694,264	37,609	,000
	Huynh-Feldt	34904,381	8,848	3944,809	37,609	,000
	Límite inferior	34904,381	1,000	34904,381	37,609	,000
factor1 * t	Esfericidad asumida	4886,786	102	47,910	,878	,792
	Greenhouse-Geisser	4886,786	36,778	132,871	,878	,673
	Huynh-Feldt	4886,786	53,089	92,049	,878	,713
	Límite inferior	4886,786	6,000	814,464	,878	,521
Error(factor1)	Esfericidad asumida	32483,167	595	54,594		
	Greenhouse-Geisser	32483,167	214,541	151,408		
	Huynh-Feldt	32483,167	309,686	104,891		
	Límite inferior	32483,167	35,000	928,090		

### Pruebas de efectos intra-sujetos

Medida: Tiempo\_calibre

Origen		Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
factor1	Esfericidad asumida	4,936	15	,329	,116	1,000
	Greenhouse-Geisser	4,936	11,187	,441	,116	1,000
	Huynh-Feldt	4,936	15,000	,329	,116	1,000
	Límite inferior	4,936	1,000	4,936	,116	,734
factor1 * t	Esfericidad asumida	14,286	90	,159	,056	1,000
	Greenhouse-Geisser	14,286	67,122	,213	,056	1,000
	Huynh-Feldt	14,286	90,000	,159	,056	1,000
	Límite inferior	14,286	6,000	2,381	,056	,999
factor1 * c	Esfericidad asumida	462,171	60	7,703	2,726	,000
	Greenhouse-Geisser	462,171	44,748	10,328	2,726	,000
	Huynh-Feldt	462,171	60,000	7,703	2,726	,000
	Límite inferior	462,171	4,000	115,543	2,726	,036
factor1 * t * c	Esfericidad asumida	1356,180	360	3,767	1,333	,000
	Greenhouse-Geisser	1356,180	268,487	5,051	1,333	,002
	Huynh-Feldt	1356,180	360,000	3,767	1,333	,000
	Límite inferior	1356,180	24,000	56,508	1,333	,176
Error(factor1)	Esfericidad asumida	2966,667	1050	2,825		
	Greenhouse-Geisser	2966,667	783,088	3,788		
	Huynh-Feldt	2966,667	1050,000	2,825		
	Límite inferior	2966,667	70,000	42,381		

### Pruebas de efectos intra-sujetos

Medida: Tiempo\_rendimiento

Origen		Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
factor1	Esfericidad asumida	15050117,30	17	885301,018	114,393	,000
	Greenhouse-Geisser	15050117,30	3,434	4382557,275	114,393	,000
	Huynh-Feldt	15050117,30	6,636	2267929,308	114,393	,000
	Límite inferior	15050117,30	1,000	15050117,30	114,393	,000
factor1 * t	Esfericidad asumida	817875,003	102	8018,382	1,036	,407
	Greenhouse-Geisser	817875,003	20,605	39693,866	1,036	,443
	Huynh-Feldt	817875,003	39,816	20541,176	1,036	,433
	Límite inferior	817875,003	6,000	136312,500	1,036	,443
Error(factor1)	Esfericidad asumida	1841913,375	238	7739,132		
	Greenhouse-Geisser	1841913,375	48,077	38311,476		
	Huynh-Feldt	1841913,375	92,905	19825,803		
	Límite inferior	1841913,375	14,000	131565,241		

## Anexo 9: Análisis de concentraciones de Cd en turiones de espárrago en los diferentes tratamientos



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA  
FACULTAD DE AGRONOMIA  
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



### INFORME DE ANALISIS ESPECIAL EN FOLIAR

SOLICITANTE : KASANDRA RODRÍGUEZ VILLANUEVA  
PROCEDENCIA : ICA/ ICA/ SANTIAGO  
MUESTRA : TURIONES DE ESPÁRRAGO  
REFERENCIA : H.R. 69949  
FACTURA : 5666  
FECHA : 24/09/2019

N. Lab.	CLAVE DE CAMPO	Cd ppm
4146	T1B1	5.08
4147	T2B1	4.92
4148	T3B1	5.54
4149	T4B1	6.74
4150	T5B1	4.04
4151	T6B1	4.40
4152	T7B1	4.83
4153	T1B2	4.84
4154	T2B2	4.25
4155	T3B2	4.27
4156	T4B2	3.53
4157	T5B2	4.10
4158	T6B2	3.15
4159	T7B2	4.42
4160	T1B3	3.39
4161	T2B3	4.34
4162	T3B3	3.68
4163	T4B3	4.59
4164	T5B3	5.00
4165	T6B3	4.87
4166	T7B3	4.00

Av. La Molina s/n Campus UNALM  
Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622  
e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe



## INFORME DE ANALISIS ESPECIAL EN FOLIAR

SOLICITANTE : SILVESTRE PERÚ S.A.C.  
PROCEDENCIA : ICA/ ICA/ SANTIAGO/ FUNDO SANTA MÓNICA  
MUESTRA : TURIONES DE ESPÁRRAGO  
REFERENCIA : H.R. 70182  
FACTURA : 5666  
FECHA : 15/10/2019

N. Lab.	CLAVE DE CAMPO	Cd ppm
4438	T1 B1	2.05
4439	T2 B1	2.07
4440	T3 B1	1.91
4441	T4 B1	2.05
4442	T5 B1	1.70
4443	T6 B1	1.76
4444	T7 B1	1.51
4445	T1 B2	1.24
4446	T2 B2	1.79
4447	T3 B2	1.69
4448	T4 B2	1.32
4449	T5 B2	1.70
4450	T6 B2	1.57
4451	T7 B2	1.37
4452	T1 B3	1.95
4453	T2 B3	2.32
4454	T3 B3	1.21
4455	T4 B3	2.01
4456	T5 B3	2.21
4457	T6 B3	2.45
4458	T7 B3	1.33

## Anexo 10: Análisis de concentraciones de Cd en follaje de espárrago en los diferentes tratamientos



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA  
FACULTAD DE AGRONOMIA  
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



### INFORME DE ANALISIS ESPECIAL EN FOLIAR

SOLICITANTE : KASANDRA RODRIGUEZ VILLANUEVA  
PROCEDENCIA : ICA/ ICA/ SANTIAGO/ FUNDO FLORIDA BLANCA S.A.C.  
MUESTRA : FOLLAJE DE ESPARRAGO  
REFERENCIA : 69331  
BOLETA : 5372  
FECHA : 08/08/19

Nº LAB	CLAVES	Cd ppm
3478	T1 - B1	1.34
3479	T1 - B2	1.28
3480	T1 - B3	1.06
3481	T2 - B1	1.71
3482	T2 - B2	1.34
3483	T2 - B3	2.17
3484	T3 - B1	2.10
3485	T3 - B2	1.59
3486	T3 - B3	1.06
3487	T4 - B1	1.51
3488	T4 - B2	1.53
3489	T4 - B3	1.41
3490	T5 - B1	2.07
3491	T5 - B2	1.17
3492	T5 - B3	1.50
3493	T6 - B1	1.16
3494	T6 - B2	1.98
3495	T6 - B3	1.46
3496	T7 - B1	1.50
3497	T7 - B2	1.57
3498	T7 - B3	1.14

Av. La Molina s/n Campus UNALM  
Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622  
e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

## Anexo 11: Análisis de concentraciones de Cd en coronas de espárrago en los diferentes tratamientos



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA  
FACULTAD DE AGRONOMIA  
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



### INFORME DE ANALISIS ESPECIAL EN FOLIAR

SOLICITANTE : KASANDRA RODRÍGUEZ VILLANUEVA  
PROCEDENCIA : ICA/ ICA/ SANTIAGO/ FUNDO FLORIDA BLANCA  
MUESTRA : CORONA DE ESPÁRRAGO  
REFERENCIA : H.R. 69948  
FACTURA : 5666  
FECHA : 24/09/2019

N. Lab.	CLAVE DE CAMPO	Cd ppm
4125	T1B1	2.39
4126	T2B1	3.37
4127	T3B1	4.76
4128	T4B1	7.23
4129	T5B1	3.89
4130	T6B1	3.54
4131	T7B1	3.12
4132	T1B2	4.04
4133	T2B2	3.67
4134	T3B2	4.68
4135	T4B2	3.16
4136	T5B2	2.04
4137	T6B2	1.82
4138	T7B2	4.17
4139	T1B3	2.76
4140	T2B3	2.58
4141	T3B3	5.52
4142	T4B3	5.69
4143	T5B3	4.52
4144	T6B3	4.11
4145	T7B3	2.93



## INFORME DE ANALISIS ESPECIAL EN FOLIAR

SOLICITANTE : SILVESTRE PERÚ S.A.C.  
PROCEDENCIA : ICA/ ICA/ SANTIAGO/ FUNDO SANTA MÓNICA  
MUESTRA : CORONA DE ESPÁRRAGO  
REFERENCIA : H.R. 70183  
FACTURA : 5666  
FECHA : 15/10/2019

N. Lab.	CLAVE DE CAMPO	Cd ppm
4459	T1 B1	1.61
4460	T2 B1	2.37
4461	T3 B1	3.57
4462	T4 B1	5.24
4463	T5 B1	3.07
4464	T6 B1	2.79
4465	T7 B1	3.65
4466	T1 B2	2.29
4467	T2 B2	2.20
4468	T3 B2	3.51
4469	T4 B2	3.99
4470	T5 B2	1.78
4471	T6 B2	1.77
4472	T7 B2	3.40
4473	T1 B3	2.10
4474	T2 B3	2.95
4475	T3 B3	3.60
4476	T4 B3	3.44
4477	T5 B3	3.46
4478	T6 B3	4.80
4479	T7 B3	4.20

## Anexo 12: Análisis de Salinidad y análisis de concentraciones de Cd en suelo en los diferentes tratamientos



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**  
 FACULTAD DE AGRONOMIA - DEPARTAMENTO DE SUELOS  
 LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES  
**ANALISIS DE SUELOS : SALINIDAD**



**Procedencia**

Departamento : ICA

Distrito : SANTIAGO

Referencia : H.R. 68308-064S-19

Solicitante: KASANDRA RODRIGUEZ VILLANUEVA

Provincia: ICA

Predio : FUNDO FLORIDA BLANCA S.A.C.

Factura : 4952

Número de Muestra		C.E.	Análisis Mecánico				pH	CaCO <sub>3</sub>	M.O.	P	K	Cationes Cambiables					Suma de Cationes	Suma de Bases	% Sat. De Bases	
Lab.	Campo	dS/m	Arena	Limo	Arcilla	Textura						CIC	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>				Al <sup>3+</sup> + H <sup>+</sup>
		1:1	%	%	%	Fr.A.	1:1	%	%	ppm	ppm	meq/100g					Cationes	Bases	Bases	
4276		8.77	77	13	10	Fr.A.	7.17	0.7	0.42	17.0	479	8.00	6.03	0.93	0.82	0.22	0.00	8.00	8.00	100

A = Arena ; A.Fr. = Arena Franca ; Fr.A. = Franco Arenoso ; Fr. = Franco ; Fr.L. = Franco Limoso ; L = Limoso ; Fr.Ar.A. = Franco Arcillo Arenoso ; Fr.Ar. = Franco Arcilloso ; Fr.Ar.L. = Franco Arcillo Limoso ; Ar.A. = Arcillo Arenoso ; Ar.L. = Arcillo Limoso ; Ar. = Arcilloso

No Muest. Lab	Saturación %	pH Pasta Sat	C.E. Ext. St. dS/m	Cationes Solubles (meq/L)					Aniones Solubles (meq/L)					Boro Soluble ppm	Yeso Soluble %	PSI	
				Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	SUMA	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Cl <sup>-</sup>	SUMA			
4276	33	7.10	24.80	167.50	33.33	7.41	95.87	304.11	4.94	0.00	2.92	32.29	265.00	305.15	2.58	0.03	2.72

La Molina, 27 de Mayo del 2019



## INFORME DE ANALISIS ESPECIAL EN SUELO

SOLICITANTE : KASANDRA RODRIGUEZ VILLANUEVA  
PROCEDENCIA : ICA/ ICA/ SANTIAGO/ FUNDO FLORIDA BLANCA S.A.C.  
REFERENCIA : H.R. 69330  
FACTURA : 5372  
FECHA : 06/08/2019

Lab	Número Muestra	
	Claves	Cd ppm
2811	T1-B1	3.09
2812	T1-B2	3.08
2813	T1-B3	2.60
2814	T2-B1	2.83
2815	T2-B2	2.85
2816	T2-B3	2.88
2817	T3-B1	3.00
2818	T3-B2	3.12
2819	T3-B3	2.69
2820	T4-B1	2.63
2821	T4-B2	2.76
2822	T4-B3	2.91
2823	T5-B1	2.80
2824	T5-B2	2.68
2825	T5-B3	2.66
2826	T6-B1	2.79
2827	T6-B2	2.49
2828	T6-B3	2.72
2829	T7-B1	2.65
2830	T7-B2	2.91
2831	T7-B3	2.69



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA  
FACULTAD DE AGRONOMIA  
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



## INFORME DE ANALISIS ESPECIAL EN SUELO

SOLICITANTE : KASANDRA RODRÍGUEZ VILLANUEVA

PROCEDENCIA : ICA/ ICA/ SANTIAGO

REFERENCIA : H.R. 69950

FACTURA : 5666

FECHA : 20/09/2019

Lab	Número Muestra	Cd ppm
	Claves	
3925	T1 B1	2.61
3926	T2 B1	2.23
3927	T3 B1	2.54
3928	T4 B1	3.28
3929	T5 B1	2.86
3930	T6 B1	2.50
3931	T7 B1	2.41
3932	T1 B2	2.35
3933	T2 B2	2.28
3934	T3 B2	2.60
3935	T4 B2	2.40
3936	T5 B2	2.45
3937	T6 B2	2.59
3938	T7 B2	2.51
3939	T1 B3	2.44
3940	T2 B3	2.38
3941	T3 B3	2.41
3942	T4 B3	2.61
3943	T5 B3	2.35
3944	T6 B3	2.68
3945	T7 B3	2.45

Av. La Molina s/n Campus UNALM  
Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622  
e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA  
FACULTAD DE AGRONOMIA  
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



## INFORME DE ANALISIS ESPECIAL EN SUELO

SOLICITANTE : SILVESTRE PERU S.A.C.  
PROCEDENCIA : ICA/ ICA/ SANTIAGO/ FUNDO SANTA MONICA  
REFERENCIA : H.R. 70181  
FACTURA : 5666  
FECHA : 11/10/2019

Número Muestra		Cd ppm
Lab	Claves	
4249	T1 B1	2.42
4250	T2 B1	2.49
4251	T3 B1	2.61
4252	T4 B1	2.63
4253	T5 B1	2.76
4254	T6 B1	2.52
4255	T7 B1	2.69
4256	T1 B2	2.41
4257	T2 B2	2.67
4258	T3 B2	2.48
4259	T4 B2	2.36
4260	T5 B2	2.75
4261	T6 B2	2.29
4262	T7 B2	2.90
4263	T1 B3	2.16
4264	T2 B3	2.51
4265	T3 B3	2.34
4266	T4 B3	2.36
4267	T5 B3	2.39
4268	T6 B3	2.47
4269	T7 B3	2.64

---

Av. La Molina s/n Campus UNALM  
Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622  
e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

**Anexo 13: Registro fotográfico realizado durante el ensayo en el año 2019**



**Figura 30: Muestreo de suelo**



**Figura 31: Preparación de productos correspondientes a los tratamientos**



**Figura 32: Lote donde se realizó el ensayo**



**Figura 33: Aplicación de los productos en las parcelas experimentales**



**Figura 34: Preparación de los productos para la aplicación de los mismos**



**Figura 36: Muestras de suelo obtenidos de las parcelas experimentales**



**Figura 35: Muestras de follaje obtenidos de las parcelas experimentales**



**Figura 37: Última aplicación de los productos realizada después del chapado**



**Figura 38:** Personal del fundo cosechando turiones de las parcelas experimentales



**Figura 39:** Medida del calibre de los turiones utilizando un vernier



**Figura 40:** Turiones cosechados por tratamientos



**Figura 41:** Vista del campo experimental durante la cosecha