



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

PRODUCTO 2. Estudio del efecto de la omisión de nutrientes en la concentración de cadmio en plantas de cacao bajo condiciones controladas

Luis Fernando Solano, Laura Ramírez, Eduardo Chávez

2022



Plataforma Multiagencia
Cacao 2030-2050





Copyright, licencias CC y Disclaimer.

Códigos JEL: Q16

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

El presente documento ha sido preparado por Luis Fernando Solano Jiménez, Laura Ramírez Cartín, Eduardo Chávez Navarrete

Copyright © 2023 Banco Interamericano de Desarrollo. Esta obra se encuentra sujeta a una licencia Creative Commons IGO 3.0 Reconocimiento-NoComercial- SinObrasDerivadas (CC-IGO 3.0 BY-NC-ND) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/igo/legalcode>) y puede ser reproducida para cualquier uso no comercial otorgando el reconocimiento respectivo al BID. No se permiten obras derivadas. Cualquier disputa relacionada con el uso de las obras del BID que no pueda resolverse amistosamente se someterá a arbitraje de conformidad con las reglas de la CNUDMI (UNCITRAL). El uso del nombre del BID para cualquier fin distinto al reconocimiento respectivo y el uso del logotipo del BID no están autorizados por esta licencia CC-IGO y requieren de un acuerdo de licencia adicional. Note que el enlace URL incluye términos y condiciones adicionales de esta licencia.

Esta publicación puede solicitarse a:

FONTAGRO

Correo electrónico: fontagro@fontagro.org

www.fontagro.org



Tabla de Contenidos

Abstract	6
Resumen Ejecutivo	7
Glosario de términos	8
1. Introducción	9
2. Objetivos	11
2.1 General.....	11
2.2 Específicos.....	11
3. Metodología	12
3.1 Efecto de zinc (Zn) y manganeso (Mn) sobre la absorción de cadmio (Cd) en dos variedades de cacao bajo condiciones controladas.....	12
3.1.1 Propagación del material vegetal.....	12
3.1.2 Establecimiento de los ensayos.....	13
3.1.3 Procesamiento y análisis de las muestras.....	15
3.1.4 Análisis de los datos.....	16
4. Resultados	17
4.1 Efecto de aplicación de Mn sobre la acumulación de Cd en dos variedades de cacao en condiciones controladas.....	17
4.1.1 Crecimiento de las plantas.....	17
4.1.2 Efecto de Mn sobre la acumulación de Cd en el tejido.....	18
4.1.3 Concentración de Mn y relación Mn/Cd en las plantas.....	21
4.1.4 Efecto en la absorción de macro y microelementos.....	22
4.2 Efecto de aplicación de Zn sobre la acumulación de Cd en dos variedades de cacao en condiciones controladas.....	23
4.2.1 Crecimiento de las plantas.....	23
4.2.2 Efecto del zinc (Zn) sobre la acumulación de cadmio.....	24



4.2.3	Concentración de Zn en parte aérea y relación Zn/Cd	27
4.3	Efecto sobre la absorción de macro y microelementos.....	29
4.3.1	Efecto sobre la absorción de micronutrientes	29
5.	Discusión.....	30
5.1	Efecto de aplicación de Mn sobre la acumulación de Cd en dos variedades de cacao en condiciones controladas.....	30
5.2	Efecto de aplicación de Zn sobre la acumulación de Cd en dos variedades de cacao en condiciones controladas.....	32
6.	Conclusiones.....	34
	Referencias Bibliográficas.....	35
	Anexos	40

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Descripción de tratamientos con niveles crecientes de concentración de zinc (Zn) y manganeso (Mn) en solución nutritiva	14
Tabla 2. Medias y desviación estándar de las variables de altura y biomasa seca por variedad y dosis de Mn	17
Tabla 3. Concentración de Mn y razón Mn/Cd en parte aérea.....	23
Tabla 4. Medias y desviación estándar de las variables de altura y biomasa por variedad y dosis de Zn	24
Tabla 5. Concentración de Zn y razón Zn/Cd en el tejido aéreo.....	28

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estacas de las diferentes variedades de cacao en proceso de enraizamiento en túneles (a). Variedades de cacao enraizadas (4 semanas después de la siembra) (b)	13
Figura 2. Establecimiento del experimento en condiciones de hidroponía en Costa Rica	14
Figura 3. Concentración de Cd en parte aérea por variedad y dosis de Mn. Medias con una letra distinta son significativamente diferentes DGC ($p < 0,05$)	18
Figura 4. Masa de Cd absorbido en la parte aérea por variedad y dosis de Mn. Medias con una letra distinta son significativamente diferentes DGC ($p < 0,05$)	19
Figura 5. Concentración de Cd en raíces por variedad y dosis de Mn. Medias con una letra distinta son significativamente diferentes DGC ($p < 0,05$)	20
Figura 6. Masa de Cd acumulado en raíces por variedad y dosis de Mn. Medias con una letra distinta son significativamente diferentes DGC ($p < 0,05$)	21
Figura 7. Regresión entre la concentración de Cd (mg kg^{-1}) y la concentración de Mn (mg kg^{-1}) en la parte aérea por variedad. Los contornos responden a los elipses de confianza ($p = 0,05$)	22
Figura 8. Concentración de Cd en parte aérea por variedad y dosis de Zn. Medias con una letra distinta son significativamente diferentes DGC ($p < 0,05$)	25
Figura 9. Masa de Cd absorbido en la parte aérea por variedad y dosis de Zn. Medias con una letra distinta son significativamente diferentes DGC ($p < 0,05$)	25
Figura 10. Concentración de Cd en raíces según dosis de Zn (mg kg^{-1}) y variedad	26
Figura 11. Masa de Cd absorbido en raíces por dosis de Zn en solución y variedad ...	27
Figura 12. Regresión entre las concentraciones de Cd y Zn en el tejido aéreo por variedad	28

Abstract

Elevated cadmium (Cd) uptake by cacao (*Theobroma cacao*, L.) trees has been reported widely in the literature, particularly in Latin America and Caribbean countries (LAC). As a result, different consumer countries have implemented stringent regulations on cocoa-derived products. This has led to increased research attention to understand the factors governing the abnormal absorption and accumulation of this metal in the plant tissues. The implementation of these regulations has had socio-economic implications for cocoa-producing countries in LAC, prompting the need for alternatives to mitigate this accumulation. Field and greenhouse studies have identified the relationship between Cd and other nutrients, hypothesizing the potential of elements such as Zn, Mn, Fe, and Se for reducing Cd uptake in annual crops. In this context, the effect of incremental rates of Mn and Zn was evaluated as a countermeasure to reduce Cd concentration through a crop nutrition-focused management strategy. The study was implemented at the Estacion Experimental Los Diamantes, affiliated to Instituto Nacional de Innovacion y Transferencia de Tecnología Agropecuaria (INTA) in Costa Rica. Two cacao genotypes, selected because of their contrasting Cd uptake pattern, were evaluated. The genotypes are known as CATIE-R1 and PMCT-58. Two hydroponic studies were conducted with a constant Cd concentration (0.44 μMol). Each element (Mn and Zn) was considered as an individual study. The Mn rates were 0 (control); 9.1; 18.2, and 27.3 μM . The positive effect of incremental Mn rates was evident in the high Cd accumulation genotype (CATIE-R1). In plants shoots, 9.10 μM of Mn reduced ($p < 0.05$) Cd concentration in aboveground tissue by a factor of ~ 3.33 , whereas 18.2 and 27.3 μM rates lowered aerial Cd by a factor of 9 and 12, respectively. These rates also reduced the internal translocation factor (FTI) ($p < 0.05$), which corresponds to the ratio between the Cd concentration in the shoot and the concentration of this metal in the roots. Zinc was applied at 0 (control); 7.64; 15.3, and 23.0 μM of Zn. With this element, an inconsistent effect was observed regarding Cd concentration in the high-Cd genotype. However, a trend (not significant) to reduce Cd concentration in this genotype was observed. In the low-Cd genotype, neither Mn nor Zn had any effect on Cd accumulation in aboveground tissue.

This study demonstrated for the first time the influence of micronutrients in Cd uptake by cacao genotypes which highlights the importance of continuing research to confirm and expand the findings. The results also show that certain cultivars will be affected by the concentration of these micronutrients in solution whereas other cultivars may not display any effect.

Keywords: Absorption, cadmium, cocoa, translocation factor, variety, genetic variability.

Resumen Ejecutivo

La absorción de cadmio (Cd) en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao*) ha sido reportada en la literatura en países de América Latina y el Caribe (LAC). Esto ha llevado a que países consumidores de chocolate desde 2019 implementen duras regulaciones a los productos derivados de la industria de cacao. Esto ha provocado que las investigaciones se dirijan a comprender los factores que rigen la absorción y acumulación anormal de este metal en los tejidos. La implementación de estas regulaciones ha tenido implicaciones socioeconómicas para los países de LAC, por lo que surge la necesidad de alternativas que contrarresten esta acumulación. Estudios de campo e invernadero han identificado la relación de Cd con otros nutrientes en cultivos de ciclo corto, lo que ha hipotetizado el potencial de mitigación de elementos como el Zn, Mn, Fe y Se. En este contexto, se evaluó el efecto de dosis incrementales de Mn y Zn, como medida potencial de reducción de la concentración de Cd, desde una estrategia de manejo que conlleva a la nutrición del cultivo. El estudio se implementó en la Estación Experimental Los Diamantes, perteneciente al Instituto Nacional de Innovación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria (INTA) en Costa Rica. Las variedades de cacao evaluadas fueron CATIE-R1 y el PMCT-58 por ser variedades contrastantes en la absorción de Cd en un estudio previo realizado en el marco de este proyecto. Se realizaron dos ensayos en hidroponía con una concentración constante de Cd en solución (0,44 μM). Cada elemento (Mn y Zn) se consideró de forma independiente, es decir, no se evaluó la interacción. En el estudio con Mn, se evaluaron las dosis: 0 (control); 9,1; 18,2 y 27,3 μM de Mn en solución nutritiva. El efecto de las dosis incrementales de Mn fue evidente en la variedad de alta acumulación de Cd (CATIE-R1). En la parte aérea de las plantas, con respecto al tratamiento control, el tratamiento de 9,10 μM evidenció una reducción significativa ($p < 0,05$) de 3,33 veces; y en los tratamientos de 18,2 y 27,3 μM la reducción fue de 9 y ~ 12 veces, respectivamente. Estas dosis redujeron el factor de translocación interno (FTI) ($p < 0,05$), el cual corresponde al ratio entre la concentración de Cd en la parte aérea sobre la concentración de este metal en el tejido radical. En el caso del estudio con Zn, se evaluaron las dosis: 0 (control); 7,64; 15,3 y 23,0 μM de Zn. No se obtuvieron valores de Cd consistentes que permitieran dilucidar resultados del efecto de este elemento sobre la acumulación del metal en las variedades probadas. Sin embargo, se observó una tendencia (no significativa) a reducir la concentración de Cd en la variedad de mayor absorción (CATIE-R1). Esto resalta la importancia de continuar la investigación para corroborar y ampliar los hallazgos obtenidos en este producto. Estos resultados demuestran que las variedades tienen una forma diferenciada de asimilación de Cd y elementos similares a éste y destacan el potencial del Mn para mitigar el Cd en condiciones controladas. Estos resultados deberán ser corroborados en estudios de campo de largo plazo donde se puedan coleccionar almendras de cacao.

Palabras Clave: Absorción, cadmio, cacao, factor de translocación, variedad, variabilidad genética.

Glosario de términos

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

Cadmio: es un elemento químico de número atómico 48 situado en el grupo 12 de la tabla periódica de los elementos. Su símbolo es Cd y se denomina metal pesado por ser 4 veces más denso que el agua. También ha sido clasificado como tóxico y carcinógeno para humanos y otros animales. La forma dominante en suelo es Cd²⁺.

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

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

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

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

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

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

1. Introducción

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

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

Pese a estos progresos en la producción del cacao en LAC, en la última década ha surgido una creciente preocupación sobre la presencia de contaminantes en el cacao de la región, especialmente, por la presencia del metal pesado cadmio (en adelante, en este documento, se denominará por su símbolo químico: Cd). Esta preocupación se incrementó a partir de que la Unión Europea estableció límites máximos permisibles para este metal pesado en chocolate y productos derivados (European Food Safety Authority, 2012; Abt & Robin, 2020). La implementación de esta regulación, que es efectiva desde enero 1 del 2019, ha tenido implicaciones socioeconómicas para los países productores y ha generado una revolución científica con el objetivo de comprender los mecanismos de absorción del metal por parte del cultivo de cacao; así como generar medidas o estrategias para mitigarlo (Maddela et al., 2020; Florida Rofner, 2021).

Las regulaciones alimenticias tienen como objetivo minimizar el consumo de alimentos contaminados, bajo el precepto de precaución sanitaria. El Cd es un metal pesado altamente tóxico que se encuentra de forma natural en el medio ambiente (Bernard, 2008; Godt et al., 2006). El consumo prolongado de alimentos con elevadas concentraciones de este metal conlleva a efectos adversos en la salud humana, como daño renal, enfermedades cardiovasculares,




fragilidad ósea, cáncer de páncreas y repercusiones negativas en la reproducción humana (Bhattacharyya, 2009; Fatima et al., 2019; Kumar & Sharma, 2019; Satarug 2019; Suhani et al., 2021).

Se ha documentado que la presencia de Cd en los productos derivados del chocolate proviene de la almendra de cacao, que es el insumo principal en chocolates de alta calidad (Vanderschueren et al., 2021). El cacao tiene una alta capacidad de acumular Cd en sus tejidos, pero el mecanismo detrás de esta elevada acumulación no es conocido aún (Suhani et al., 2021; Galvis et al., 2023a). La transferencia de Cd desde el suelo, hasta las raíces y luego hasta las hojas, denominado factor de translocación interno (en adelante FTI), está influenciado por una amplia gama de factores edafoclimáticos y genéticos, entre los que se destacan proteínas de absorción de metales no específicas, físicoquímicos del suelo y agronómicos (Moore et al., 2020; Scaccabarozzi et al., 2020).

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

Entre los aspectos agronómicos, la edad de plantación influye en la acumulación de Cd, a mayor edad de plantación la concentración en las almendras se incrementa. Este fenómeno puede explicarse por el tiempo de acumulación de Cd en la biomasa aérea de las plantas, sobre todo de troncos y ramas que redistribuirán el elemento a las almendras de cacao (Blommaert et al., 2022). Otros factores como el uso de prácticas de poda y el manejo de la fertilización, afectan potencialmente la acumulación de este metal, aunque su efecto no se reporta con frecuencia (Argüello et al., 2019; Zug et al., 2019). De otra parte, también se ha reportado que la topografía de la zona del cultivo puede influir en las variaciones intra-específicas del contenido de Cd tanto en suelos como en la plantación dentro de una misma finca (Bravo et al., 2020; Gil et al., 2021).

Dentro de los factores edáficos, las concentraciones de Cd en las almendras aumentan a medida que se incrementa la disponibilidad del elemento en suelo. Esta disponibilidad es afectada principalmente por el pH, el contenido en suelo de Zn, Mn, Fe, Ca y carbono orgánico (Chavez et



al., 2015; Barraza et al., 2017; Argüello et al., 2019; Bravo et al., 2021). Respecto a los microelementos, algunos investigadores reportan la mitigación por parte del Mn y el Zn sobre los efectos fitotóxicos de altas concentraciones de Cd en plántulas de cacao CCN-51 (dos Santos et al., 2020; Oliveira et al., 2020; Pinto-Barroso et al., 2023). Por lo que éstos podrían mostrar potencial de reducción del Cd en los tejidos de cacao. En términos generales, una nutrición adecuada previene efectos fitotóxicos del Cd y limita la entrada de este metal mediante diferentes mecanismos como inmovilización, dilución, competencia por la membrana de los transportadores, secuestro de Cd (Sarwar et al., 2010). No obstante, la literatura disponible es insuficiente para comprender el rol de la nutrición mineral en la acumulación del Cd en cacao. Por esta razón, el objetivo de este estudio fue identificar la influencia de zinc (Zn) y manganeso (Mn) en la absorción de Cd en variedades contrastantes de acumulación de Cd en condiciones controladas.

2. Objetivos

2.1 General

Entender el efecto de micronutrientes en la reducción de la absorción de cadmio (Cd) en cacao bajo condiciones controladas.

2.2 Específicos

- Estudiar el efecto incremental de zinc (Zn) y manganeso (Mn) en solución nutritiva en condiciones controladas en la toma de Cd en dos variedades con alta y baja concentración del metal.
- Identificar la correlación entre micronutrientes y concentración de Cd como un estudio preliminar al manejo de Cd en condiciones controladas.

3. Metodología

3.1 Efecto de zinc (Zn) y manganeso (Mn) sobre la absorción de cadmio (Cd) en dos variedades de cacao bajo condiciones controladas

El estudio se implementó en la Estación Experimental Los Diamantes, perteneciente al Instituto Nacional de Innovación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria (INTA), ubicada en Guápiles, Pococí, Limón, Costa Rica. La duración del experimento fue de 150 días. Las variedades de cacao evaluadas fueron el CATIE R1 y el PMCT58, las cuales fueron generadas por el Programa de Mejoramiento Genético del CATIE, Costa Rica (Phillips et al., 2012) y seleccionadas como variedades contrastantes en la absorción de Cd en una evaluación previa de variedades de cacao en el marco del presente proyecto (<https://www.fontagro.org/new/proyectos/plataforma-cacao-2030>), en condiciones controladas en hidroponía con una concentración constante de Cd de 0,44 μM .

3.1.1 Propagación del material vegetal

El material vegetal fue obtenido de la colección Internacional de Cacao (IC₃), ubicada en la Finca Experimental del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, Cartago, Costa Rica. La propagación se realizó mediante el enraizamiento de microestacas, las cuales consistieron en porciones de brotes apicales y subapicales con dos o tres yemas, a las que se les removió un tercio de la lámina foliar (Figura 1). Se aplicó ácido 3-indolbutírico a 6000 ppm $\text{m} \cdot \text{m}^{-1}$ en la base del tallo y fueron sembradas en pastillas silvícolas de turba. Posteriormente, se colocaron en propagadores recubiertos de plástico cinco semanas. El control de la humedad se realizó mediante riegos nebulizados para mantener la humedad dentro del túnel cerca del 80%.



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

3.1.2 Establecimiento de los ensayos

Una vez enraizadas las microestacas, se establecieron en contenedores plásticos de 2,8 L de capacidad (una planta por contenedor), con solución nutritiva preparada con agua destilada (Figura 2). Se tomó como referencia la solución Hoagland (Hoagland & Arnon, 1950) al 50% (Anexo 1) con modificaciones en la concentración de nutrientes según la estructura de tratamientos en estudio (Tabla 1). A cada contenedor se le acopló un sistema de aireación constante adaptado a un generador HG - 250-C, burbujeo de 4600 L, 12 kPa capacidad y $35 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$.




Figura 2. Establecimiento del experimento en condiciones de hidroponía en Costa Rica

Tabla 1. Descripción de tratamientos con niveles crecientes de concentración de zinc (Zn) y manganeso (Mn) en solución nutritiva

Variedades	Micronutrientes (μM)	
	Estudio con Zn	Estudio con Mn
	--	--
PMCT-58 y CATIE-R1	7,6	9,1
	15,3	18,2
	23,0	27,3

La solución nutritiva preparada fresca y reemplazada cada siete días. En el primer cambio de solución, se separaron las plantas en dos grupos, a un grupo se adicionó una concentración de $0,44 \mu\text{M}$ de Cd, a partir de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich; 98% de pureza) y otras no (grupo control). Para evitar la precipitación de Cd, el elemento fue quelatado con $50 \mu\text{M}$ de EGTA ($\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_{10}$, Sigma-Aldrich). Las plantas se desarrollaron en condiciones de invernadero a una temperatura promedio de 26.6°C (Min 20.1°C – Max 30°C), durante 150 días.

Al finalizar el periodo experimental, se tomaron parámetros de desarrollo como altura de las



plantas (cm) y biomasa fresca y seca (g). Al momento de la cosecha, las plantas se seccionaron en parte aérea (hojas+tallo) y raíces. Se registró el peso de la biomasa fresca (g) en una balanza (marca A&D, modelo EJ-3002, precisión $\pm 0,01$) por sección de la planta. Las raíces fueron lavadas con una solución de EDTA al 0,01 M por inmersión durante un minuto y enjugues con agua destilada. Ambas secciones se secaron en horno de aire forzado (modelo SMO-28-2 Sheldon INC) a 62 °C durante 72 horas. Se registró el peso de la biomasa seca (g) en la balanza y luego fueron molidas con un procesador Black and Decker de 400 watts.

3.1.3 Procesamiento y análisis de las muestras

Las muestras fueron analizadas en el laboratorio de suelos y foliares del Instituto Nacional de Innovación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria (INTA), Cartago, Costa Rica. Donde a cada una de las éstas, se tomó 500 mg de submuestra y se digestó en una solución ácida de 2,5 mL de HNO₃ al 69% y 2,5 mL de HCl al 37% en microondas (CEM MARS 6, North Carolina, USA.) en dos ciclos de 45 minutos a 200 °C.

Se determinó la concentración de P, K, Ca, Mg, S (en %), Fe, Cu, Zn, Mn Cd y B (en mg·kg⁻¹) de los digestados, de manera independiente en la parte aérea como de raíz, mediante espectroscopía de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES). El equipo se calibró con cinco niveles de concentraciones estándar de Cd. El límite de detección (LoD) para Cd fue de 0,20 mg kg⁻¹ (masa corregida). Los datos fueron expresados como la concentración de Cd de la parte aérea en mg kg⁻¹ y su desviación estándar. Asimismo se estimó el Cd absorbido (μg) mediante el producto de la concentración de Cd (en mg kg⁻¹) y la biomasa seca por sección de la planta (ecuación 1). Adicionalmente, se estimó el factor de traslocación interno (raíz hacia la parte aérea), mediante el cociente entre la concentración de Cd en raíz y en la parte aérea (ecuación 2.)

Ecuación 1:

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

Ecuación 2:

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



3.1.4 Análisis de los datos

Cada elemento se consideró como estudios independientes pero ambos siguieron un diseño factorial con dos factores y cuatro réplicas por tratamiento. El primer factor fue la variedad con dos niveles (variedades: PMCT-58 y CATIE-R1), el segundo factor fue la dosis del elemento con cuatro niveles (control: 0; 7,64; 15,3 y 23 μM para el estudio con Zn y control: 0; 9,1; 18,2 y 27,3 μM para el estudio con Mn. Cada réplica estuvo compuesta por una unidad experimental y ésta consistió en una sola planta. Los datos fueron analizados en el software estadístico Navure versión profesional 1.2.1 mediante los Modelos Lineales Generales y Mixtos, prueba de comparación de medias de DGC ($p=0,05$) (Di Rienzo et al., 2002).

4. Resultados

4.1 Efecto de aplicación de Mn sobre la acumulación de Cd en dos variedades de cacao en condiciones controladas

4.1.1 Crecimiento de las plantas

Para determinar el efecto de la adición de Mn en el crecimiento de las plantas, se tomaron los datos de altura y el peso seco. No se observaron diferencias en las variables de crecimiento ($p=0,12$) en la interacción entre la dosis de Mn y las variedades. Las plantas de la variedad PMCT-58 mostraron una media 1.4 veces más altas en altura y peso seco de la parte aérea en comparación con el CATIE-R1. En cambio, la interacción entre la dosis de Mn y la variedad afectó significativamente ($p<0,01$) el peso seco de raíces (Tabla 2).

Tabla 2. Medias y desviación estándar de las variables de altura y biomasa seca por variedad y dosis de Mn

Elemento	Dosis (μM)	Variedad	Altura	Peso seco parte aérea (g)	Peso seco raíces (g)	
			media \pm D.E	media \pm D.E	media \pm D.E	
			$p^1=$	0,23	0,24	< 0,01
Mn	0,00	PMCT-58	20,34 \pm 3,55	1,70 \pm 0,30	1,23 a \pm 0,31	
		CATIE-R1	11,80 \pm 4,42	0,98 \pm 0,37	0,55 b \pm 0,01	
	9,1	PMCT-58	22,59 \pm 1,39	1,88 \pm 0,12	0,93 a \pm 0,15	
		CATIE-R1	15,20 \pm 7,40	1,27 \pm 0,62	0,93 a \pm 0,20	
	18,2	PMCT-58	12,64 \pm 1,32	1,05 \pm 0,11	0,52 b \pm 0,02	
		CATIE-R1	14,60 \pm 6,31	1,22 \pm 0,53	0,66 b \pm 0,12	
	27,3	PMCT-58	20,43 \pm 2,70	1,70 \pm 0,23	0,64 b \pm 0,11	
		CATIE-R1	12,76 \pm 3,81	1,06 \pm 0,32	1,11 a \pm 0,09	
			$p^2=$	< 0,01	< 0,01	0,81
Media		PMCT-58	19,00a \pm 4,26	1,58a \pm 0,35	0,83 \pm 0,31	
		CATIE-R1	13,59b \pm 5,24	1,13b \pm 0,42	0,81 \pm 0,25	

Medias con una letra distinta son significativamente diferentes DGC ($p<0,05$). p^1 indican el valor del estadístico p de las comparaciones entre dosis y p^2 el de las dos variedades.

4.1.2 Efecto de Mn sobre la acumulación de Cd en el tejido

Se detectaron diferencias significativas ($p < 0,01$) en la concentración de Cd en la parte aérea entre las dosis de Mn y la variedad (Figura 3). En la variedad PMCT-58, las dosis de Mn no afectaron la concentración de Cd en la parte aérea. El valor promedio de Cd en esta variedad fue de $2,19 \text{ mg kg}^{-1} (\pm 0,38)$. Lo contrario se observó en la variedad CATIE-R1, en la cual las dosis incrementales de Mn redujeron la concentración de Cd en la parte aérea. En el tratamiento control se registró la concentración más alta de Cd ($7,14 \text{ mg kg}^{-1}$); mientras que, en los tratamientos de 9,1, 18,2 y $27,3 \text{ } \mu\text{M}$ de Mn, se evidenció una reducción de la concentración de Cd con valores medios de 2,14; 0,78 y $0,60 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd, respectivamente.

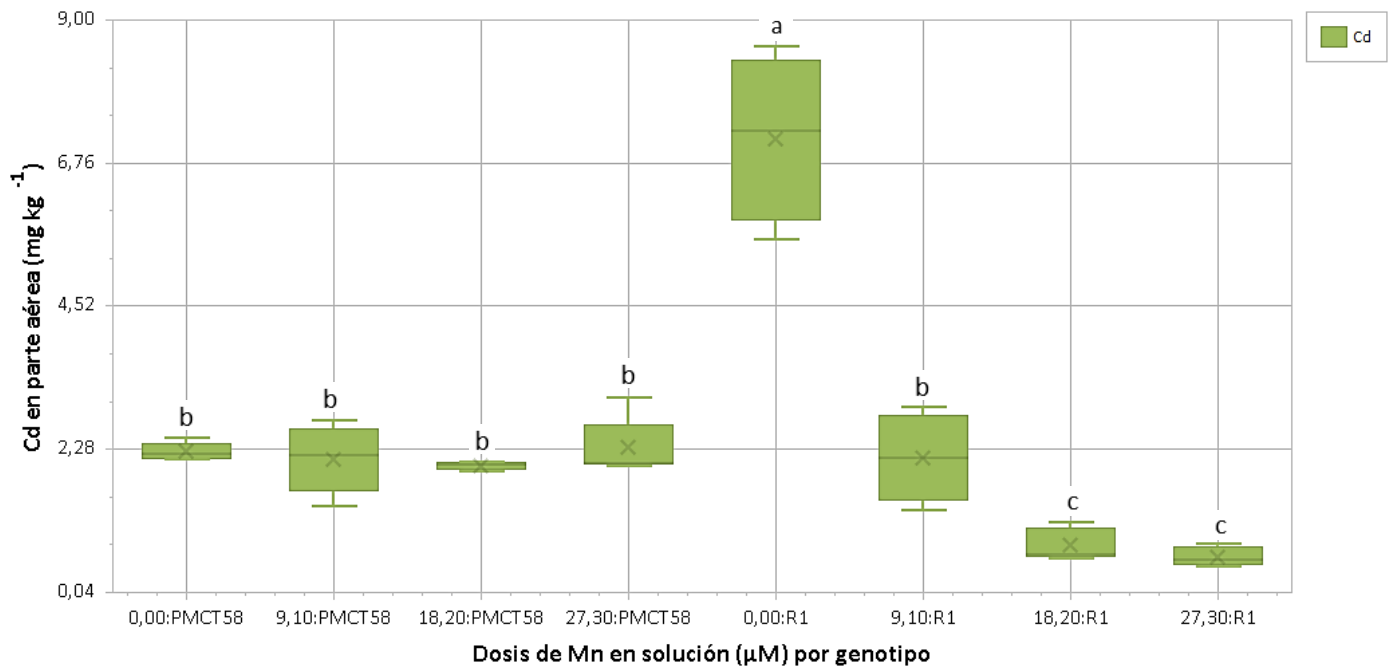


Figura 3. Concentración de Cd en parte aérea por variedad y dosis de Mn. Medias con una letra distinta son significativamente diferentes DGC ($p < 0,05$)

Consistentemente con los resultados anteriores, se detectaron diferencias ($p < 0,01$) en la masa de Cd acumulado en el tejido aéreo (Figura 4). En la variedad PMCT-58, el contenido de este metal fue similar en las diferentes dosis de Mn, con un valor promedio de $3,58 \text{ } \mu\text{g}$ de Cd. En el CATIE-R1, la mayor masa de Cd fue observada en el control con $6,72 (\pm 1,45) \text{ } \mu\text{g}$ de Cd por planta, mientras que las dosis crecientes de Mn redujeron el Cd absorbido en la parte aérea de las

plantas, de forma tal que, en las dosis de 9,1; 18,3 y 27,3 μM de Mn, la masa del Cd absorbido fue de 2,77 ($\pm 1,56$); 1,06 ($\pm 0,88$); 0,61 ($\pm 0,10$) μg de Cd por planta, respectivamente.

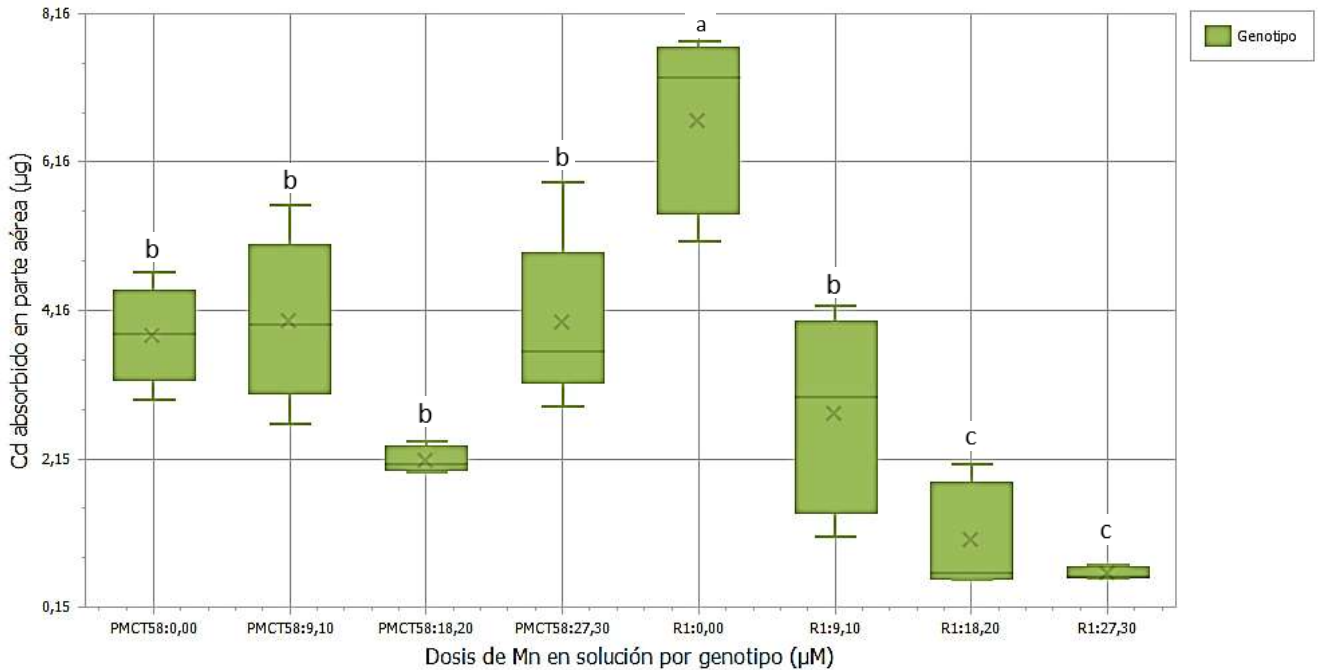


Figura 4. Masa de Cd absorbido en la parte aérea por variedad y dosis de Mn. Medias con una letra distinta son significativamente diferentes DGC ($p < 0,05$)

En las raíces, se determinó diferencias estadísticas en la concentración de Cd para las diferentes dosis de Mn ($p < 0,01$). Las concentraciones más altas de Mn (18,2 y 27,3 μM) mostraron las mayores concentraciones de Cd en este órgano de las plantas, con medias de 7,49 y 9,04 mg kg^{-1} de Cd en la variedad PMCT-58 y de 8,52 y 10,28 mg kg^{-1} de Cd en el CATIE-R1 (Figura 5). Mientras que, en las dosis control y 9,10 μM de Mn, en la variedad PMCT-58 la concentración media de Cd fue 5,67 y 3,54 mg kg^{-1} de Cd respectivamente y en el CATIE-R1 de 2,53 y 3,48 mg kg^{-1} de Cd.

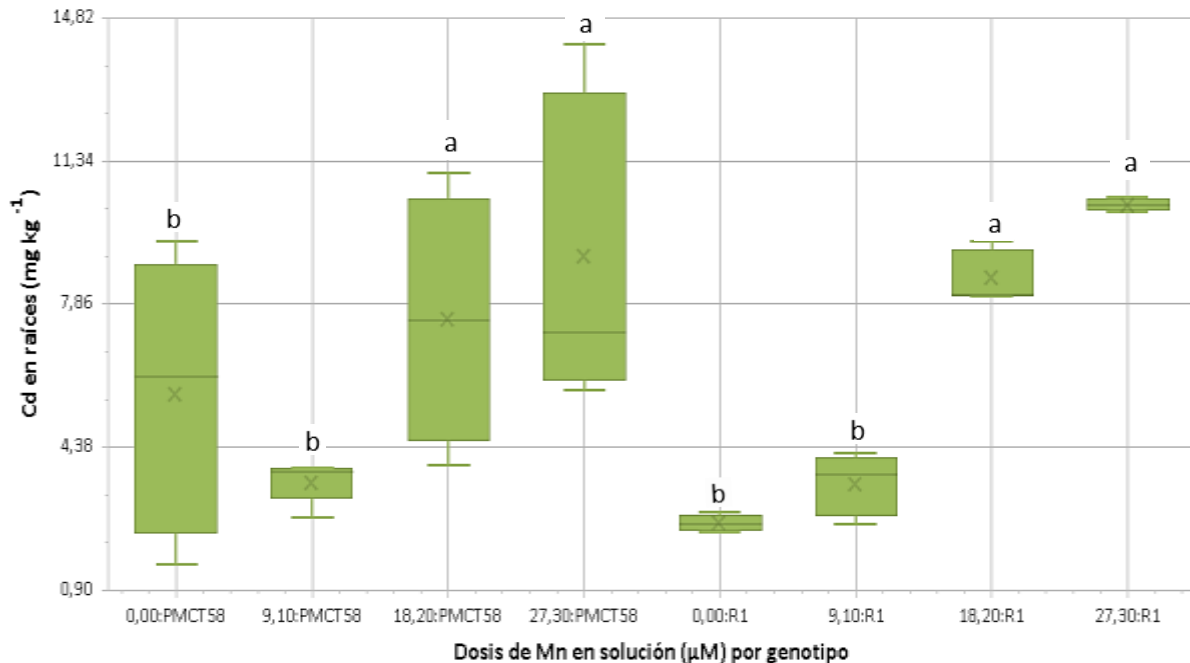


Figura 5. Concentración de Cd en raíces por variedad y dosis de Mn. Medias con una letra distinta son significativamente diferentes DGC ($p < 0,05$)

La masa de Cd acumulado en raíces (Figura 6) mostró diferencias entre las dosis de Mn ($p=0,02$). La mayor acumulación de Cd se observó en la dosis de 27,30 μM de Mn en la variedad CATIE-R1, mientras que para las dosis control, 9,10 y 18,20 μM de Mn la masa de Cd fue 3,57; 3,58 y 5,56 μg de Cd respectivamente. En la variedad PMCT-58, las medias de masa de Cd absorbido fueron estadísticamente similares entre las dosis con valores de 7,79; 3,28; 3,94 y 6,08 μg de Cd por planta para los tratamientos 9,10; 18,2 y 27,3 μM de Mn, respectivamente.

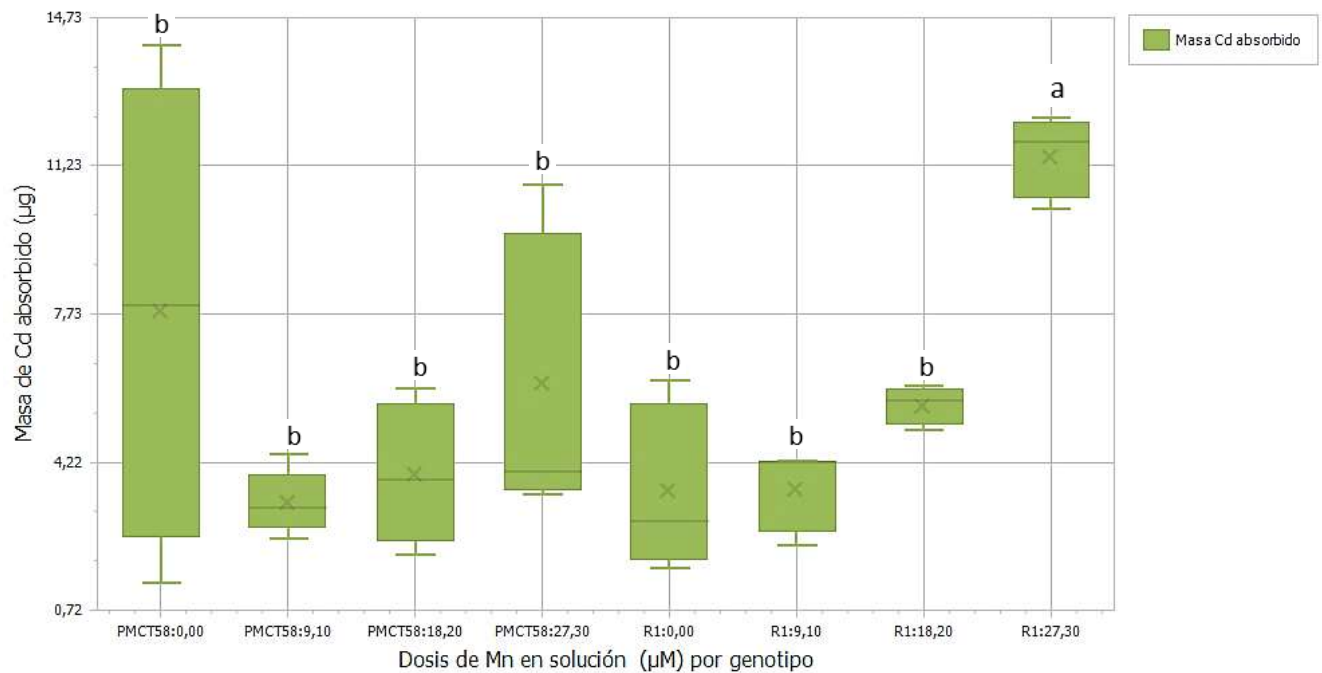


Figura 6. Masa de Cd acumulado en raíces por variedad y dosis de Mn. Medias con una letra distinta son significativamente diferentes DGC ($p < 0,05$)

4.1.3 Concentración de Mn y relación Mn/Cd en las plantas

En la variedad CATIE-R1, el incremento de la concentración de Mn en el tejido redujo ($p < 0,01$) el Cd en la parte aérea mediante el ratio Mn/Cd (Tabla 3). La diferencia de este ratio fue de un factor ~ 17 entre la dosis más alta y el control. Al contrario, no se determinó efecto de la aplicación de Mn sobre la concentración de Cd en la variedad PMCT-58. En la regresión de ambas concentraciones (Figura7), en el CATIE-R1, los datos de Cd entre $0,5$ a $2,28 \text{ mg kg}^{-1}$ se concentraron alrededor de los 870 mg kg^{-1} a de Mn y muestran un $R^2 = 0,30$. Estos resultados sugieren que las estrategias de mitigación basadas en el manejo de la nutrición con Mn están ligado a intrínsecos aspectos genéticos de las variedades y por lo tanto tendrán que ser específicos para cada variedad/país.

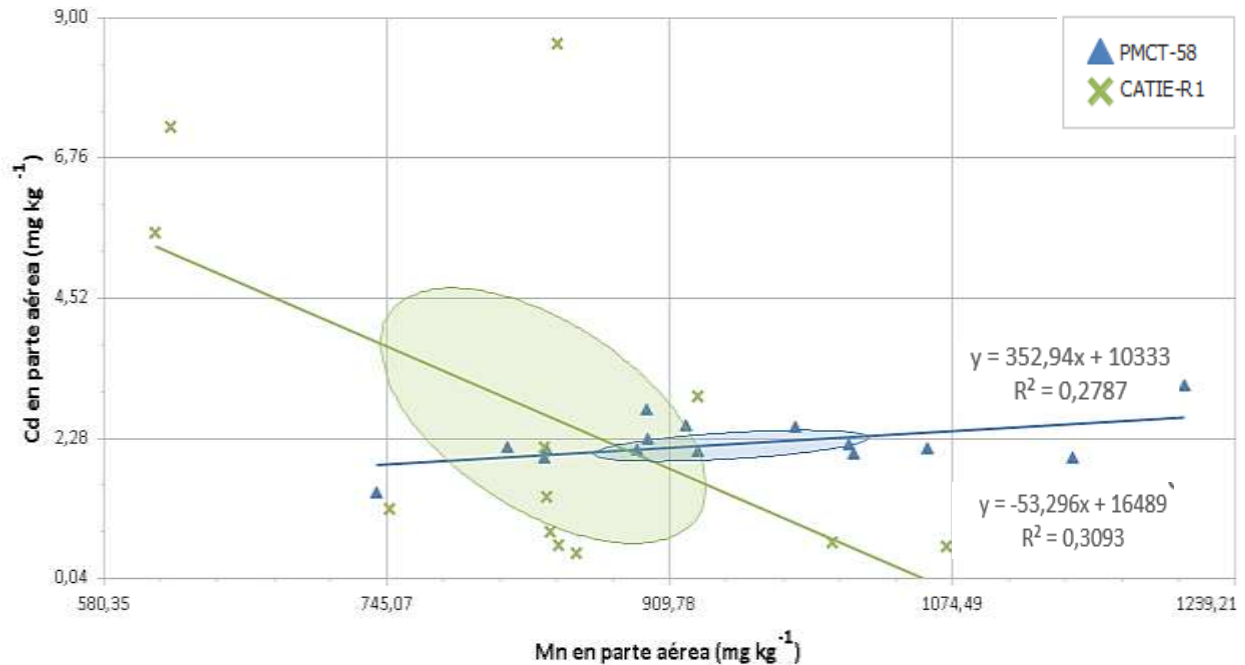


Figura 7. Regresión entre la concentración de Cd (mg kg^{-1}) y la concentración de Mn (mg kg^{-1}) en la parte aérea por variedad. Los contornos responden a los elipses de confianza ($p=0,05$)

4.1.4 Efecto en la absorción de macro y microelementos

La aplicación de dosis diferenciales de Mn no afectó ($p>0,05$) la concentración de elementos como P, K, Ca, Mg y S. El rango de valores fue de 0,10 a 0,40 % para P; 0,77 a 1,94 % para K; 0,25 a 0,75 % para Ca; 0,13 a 0,34 % para Mg y 0,20 a 0,32 % para S. Asimismo, no se detectó efecto en la concentración de los microelementos B, Cu, Fe y Zn ($p>0,05$). El rango de valores fue de 28,9 a 48,1 mg kg^{-1} para B; de 5,10 a 23,0 mg kg^{-1} para Cu; de 91,6 a 244 mg kg^{-1} para Fe y de 31,2 a 119 mg kg^{-1} para Zn (Anexo 2).

Tabla 3. Concentración de Mn y razón Mn/Cd en parte aérea

Variedad	Dosis Mn (μ M)	Mn ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)		Razón Mn/Cd	
		Media	D.E	Media	D.E
PMCT-58	--	911,5	\pm 81,66	405,11	\pm 43,53
	9,10	940,63	\pm 169,25	441,61	\pm 117,08
	18,20	940,87	\pm 112,11	463,48	\pm 40,04
	27,3	988,61	\pm 165,08	427,04	\pm 50,24
<i>p</i> =		0,88		0,57	
CATIE-R1	0,00	691,1	\pm 132,49	96,79	\pm 12,16 c
	9,10	866,96	\pm 51,3	404,49	\pm 162,13 b
	18,20	865,27	\pm 130	1099,92	\pm 510,50 a
	27,30	922,23	\pm 129,16	1528,56	\pm 494,96 a
<i>p</i> =		0,15		<0,001	

Medias con una letra distinta son significativamente diferentes DGC ($p < 0,05$)

4.2 Efecto de aplicación de Zn sobre la acumulación de Cd en dos variedades de cacao en condiciones controladas

4.2.1 Crecimiento de las plantas

Al igual que con el estudio anterior, se evaluaron variables de crecimiento y acumulación de biomasa seca para determinar si hay influencia de las dosis incrementales de Zn sobre estos parámetros (Tabla 4). De acuerdo con el análisis de los datos, no se detectaron diferencias entre las dosis para ninguna de las variables de crecimiento, de tal modo que, en de altura ($p=0,53$) la media fue de 15,5 cm para el PMCT-59 y de 15,3 para el CATIE-R1. En el peso seco de la parte aérea ($p=0,52$); la variedad PMCT-58 registró una media 1,29 g y de 1,28 g para el CATIE-R1; y en el peso seco de las raíces ($p=0,25$) las medias para el PMCT-58 y CATIE-R1 fueron de 0,86 g y 1,12 g, respectivamente.



Tabla 4. Medias y desviación estándar de las variables de altura y biomasa por variedad y dosis de Zn

Elemento	Dosis (μM)	Variedad	Altura		Peso seco parte aérea (g)		Peso seco raíces (g)	
			media	D.E	media	D.E	media	D.E
		<i>p=</i>	<i>0,53</i>		<i>0,52</i>		<i>0,25</i>	
Zn	0,00	PMCT-58	16,1 ± 3,42		1,34 ± 0,29		0,81 ± 0,17	
		CATIE-R1	15,7 ± 2,88		1,31 ± 0,24		0,79 ± 0,12	
	7,64	PMCT-58	13,3 ± 0,71		1,11 ± 0,06		0,93 ± 0,15	
		CATIE-R1	15,2 ± 7,40		1,27 ± 0,62		1,27 ± 0,62	
	15,3	PMCT-58	14,3 ± 0,84		1,19 ± 0,07		0,82 ± 0,13	
		CATIE-R1	20,2 ± 11,2		1,68 ± 0,93		0,99 ± 0,21	
	23,0	PMCT-58	18,3 ± 3,18		1,52 ± 0,27		0,87 ± 0,10	
		CATIE-R1	10,2 ± 1,84		0,85 ± 0,15		1,42 ± 0,62	

4.2.2 Efecto del zinc (Zn) sobre la acumulación de cadmio

En la variedad CATIE-R1 las diferentes dosis de Zn se observa una concentración similar (Figura 8). Por otra parte, la variedad CATIE-R1 mostró las concentraciones de Cd más altas; sin mostrar diferencias entre las dosis ($p=40$); no obstante, los datos reflejan una ligera tendencia a la disminución de la concentración con respecto a la dosis más alta de Zn, de forma que, en el tratamiento control se obtuvo una concentración de de Cd $10,65 \text{ mg kg}^{-1}$ y los tratamientos 7,64; 15,29 y 22,94 μM de Zn mostraron medias de 9,34; 9,29 y 8,27 mg kg⁻¹ Cd. En la variedad PMCT-58 se esperaba un efecto similar al obtenido en el estudio con Mn, por tratarse de un material de baja extracción. Sin embargo, en el tratamiento control (sin adición de Zn) la concentración media de Cd fue $9,91 \text{ mg kg}^{-1}$; la cual supera en ~5 veces la concentración reportada en el estudio de variedades y en el de Mn. Las medias obtenidas por los tratamientos 7,64; 15,29 y 22,94 μM de Zn fueron de 3,06; 4,01 y 3,76 mg kg⁻¹, respectivamente. En cuanto a la masa del Cd absorbido (Figura 9), no se determinó significancia en la interacción entre la dosis de Zn y variedad ($p=0,31$) con medias de 6,20 μg de Cd en el PMCT-58 y 12,18 μg de Cd en el CATIE-R1.

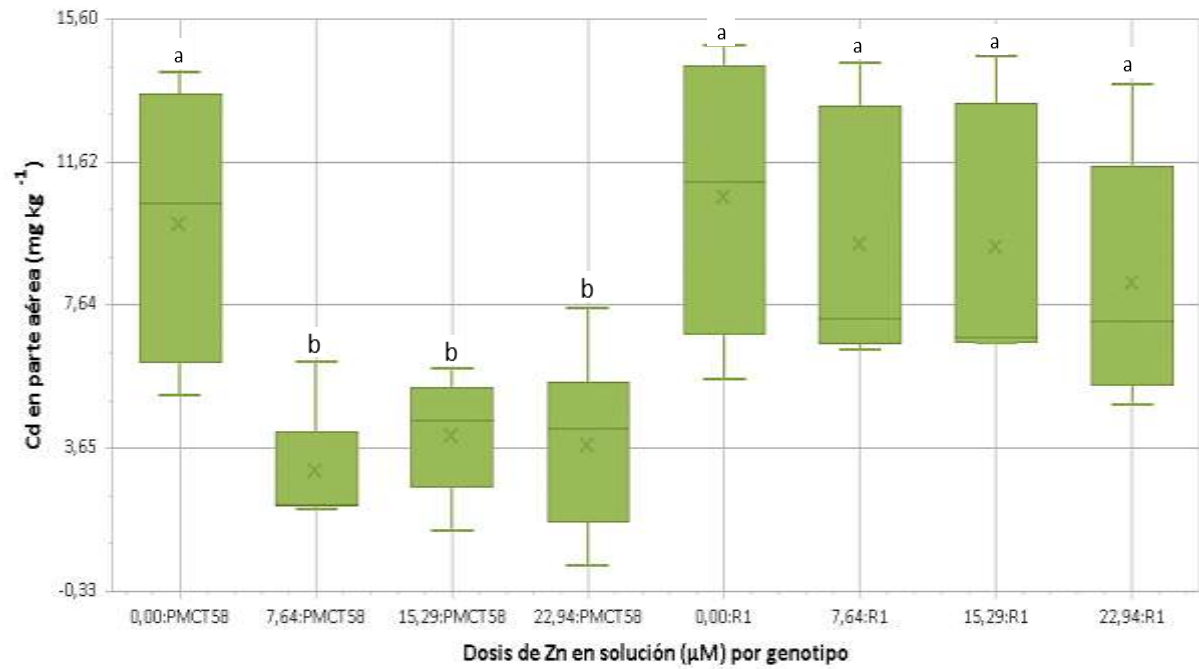


Figura 8. Concentración de Cd en parte aérea por variedad y dosis de Zn. Medias con una letra distinta son significativamente diferentes DGC ($p < 0,05$)

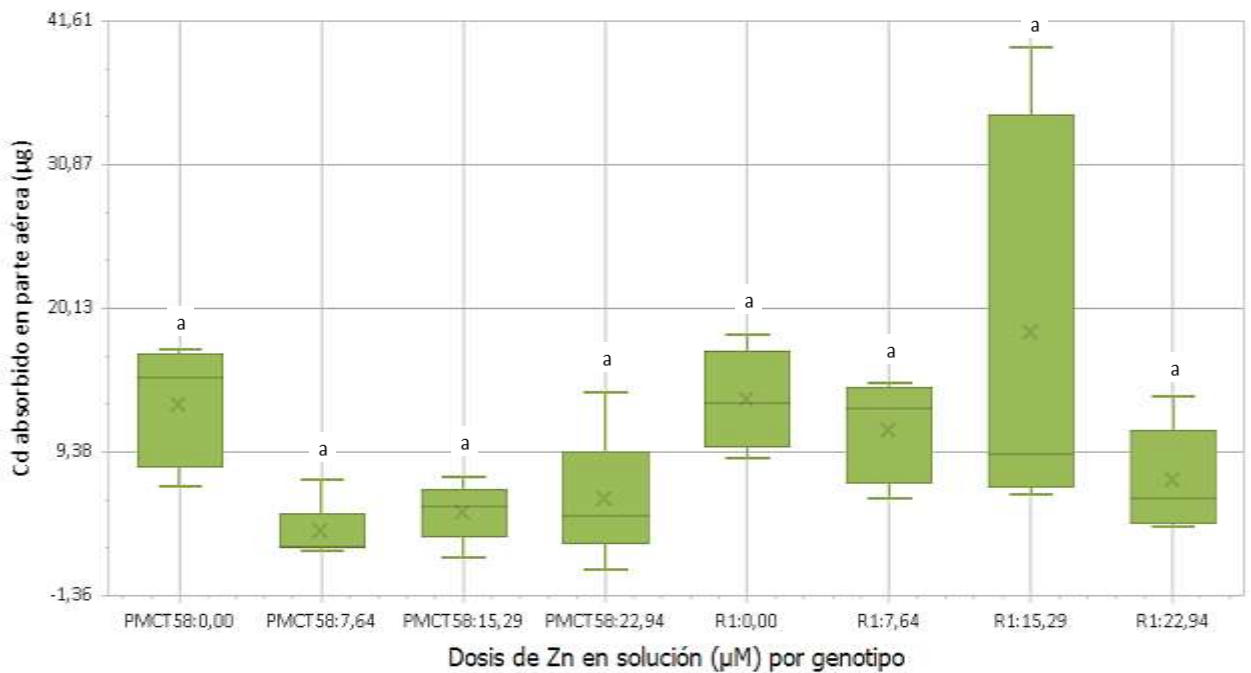


Figura 9. Masa de Cd absorbido en la parte aérea por variedad y dosis de Zn. Medias con una letra distinta son significativamente diferentes DGC ($p < 0,05$)

A nivel radicular, no se detectó diferencias en la concentración de Cd ($p=0,20$) (Figura 10 y 11). La media de concentración para el PMCT-58 fue de $10,41 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd y para el CATIE-R1 fue de $7,86 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd. Consistentemente, no se obtuvieron diferencias en la masa del Cd acumulado ($p= 0,94$). El valor promedio para el PMCT-58 fue de $9,13 \text{ } \mu\text{g}$ de Cd y de $9,21 \text{ } \mu\text{g}$ de Cd para el CATIE-R1.

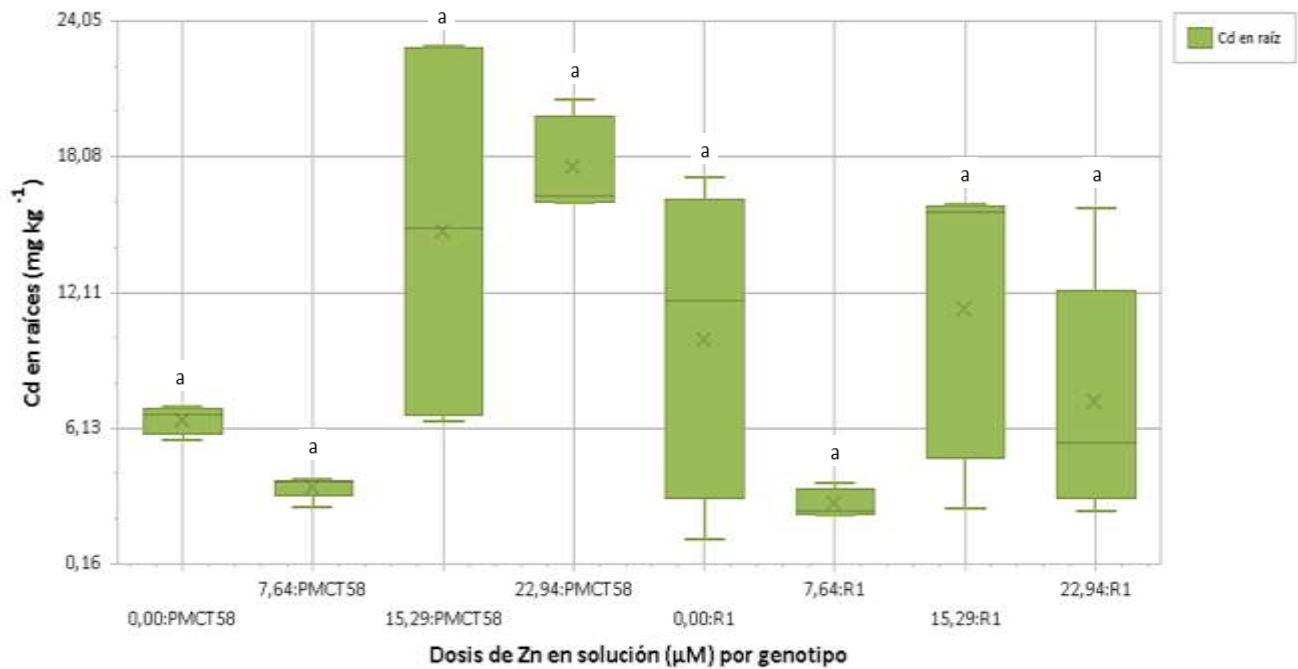


Figura 10. Concentración de Cd en raíces según dosis de Zn (mg kg^{-1}) y variedad

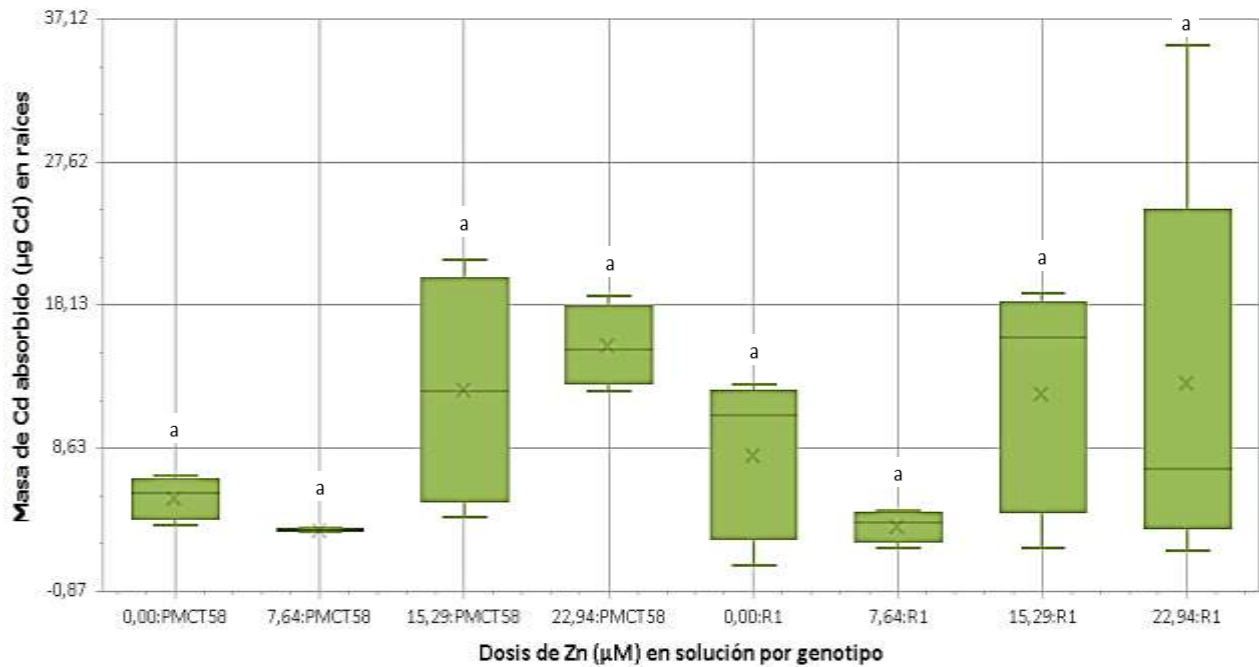


Figura 11. Masa de Cd absorbido en raíces por dosis de Zn en solución y variedad

4.2.3 Concentración de Zn en parte aérea y relación Zn/Cd

En cuanto a la concentración de Zn y la razón de este respecto a Cd en la parte aérea (Tabla 5); no se determinó diferencias entre los tratamientos ($p=0,50$); no obstante, se puede observar una tendencia débil) al incremento de este elemento al incrementar la dosis en la solución nutritiva en ambas variedades (PMCT-58 $R^2=0,09$; CATIE-R1 $R^2=0,16$) (Figura 12). Entre las variedades se determinó concentraciones similares de Zn, en el CATIE-R1 la media fue de 83,82 y de 64,4 mg kg^{-1} Cd para el PMCT-58. Asimismo, en la razón Zn/Cd no se determinaron diferencias ($p=0,26$). La relación entre el tratamiento control y la dosis más alta de Zn (22,94 μM de Zn) fue de ~ 14 veces en CATIE-R1 y ~ 46 en el PMCT-58.

Tabla 5. Concentración de Zn y razón Zn/Cd en el tejido aéreo

Clon	Dosis Zn (μM)	Zn ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)		Razón Zn/Cd	
		Media	DE	Media	DE
CATIE-R1	0,0	49,8 \pm 10,9		9,82 \pm 6,00	
	7,64	53,9 \pm 19,9		12,3 \pm 7,62	
	15,3	73,3 \pm 8,31		15,2 \pm 5,10	
	22,9	78,1 \pm 28,6		18,9 \pm 8,37	
PMCT-58	0,0	58,9 \pm 11,3		12,2 \pm 7,39	
	7,64	60,6 \pm 6,75		41,1 \pm 15,5	
	15,3	66,6 \pm 6,27		40,6 \pm 35,4	
	22,9	69,8 \pm 2,46		88,9 \pm 129	

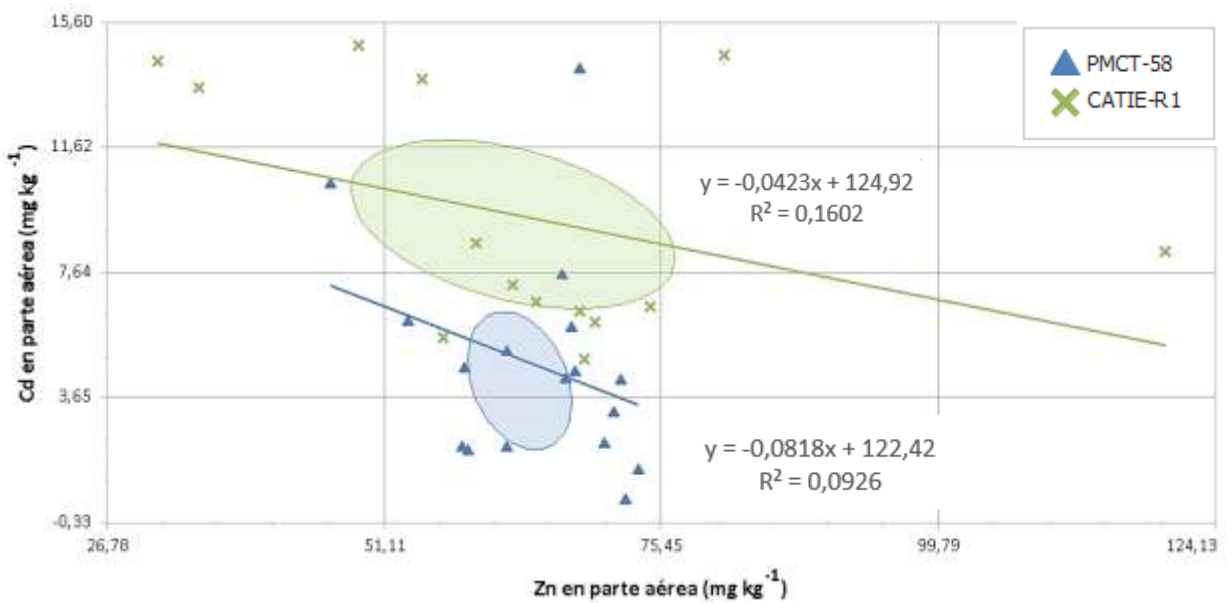


Figura 12. Regresión entre las concentraciones de Cd y Zn en el tejido aéreo por variedad

4.3 Efecto sobre la absorción de macro y microelementos

4.3.1 Efecto sobre la absorción de micronutrientes

No se determinaron diferencias en las concentraciones de los elementos P, K, Ca, Mg y S, ($p > 0,05$) de la parte aérea. El rango de concentraciones fue de 0,18 a 0,40 % para P; 0,77 a 1,94 % para K; 0,25 a 0,75 % para Ca; 0,13 a 0,34 % para Mg y 0,20 a 0,32 % para S. Asimismo, no se determinó significancia en la concentración de los microelementos Cu, Fe y Mn ($p > 0,05$). En B se determinaron diferencias en la variedad CATIE-R1. El tratamiento de 7,64 μM de Zn fue superior con respecto a los demás tratamientos. El rango de valores fue de 32,60 a 48,10 mg kg^{-1} para B; 5,10 a 23,00 mg kg^{-1} para Cu; de 93,80 a 229,90 mg kg^{-1} para Fe; de 285,00 a 1364,70 mg kg^{-1} para Mn y 31,20 a 119,70 mg kg^{-1} para Zn. En el tejido de la parte aérea no se detectaron diferencias en la concentración elemental de Zn ni en la razón Zn/Cd en ninguno de las variedades (Anexo 2).

5. Discusión


Para el estudio del efecto de nutrientes (Mn y Zn) en la absorción de Cd, se consideraron dos variedades, con capacidad de absorción contrastantes (~5 veces de diferencia), el CATIE-R1 (mayor absorción) y el PMCT-58 (menor absorción) (ver producto 1 del presente proyecto <https://www.fontagro.org/new/proyectos/plataforma-cacao-2030>). Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que las variedades tienen una forma diferenciada de asimilación de Cd y elementos similares a éste. Estudios de campo e invernadero han identificado la relación de Cd con otros macro y micronutrientes en diferentes tejidos de la planta de cacao (Arévalo-Gardini et al., 2017; Argüello et al., 2019; Arévalo-Hernández et al., 2021; Bravo et al., 2021; Carrillo et al., 2023). Esta relación puede ser debida a que las plantas en general utilizan mecanismos fisiológicos similares para la absorción de nutrientes análogos a Cd, incluso algunos metales (Barati et al., 2023).

Se ha reportado que microelementos como Zn, Fe, Se y Mn pueden mitigar el estrés fisiológico provocado por el Cd mediante la activación de mecanismos para evitar y/o tolerar niveles de Cd en las plantas (Sarwar et al., 2010; Wu et al., 2021). Entre estos se destacan: la síntesis de compuestos polisacáridos y proteínas metalotioneínas; competencia con el Cd por los transportadores de membrana; reducción del estrés oxidativo mediante la producción de antioxidantes; y restauración de la estructura de la clorofila dañada por la toxicidad de Cd (Choppala et al., 2014; Wu et al., 2021).

5.1 Efecto de aplicación de Mn sobre la acumulación de Cd en dos variedades de cacao en condiciones controladas

El efecto de la adición de dosis incrementales de Mn se observa de forma muy clara en la variedad de alta acumulación de Cd (CATIE-R1). En la parte aérea de las plantas, el tratamiento de 9,10 μM de Mn evidenció una reducción promedio equivalente a 3,33 veces; y en los tratamientos de 18,20 y 27,30 μM de Mn, la reducción fue de 9 y ~12 veces respecto al tratamiento control. Efectos parcialmente similares han sido reportados por (Liu et al., 2013) en un estudio en hidroponía en plántulas de *Phytolacca acinosa* Roxb; en el que al aumentar la relación de Mn con respecto a Cd, se redujo la concentración de este metal entre 3 a ~5 veces. Es importante resaltar que esta especie es tolerante a Cd e hiperacumuladora de Mn. Asimismo, otro estudio de mitigación de Cd en plantas de arroz en condiciones controladas, la aplicación de 180 mg Mn kg^{-1} suelo redujo ~2 veces la concentración de Cd foliar en comparación con plantas sin aplicación (Liang et al., 2022).

Sobre la reducción del Cd en la parte aérea obtenida en este estudio, otros reportes en cacao han reportado que la concentración de Mn a nivel foliar incrementa la capacidad predictiva de Cd en diferentes tejidos (Argüello et al., 2019; Bravo et al., 2021) y que existe un efecto significativo entre el Mn total en el suelo y la concentración Cd en almendra de cacao (Vanderschueren et al.,




2021). Mientras que, en una revisión de 35 experimentos conducidos entre el 2005 al 2021 sobre mitigación de Cd con aplicación exógena de Mn en diferentes especies de plantas, el 86,5% de éstos presentaron una disminución del metal pesado en los brotes. En estos mismos casos, las concentraciones de Mn se encontraron en más de 1000 mg kg⁻¹ en el tejido (Wu et al., 2021).

En este estudio, de forma contrastante con los resultados obtenidos con el CATIE-R1, la variedad PMCT-58 no mostró respuesta en la acumulación del Cd lo cual es esperado ya que es una variedad de baja acumulación, como se indica en el producto 1 del proyecto. En concordancia con lo anterior, en un estudio de Barraza et al., (2021) se determinó diferentes tendencias en la acumulación de elementos como Zn, Mn, Cd, Ba, Cu y Ni en cinco variedades de cacao en Ecuador; así como correlaciones diferenciadas según la variedad. Mientras que, Arévalo-Hernández et al., (2021), identificaron en condiciones de invernadero, dos variedades de cacao de baja absorción de Cd (ICT1292 & AYP 22); los cuales contenían la mayor concentración de Mn en el tejido. Lo anterior sugiere que la respuesta del Mn en la mitigación del Cd puede estar ligada a un factor variedad-dependiente, de forma congruente como lo mostraron los resultados del presente estudio.

A nivel radicular, los resultados para ambas variedades evidenciaron que las dosis de 18,2 y 27,3 µM de Mn mostraron las concentraciones de Cd más altas en este tejido. Esto puede estar relacionado a que el Cd comparte transportadores o canales con elementos esenciales, como el Fe, Mn y Zn; que generalmente son absorbidos como cationes divalentes al igual que el Cd (Sarwar et al., 2010; Wu et al., 2021). Para el caso de la variedad CATIE-R1, los valores de mayor concentración de Cd en las raíces coinciden con los de menor absorción en el tejido aéreo, lo cual estar relacionado a un efecto sobre la transferencia interna del metal pesado a los órganos superiores. Los valores de FTI obtenidos (según la ecuación 2) en este estudio fueron de 2,37; 0,62; 0,09 y 0,06 para las dosis control, 9,10; 18,2 y 27,3 µM de Mn en solución respectivamente. Este efecto ha sido reportado por dos Santos et al., (2020) en la variedad CCN-51, inmovilizó el Cd en las raíces como una estrategia de tolerancia; con la diferencia que este efecto fue obtenido por la aplicación de Zn.

Para una mayor comprensión de la interacción del Mn con el Cd en el tejido aéreo en la variedad CATIE-R1, se calculó la razón Mn/Cd. La razón entre ambos elementos incrementó al aumentar la concentración de Mn en la solución nutritiva, es decir, el incremento en la concentración de Mn en el tejido desplazó al Cd (Figura 7). Estadísticamente, las mayores relaciones se determinaron en los tratamientos 18,2 y 27,3 µM de Mn. Estos resultados coinciden con los de Liu et al., (2013) en *P. acinosa* Roxb, donde al incrementar la relación molar de Mn/Cd se redujo significativamente la concentración de Cd y a su vez aumentó la concentración de Mn en el tejido aéreo. Los autores sugieren que la mitigación con micronutrientes debe de enfocarse en la relación molar más que en las concentraciones de forma independiente.

Otros efectos de este micronutriente en el cultivo de cacao es la capacidad de mitigar los efectos tóxicos provocados por Cd y Pb en altas concentraciones en plántulas de la variedad CCN-51; no obstante, estos estudios utilizaron en común concentraciones de Cd que exceden las




concentraciones en los que ambientalmente se encuentra en el suelo (Oliveira et al., 2020; Apraez Muñoz et al., 2021; Pinto et al., 2023). Los hallazgos obtenidos destacan el potencial de mitigación del Mn y rol de la interacción con la variedad. Es importante considerar que la mayoría de las plantas usadas como patrón son propagadas por semilla, por lo que pueden considerarse como “híbridos” naturales. Los resultados observados en nuestro estudio solo podrán extrapolarse a condiciones de campo si la propagación es hecha de forma asexual, como por ejemplo, plantas enraizadas. En este sentido, se resalta la importancia de la selección y los programas de fitomejoramiento de variedades de cacao de baja absorción de Cd; en conjunto con el desarrollo de estrategias integrales de mitigación del Cd en el cultivo de cacao.

5.2 Efecto de aplicación de Zn sobre la acumulación de Cd en dos variedades de cacao en condiciones controladas

Los resultados de este estudio mostraron valores de concentración de Cd en los tejidos aéreos entre 3 a 5 veces más que en el estudio de variedades y el de Mn. Estos resultados pueden estar asociados a una sobre dosificación del Cd en la solución nutritiva. Es por tal razón que se discutirán las tendencias reflejadas en los resultados y no se profundizará en los valores medios como tal, debido a que la concentración final de Cd en la solución nutritiva no sería comparable respecto a los valores que se encuentran ambientalmente en los suelos de las fincas y regiones cacaoteras.

No obstante algunos resultados fueron consistentes, como el comportamiento de la variedad CATIE-R1 con una mayor acumulación de Cd en concentración y en masa de Cd acumulado, con respecto al PMCT-58. Si bien, en este estudio no se dilucidaron mecanismos de absorción del Cd y Zn; la información generada propicia un estudio específico y más profundo. Los resultados destacan dos materiales contrastantes en cuanto a capacidad de absorción de Cd y que pueden ser utilizados como línea base para estos estudios moleculares y el desarrollo de medidas genéticas para la mitigación del Cd (Ullah et al., 2018; Lewis et al., 2018; Maddela et al., 2020). Para ello, es necesario determinar los genes implicados en la absorción de Cd desde el suelo a las raíces y su translocación a la parte aérea por el xilema. En lo que respecta a otras especies de plantas, la baja acumulación de Cd es controlada por un único gen dominante, cuyo rasgo es altamente hereditario (Grant et al., 2008).

En el presente estudio, en la variedad PMCT-58 la concentración de Cd en el tejido aéreo mostrará medias similares de 3,06; 4,01 y 3,76 mg kg⁻¹ en las dosis de 7,64; 15,3 y 23,0 μM de Zn, respectivamente. Con estos valores se podría inferir que, las dosis incrementales no afectaron la acumulación del Cd. Estos resultados son esperables al tratarse de una variedad de baja absorción. Lo anterior es congruente con lo reportado por Barraza et al., (2021), quienes reportaron diferentes tendencias en la acumulación de elementos como Zn, Mn, Cd, Ba, Cu y Ni en cinco variedades de cacao en Ecuador; así como correlaciones diferenciadas según la variedad. Estas mismas diferencias relacionadas a la variedad explicarían la tendencia mostrada por el



CATIE-R1, en el que se observó un descenso (no significativo estadísticamente), en la concentración de Cd en el tejido aéreo al incrementar la dosis de Zn (Figura 12). Estos datos deben ser corroborados posteriormente, debido a la importancia que representa el estudio de estas interacciones.

En la literatura se han reportado relaciones contrarias sobre como afecta el Zn en el contenido de Cd en los tejidos aéreos de cacao. dos Santos et al., (2021) determinaron que el aumento del Zn en el suelo inhibe la absorción y translocación de Cd en plantas de cacao (*var.* CCN-51). Sin embargo, los autores adicionaron una concentración muy alta de Cd en el suelo que no es ambientalmente comparable con el nuestro. Otros investigadores han determinado correlaciones inversas entre Zn en las hojas y Cd en la almendra de cacao; por lo que se hipotetiza respecto al rol del Zn en la mitigación de Cd (Lewis et al., 2018; Argüello et al., 2019). Por el contrario, también se han determinado relaciones en las que suponen que el Zn tiene un efecto positivo en la acumulación de Cd en el cacao (Arévalo-Gardini et al., 2017; Carrillo et al., 2023); probablemente asociado a que una baja disponibilidad de Zn en la solución de suelo puede desencadenar la absorción de Cd por las plantas en general, por tratarse de elementos análogos (Chaney, 2010a; Chaney et al., 2010b). A la fecha, no se cuenta con información concluyente sobre la interacción del Zn con Cd en los tejidos de cacao o su potencial mitigación por lo que destaca la necesidad de ampliar la investigación y los factores involucrados en torno a las relaciones Cd y Zn (Vanderschueren et al., 2021).

6. Conclusiones

Se determinó que las aplicaciones incrementales de Mn disminuyeron la concentración del Cd en la parte aérea de las plantas de la variedad de mayor absorción de Cd (CATIE-R1) en condiciones controladas. En este sentido, se propone escalar estos estudios en condiciones de campo en variedades acumuladores, para determinar el efecto de este elemento sobre la acumulación de este metal pesado en las almendras de cacao.


Se determinó que la variedad de cacao ejerce influencia en la absorción de Mn y Zn, y que esta absorción diferencial tiene influencia en la reducción de Cd. La variedad PMCT-58 mostró baja capacidad de absorber y translocar el Cd a los tejidos aéreos, que puede estar relacionada además a una menor eficiencia para absorber Mn. Se propone esta variedad como material base en programas de mejoramiento genético, estudios a nivel molecular para determinar los genes ligados a la toma y movilización del Cd y en estrategias de manejo de copas y patrones para reducir los niveles de Cd en almendra de cacao.


No se determinó un efecto claro de la respuesta de las dosis incrementales de Zn sobre la absorción de Cd en variedades contrastantes en condiciones controladas. Por tal motivo, se propone continuar con este tipo de estudios a fin de dilucidar el efecto de este y otros microelementos en la toma y movilización del Cd hacia los tejidos aéreos.


Para complementar este estudio, es necesario incluir variedades de otros países, previamente identificadas como de baja y alta absorción del contaminante (ver producto 1 de la plataforma). Estas variedades deberían de probarse en invernadero, para conocer las características de absorción de Mn y Zn, y simultáneamente en campo, para evaluar su capacidad productiva y resistencia a sequía y enfermedades.


Referencias Bibliográficas

- Abt, E., & Robin, L. P. (2020). Perspective on Cadmium and Lead in Cocoa and Chocolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(46), 13008-13015. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b08295>
- Apraez Muñoz, J. J., De Almeida, A.-A. F., Pirovani, C. P., Ahnert, D., & Baligar, V. C. (2021). Mitigation of Pb toxicity by Mn in seedling of the cacao clonal CCN 51 genotype grown in soil: Physiological, biochemical, nutritional and molecular responses. *Ecotoxicology*, 30(2), 240-256. <https://doi.org/10.1007/s10646-021-02348-y>
- Arévalo-Gardini, E., Arévalo-Hernández, C. O., Baligar, V. C., & He, Z. L. (2017). Heavy metal accumulation in leaves and beans of cacao (*Theobroma cacao* L.) in major cacao growing regions in Peru. *Science of The Total Environment*, 605-606, 792-800. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.122>
- Arévalo-Hernández, C. O., Arévalo-Gardini, E., Barraza, F., Farfán, A., He, Z., & Baligar, V. C. (2021). Growth and nutritional responses of wild and domesticated cacao genotypes to soil Cd stress. *Science of The Total Environment*, 763, 144021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144021>
- Argüello, D., Chavez, E., Laurysen, F., Vanderschueren, R., Smolders, E., & Montalvo, D. (2019). Soil properties and agronomic factors affecting cadmium concentrations in cacao beans: A nationwide survey in Ecuador. *Science of The Total Environment*, 649, 120-127. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.292>
- Barati, E., Moore, R. E. T., Ullah, I., Kreissig, K., Coles, B. J., Dunwell, J. M., & Rehkämper, M. (2023). An investigation of zinc isotope fractionation in cacao (*Theobroma cacao* L.) and comparison of zinc and cadmium isotope compositions in hydroponic plant systems under high cadmium stress. *Scientific Reports*, 13(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-30899-z>
- Barraza, F., Schreck, E., Lévêque, T., Uzu, G., López, F., Ruales, J., Prunier, J., Marquet, A., & Maurice, L. (2017). Cadmium bioaccumulation and gastric bioaccessibility in cacao: A field study in areas impacted by oil activities in Ecuador. *Environmental Pollution*, 229, 950-963. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.07.080>
- Barraza, F., Schreck, E., Uzu, G., Lévêque, T., Zouiten, C., Boidot, M., & Maurice, L. (2021). Beyond cadmium accumulation: Distribution of other trace elements in soils and cacao beans in Ecuador. *Environmental Research*, 192, 110241. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110241>
- Bernard, A. (2008). Cadmium & its adverse effects on human health. *INDIAN J MED RES*.

- 
- Bravo, D., Leon-Moreno, C., Martínez, C. A., Varón-Ramírez, V. M., Araujo-Carrillo, G. A., Vargas, R., Quiroga-Mateus, R., Zamora, A., & Rodríguez, E. A. G. (2021). The First National Survey of Cadmium in Cacao Farm Soil in Colombia. *Agronomy*, 11(4), 761. <https://doi.org/10.3390/agronomy11040761>
- Carrillo, K., Martínez, M., Ramírez, L., Argüello, D., & Chavez, E. (2023). Cadmium (Cd) distribution and soil-plant relationship in cacao farms in Costa Rica. *Environmental Monitoring and Assessment*, 195(10), 1209. <https://doi.org/10.1007/s10661-023-11817-2>
- Chaney, R. L. (2010a). Cadmium and Zinc. En P. S. Hooda (Ed.), *Trace Elements in Soils* (1.^a ed., pp. 409-439). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781444319477.ch17>
- Chaney, R. L., Broadhurst, C. L., & Centofanti, T. (2010b). Phytoremediation of Soil Trace Elements. En P. S. Hooda (Ed.), *Trace Elements in Soils* (1.^a ed., pp. 311-352). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781444319477.ch14>
- Cruz, R. A., & Cañas, P. C. (2018). La importancia de la exportación del cacao en Colombia y los países en América Latina. *Revista Investigación & Gestión*, 1(1), Article 1. <https://doi.org/10.22463/26651408.1514>
- Chavez, E., He, Z. L., Stoffella, P. J., Mylavarapu, R. S., Li, Y. C., Moyano, B., & Baligar, V. C. (2015). Concentration of cadmium in cacao beans and its relationship with soil cadmium in southern Ecuador. *Science of The Total Environment*, 533, 205-214. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.106>
- Choppala, G., Nanthi, S., Sadia, B., Zed, M., Kunhikrishnan, A., Sik, Y. (2014). Cellular Mechanisms in Higher Plants Governing Tolerance to Cadmium Toxicity. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 33:5, 374-391. <http://dx.doi.org/10.1080/07352689.2014.903747>
- de Almeida, N. M., de Almeida, A.-A. F., Santos, N. de A., do Nascimento, J. L., de Carvalho Neto, C. H., Pirovani, C. P., Ahnert, D., & Baligar, V. C. (2022). Scion-rootstock interaction and tolerance to cadmium toxicity in juvenile Theobroma cacao plants. *Scientia Horticulturae*, 300, 111086. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111086>
- Di Rienzo, J. A., Guzmán, A. W., & Casanoves, F. (2002). A multiple-comparisons method based on the distribution of the root node distance of a binary tree. *Journal of agricultural, biological, and environmental statistics*, 7(2), 129-142.
- dos Santos, M. L. S., de Almeida, A.-A. F., da Silva, N. M., Oliveira, B. R. M., Silva, J. V. S., Junior, J. O. S., Ahnert, D., & Baligar, V. C. (2020). Mitigation of cadmium toxicity by zinc in juvenile cacao: Physiological, biochemical, molecular and micromorphological responses. *Environmental and Experimental Botany*, 179, 104201. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104201>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2018). Plan Nacional de cacao. Recuperado 2 de octubre de 2023, de <https://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/E14-11072.pdf>

- 
- European Food Safety Authority. (2012). *Cadmium dietary exposure in the European population*. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2551>
- Fatima, G., Raza, A. M., Hadi, N., Nigam, N., & Mahdi, A. A. (2019). Cadmium in Human Diseases: It's More than Just a Mere Metal. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 34(4), 371-378. <https://doi.org/10.1007/s12291-019-00839-8>
- Florida Rofner, N. (2021). Revisión sobre límites máximos de cadmio en cacao (*Theobroma cacao* L.). *La Granja*, 34(2), 117-130. <https://doi.org/10.17163/lgr.n34.2021.08>
- Galvis, D. A., Jaimes-Suárez, Y. Y., Rojas Molina, J., Ruiz, R., León-Moreno, C. E., & Carvalho, F. E. L. (2023). Unveiling Cacao Rootstock-Genotypes with Potential Use in the Mitigation of Cadmium Bioaccumulation. *Plants*, 12(16), Article 16. <https://doi.org/10.3390/plants12162941>
- Gil, A., Brennan, M., Chaudhary, A. K., & Maximova, S. N. (2023). Evaluation of cacao projects in Colombia: The case of the rural Productive Partnerships Project (PAAP). *Evaluation and Program Planning*, 97, 102230. <https://doi.org/10.1016/j.evalprogplan.2023.102230>
- Godt, J., Scheidig, F., Grosse-Siestrup, C., Esche, V., Brandenburg, P., Reich, A., & Groneberg, D. A. (2006). The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 1(1), 22. <https://doi.org/10.1186/1745-6673-1-22>
- Grant, C. A., Clarke, J. M., Duguid, S., & Chaney, R. L. (2008). Selection and breeding of plant cultivars to minimize cadmium accumulation. *Science of The Total Environment*, 390(2-3), 301-310. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.10.038>
- Kumar, S., & Sharma, A. (2019). Cadmium toxicity: Effects on human reproduction and fertility. *Reviews on Environmental Health*, 34(4), 327-338. <https://doi.org/10.1515/reveh-2019-0016>
- León, F., Calderón, J., & Quintero., E. (2016). Estrategias para el cultivo, comercialización y Exportación del cacao fino de aroma en Ecuador. *Revista Ciencia UNEMI*. Recuperado 2 de octubre de 2023, de <https://www.redalyc.org/pdf/5826/582663825007.pdf>
- Lewis, C., Lennon, A. M., Eudoxie, G., & Umaharan, P. (2018). Genetic variation in bioaccumulation and partitioning of cadmium in *Theobroma cacao* L. *Science of The Total Environment*, 640-641, 696-703. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.365>
- Liang, Y., Wu, Q.-T., Lee, C. C. C., Jiang, C., & Wei, Z. (2022). Evaluation of manganese application after soil stabilization to effectively reduce cadmium in rice. *Journal of Hazardous Materials*, 424, 127296. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127296>
- Liu, H., Zhang, Y., Chai, T., Tan, J., Wang, J., Feng, S., & Liu, G. (2013). Manganese-mitigation of cadmium toxicity to seedling growth of *Phytolacca acinosa* Roxb. Is controlled by the manganese/cadmium molar ratio under hydroponic conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 73, 144-153. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.09.010>

- 
- Maddela, N. R., Kakarla, D., García, L. C., Chakraborty, S., Venkateswarlu, K., & Megharaj, M. (2020). Cocoa-laden cadmium threatens human health and cacao economy: A critical view. *Science of The Total Environment*, 720, 137645. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137645>
- Forero, N., & Reyes, L. (2022). Caracterización de Estrategias de Marketing Internacional para el cultivo de Cacao (*Theobroma cacao* L.) en Colombia. Tesis. <https://repositorio.ucundinamarca.edu.co/bitstream/handle/20.500.12558/4556/Forero%20Mart%c3%adnez%20Nasly%20Yuliza%20-%20Reyes%20Ni%c3%b1o%20Lida%20Natalia.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Moore, R. E. T., Ullah, I., de Oliveira, V. H., Hammond, S. J., Strekopytov, S., Tibbett, M., Dunwell, J. M., & Rehkämper, M. (2020). Cadmium isotope fractionation reveals genetic variation in Cd uptake and translocation by *Theobroma cacao* and role of natural resistance-associated macrophage protein 5 and heavy metal ATPase-family transporters. *Horticulture Research*, 7(1), 71. <https://doi.org/10.1038/s41438-020-0292-6>
- Oliveira, B. R. M., de Almeida, A.-A. F., Pirovani, C. P., Barroso, J. P., de C. Neto, C. H., Santos, N. A., Ahnert, D., Baligar, V. C., & Mangabeira, P. A. O. (2020). Mitigation of Cd toxicity by Mn in young plants of cacao, evaluated by the proteomic profiles of leaves and roots. *Ecotoxicology*, 29(3), 340-358. <https://doi.org/10.1007/s10646-020-02178-4>
- Quintero R, M. L., & Díaz Morales, K. M. (2004). El mercado mundial del cacao. *Agroalimentaria*, 9(18), 47-59.
- Scaccabarozzi, D., Castillo, L., Aromatisi, A., Milne, L., Búllon Castillo, A., & Muñoz-Rojas, M. (2020). Soil, Site, and Management Factors Affecting Cadmium Concentrations in Cacao-Growing Soils. *Agronomy*, 10(6), 806. <https://doi.org/10.3390/agronomy10060806>
- Suhani, I., Sahab, S., Srivastava, V., & Singh, R. P. (2021). Impact of cadmium pollution on food safety and human health. *Current Opinion in Toxicology*, 27, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2021.04.004>
- Sarwar, N., Sukhdev, S., Hussain, M., Naeem, A., Bibi, A., Farid, G. (2010). Role of mineral nutrition in minimizing cadmium accumulation by plants. *J Sci Food Agric* 2010; 90: 925–937. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3916>
- Ullah, I., Wang, Y., Eide, D. J., & Dunwell, J. M. (2018). Evolution, and functional analysis of Natural Resistance-Associated Macrophage Proteins (NRAMPs) from *Theobroma cacao* and their role in cadmium accumulation. *Scientific Reports*, 8(1), 14412. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32819-y>
- Wu, J., Li, R., Lu, Y., Bai, Z. (2021). Sustainable management of cadmium-contaminated soils as affected by exogenous application of nutrients: A review. *Journal of Environmental Management* 295 113081. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113081>

- 
- Vanderschueren, R., Argüello, D., Blommaert, H., Montalvo, D., Barraza, F., Maurice, L., Schreck, E., Schulin, R., Lewis, C., Vazquez, J. L., Umaharan, P., Chavez, E., Sarret, G., & Smolders, E. (2021). Mitigating the level of cadmium in cacao products: Reviewing the transfer of cadmium from soil to chocolate bar. *Science of The Total Environment*, 781, 146779. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146779>
- Zug, K. L. M., Huamaní Yupanqui, H. A., Meyberg, F., Cierjacks, J. S., & Cierjacks, A. (2019). Cadmium Accumulation in Peruvian Cacao (*Theobroma cacao* L.) and Opportunities for Mitigation. *Water, Air, & Soil Pollution*, 230(3), 72. <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4109-x>

Anexos

Anexo 1. Tabla utilizada para la preparación de la solución nutritiva Hoagland (50%) y adición de 0,44 μM de Cd para los estudios en hidroponía

Producto	Molécula	Concentración (mg kg^{-1})												
		N-NO3	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Cu	Zn	Mo	Mn	B	Cd
Sulfato de Zinc heptahidratado	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$						0,02			0,05				
Ácido bórico	H_3BO_3												0,50	
Ácido molibdico	MoO_3										0,03			
Fosfato de potasio monobásico	KH_2PO_4		16	20										
Sulfato de Magnesio	MgSO_4					50	47							
Sulfato de Manganeso (II) monohidratado	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$						0,32					0,5		
Nitrato de calcio tetrahidratado	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	69			99,13									
Nitrato de potasio	KNO_3	35		97										
Sulfato de cobre(II) pentahidratado	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$						0,01		0,02					
Sulfato de hierro(II) heptahidratado	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$							2						
EGTA	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$													
Nitrato de Cadmio tetrahidratado	$\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$													0,05
Concentración final en solución nutritiva (mg kg^{-1})		103,93	15,64	116,43	99,13	50,01	47,34	1,51	0,02	0,05	0,03	0,55	0,50	0,05

Anexo 2. Concentración elemental en parte aérea según dosis y variedad. A. Estudio con Mn. B. estudio con Zn

A

Genotipo	Dosis Mn (μ M)	Concentración de elementos en parte aérea (%)					Concentración de elementos en parte aérea ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)														
		P		K		Ca		Mg		S		B		Cu		Fe		Mn		Zn	
		Media	D.E	Media	D.E	Media	D.E	Media	D.E	Media	D.E	Media	D.E	Media	D.E	Media	D.E	Media	D.E	Media	D.E
PMCT-58	0,00	0,23	± 0,05	0,93	± 0,04	0,32	± 0,03	0,16	± 0,01	0,25	± 0,06	37,87	± 2,31	8,10	± 0,53	119,67	± 3,78	939,67	± 386,19	58,87	± 11,26
	9,10	0,20	± 0,00	0,92	± 0,06	0,30	± 0,02	0,15	± 0,00	0,20	± 0,00	41,35	± 4,73	7,34	± 0,70	151,61	± 26,57	942,10	± 114,81	60,56	± 6,75
	18,20	0,23	± 0,03	1,59	± 0,53	0,54	± 0,19	0,27	± 0,10	0,26	± 0,05	41,25	± 6,10	7,93	± 0,41	128,63	± 23,03	1002,08	± 126,36	66,55	± 6,27
	27,30	0,21	± 0,03	1,33	± 0,51	0,47	± 0,22	0,24	± 0,11	0,23	± 0,04	38,21	± 4,12	8,32	± 0,75	156,51	± 28,29	1022,27	± 168,21	69,84	± 2,46
<i>p</i> =		0,62		0,07		0,13		0,13		0,30		0,57		0,14		0,14		0,89		0,08	
CATIE-R1	0,00	0,26	± 0,05	1,37	± 0,45	0,57	± 0,22	0,26	± 0,09	0,27	± 0,06	38,43	± 1,50	8,52	± 2,06	151,30	± 51,52	657,40	± 161,29	49,81	± 10,91
	9,10	0,20	± 0,11	1,20	± 0,49	0,45	± 0,26	0,22	± 0,11	0,24	± 0,07	41,82	± 1,47	8,50	± 2,11	153,06	± 57,70	652,80	± 229,23	53,96	± 19,93
	18,20	0,23	± 0,06	0,97	± 0,06	0,29	± 0,01	0,16	± 0,02	0,20	± 0,00	45,53	± 2,96	14,90	± 7,25	143,23	± 25,12	602,57	± 64,97	73,33	± 8,31
	27,30	0,20	± 0,00	1,06	± 0,02	0,36	± 0,04	0,16	± 0,01	0,20	± 0,00	39,35	± 3,48	6,93	± 1,61	184,05	± 43,19	597,75	± 256,49	78,10	± 28,59
<i>p</i> =		0,68		0,51		0,28		0,33		0,25		0,02		0,08		0,65		0,96		0,66	

B

Genotipo	Dosis Zn (μ M) ¹	Concentración de elementos en parte aérea (%)					Concentración de elementos en parte aérea ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)														
		P		K		Ca		Mg		S		B		Cu		Fe		Zn		Mn	
		Media	D.E	Media	D.E	Media	D.E	Media	D.E	Media	D.E	Media	D.E	Media	D.E	Media	D.E	Media	D.E	Media	D.E
PMCT-58	0,00	0,27	± 0,06	0,93	± 0,06	0,31	± 0,03	0,15	± 0,01	0,20	± 0,00	39,43	± 3,20	9,05	± 0,82	164,58	± 19,90	62,88	± 5,38	911,50	± 81,66
	7,64	0,23	± 0,03	1,49	± 0,55	6,08	± 12,31	0,26	± 0,10	0,25	± 0,04	35,68	± 1,61	7,90	± 1,51	156,35	± 64,57	63,10	± 7,90	940,63	± 169,25
	15,30	0,25	± 0,06	0,93	± 0,04	0,32	± 0,06	0,15	± 0,01	0,20	± 0,00	39,81	± 2,78	8,73	± 2,66	164,00	± 6,44	65,00	± 8,49	940,87	± 112,11
	23,00	0,24	± 0,09	1,02	± 0,34	0,40	± 0,17	0,19	± 0,08	0,21	± 0,03	38,49	± 6,24	8,80	± 1,53	161,43	± 25,42	69,27	± 4,53	988,61	± 165,08
<i>p</i> =		0,86		0,09		0,50		0,14		0,08		0,49		0,78		0,98		0,51		0,88	
CATIE-R1	0,00	0,29	± 0,01	1,28	± 0,40	0,52	± 0,20	0,24	± 0,09	0,25	± 0,06	36,20	± 3,74	8,69	± 2,07	188,56	± 17,50	68,88	± 19,30	691,10	± 132,49
	7,64	0,30	± 0,01	1,18	± 0,51	0,50	± 0,22	0,22	± 0,10	0,24	± 0,07	34,19	± 6,30	8,26	± 2,37	159,06	± 43,62	74,79	± 12,61	866,96	± 51,30
	15,30	0,33	± 0,06	0,95	± 0,01	0,36	± 0,01	0,17	± 0,01	0,20	± 0,00	32,30	± 3,92	9,33	± 4,40	165,87	± 63,71	84,13	± 3,11	865,27	± 129,99
	23,00	0,28	± 0,05	0,81	± 0,04	0,35	± 0,05	0,15	± 0,00	0,20	± 0,00	38,10	± 3,21	8,17	± 1,10	146,17	± 55,93	83,60	± 15,01	922,23	± 129,16
<i>p</i> =		0,88		0,31		0,22		0,34		0,32		0,46		0,95		0,75		0,5		0,15	

Secretaría Técnica Administrativa



Con el apoyo de:



www.fontagro.org

Correo electrónico: fontagro@fontagro.org