



DIFFERENTIATED CADMIUM UPTAKE AND ITS EFFECT ON THE PHYSIOLOGY OF SIX CACAO GENOTYPES (*Theobroma cacao* L.) IN SAN RAMÓN, CENTRAL PERUVIAN JUNGLE †

[ABSORCIÓN DIFERENCIADA DE CADMIO Y SU EFECTO EN LA FISIOLÓGIA DE SEIS GENOTIPOS DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) EN SAN RAMÓN, SELVA CENTRAL DEL PERÚ]

Ricardo Borjas-Ventura¹, Noel Bello-Medina¹, Segundo Bello-Amez¹,
Leonel Alvarado-Huamán^{1*}, Diana Rebaza-Fernandez²,
Lourdes Tapia Y Figueroa³, Viviana Castro-Cepero¹,
and Alberto Julca-Otiniano¹

¹ Departamento de Fitotecnia, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional Agraria La Molina. Grupo de Investigación Agricultura y Desarrollo Sustentable en el Trópico Peruano, Av. La Molina s/n, Lima, Perú. E-mail: lealvarado@lamolina.edu.pe

² Departamento de Estadística, Facultad de Economía y Planificación, Universidad Nacional Agraria La Molina. Av. La Molina s/n, Lima, Perú.

³ Departamento de Fitotecnia, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional Agraria La Molina. Instituto de Biotecnología, Av. La Molina s/n, Lima, Perú.

*Corresponding author

SUMMARY

Background. Cacao is an important source of income, especially for small farmers in developing countries. However, its commercialization, and consequently its production, is threatened by the high levels of cadmium (Cd^{+2}) in grains. **Objective.** This work was carried out with the objective of determining the differentiated uptake of six cacao genotypes in San Ramón, central Peruvian jungle. **Methodology.** The treatments consisted of the combination of different doses Cd^{+2} (0, 50, 100 and 150 ppm) with the genotypes CCN-51, ICS-60, ICS-95, POUND-7 and VRAE-99. **Results.** The results indicate that POUND 7 absorbed a greater amount of Cd^{+2} concentrated mainly in the root, while CCN-51 concentrated it mainly in the aerial tissues. In VRAE-99, a significant drop in stem height and diameter was observed, especially at the 150 ppm dose. This genotype was shown to be more sensitive to this metal at high doses (150 ppm) and decreased its photosynthetic rate and its efficiency in the use of water, which was confirmed by the increase in the internal carbon content. **Implications.** In general, it was found that POUND-7 is a promising genotype that can potentially be used as a rootstock because it is capable of accumulating Cd^{+2} mainly in the roots. **Conclusion.** Although cacao is considered a Cd^{+2} accumulator plant, this heavy metal can negatively affect the physiology of the plant as in the case of VRAE-99. Further studies are suggested to better understand how Cd^{+2} affects cacao physiology. **Key words:** cacao; cadmium; genotype; rootstock.

RESUMEN

Antecedentes. El cacao es una fuente importante de ingresos especialmente para los pequeños agricultores de países en vías de desarrollo. Sin embargo, su comercialización, y por consiguiente su producción, se ve amenazada por los altos contenidos de Cd^{+2} en los granos. **Objetivo.** Este trabajo se realizó con el objetivo de determinar la absorción diferenciada de seis genotipos de cacao en San Ramón, Selva Central del Perú. **Metodología.** Los tratamientos estuvieron formados por la combinación de diferentes dosis de Cd^{+2} (0, 50, 100 y 150 ppm) con los genotipos CCN-51, ICS-60, ICS-95, POUND-7 y VRAE-99. **Resultados.** Los resultados indican que POUND-7, absorbió mayor cantidad de Cd^{+2} concentrado mayormente en la raíz, mientras que CCN-51 lo concentró mayormente en los tejidos aéreos. En VRAE-99, se observó una caída importante de altura y de diámetro de tallo, especialmente a la dosis de 150 ppm. Este genotipo, mostró ser más sensible a este metal a altas dosis (150 ppm) y disminuyó su tasa fotosintética y su eficiencia en el uso de agua, lo cual se confirmó con el incremento del contenido de carbono interno. **Implicación.** Se encontró que POUND-7 es un genotipo promisorio que potencialmente puede ser usado como portainjerto debido

† Submitted September 29, 2021 – Accepted May 12, 2022. <https://doi.org/10.56369/taes.4000>



a que es capaz de acumular Cd principalmente en las raíces. **Conclusiones.** A pesar de que el cacao se considera una planta acumuladora de Cd^{+2} , este metal pesado puede afectar de forma negativa la fisiología de la planta como en el caso de VRAE-99. Se sugiere realizar más estudios para entender mejor como el Cd^{+2} afecta la fisiología del cacao.

Palabras clave: cacao; cadmio; genotipo; portainjerto.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) se ha extendido por diferentes partes del mundo, especialmente en países en vía de desarrollo, destacándose Costa de Marfil y Ghana por ser líderes mundiales en su producción (STATISTA, 2020); aunque, Perú también tiene un papel importante (segundo productor mundial) produciendo principalmente los denominados cacaos finos y de aroma (MINAGRI, 2016). Globalmente, este cultivo es el sustento de 5 millones de pequeños productores, además de generar empleo para 40-50 millones de personas (Voora *et al.*, 2019; Cámara Café Cacao, 2021). Asimismo, bajo un sistema agroforestal, el cacaotal puede albergar diferentes especies de plantas (Ordoñez y Rangel, 2020; Batsi *et al.*, 2020) e insectos (Indriati *et al.*, 2019) por lo tanto tiene una gran importancia en la conservación de la biodiversidad; además de mitigar los efectos del cambio climático mediante la captura de carbono (Zavala *et al.*, 2018; Asigbaase *et al.*, 2021).

Por otra parte, existe una creciente preocupación por la presencia de metales pesados en los alimentos, tal es el caso del Cadmio (Cd) cuyo consumo en exceso puede desencadenar el cáncer de mama, próstata, hígado y páncreas, además, de ser dañino para el sistema cardiovascular y nervioso (Rahimzadeh *et al.*, 2017; Genchi *et al.*, 2020). Ante esta situación, diversos países han implementado regulaciones para limitar la presencia de este elemento en los alimentos, las mismas que han tenido efecto en los compradores mundiales de cacao que prefieren comprar granos cuyo contenido de Cd esté entre $0.5\text{--}1.1\text{ mg kg}^{-1}$, lo que pone en riesgo la compra de cacao proveniente de América Latina (por ejemplo de países como Ecuador, Perú y Trinidad y Tobago) ya que en muchos casos se sobrepasa el rango permitido (Zug *et al.*, 2019; Oliva *et al.*, 2020), por ejemplo en Perú se ha encontrado un exceso de Cd de 0.6 mg/kg (Ramtahal *et al.*, 2015; Meter *et al.*, 2019) amenazando de esta forma la venta de este grano por parte de los pequeños productores, lo que podría ocasionar cambios de cultivos donde sea necesario la deforestación, amenazando la biodiversidad y la captura de carbono.

Los metales pesados como el Cadmio (Cd) son considerados una de los principales agentes abióticos que puede limitar el crecimiento y productividad de los cultivos (Singh *et al.*, 2015). De ahí, que sea muy importante entender que mecanismos fisiológicos tiene

la planta para poder atenuar su efecto. Además, en el cacao, la presencia de Cd también viene afectando su comercialización, ya que ésta se ve restringida por los altos tenores de este metal pesado en sus granos (Zug *et al.*, 2019; Oliva *et al.*, 2020). Bajo este contexto, urge no solo entender que estrategias usa la planta para sobrevivir en presencia de Cd, sino también encontrar genotipos que sean capaces de acumular menos este metal pesado, o en su defecto, acumularlo en otros órganos que no sean los frutos.

En este contexto se ha ensayado una serie de estrategias que buscan reducir el contenido de Cd en los granos de cacao siendo una de ellas el uso de genotipos o patrones que absorban poco este elemento o que en su defecto lo concentren en órganos diferentes al fruto, esto basado en el hecho en que cada cultivar difiere en su capacidad de absorber y de traslocar Cd (Meter *et al.*, 2019; Schaefer *et al.*, 2020), así por ejemplo en cacao peruano nativo, se ha encontrado que las raíces concentran casi tres veces más Cd que en los cotiledones (Oliva *et al.*, 2020), y que la concentración de este elemento es mayor en los granos que en las hojas (Arévalo-Gardini *et al.*, 2017) demostrando de esta forma la necesidad de llevar a cabo más estudios de este tipo enfocándose no solo en determinar la acumulación de Cd en diferentes genotipos, sino también en entender cuáles son los mecanismos fisiológicos que ayuden a entender este comportamiento siendo estos datos sumamente importantes para los fitomejoradores y para el manejo del cultivo. Este trabajo de investigación se realizó en el marco del proyecto: Innovación tecnológica en cacao andino (RG-T2946), financiado por FONTAGRO, con el objetivo de evaluar la absorción diferenciada de Cadmio en seis genotipos de cacao (*Theobroma cacao* L.) en San Ramón, selva central del Perú.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

El ensayo se realizó en el vivero del fundo 'La Bretaña' de la empresa Agrícola La Bretaña S.A.C., localizado en San Ramón, Chanchamayo, Junín, Perú; a una altitud de 840 msnm, entre las siguientes coordenadas: latitud sur $11^{\circ} 7' 29''$ y longitud oeste $75^{\circ} 21' 25''$. Las condiciones climáticas corresponden al clima tropical húmedo, siendo la temperatura máxima promedio de 32°C , mínima de 17°C y una media de 24.8°C ; la precipitación está alrededor de 1850 mm anuales

distribuidas irregularmente a lo largo del año con excesos de precipitación en los meses de diciembre, enero, febrero y marzo y con déficits de agua en los meses de junio, julio y agosto.

Material vegetal

En este experimento se utilizó semillas de los siguientes genotipos de cacao (*Theobroma cacao* L.): CCN-51, ICS-60, ICS-95, POUND-7 y VRAE-99; las mismas que fueron colectadas en el Instituto de Cultivos Tropicales y del Instituto Nacional de Innovación Agraria. Una vez obtenidas las semillas de cada genotipo, se procedió a colocarlas en arena con 65% de sombra. El sustrato en vivero estuvo compuesto de un suelo de una finca cacaotera, materia orgánica y arena, en la proporción: 3:2:1, respectivamente. Una vez hecha la mezcla, se procedió a la caracterización química del mismo (Tabla 1).

Tratamientos

En la investigación se evaluó el efecto de cuatro dosis de cadmio (0, 50, 100 y 150 ppm) en cinco genotipos de cacao (CCN-51, ICS-60, ICS-95, POUND-7 y VRAE-99), lo que brindó un total de 20 tratamientos (Tabla 2). Cada tratamiento se tuvieron tres repeticiones, lo que generó 60 unidades experimentales. Cabe mencionar que cada unidad experimental estuvo conformada por cuatro plantas.

El cadmio fue aplicado antes del repique de los genotipos de cacao; para lo cual se preparó la solución de cadmio según tratamiento (Tabla 2), pesando el sulfato de cadmio en una balanza de precisión de 0.01

g. La solución se aplicó usando una pipeta de 50 ml de capacidad. Las dosis de cadmio se interpretan como mg de Cd^{+2} kg^{-1} de sustrato (ppm). Las plántulas previamente germinadas fueron repicadas a los dos días después de aplicado el cadmio.

Manejo agronómico

Después de repicados las plántulas, se realizaron riegos periódicos para mantener el sustrato en capacidad de campo, además, se realizaron desyerbos cuando se observaron malezas. A los 15 días, se aplicaron los fertilizantes a la dosis de: 200 – 100 – 200 – 50 ppm de N, P_2O_5 , K_2O y MgO. Las fuentes de nutrientes fueron: Urea (46% de N), Fosfato diamónico (18% de N y 46% de P_2O_5) y Cloruro de potasio (60% de K_2O).

Además, cada 15 días se aplicaron micronutrientes comerciales a la dosis de 2% de producto comercial con la finalidad de prevenir posibles deficiencias de macro y micronutrientes. El control de plagas y enfermedades se hizo en forma preventiva mediante la aplicación de insecticidas y fungicidas de uso común en el cultivo de cacao como carbendazim y clorpirifos respectivamente.

Crecimiento

Se evaluaron variables de crecimiento como altura de planta (cm) que fue cuantificado desde la base del tallo hasta el ápice aéreo; número de hojas, diámetro de tallo (mm), cuya medida fue hecha a 5 cm de la base del mismo; longitud de la raíz más larga (cm). Además, se determinó el peso seco (85°C por 72 horas) y fresco de la planta (g).

Tabla 1. Resultados del análisis físico químico del sustrato.

pH	CaCO ₃	MO (%)	P (ppm)	K (ppm)	Clase Textural	CIC	Cationes cambiables				Suma Cationes
							Ca	Mg ⁺⁺	K ⁺	Na ⁺	
							++				
Meq 100 g ⁻¹											
7.0	4.4	4.1	131.8	210.4	Ar.Fr.	9.3	6.2	2.1	0.5	0.5	7.7

Tabla 2. Tratamientos evaluados en el experimento.

Dosis de Cadmio (ppm)	Genotipo	Dosis de Cadmio (ppm)	Genotipo	Dosis de Cadmio (ppm)	Genotipo
0	CCN-51	0	ICS-95	0	VRAE-99
50	CCN-51	50	ICS-95	50	VRAE-99
100	CCN-51	100	ICS-95	100	VRAE-99
150	CCN-51	150	ICS-95	150	VRAE-99
0	ICS-60	0	POUND-7		
50	ICS-60	50	POUND-7		
100	ICS-60	100	POUND-7		
150	ICS-60	150	POUND-7		

Contenido de Cd

Una vez secadas en estufa, las hojas, tallos, raíces fueron molidas y enviadas al Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Facultad de Agronomía- Departamento de Suelos de la Universidad Nacional Agraria La Molina para el análisis del contenido de cadmio ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$).

Fotosíntesis

En este trabajo se usó el equipo CIRAS3 para cuantificar las variables: Asimilación/respiración (A) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), Conductancia estomática (gs) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), Transpiración (E) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), contenido de carbono interno (Ci) ($\mu\text{mol mol}^{-1}$), eficiencia en el uso de agua ($\text{mmol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) y Déficit de presión de vapor (KPa), las mismas que fueron tomadas entre 8:00 – 11:00 am en una hoja completamente desarrollada del tercio medio de la planta.

Diseño experimental

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

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El Cd^{+2} es un elemento que entra al cacao por la raíz para luego distribuirse por los diversos tejidos y órganos de la planta, sin embargo, la mayor o menor presencia en cada uno de ellos tiene un fuerte componente genético (Song *et al.*, 2016), como lo demuestran los resultados. En primer lugar, es importante mencionar que el contenido de Cd^{+2} en los genotipos de cacao siguió una tendencia lineal con las dosis evaluadas, en otras palabras, a mayor dosis usada la presencia de Cd^{+2} en las plantas fue mayor ($p \leq 0.05$) (Figura 1). Esta misma tendencia fue encontrada en otras especies como *Allysum montanum* y *Daphne jasminea* (Wiszniewska *et al.*, 2017). Cuando observamos el tenor total de Cd dentro y entre genotipos, notamos que POUND-7 tuvo un comportamiento cualitativo, ya que fue el que tuvo mayor tenor de este elemento (casi 100% más que los otros cultivares) (Figura 1 A-B).

La información sobre distribución del Cd^{+2} en los diferentes órganos de la planta de cacao son importantes, ya que sirven para una selección rigurosa de genotipos y sean usados como patrón y de esta

forma atenuar la presencia de este elemento en los granos. Se observó que hubo mayor cantidad de Cd^{+2} en el tejido radicular que en la parte aérea (casi 8 veces). Nuestros resultados concuerdan con los señalados por Meter *et al.* (2019), los que señalan que el contenido de Cd^{+2} disminuye desde la raíz hasta los granos de cacao.

Interesantemente, POUND-7 distribuyó mayor cantidad de Cd^{+2} en la raíz tanto dentro como entre genotipos ($p \leq 0.05$) (Figura 1 C-D). Sin embargo, cuando cuantificamos el contenido de Cd^{+2} en la parte aérea (Figura 1 E-F) observamos que CCN-51 fue el que destinó mayor cantidad de este elemento al vástago de la planta ($p \leq 0.05$), mientras que POUND-7 y VRAE-99 tuvieron menor presencia de Cd^{+2} . Nuestros resultados señalan que POUND-7 puede, potencialmente, ser usado como patrón dentro de un conjunto de estrategias para mitigar el efecto del Cd sobre el cacao (Meter *et al.*, 2019).

En este experimento, además se evaluó el crecimiento de los clones de cacao sujetos a diferentes concentraciones de Cd^{+2} . La altura de planta (Figura 2-A y B) no sufrió modificaciones significativas dentro y entre genotipos cuando hubo un incremento gradual de la dosis de Cd usada ($p \leq 0.05$). Aunque POUND-7 alcanzó mayor altura, ésta fue solo significativa en muy pocos casos, especialmente cuando se lo comparó con VRAE-99. Estos resultados están estrechamente relacionados con las características genéticas de cada variedad estudiada. Así, en otras investigaciones se ha demostrado que el cultivar POUND-7 es un genotipo robusto de origen forastero que no solo presenta frutos y semillas más pesados, sino que puede alcanzar gran tamaño (García, 2010; Miranda *et al.*, 2017), no solo en estado adulto, sino también desde vivero como lo demuestran nuestros resultados. En otros estudios se ha reportado que VRAE-99 alcanzó una menor altura de planta comparado con otros genotipos (Gamboa *et al.*, 2017). Asimismo, al no haber efectos dentro de cada genotipo al incremento de dosis de Cd, esta especie sería una acumuladora de este elemento (Huang *et al.*, 2017).

El diámetro de tallo, es una variable interesante ya que, conjuntamente con la altura, están relacionadas con la robustez que presenta una planta (Otiniano *et al.*, 2018). De acuerdo con Morales, (2018) el diámetro de tallo está estrechamente relacionado con la formación de raíces, la resistencia al estrés hídrico y a los daños por el viento, de forma que su variación podría ser usada como un indicador del estatus hídrico de la planta (Meng *et al.*, 2017). Dentro de cada cultivar no se observaron efectos de las dosis de Cd ($p \leq 0.05$) (Figura 2-C). Sin embargo, cuando se compara esta variable entre POUND-7 y VRAE-99 se observa que esta última es estadísticamente menos robusta que la

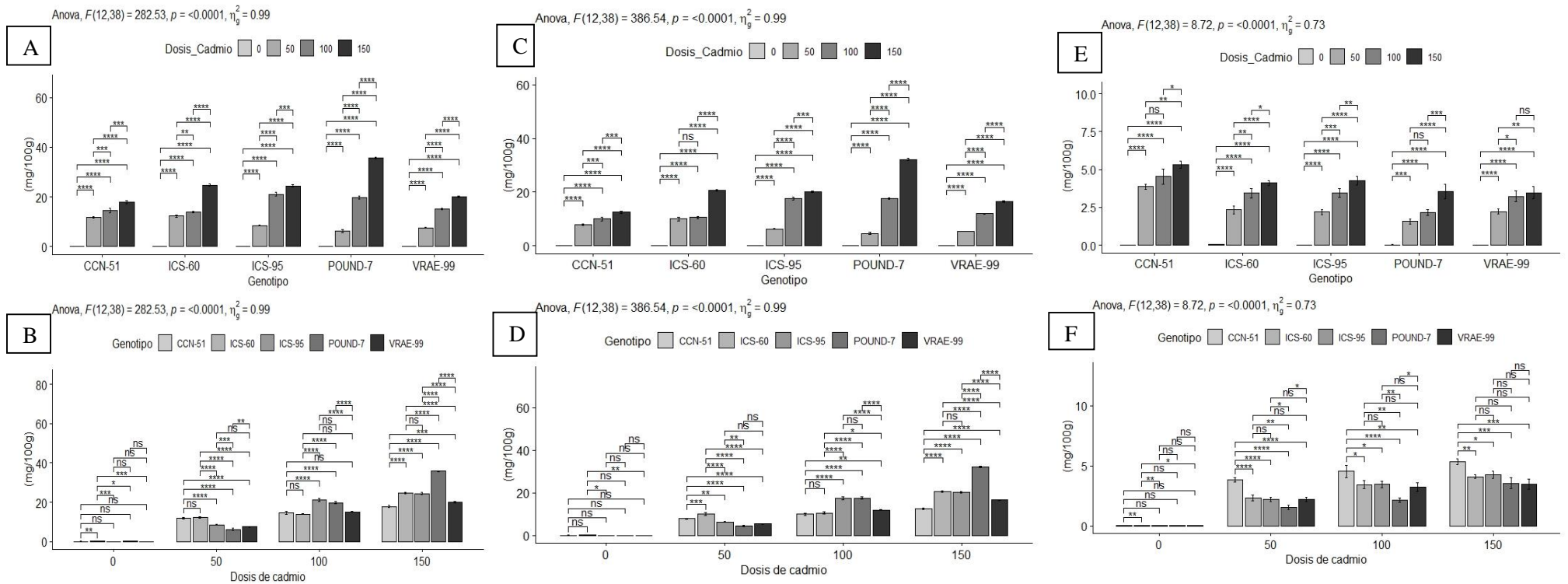


Figura 1. Efecto de la dosis de Cadmio dentro de un mismo genotipo de cacao para: Tenor total de cadmio (A), Tenor de cadmio en la raíz (C) y Tenor de cadmio en las hojas (E). Efecto de la dosis de Cadmio entre genotipos de cacao para: Tenor total de cadmio (B), Tenor de cadmio en la raíz (D) y Tenor de cadmio en las hojas (G).

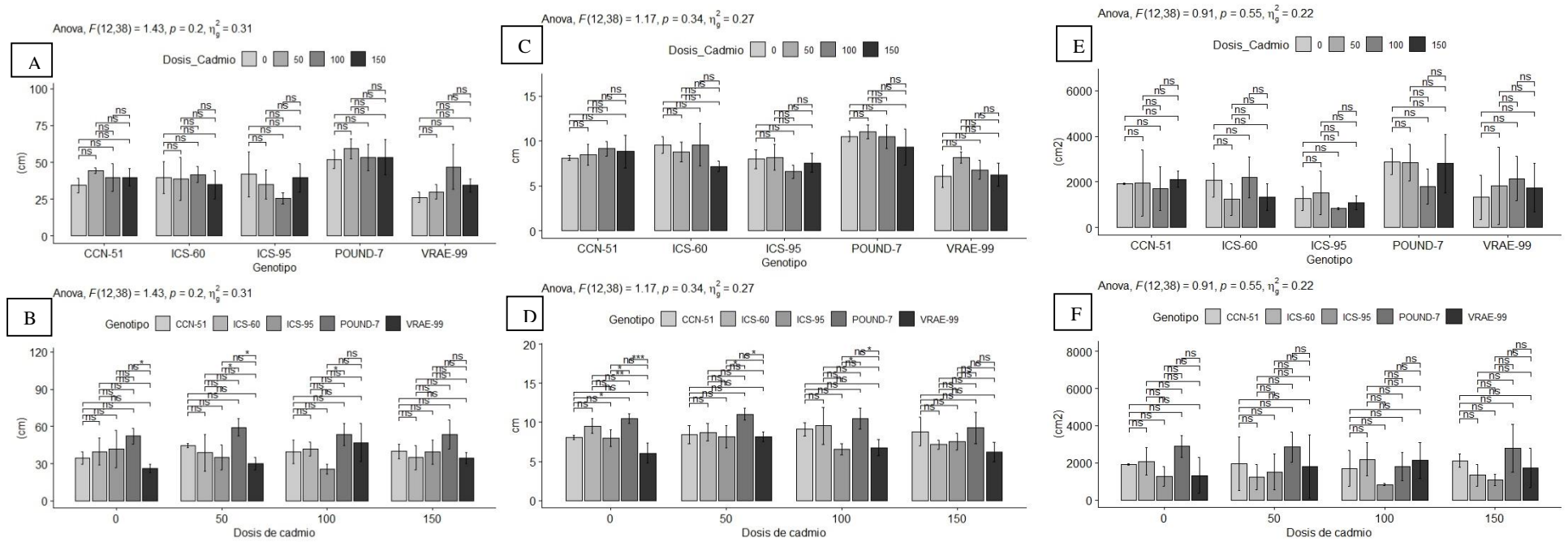


Figura 2. Efecto de la dosis de Cadmio dentro de un mismo genotipo de cacao para: Altura de planta (A), Diámetro de tallo (C) y Área foliar (E). Efecto de la dosis de Cadmio entre genotipos de cacao para: Altura de planta (B), Diámetro de tallo (D), Área foliar (F).

primera a las dosis de Cd de 0, 50 y 100 mg 100 g⁻¹ (Figura 2-D). Estos datos están en concordancia con aquellos obtenidos por (Gamboa *et al.*, 2017), y además sugieren que POUND-7 podría lidiar mejor contra el estrés hídrico en condiciones de campo.

El área de la hoja (AH) y el número de hojas (NH) son características importantes ya que se encuentran asociadas a la captación de luz, al intercambio gaseoso y por ende a la formación de biomasa de la planta (Weraduwaage *et al.*, 2015). El AH es tan importante que diversos investigadores han dedicado esfuerzos para poder calcularla en el menor tiempo posible y a bajo costo (Ribeiro *et al.*, 2013; Carvalho *et al.*, 2017). Algunas investigaciones señalan que el Cd⁺² puede reducir el AH como consecuencia de su fitotoxicidad (Rehman *et al.*, 2011), en este sentido es importante indicar que este elemento se encuentra asociado a algunos daños a nivel del DNA como a la ruptura de la membrana celular (Anjum *et al.*, 2015; Huybrechts *et al.*, 2019). En este trabajo, no se encontraron diferencias dentro y entre genotipos de cacao ($p \leq 0.05$) tanto en el AH como para el NH (Figura 2 E-F), sugiriendo que los clones evaluados podrían mostrar una buena performance fisiológica en las dosis evaluadas y que su adaptación al Cd⁺² les ha permitido desarrollar estrategias para poder convivir con este elemento (Jan y Parry, 2016).

De acuerdo con Hodge *et al.* (2009), dos de las principales funciones del sistema radicular son la absorción de agua y nutrientes, atendiendo de esta forma las necesidades de la planta. Aunque otros autores han reportado que los metales pesados pueden modificar esta característica (Rehman *et al.*, 2011), en este ensayo el desarrollo radicular, en término de longitud de raíz, no se vio afectado por el incremento de las dosis de Cd⁺² tanto dentro como entre los genotipos (Figura 3 A-B) mostrando todos los genotipos casi la misma longitud radicular ($p \leq 0.05$); sin embargo, en el peso fresco y seco de las plántulas de cacao (Figura 3 C-D E-F), se observa que el genotipo POUND-7 fue casi dos veces más pesado que los otros genotipos tanto dentro como entre genotipos ($p \leq 0.05$), denotando una alta capacidad de absorción de agua por parte del sistema radicular de POUND-7.

Respecto a las variables fisiológicas, se observa que la relación Asimilación/Respiración cayó dramáticamente a medida que se aumentaba la dosis de Cd (100 y 150 mg 100 g⁻¹) especialmente en el genotipo VRAE-99 (Figura 4 A-B) ($p \leq 0.05$), de hecho, a 150 mg 100 g⁻¹ la fotosíntesis neta fue casi 50% menos que el tratamiento sin Cd⁺², tanto dentro como entre genotipos sugiriendo una alta sensibilidad de este genotipo a este elemento. Por el contrario, POUND-7 presentó tasas de fotosíntesis similares al control ($p \leq 0.05$). Los datos sugieren dos cosas interesantes:

VRAE-99 es altamente sensible a este elemento. En este sentido de acuerdo con He *et al.* (2019) el Cd⁺² ataca el FSII dañando el aparato fotosintético; además, estos autores reportan resultados similares en tabaco donde un incremento en la dosis de Cd disminuye substancialmente la fotosíntesis. A pesar de que el Cd⁺² puede perjudicar el aparato fotosintético, las plantas (POUND-7) pueden desarrollar estrategias que les permiten tener tasas fotosintéticas adecuadas en presencia de este metal pesado (Bayçu *et al.*, 2018). En este sentido, son necesarias más investigaciones.

Por otro lado, el cierre y abertura de estomas es un mecanismo interesante que controla el intercambio gaseoso. En este experimento se notó que la presencia de Cd⁺² disminuyó notablemente la conductancia estomática (gs) y consecuentemente la transpiración entre los genotipos evaluados (Figura 4 D E-F) ($p \leq 0.05$). Por el contrario, en otros cultivos como *Phaseolus vulgaris*, se ha reportado que la presencia de Cd⁺² estimuló la resistencia estomática (Poschenrieder *et al.*, 1989), aunque esto puede estar asociado a las dosis de Cd⁺² estudiados. De acuerdo con Perfus-Barbeoch *et al.* (2002) el Cd⁺² puede afectar los canales de calcio modificando de esta forma esta característica.

El CO₂ en el espacio intercelular es una variable importante ya que muestra la cantidad de CO₂ que puede ser usado por la planta para la fotosíntesis (Tominaga *et al.*, 2018). El contenido de CO₂ interno (Ci) en VRAE 99 aumentó significativamente cuando las plantas estuvieron sometidas a altos tenores de Cd⁺² (Figura 4 G), indicando un probable daño en la RUBISCO. Estos datos explican la baja tasa fotosintética mencionada anteriormente. Resultados similares fueron encontrados en cebada (Januškaitienė, 2010).

La eficiencia en el uso de agua y el déficit de presión de vapor también fueron variables medidas en este experimento (Figura 5). Respecto a la primera, ésta es definida como la cantidad de carbono asimilado por unidad de agua (Hatfield y Dold, 2019) (Figura 5 A-B), las altas dosis Cd⁺² la disminuyeron significativamente, en VRAE-99 ($p \leq 0.05$).

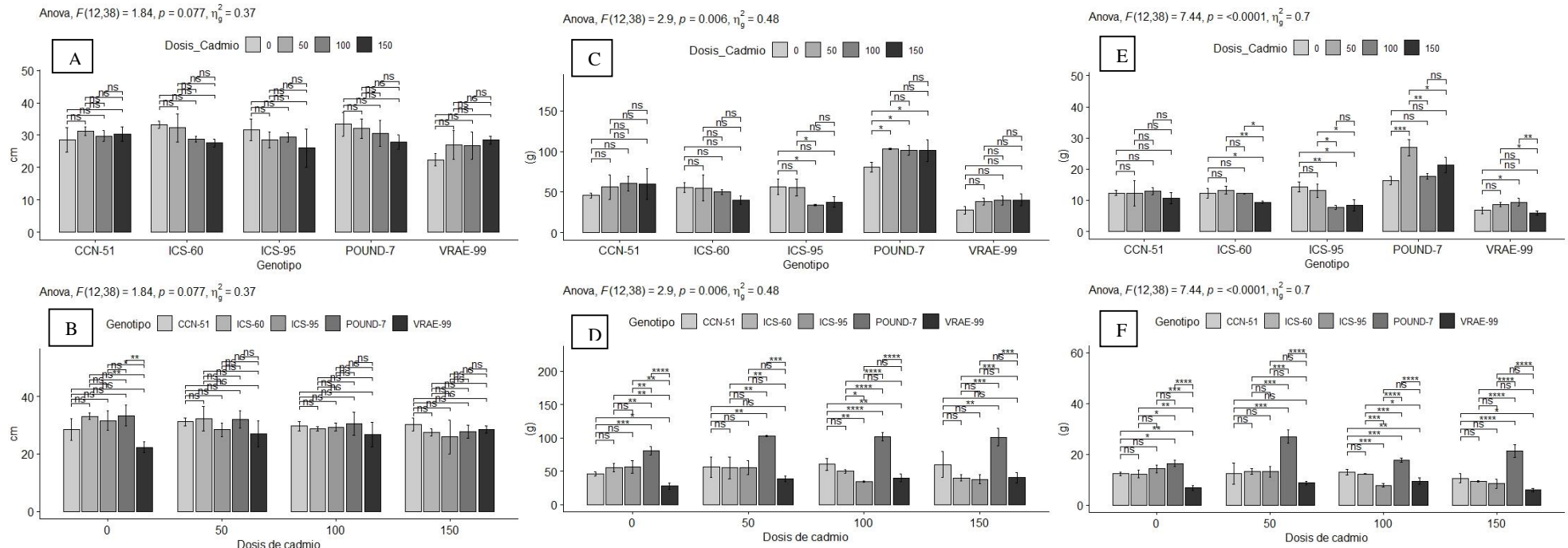


Figura 3. Efecto de la dosis de Cadmio dentro de un mismo genotipo de cacao para: Longitud de raíz (A), Peso fresco (C) y peso seco (E). Efecto de la dosis de Cadmio entre genotipos de cacao para: Longitud de la raíz (B), Peso fresco (D) y peso seco (G).

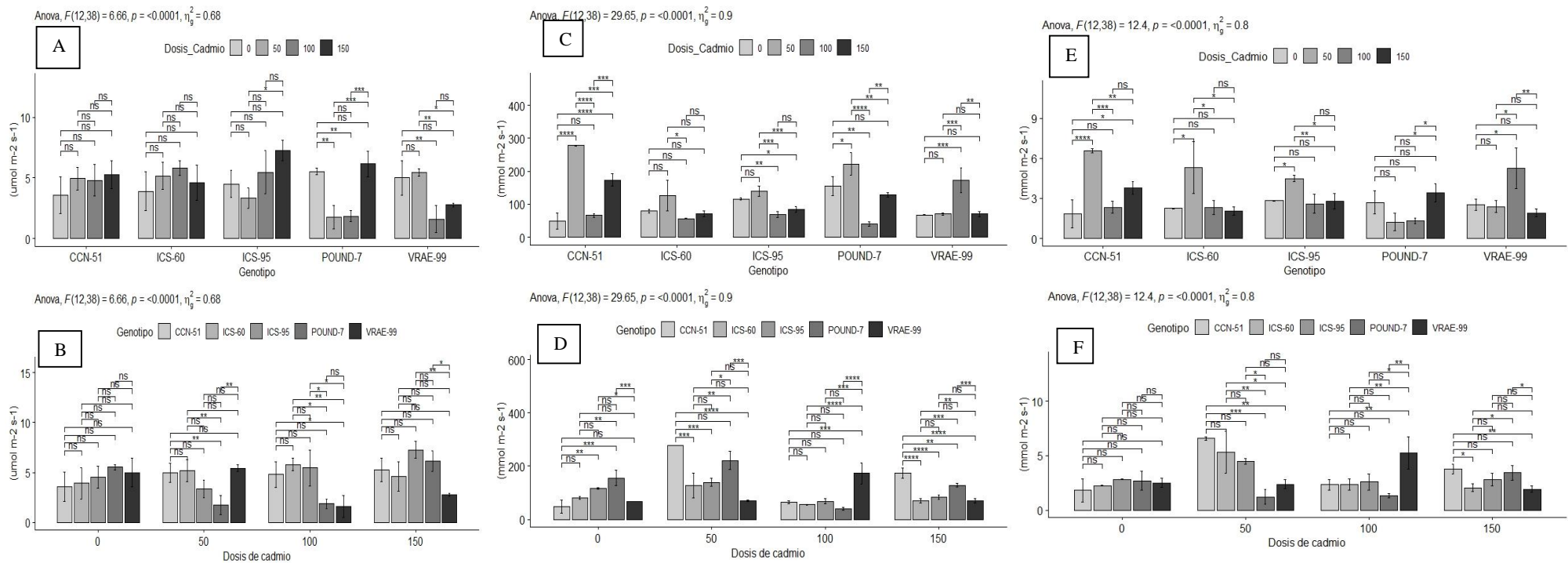


Figura 4. Efecto de la dosis de Cadmio dentro de un mismo genotipo de cacao para: Asimilación/Respiración (A), Conductividad estomática (C) y transpiración (E). Efecto de la dosis de Cadmio entre genotipos de cacao para: Asimilación/Respiración (B), conductividad estomática (D) y transpiración (F).

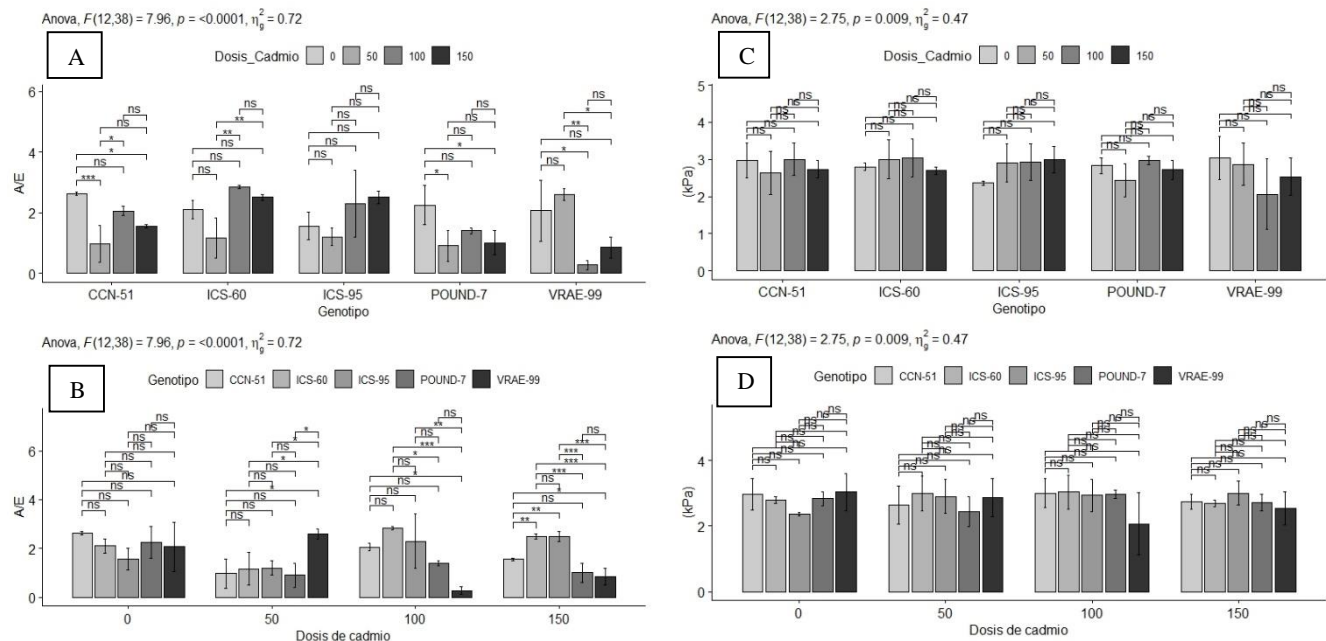


Figura 5. Efecto de la dosis de Cadmio dentro de un mismo genotipo de cacao para: Eficiencia en el uso de agua (A) y déficit de presión de vapor (C). Efecto de la dosis de Cadmio entre genotipos de cacao para: Eficiencia en el uso de agua (B) y déficit de presión de vapor (D).

CONCLUSIONES

Se presentó una respuesta diferenciada de los genotipos estudiados a las diferentes dosis de Cd^{+2} . Existió una relación lineal entre la presencia de Cd^{+2} y el contenido de éste dentro de la planta, encontrándose al genotipo POUND-7 como el que absorbió mayor cantidad de este elemento, concentrándolo mayormente en la raíz; mientras que CCN-51 lo hizo en la parte aérea. El tratamiento de $150 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ en VRAE-99 generó una disminución significativa de la altura y diámetro, mientras que el mayor peso fresco y seco, se presentó en el genotipo POUND-7. El menor crecimiento encontrado en VRAE-99, se relaciona con la disminución de la relación Asimilación/respiración y ésta con el alto tenor de Ci y la baja eficiencia en el uso del agua de este genotipo a dosis alta de Cd ($150 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$). Se sugiere considerar a POUND-7 como un buen candidato para su uso como patrón o porta-injerto. Además, de seguir profundizando en el efecto de este metal pesado sobre la fisiología del cacao, de forma que podamos diseñar estrategias para su mitigación.

Agradecimientos

A los revisores anónimos que contribuyeron con sus comentarios a mejorar la estructura y contenido del manuscrito final.

Funding. This work was funded by the project 'Innovación tecnológica en cacao andino' (RG-T2946) funded by FONTAGRO, Peru.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interest to declare.

Compliance with ethical standards. Do not apply.

Data availability. Data is available with Ricardo Borjas-Ventura, rborjas@lamolina.edu.pe upon reasonable request.

REFERENCIAS

- Anjum, S., Tanveer, M., Hussain, S., Bao, M., Wang, L., Khan, I., Ullah, E., Tung, S., Samad, R. and Shahzad, B., 2015. Cadmium toxicity in maize (*Zea mays* L.): consequences on antioxidative systems, reactive oxygen species and cadmium accumulation. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, pp. 17022-17030. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4882-z>
- Arévalo-Gardini, E., Arévalo-Hernández, C., Baligar, V. and He, Z., 2017. Heavy metal accumulation in leaves and beans of cacao (*Theobroma cacao* L.) in major cacao growing regions of Peru. *Science of the Total Environment*, 605-606, pp. 792-800.

- <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.122>
- Asigbaase, M., Dawoe, E., Lomax, B. and Sjogersten, S., 2021. Biomass and carbon stock of organic and conventional agroforests, Ghana. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 306(1), pp. 170192. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2020.107192>
- Bayçu, G., Moustaka, J., Gevrek, N. and Moustakas, M., 2018. Chlorophyll fluorescence imaging analysis for elucidating the mechanism of photosystem II acclimation to Cadmium exposure in the hyperaccumulating plant *Noccaea caerulea*. *Materials*, 11(12), pp. 2580. <https://doi.org/10.3390/ma11122580>
- Batsi, G., Sonwa, D., Mangaza, L., Ebuy, J. and Kahindo, J., 2020. Biodiversity of the cocoa agroforests of the Bengamisa-Yangambi forest landscape in the Democratic Republic of the Congo. *Forests*, 11(10), pp. 1096. <https://doi.org/10.3390/f11101096>
- Cámara Café Cacao. 2021. Cacao. Lima, Perú. Disponible en <https://camcafeperu.com.pe/ES/cacao-peru.php>. (Consulta 08 marzo 2021).
- Carvalho, J., Toebe, M., Tartaglia, F., Bandeira, C. and Tambara, A., 2017. Leaf area estimation from linear measurements in different ages of *Crotalaria juncea* plants. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 89(3), pp. 1851-1868. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720170077>
- Gamboa, R., Borjas, R., Saravia, D., Alarcón, G., Alvarado, L. and Julca, A., 2017. Comportamiento en Vivero de Diferentes Patrones y Plantas Injertadas De Cacao (*Theobroma cacao* L.) en Rio Negro, Satipo, Junín, Perú. *Revista Pakamuros*, 5(1), pp. 34-42.
- García, L. 2010. Catálogo de cultivares de cacao del Perú. MINAGRI-DEVIDA. Disponible en https://www.midagri.gob.pe/portal/download/pdf/direccionesyoficinas/dgca/cultivares_cacao.pdf (Consulta 6 abril 2021).
- Genchi, G., Sinicropi, M., Lauria, G., Carocci, A. and Catalano, A., 2020. The effects of cadmium toxicity. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(11), pp. 3782. <https://doi.org/10.3390/ijerph17113782>
- Hatfield, J. and Dold, C., 2019. Water-use efficiency: Advances and challenges in changing climate. *Frontiers in Plant Science*, 10, pp.103. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00103>
- He, X., Richmond, M., Williams, D., Zheng, W. and Wu, F., 2019. Exogenous Glycinebetaine Reduces Cadmium Uptake and Mitigates Cadmium Toxicity in Two Tobacco Genotypes Differing in Cadmium Tolerance. *International Journal of Molecular Science*, 20(7), pp. 1612. <https://doi.org/10.3390/ijms20071612>
- Huybrechts, M., Cuypers, A., Deckers, J., Iven, V., Vandionant, S., Jozefczak, M. and Hendrix, S., 2019. Cadmium and Plant Development: An Agony from Seed to Seed. *International Journal of Molecular Science*, 20(16), pp. 3971. <https://doi.org/10.3390/ijms20163971>
- Hodge, A., Berta, G., Doussan, C., Merchan, F. and Crespi, M., 2009. Plant root growth, architecture and function. *Plant Soil*, 321, pp. 153-187. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-9929-9>
- Huang, D., Gong, X., Liu, Y., Zeng, G., Lai, C., Bashir, H., Zhou, L., Wang, D., Xu, P., Cheng, M. and Wan, J., 2017. Effect of calcium at toxic concentrations of cadmium plants. *Planta*, 245, pp. 863-873. <https://doi.org/10.1007/s00425-017-2664-1>
- Indriati, G., Susilawati, M. and Puspitasari, M., 2019. Insect diversity of cocoa (*Theobroma cacao* L.) plantation under different shade trees in Pakuwon, Sukabumi. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 418, pp. 012017. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/418/1/012017>
- Jan, S. and Parry, J., 2016. Approaches to heavy metal tolerance in plants. Springer, New York, USA.
- Januškaitienė, I., 2010. Impact of Low Concentration of Cadmium on Photosynthesis and Growth of Pea and Barley. *Environmental Research Engineering and Management*, 3(53), pp. 24-29.
- Meter, A., Atkinson, R. and Laliberte, B., 2019. Cadmium in cacao from Latin America and the Caribbean– A Review of Research and Potential Mitigation Solutions. Bioversity International, Rome, Italy.
- Meng, Z., Duan, A., Chen, D., Dassanayake, K., Wang, X., Liu, Z., Liu, H. and Gao, S., 2017. Suitable indicators using stem diameter variation-derived indices to monitor the water status of greenhouse tomato plants. *PLOS ONE*, 12(2), pp. e0171423.

- <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171423>
- Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI)., 2016. Estudio del cacao en el Perú y en el mundo, un análisis de la producción y el comercio. Lima, Perú. Disponible en <https://camcafeperu.com.pe/admin/recursos/publicaciones/Estudio-cacao-Peru-y-Mundo.pdf>. (Consulta 10 diciembre 2020).
- Miranda, E., Sangama, E. & Flores, J., 2017. Evaluación del proceso de germinación de tres clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) para ser usado como patrón bajo las condiciones edafoclimáticas del distrito de Manantay-Ucayali-2015. *Revista Tzhoecoen*, 9(2), pp. 1-8.
- Morales, E., 2018. Indicadores de calidad de panta en viveros forestales del estado de Tamaulipas. Tesis maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León, México.
- Oliva, M., Rubio, K., Epquin, M., Marlo, G. and Leiva, S., 2020. Cadmium uptake in native cacao trees in agricultural lands of Bagua, Peru. *Agronomy*, 10(10), pp. 1551. <https://doi.org/10.3390/agronomy10101551>
- Ordoñez, C. and Rangel, O., 2020. Composición florística y aspectos de la vegetación en sistemas agroforestales en cacao (*Theobroma cacao*-Malvaceae) en el departamento de Huila, Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 44(173), pp. 1033-1046.
- Julca, A., Andia, E., Estelita, S. and Borjas, R., 2018. Comportamiento de *Coffea arabica* L. injertadas sobre *Coffea canephora* en presencia de nematodos en viveros. *Revistas de Investigaciones Altoandinas*, 30(3), pp. 267-280.
- Perfus-Barbeoch, L., Leonhardt, N., Vavasseur, A. and Forestier, C., 2002. Heavy metal toxicity: Cadmium permeates through calcium channels and disturbs the plant water status. *The Plant Journal*, 32, pp. 539-548. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3113X.2002.01442.x>
- Poschenrieder, C., Gunsé, B. and Barceló, J., 1989. Influence of cadmium on water relations, stomatal resistance, and abscisic acid content in expanding bean leaf. *Plant Physiology*, 90, 1365-1371.
- Rafati Rahimzadeh, M., Rafati Rahimzadeh, M., Kasemi, S. and Moghadamnia, A., 2017. Cadmium toxicity and treatment: An update. *Caspian Journal of International Medicine*, 8(3), pp. 135-145. <https://doi.org/10.22088%2Fcjim.8.3.135>
- Ramtahal, G., Chang Yen, I., Bekele, I., Bekel, F., Wilson, L., Maharaj, K. and Sukha, B., 2015. Implications of distribution of cadmium between the nibs and testae of cocoa beans on its marketability and food safety assessment. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 7(5), pp. 731-736. <https://doi.org/10.3920/QAS2013.0388>
- Rehman, F., Khan, F., Varshney, D., Naushin, F. and Rastoji, J., 2011. Effect of cadmium on the growth of tomato. *Biology and Medicine*, 3(2), pp. 187-190.
- Ribeiro, K., Braga, R., Scalco, M. and Horgan, G., 2013. Leaf area estimation of medium size plants using optical metrology. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 17(6), pp. 595-601.
- Schaefer, H., Dennis, S. and Fitzpatrick, S., 2020. Cadmium: strategies to reduce dietary exposure. *Journal of Food Science*, 85(2), pp. 260-267. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14997>
- Singh, M., Kumar, J., Singh, S., Singh, V., Prasad, S. and Singh, M., 2015. Adaptation strategies of plants against heavy metal: toxicity: A short review. *Biochemistry & Pharmacology*, 4, pp. 2. <http://dx.doi.org/10.4172/2167-0501.1000161>
- Song, Y., Jin, L. and Wang, X., 2016. Cadmium absorption and transportation pathways in plants. *International Journal of Phytoremediation*, 19(2), pp. 133-141. <https://doi.org/10.1080/15226514.2016.1207598>
- STATISTA., 2020. Global cocoa bean production in 2018/19 and 2020/21, by country. NORC/University of Chicago. Disponible en <https://www.statista.com/statistics/263855/cocoa-bean-production-worldwide-by-region/#:~:text=The%20Ivory%20Coast%20and%20Ghana,metric%20tons%20of%20cocoa%20beans> (Consulta 20 enero 2021).
- Tominaga, J., Shimada, H. and Kawamitsu, Y., 2018. Direct measurement of intracellular CO₂ concentration in a gas-exchange system resolves overestimation using the standard method. *Journal of Experimental Botany*, 69(8), pp. 1981-1991. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery044>

- Voora, V., Bermúdez, S. and Larrea, C., 2019. Global market report: Cocoa. International Institute for Sustainable Development. 12p. Disponible en <https://www.iisd.org/system/files/publication/s/ssi-global-market-report-cocoa.pdf>. (Consulta 08 de enero 2021).
- Weraduwege, S., Chen, J., Anozie, F., Morales, A., Weise, S. and Sharkey, T., 2015. The relationship between leaf area growth and biomass accumulation in *Arabidopsis thaliana*. *Frontiers in Plant Science*, 6, pp. 117. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00167>
- Wiszniewska, A., Hanus-Fajerska, E. and Muszynnska, E., 2017. Comparative assessment of response to cadmium in heavy metal-tolerant shrubs cultured *in vitro*. *Water, Air & Soil Pollution*, 228, pp. 294. <https://doi.org/10.1007/s11270-017-3488-0>
- Zavala, W., Merino, E. and Peláez, P., 2018. Influencia de tres sistemas agroforestales del cultivo de cacao en la captura y almacenamiento de carbono. *Scientia Agropecuaria*, 9(4), pp. 493-501.
- Zug, K., Huamaní, H., Meyberg, F., Cierjacks, J. and Cierjacks, A., 2019. Cadmium accumulation in Peruvian cacao (*Theobroma cacao* L.) and opportunities for mitigation. *Water, Air & Soil pollution*, 230, pp. 72. <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4109-x>