



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Efecto fisiológico de la absorción de cadmio (Cd^{2+}) sobre accesiones de cacao (*Theobroma cacao* L.)

Jéssica Alejandra Fernández Paz

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Maestría en Ciencias Agrarias

Palmira, Colombia

2022

Efecto fisiológico de la absorción de cadmio (Cd^{2+}) sobre accesiones de cacao (*Theobroma cacao* L.).

Jessica Alejandra Fernández paz

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título
de:

Magister en Ciencias Agrarias

Director (a):

PhD Caren Dayana Rodríguez Medina

Codirector (a):

PhD María Sara Mejía de Tafur

Línea de Investigación:

Línea de Investigación: Fisiología de cultivos

Grupo de Investigación:

Mejoramiento genético de cacao

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Maestría en Ciencias Agrarias Palmira, Colombia

2022

“Lo que se hace por amor acontece más allá del bien y del mal” Friedrich Nietzsche

Dedicado a mi mamá Adriana, a mis tíos Javier, Dagoberto, Fabián, Fanor, Rubén, Mauricio, para Adriana, Estefanía y Salome (FAMILIA PAZ SERNA).

Declaración de obra original

Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.

Alejandra Fernández

Nombre: Jessica Alejandra Fernández Paz

Fecha 19/10/2021

Agradecimientos

A Caren Rodríguez, mi directora de tesis, por el apoyo recibido, la proyección de las actividades, direccionamiento y orientación constante. Gracias por su paciencia y dedicación.

A Camila Hernández, profesional de apoyo a la investigación en AGROSAVIA, por el acompañamiento constante en las actividades, la paciencia y los buenos consejos. Su apoyo fue vital en la realización de este proyecto. Gracias por siempre estar allí.

A la profesora María Sara Mejía, mi codirectora, por su direccionamiento y orientación en diferentes actividades. Gracias por su colaboración y dedicación en este proyecto.

A Diego Morales, profesional de apoyo a la investigación en AGROSAVIA, por la paciencia, explicación y colaboración en las actividades realizadas en el laboratorio de fisiología. Gracias por contribuir en cada una de las actividades de este proyecto.

A Luis Guillermo Casas y Kevin Aparicio, operarios del vivero de cacao en AGROSAVIA, por su apoyo y colaboración en las actividades de campo.

A la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria AGROSAVIA por permitirme desarrollar este proyecto.

A la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, a los profesores que contribuyeron con la enseñanza de la fisiología vegetal. Gracias por su dedicación.

A la familia Paz Serna por su apoyo incondicional desde el principio hasta el final. Muchas gracias.

Resumen

Efecto fisiológico de la absorción de cadmio (Cd^{2+}) sobre accesiones de cacao (*Theobroma cacao* L.)

El cadmio es un elemento altamente tóxico y sin función biológica conocida, para la mayoría de los seres vivos. Diversos estudios han demostrado un efecto tóxico del cadmio en el desarrollo fisiológico y crecimiento de las plantas. Un efecto del portainjerto en la acumulación de cadmio en la parte aérea de la planta ha sido observado en combinaciones copa x portainjerto de algunas especies vegetales. El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto fisiológico de la absorción de cadmio sobre dos de los portainjertos de cacao más comúnmente sembrados en Colombia: IMC67 y PA121, y sobre combinaciones copa x portainjerto, utilizando como copa, dos de los cultivares más comunes en el país: ICS95 y CCN51. El estudio fue realizado bajo condiciones de vivero en el Centro de Investigación de Agrosavia en la ciudad de Palmira (Valle del Cauca, Colombia). Parámetros fisiológicos y de crecimiento fueron evaluados en portainjertos cinco meses después de su establecimiento en sustrato conteniendo suelo enriquecido con cadmio, posteriormente, ramas porta yemas de ICS95 y CCN51 fueron injertadas en los portainjertos. Las combinaciones copa x portainjerto fueron evaluadas dos y cuatro meses después de la injertación, utilizando los mismos parámetros fisiológicos y de crecimiento empleados para la evaluación de los portainjertos. El análisis de los datos se realizó mediante un modelo lineal mixto (MLM). Los resultados mostraron mayor acumulación de Cd en tejido foliar, además de un efecto del cadmio en la longitud y peso de raíces, área foliar, rendimiento cuántico del fotosistema II medido por la fluorescencia de la clorofila, disminución de fotosíntesis neta y uso eficiente del agua, afectación en la concentración foliar de elementos nutricionales como N, K, Mn, Zn, Cu y B, contenido de pigmentos fotosintéticos, pérdida de electrolitos y concentración de proteína total soluble en hojas. En conclusión, el cadmio redujo significativamente el crecimiento de hojas y raíces, afectó la tasa de fotosíntesis y el uso eficiente del agua en los portainjertos y la fluorescencia de la clorofila en las combinaciones copa x portainjerto, alteró la toma de elementos nutricionales esenciales para el normal desarrollo de la planta, disminuyó las concentraciones de proteína total soluble y aumentó la pérdida de electrolitos. La mayor acumulación del metal pesado fue en parte aérea, tanto en los portainjertos como en las combinaciones copa x portainjerto generando un efecto nocivo sobre parámetros fisiológicos y de crecimiento.

Palabras clave: *Theobroma cacao*, metal pesado, parámetros fisiológicos, crecimiento.

Abstract

Physiological effect of cadmium (Cd^{2+}) absorption on cocoa accessions (*Theobroma cacao* L.)

Cadmium is a highly toxic element with no known biological function for most living beings. Various studies have shown a toxic effect of cadmium on the physiological development and growth of plants. An effect of the rootstock on the accumulation of cadmium in the aerial part of the plant has been observed in scion \times rootstock combinations of some plant species. The objective of this research was to evaluate the physiological effect of cadmium absorption on two of the most commonly planted cocoa rootstocks in Colombia: IMC67 and PA121, and on scion \times rootstock combinations, using two of the most common cultivars as scion in the country: ICS95 and CCN51. The study was carried out under greenhouse conditions at the Agrosavia Research Center in the city of Palmira (Valle del Cauca, Colombia). Physiological and growth parameters were evaluated on rootstocks five months after their establishment in substrate containing cadmium-enriched soil, later, ICS95 and CCN51 bud-bearing branches were grafted onto the rootstocks. The scion \times rootstock combinations were evaluated two and four months after grafting, using the same physiological and growth parameters used for the evaluation of the rootstocks. Data analysis was performed using a linear mixed model (MLM). The results showed a greater accumulation of Cd in leaf tissue, in addition to an effect of cadmium on the length and weight of roots, leaf area, quantum efficiency of photosystem II measured by chlorophyll fluorescence, decrease in net photosynthesis and efficient use of water, affectation in the foliar concentration of nutritional elements such as N, K, Mn, Zn, Cu and B, content of photosynthetic pigments, loss of electrolytes and concentration of total soluble protein in leaves. In conclusion, cadmium significantly reduced the growth of leaves and roots, affected the rate of photosynthesis and the efficient use of water in the rootstocks and the fluorescence of chlorophyll in the scion \times rootstock combinations, altering the uptake of essential nutritional elements for the normal development of the plant, decreased the concentrations of total soluble protein and increased the loss of electrolytes. The greatest accumulation of heavy metal was partly aerial, both in the rootstocks and in the scion \times rootstock combinations, generating a harmful effect on physiological and growth parameters.

Keywords: *Theobroma cacao*, heavy metal, physiological parameters, growth.

Contenido

	Pág.
Resumen.....	VI
Lista de figuras	X
Lista de tablas.....	XIII
Lista de Símbolos y abreviaturas	XIV
Introducción	1
Objetivos	3
Marco teórico	4
El cacao, descripción general.....	4
Métodos de propagación.....	5
Producción de cacao mundial y nacional	6
El cadmio	6
Ingreso del cadmio a la planta	7
El cadmio en el crecimiento vegetal.....	8
El cadmio y su efecto sobre la membrana celular	10
El cadmio y su efecto sobre la fotosíntesis.....	11
El cadmio y su efecto sobre la nutrición mineral	12
Efecto del Cd en el crecimiento y fisiología de combinaciones copa x portainjerto de cacao.	14
1.1 Introducción	14
1.2 Materiales y métodos.....	16
1.2.1 Localización del experimento	16
1.2.2 Establecimiento del experimento y material vegetal	16
1.2.3 Diseño experimental.....	19
1.2.4 Parámetros evaluados.....	21
1.2.5 Injertación.....	24
1.2.6 Prácticas agronómicas	26
1.2.7 Análisis de datos	26
1.3 Resultados.....	27
1.3.1 Acumulación de cadmio	27
1.3.2 Crecimiento.....	30
1.3.3 Fluorescencia de la clorofila	33
1.3.4 Intercambio de gases	34

1.3.5	Pigmentos fotosintéticos	35
1.3.6	Concentración de elementos nutricionales.....	37
1.3.7	Pérdida de electrolitos	41
1.3.8	Proteína total soluble.....	41
1.4	Discusión	43
1.4.1	Crecimiento	43
1.4.2	Fluorescencia de la clorofila	44
1.4.3	Intercambio de gases	45
1.4.4	Pigmentos fotosintéticos.....	46
1.4.5	Concentración de elementos nutricionales	48
1.4.6	Pérdida de electrolitos	48
1.4.7	Proteína total soluble.....	49
1.4.8	Interacción copa x portainjerto	50
1.5	Conclusiones.....	51
1.6	Recomendaciones.....	51
	Bibliografía	53
	A. Tablas anexas.....	65
	B. Figuras anexas	70
	C. Contenido anexo	74

Lista de figuras

- Figura 1.** Procedimiento de polinización dirigida realizado en flores de cacao siguiendo la metodología de Royaert et al. (2011). A) Selección de flores receptoras de polen y cubrimiento de flores con tubos plásticos transparentes, plastilina y muselina en uno de los extremos. B y C) Eliminación de pétalos en flor donadora de polen. D) Flor lista para ser polinizada y procedimiento de frotar las anteras con polen viable en el estigma de la flor receptora. E) Flor recién polinizada y cubierta por tubo de plástico para impedir la entrada de insectos. F) Flor rotulada donde se indica la fecha de la polinización y cruzamiento dirigido realizado. G y H) Pepinillo de cacao indicativo de polinización exitosa..... 18
- Figura 2.** Diseño experimental utilizado en vivero para la evaluación del efecto del cadmio sobre plantas de cacao. Diez plantas por unidad experimental y cuatro portainjertos, dos obtenidos mediante libre polinización y dos a partir de polinización dirigida, establecidos en sustrato conteniendo suelo enriquecido con cadmio y en suelo sin adición del metal pesado. 20
- Figura 3.** Procedimiento de injertación mediante la técnica de púa terminal. A. Eliminación de hojas del portainjerto a una altura aproximada de 40 cm desde la base del tallo. B. Incisión del tallo con navaja. C. Vareta portayemas preparada para injertación. D. Vareta portayemas injertada en el patrón. E. Injerto de cacao en púa terminal con cinta de adhesión. F. Injerto de cacao cubierto con bolsa de plástico trasparente, necesaria para contener humedad. G. Bolsa plástica con sujetador, necesaria para ayudar a contener humedad en el injerto. H. Injerto púa terminal listo. 24
- Figura 4.** Representación esquemática de las combinaciones copa x portainjerto utilizadas en el presente estudio. 25
- Figura 5.** Acumulación de cadmio en portainjertos de cacao cinco meses después de establecidos en sustrato enriquecido con cadmio. A) Acumulación de cadmio en raíces. B) Acumulación de cadmio en tejido foliar. Los datos corresponden a promedios de 8 plantas (\pm SE). 27
- Figura 6.** Acumulación de cadmio en combinaciones copa x portainjerto dos y cuatro meses después de la injertación. Barras azules corresponden a injertos con ICS95 como copa. Barras verdes corresponden a injertos con CCN51 como

copa. Barras de color uniforme corresponden a la acumulación de cadmio dos meses después de la injertación. Barras con rayas diagonales corresponden a la acumulación de cadmio cuatro meses después de la injertación. Los datos corresponden a promedios de 8 plantas (\pm SE). 29

Figura 7. Acumulación de Cd en combinaciones copa x portainjerto dos y cuatro meses después de la injertación. Barras azules corresponden a injertos con ICS95 como copa. Barras verdes corresponden a injertos con CCN51 como copa. Barras de color uniforme corresponden a la 29

Figura 8. Crecimiento de cuatro familias de portainjertos establecidos en suelo bajo dos concentraciones de cadmio. Barras blancas representan el crecimiento de los portainjertos establecidos en sustrato conteniendo suelo sin adición de cadmio. Barras grises representan el crecimiento de los portainjertos establecidos en sustrato conteniendo suelo enriquecido con cadmio. A) Peso fresco del tallo. B) Peso seco del tallo. C) Peso fresco de tejido foliar. D) Peso seco de la raíz. E) Longitud de parte aérea. F) Área foliar. Los datos corresponden a promedios de 8 plantas (\pm SE). 31

Figura 9. Crecimiento de combinaciones copa x portainjerto dos meses después de la injertación. Barras blancas representan el crecimiento de combinaciones copa x portainjerto establecidas en sustrato conteniendo suelo sin adición de cadmio. Barras azules corresponden a combinaciones copa x portainjerto con ICS95 como copa establecidos en sustrato conteniendo suelo enriquecido con cadmio. Barras verdes corresponden a combinaciones copa x portainjerto con CCN51 como copa establecidos en sustrato conteniendo suelo enriquecido con cadmio. A) y B) Peso fresco de raíz. C) y D) Peso seco de raíz. Los datos corresponden a promedios de 8 plantas (\pm SE). 32

Figura 10. Crecimiento de combinaciones copa x portainjerto cuatro meses después de la injertación. Barras blancas representan el crecimiento de combinaciones copa x injerto establecidas en sustrato conteniendo suelo sin adición de cadmio. Barras azules corresponden a combinaciones con ICS95 como copa establecidos en suelo enriquecido con cadmio. Barras verdes corresponden a combinaciones con CCN51 como copa establecidos en suelo enriquecido con cadmio. A) Peso fresco de raíz, B) Peso fresco de hojas C) Peso seco de raíces y D) Peso seco de hojas. Los datos corresponden a promedios de 8 plantas (\pm SE). 33

Figura 11. Fluorescencia de la clorofila evaluada en ICS95 injertada en cuatro familias de portainjertos de cacao establecidos en sustrato conteniendo suelo con dos concentraciones diferentes de Cd, bajo condiciones de invernadero. A) F_m dos meses después de la injertación. B) F_v/F_m dos meses después de la injertación. C) F_v/F_m cuatro meses después de la injertación. Las barras blancas representan combinaciones copa x portainjerto establecidas en sustrato

conteniendo suelo sin adición de Cd ($0,43 \text{ mg.kg}^{-1}$). Las barras azules representan combinaciones copa x portainjerto establecidas en sustrato conteniendo suelo enriquecido con Cd ($7,49 \text{ mg.kg}^{-1}$). Los datos corresponden al promedio de 8 plantas \pm SE (n = 8)..... 34

Figura 12. Variables de Intercambio de gases evaluadas en portainjertos sometidos a dos concentraciones diferentes de cadmio en suelo bajo condiciones de invernadero cinco meses después del tratamiento con Cd. A) tasa fotosintética (P_N) y B) uso eficiente del agua (WUE). Las barras blancas representan portainjertos establecidos en suelo sin adición de Cd ($0,43 \text{ mg kg}^{-1}$). Las barras grises representan portainjertos establecidos en suelo enriquecido con Cd ($7,49 \text{ mg kg}^{-1}$). Los datos corresponden a promedio de 8 plantas \pm SE (n = 8). 35

Figura 13. Concentración de pigmentos fotosintéticos en portainjertos sin injertar sometidos a dos concentraciones diferentes de Cd en suelo bajo condiciones de invernadero cinco meses después tratamiento con Cd. A) Concentración de clorofila a. B) Concentración de clorofila b. C) Concentración de clorofila total. D) Concentración de carotenoides. Las barras blancas representan las plantas cultivadas en suelo sin adición de Cd ($0,43 \text{ mg kg}^{-1}$). Las barras grises representan las plantas establecidas en suelo enriquecido con Cd ($7,49 \text{ mg kg}^{-1}$). Los datos corresponden a promedio de 8 plantas \pm SE (n = 8). 36

Figura 14. Pérdida de electrolitos en portainjertos sometidos a dos concentraciones diferentes de cadmio en suelo bajo condiciones de invernadero cinco meses después del tratamiento con Cd. Las barras blancas representan portainjertos establecidos en suelo sin adición de cadmio ($0,43 \text{ mg.kg}^{-1}$). Las barras grises representan portainjertos establecidos en suelo enriquecido con Cd ($7,49 \text{ mg.kg}^{-1}$). Los datos corresponden a promedios de 8 plantas (\pm SE). 41

Figura 15. Contenido de proteína total soluble en tejido foliar de portainjertos y combinaciones copa x portainjerto sometidos a dos concentraciones diferentes de cadmio en suelo bajo condiciones de invernadero. A) Contenido de proteína en el tejido foliar de portainjertos sin injertar cinco meses después del tratamiento con Cd. B) Contenido de proteína en el tejido foliar de ICS95 dos meses después de la injertación en cuatro portainjertos diferentes. C) Contenido de proteína en el tejido foliar de CCN51 dos meses después de la injertación en cuatro portainjertos diferentes. Las barras blancas representan portainjerto o combinaciones copa x portainjertos establecidos en suelo sin adición de cadmio ($0,43 \text{ mg kg}^{-1}$). Las barras grises representan portainjertos establecidos en suelo enriquecido con cadmio ($7,49 \text{ mg kg}^{-1}$). Las barras azules representan ICS95 injertado sobre portainjertos establecidos en suelo enriquecido con cadmio ($7,49 \text{ mg kg}^{-1}$). Las barras verdes representan CCN51 injertado sobre portainjertos establecidos en suelo enriquecido con cadmio ($7,49 \text{ mg kg}^{-1}$). Los datos corresponden a promedios de 8 plantas (\pm SE)..... 42

Lista de tablas

Tabla 1. Listado de tratamientos utilizados en la evaluación de los portainjertos 19

Tabla 2. Listado de tratamientos utilizados en la evaluación de las combinaciones copa x portainjerto----- 25

Tabla 3. Concentración de nutrientes minerales en el tejido foliar de portainjertos no injertados cinco meses después del tratamiento con Cd. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas en la concentración de elementos minerales entre portainjertos sometidos a una misma concentración de Cd según Duncan ($p < 0.005$). Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas en la concentración de elementos minerales para un mismo portainjerto sometido a dos concentraciones de Cd en suelo según Duncan ($p < 0,05$). Los datos corresponden a promedios de 8 plantas (\pm SE). ----- 38

Tabla 4. Concentración de nutrientes minerales en tejido foliar de clones de cacao dos meses después de la injertación en cuatro portainjertos. Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas en la concentración de elementos minerales en el tejido foliar de ICS95 o CCN51 injertados en portainjertos establecidos en la misma concentración Cd en suelo según Duncan ($P < 0,05$). Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas en la concentración de elementos minerales de ICS95 o CCN51 sometidos a dos concentraciones de cadmio en suelo según Duncan ($p < 0,05$). Los datos corresponden a promedios de 8 plantas (\pm SE). ----- 39

Lista de Símbolos y abreviaturas

Símbolos con letras latinas

Símbolo	Término
Cd	Cadmio
N	Nitrogeno
P	Fosforo
K	Potasio
Ca	Calcio
Mg	Magnesio
Fe	Hierro
B	Boro
Zn	Zinc
Na	Sodio
S	Azufre
Mn	Manganeso
Cu	Cobre
Chl <i>a</i>	Clorofila a
Chl <i>b</i>	Clorofila b
Chl total	Clorofila total

P_N	Fotosíntesis neta
E	Transpiración
gs	Conductancia estomática
WUE	Uso eficiente de agua por sus siglas en ingles
C_i	Carbono interno (en cavidad subestomática)
F_0	Fluorescencia mínima
F_m	Fluorescencia máxima
F_v/F_m	Rendimiento cuanto del fotosistema II
g	Gramos
kg	Kilogramo
mg	Miligramo
m^2	Metro cuadrado
s	Segundo
ICP OES	Plasma de acoplamiento inductivo espectrometría de emisión óptica
EAA	Espectroscopía de Absorción Atómica
SE	Error estándar

Subíndices

Subíndice	Término
-----------	---------

N	Neta
---	------

m	maxima
---	--------

0	Cero
---	------

Superíndices

Superíndice	Término
-------------	---------

2+	Valencia del elemento
----	-----------------------

2	Cuadrado
---	----------

Abreviaturas

Abreviatura	Término
-------------	---------

ddi	Días después de injertación
-----	-----------------------------

ROS	Especies reactivas del oxígeno por sus siglas en ingles
-----	---

ALA	Aminolevulinato
-----	-----------------

Introducción

En Colombia el cacao se cultiva en varias regiones, siendo los departamentos de Santander, Antioquia, Arauca, Huila, Tolima y Nariño los mayores productores. Si bien, la producción nacional de cacao se ha ido incrementando de manera gradual en los últimos diez años, pasando de 35.118 toneladas de grano seco en el año 2009, a 63.416 toneladas en el 2020, el consumo interno es representativo y se requieren importaciones del producto para abastecer la demanda interna (FEDECACAO, 2021). A nivel mundial, se estimó para el 2019 una producción de 4.8 millones de toneladas de grano seco siendo en su orden los principales países productores Costa de Marfil (45%), Ghana (19%), Nigeria (5%), Indonesia (5%) y Colombia ubicado en el décimo lugar a nivel mundial (ICCO 2019).

La presencia de cadmio (Cd) biodisponible en suelo se ha convertido en una limitante para el cultivo de cacao en algunos países productores del grano (Jimenez, 2015). El Cd es un elemento pesado que se encuentra en forma natural en los suelos, debido al origen del material parental o a procesos geológicos, la presencia de Cd en el suelo también puede explicarse por procesos antropogénicos como el uso de algunos fertilizantes y herbicidas, en cuya composición se encuentra el Cd, o por actividades asociadas a la minería (McLaughlin, 2016).

El Cd es un elemento metálico altamente tóxico que afecta la salud humana (Fernández, 2018), además de afectar el crecimiento, desarrollo y metabolismo de las plantas (Martínez 2014; Rodríguez et al., 2008; Pereira de Araújo et al., 2017) . Entre los principales efectos tóxicos del Cd en las plantas se encuentra daños en raíces(He et al., 2017), menor absorción hídrica (Lu et al., 2013), daños en aparato fotosintético y en la estructura celular (Ying et al., 2010; Domínguez et al., 2011; Martínez, 2014; Liu et al., 2012), además, de reducción en el intercambio de gases (Gill & Tuteja, 2010).

En cacao han sido observados daño en cloroplastos, alteración en la absorción de elementos nutricionales y procesos fotosintéticos, además de un aumento de la actividad

enzimática, como consecuencia de la producción de especies reactivas del oxígeno, en plantas del cultivar CCN51 sometidas a estrés por Cd, bajo condiciones de vivero (Pereira de Araujo et al., 2017).

Los pelos radicales y las células epidérmicas de la raíz son los tejidos de absorción primarios del Cd, desde donde puede ser transportado hacia el interior de la raíz mediante las células parenquimatosas, ingresando a los haces vasculares como el xilema para finalmente ser traslocado a otros órganos vegetales (Williams et al., 2000). La mayoría de los estudios han considerado que el Cd es tomado por las plantas principalmente en forma de Cd^{2+} , es decir el ion libre (Sterckeman & Thomine, 2020).

El Cd interactúa en forma antagónica con nutrientes minerales tales como zinc (Zn^{2+}), hierro (Fe^{2+}), calcio (Ca^{2+}), potasio (K^{2+}), manganeso (Mn^{2+}), cobre (Cu^{2+}) y silicio (Si^{2+}) (Wang et al., 2007; Nedjimi & Daoud, 2009), los cuales se combinan con Cd^{2+} en sitios de intercambio en suelo y compiten por su absorción en la planta (Degryse et al., 2004).

En Colombia, la propagación de *T. cacao* se realiza principalmente a través de la técnica de injertación, combinando de este modo atributos agronómicos de interés y de importancia económica de los patrones, como resistencia a plagas y enfermedades y tolerancia a factores de estrés abiótico, con características de productividad y de calidad de grano en los materiales utilizados como copas. Actualmente no se cuenta con información del efecto del Cd sobre variables de crecimiento y parámetros fisiológicos de combinaciones copa x portainjerto de cacao. El objetivo principal de este estudio fue evaluar el efecto de la absorción de Cd sobre parámetros fisiológicos de portainjertos de cacao y combinaciones copa x portainjerto cultivadas en Colombia.

Objetivos

General

- Evaluar el efecto de la acumulación de cadmio sobre variables de crecimiento y parámetros fisiológicos de plantas de cacao bajo condiciones de vivero.

Específicos

- Evaluar el efecto del cadmio sobre variables de crecimiento en portainjertos y en combinaciones copa x portainjerto de cacao establecidos en suelo enriquecido con cadmio.
- Evaluar el efecto del cadmio sobre parámetros fisiológicos en portainjertos y en combinaciones copa x portainjerto de cacao establecidos en suelo enriquecido con cadmio.
- Evaluar el efecto del cadmio sobre la concentración de proteína total soluble en tejido foliar en portainjertos y en combinaciones copa x portainjerto de cacao establecidos en suelo enriquecido con cadmio.

Marco teórico

El cacao, descripción general

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es una especie perteneciente a la familia botánica Malváceas, estudios recientes indican su centro de origen en la región del triángulo amazónico entre los países de Colombia, Ecuador y Perú (Motamayor et al., 2008). El cultivo de cacao se ha distribuido en varias regiones tropicales y subtropicales del mundo como África, América Central y Suramérica, en donde las condiciones edafoclimáticas han permitido su establecimiento (Daymond & Hadley, 2004).

Los cultivares comerciales más ampliamente utilizados fueron clasificados inicialmente en tres grupos genéticos “criollo”, “forastero” y “trinitario” (Aranzazu et al., 2009). Los primeros se caracterizan por su agradable aroma y exquisito sabor, con alta susceptibilidad a plagas y enfermedades y baja productividad. El grupo Forastero contempla cacaos tipo estándar, conocidos también como amazónicos, con resistencia a algunas enfermedades. Finalmente, el grupo de los trinitarios se trata de híbridos obtenidos mediante el cruzamiento entre criollos y forasteros (Abbott et al., 2019).

Una nueva clasificación con diez grupos genéticos incluyendo Amelonado, Contamana, Criollo, Curaray, Guiana, Iquitos, Marañon, Nacional, Nanay y Purus fue reportada posteriormente por Motamayor et al. (2008).

El cacao es un árbol semi-caducifolio perenne que puede alcanzar alturas entre 15 a 20 m en condiciones naturales. Dentro de las condiciones más apropiadas para su crecimiento se encuentran rangos de temperatura entre los 18°C a 23°C, precipitaciones entre los 1.500 y 3.000 mm/año y humedad relativa superior al 75% (Fedecacao, 2004). Por otro lado, entre las condiciones edáficas ideales para el establecimiento del cultivo y desarrollo óptimo están pH entre 5 a 7.5, suelos permeables, arcillo-arenosos en mayor proporción de arena y contenidos de materia orgánica mayores al 3.5 % (Arvelo et al., 2017).

El Consejo Nacional Cacaotero mediante el acuerdo No. 003 de 3 de julio de 2002 estableció el material genético aprobado para ser utilizado como portainjerto, además de los clones recomendados para copa en las distintas zonas productoras de Colombia (ICA, 2002). Entre los materiales genéticos utilizados más ampliamente como portainjerto en el país se encuentran IMC67, CAU39 y PA121. Materiales como ICS95 y CCN51 representan dos de los cultivares comerciales más utilizados en el país como copa.

Métodos de propagación

En el cultivo de cacao se emplean dos métodos de propagación, sexual y asexual. La propagación sexual se realiza a partir de semillas extraídas directamente de los frutos desde las cuales se obtienen los portainjertos de cacao. El proceso de injertación se realiza cuando el diámetro del tallo del patrón alcanza el grosor de un lápiz y presenta un buen estado fitosanitario. La injertación se lleva a cabo utilizando ramas portayemas de cultivares con características agronómicas y económicas de interés, como alto rendimiento y resistencia a limitantes fitosanitarias (Fedecacao, 2012).

Algunas de las técnicas de injertación más utilizadas en cacao son injerto de aproximación, injerto lateral y el injerto de púa central o terminal (IICA, 2006). Este último, consiste en insertar en el portainjerto una rama portayema con 3 a 4

yemas activas, que darán origen a brotes para el desarrollo del injerto (Fedecacao, 2012).

Producción de cacao mundial y nacional

La producción mundial para el año 2018-2019 fue de 4.824 millones de toneladas de grano seco, siendo Costa de Marfil el mayor productor con un registro de 2.200 millones de toneladas, seguido de Ghana con 870 toneladas, Ecuador con 298 toneladas y Camerún con 260 toneladas de grano de seco de cacao. El continente africano participa con un 77% de la producción mundial de cacao, mientras que América y Asia-Oceanía participan con un 17% y un 6% respectivamente (ICCO, 2019).

En Colombia en el año 2020, fueron registradas 189.185 hectáreas sembradas en cacao y una producción de 63.416 toneladas de grano seco (MADR, 2021), siendo el departamento de Santander el mayor productor con 26.315 toneladas y una participación del 41% de la producción nacional, seguido en su orden por Antioquia con 5.974 (9 %), Arauca con 5.082 (8%), Tolima con 4.312 (7 %), Huila con 4.197 (7%) y Nariño con 2.980 (5%) toneladas de grano seco de cacao (Fedecacao, 2021).

El cadmio

El Cd es un elemento metálico cuyo número atómico es 48, es poco abundante en la corteza terrestre y es considerado altamente tóxico para la atmósfera, el agua, el suelo, los seres humanos, los animales y las plantas (Rodríguez et al., 2008). Al tener un número atómico por encima de 20 y un peso específico que supera los 5 g/cm^3 es considerado un metal pesado (Barceló & Poschenrieder, 1992).

Niveles altos de Cd en suelo pueden resultar de procesos naturales como meteorización de las rocas, características químicas del material parental, erosiones volcánicas y factores antropogénicos como contaminación con

herbicidas, fertilizantes, actividades de minería y deposición de lodos (Bravo et al., 2014; Rodríguez et al., 2008; Ekmekçi et al., 2008; Martínez, 2014; Fernández, 2018). En suelos agrícolas los metales pesados pueden presentar una gran variabilidad, debido principalmente a la composición del material parental y a los procesos de morfogénesis del suelo (Rueda et al., 2011). Concentraciones de Cd en suelo por debajo de 1 mg.kg^{-1} se considera como suelo no contaminado entre 1 a 3 mg.kg^{-1} se considera como suelo ligeramente contaminado y por otra parte concentraciones superiores a 3 mg.kg^{-1} es considerado suelo contaminado (Irfan et al., 2013). En un estudio conducido por Bravo et al. (2018) en el que se evaluó la concentración de Cd en suelo en 26 fincas productoras de cacao de tres regiones de Colombia, se detectó una concentración máxima de $3,74 \text{ mg.kg}^{-1}$ de Cd pseudototal. Por otra parte, una concentración mucho más alta que la reportada por Bravo et al. (2018), correspondiente a 30 mg.kg^{-1} de Cd pseudototal en suelo, fue determinada en otro estudio en una región productora del grano de cacao en el departamento de Cundinamarca (Sandoval, 2019).

Ingreso del cadmio a la planta

En el suelo el Cd se encuentra en forma de catión divalente (Cd^{2+}) y su disponibilidad depende del pH (más disponible en condición ácida y solubilidad nula a pH alcalino), el contenido de materia orgánica y contenido de arcillas, además de otras propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo como el potencial redox y las propiedades químicas del metal (Nazar et al., 2012; Martínez 2014 & Fernández 2018).

El Cd no cumple con los criterios de esencialidad de los elementos químicos propuesto por Arnon & Stout (2016) quienes sostenían que un elemento esencial para la planta es aquel que, en ausencia del elemento la planta es incapaz de completar su ciclo de vida, la función que desempeña el elemento no puede ser reemplazada o sustituida por otro, y el elemento debe estar directamente implicado en el metabolismo. Por tales razones y al desconocerse, hasta la fecha, alguna función biológica del Cd en las plantas, no se considera un elemento

esencial para el metabolismo vegetal. El ingreso del Cd a la planta puede ocurrir de forma pasiva por difusión iónica, desde el suelo hacia la raíz o por transporte activo, con gasto de energía metabólica (Mendoza et al., 2011) utilizando proteínas transportadoras y canales de nutrientes minerales como Ca^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} y Zn^{2+} (Clemens et al., 2002).

Proteínas transportadoras de elementos minerales han sido sugeridas como mecanismo de desplazamiento del Cd en la planta, este es el caso de la proteína transportadora específica de calcio LCT1 (Clemens et al., 2002), la proteína transportadora de Fe y Zn IRT1 (Guerinot, 2000) y la familia de proteínas ZIP (Pence et al., 2000). Zhao et al., (2002) observaron que la toma pasiva de Cd en plantas hiperacumuladoras puede ocurrir en un 50% vía simplástica y en un 50% vía apoplástica.

El Cd es absorbido especialmente por los pelos radicales y células epidérmicas, transportado hacia el interior de la raíz mediante las células parenquimatosas, para finalmente entrar a haces vasculares, como tejido del xilema y ser traslocado a través del flujo transpiratorio hacia las partes aéreas (Song et al., 2017), donde puede llegar a producir alteraciones en la homeostasis y metabolismo celular (Sandoval, 2019).

El cadmio en el crecimiento vegetal

El Cd tiene efectos negativos sobre el crecimiento de los órganos de la planta (Martínez, 2014; He et al., 2008), además de afectar procesos bioquímicos y fisiológicos (Hussain et al., 2018 & Qin et al., 2020). Síntomas como pardeamiento y disminución de la longitud de raíz fueron observados por Chang et al., (2013) en plantas de *Pentas lanceolata* creciendo en suelo contaminado con Cd. En pimiento el estrés por Cd disminuyó la longitud y área de superficie de las raíces bajo condiciones hidropónicas (Huang et al., 2015). Según Hassan et al., (2016) la longitud y peso seco de las raíces de plántulas de papa sometidas a

estrés por Cd en suelo se vio afectado por aplicaciones de 60 mg.kg^{-1} de Cd. Igualmente, una reducción significativa en peso seco y área de raíces ha sido observada en repollo (Jinadasa et al., 2016), soya (Wang et al., 2016) y lechuga (Monteiro et al., 2009) sometidas a estrés por Cd.

El estrés por Cd también se ha manifestado en efectos tóxicos en la parte aérea de algunas especies cultivadas, síntomas como clorosis, necrosis, secamiento de ápices y disminución de área foliar pueden ser visibles en hojas (Hussain et al., 2018 & Pena et al., 2006). Pereira *et al.*, (2017) observaron cambios ultraestructurales de las hojas de plantas de cacao, CCN51, sometidas a estrés por Cd en suelo.

Otro efecto reportado es la disminución en el uso eficiente del agua y reducción en la apertura estomática, en plantas de *Arabidopsis thaliana*, como consecuencia de la acumulación del cadmio en las hojas (Perfus et al., 2002). En cacao, no se cuenta con mucha información, hasta la fecha, acerca del efecto del metal pesado sobre estas variables.

Si bien, el Cd no participa en procesos de óxido reducción en la célula, se ha estudiado que aumenta la actividad de NADPH oxidasa en la membrana y peroxisoma, aumentando así la producción de peróxido de hidrogeno (H_2O_2) (Gill & Tuteja, 2010 & Rodriguez et al., 2009). La acumulación de H_2O_2 , como consecuencia de la disminución en los mecanismos antioxidantes de las plantas es una de las principales formas de estrés oxidativo en la que participa el Cd (Cho & Seo, 2005).

El estrés por Cd en las especies vegetales causa un incremento en la producción de radicales superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) en la célula, este es producido en mayor cantidad en el aceptor de electrones de fotosistema I (PSI) en la membrana tilacoidal (Gill & Tuteja, 2010). En las raíces ocurre un incremento mayor que en la parte aérea, según lo observado por Shah et al.,(2001), las raíces de arroz son un sitio activo de producción ROS, como consecuencia del aumento en la cantidad de radicales

O_2^- hay un incremento en la producción de la enzima antioxidante superóxido dismutasa (SOD) en ese mismo órgano.

El cadmio y su efecto sobre la membrana celular

La membrana es un componente esencial para la integridad de la célula en todos los organismos vivos, está conformada por una bicapa lipídica que separa el medio interno de la célula con el exterior. Dentro de la membrana existen proteínas integrales, superficiales o periféricas que permiten la comunicación y entrada de sustancias, nutrientes y demás moléculas necesarias para el metabolismo celular. Además está formada de compuestos lípidos polares que presentan una cabeza hidrofílica y una cola hidrofóbica, entre los que se encuentran glicerolípidos y esfingolípidos (Azcon & Talón, 2008).

Según lo reportado por Ekmekçi et al., (2008), el Cd causa pérdida de solutos y pérdida de electrolitos en las plantas y como consecuencia una liberación de productos asociados a la peroxidación lipídica, la cual es causada por adición de un radical oxígeno o pérdida de un hidrógeno en ácidos grasos insaturados (Martínez, 2014a). La membrana plasmática es un componente celular que responde en primera medida a la toxicidad por metales pesados, ya sea por oxidación o inhibición de proteínas de membrana como H^+ -ATPasa, por cambios en la composición y fluidez de los lípidos y por cambios en la permeabilidad de la misma (Navarro et al., 2007).

En tejido foliar el Cd causa una alteración en el contenido de lípidos de membrana, ya sea reduciendo o aumentando su cantidad (Nouairi et al., 2006). En la raíz se presenta una reducción significativa en sitoesterol y un aumento en estigmaesterol y adicionalmente disminución en el contenido de algunos fosfolípidos (Hernández & Cooke, 1997). El sitoesterol y estigmaesterol son compuestos celulares lipídicos anfipáticos de tipo esteroides fundamentales para la integridad de la membrana plasmática (Azcon & Talón, 2008).

El cadmio y su efecto sobre la fotosíntesis

La fotosíntesis es un proceso biológico complejo, por el cual las plantas toman energía solar, agua y CO₂ para formar biomoléculas necesarias para su metabolismo, crecimiento y desarrollo (Azcon & Talón, 2008). Además es el único proceso que utiliza la energía lumínica y la transforma en energía química, fundamental para la mayoría de los seres vivo (Taiz & Zeiger, 2002).

Varios procesos fisiológicos como transporte y asimilación de nutrientes, requerimiento hídrico, crecimiento y desarrollo están relacionados con la fotosíntesis, la cual puede afectarse por diversos factores como sequía, aplicación de herbicidas, metales pesados, patógenos, entre otros (González et al., 2008). El estrés por Cd causa efectos irreversibles sobre la tasa neta de fotosíntesis y en el uso eficiente de agua (León et al., 2002). Alteraciones en el intercambio gaseoso y en la estructura del aparato fotosintético han sido reportadas por varios autores como resultado del estrés por Cd (Pereira de Araújo et al., 2017 & Rodríguez et al., 2008).

Disminución en el contenido de pigmentos fotosintéticos ha sido observada en plantas de cacao (Pereira de Araújo et al., 2017); maíz (Ekmekçi et al., 2008), *Abelmoschus esculentus* (Sharma et al., 2010 y *Dittrichia viscosa* (Fernández et al., 2013) sometidas a estrés por Cd.

La reducción en el contenido de clorofila, como resultado del efecto tóxico del Cd se da principalmente debido a que los contenidos de clorofilas que se encuentran en hojas viejas son degradados y se inhibe la síntesis en hojas jóvenes (Parmar et al., 2013). La reducción en el contenido de pigmentos fotosintéticos es un factor crítico para el crecimiento de las plantas, debido a que sin ellos no puede realizarse los procesos de fotosíntesis, especialmente la captación de luz en los complejos antena del fotosistema II (PSII) y I (PSI), y como consecuencia la planta no puede completar su ciclo biológico y metabolismo bioquímico (Cooper et al., 2007).

Según lo reportado por Perfus et al., (2002), el Cd reduce, además, la conductancia estomática y puede también incrementar la transpiración cuando se encuentra en bajas concentraciones (López et al., 2009) y disminuirla cuando se encuentra en concentraciones altas (Souza et al., 2011). Rubisco, enzima necesaria para el proceso de carboxilación, disminuye como consecuencia de la toxicidad por Cd y a su vez reduce la fijación de CO_2 en la fase de asimilación o ciclo de Calvin de la fotosíntesis (Nováková et al., 2004). Otras enzimas necesarias en el ciclo se ven afectadas por estrés debido al Cd, ya sea modificando la funcionalidad en su estructura nativa o reemplazando elementos nutricionales (Irfan et al., 2013).

En muchas especies vegetales el transporte de electrones se ve reducido a causa de la toxicidad por Cd, como consecuencia los centros de reacción no pueden alcanzar sus máximos estados de oxidación (Popova et al., 2009).

El cadmio y su efecto sobre la nutrición mineral

La absorción, asimilación y translocación de elementos nutritivos pueden verse afectados por toxicidad de Cd en las plantas, dado que los daños ocurridos en la membrana plasmática alteran la toma de nutrientes en la célula y transporte a través de esta (Nazar et al., 2012).

El Cd interactúa con cationes divalentes como el Ca, Mg, Fe, Mn y Zn para entrar a la planta, se combina con estos elementos en sitios de intercambio catiónico en el suelo e ingresa por medio de proteínas y canales transportadores de nutrientes minerales resultando en alteraciones nutricionales. Según lo reportado por Carvalho et al., (2012) el Cd afectó el contenido de K^+ en la parte aérea de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) y aumentó el contenido de hierro (Fe) en raíces. En cacao, según lo reportado por Pereira de Araújo et al., (2017) la concentración de K, Ca y Mg en raíces y tallos se vio reducida significativamente con aplicaciones de Cd en el suelo.

Así mismo, Sandoval (2019) observó aumentos significativos en la concentración foliar de Mn y Zn y disminución de Mg en plantas de cacao sometidas a estrés por Cd en suelo. Alteraciones nutricionales en cebollín (Li et al., 2016); arveja (Metwally et al., 2005) soya (Zhi et al., 2015) y tomate (Carvalho, Gabriel, et al., 2012) han sido también observados como resultado de la exposición a diferentes concentraciones de Cd.

La asimilación de nitrógeno se ha visto también afectada por la absorción de Cd en muchas especies, ya sea inhibiendo la absorción de nitratos o afectando la actividad de enzimas encargadas de su asimilación, como es el caso de nitrato reductasa (Chang et al., 2013; Gill & Tuteja, 2010).

Efecto del Cd en el crecimiento y fisiología de combinaciones copa × portainjerto de cacao.

1.1 Introducción

El cadmio (Cd) es un elemento no esencial para el apropiado metabolismo de las plantas y además es altamente tóxico en la mayoría de los seres vivos (Sterckeman & Thomine, 2020; He et al., 2020; Rodríguez et al., 2008). La acumulación de Cd en tejidos vegetales resulta en efectos tóxicos sobre la fisiología de las plantas afectando parámetros como el balance hídrico, la concentración de pigmentos fotosintéticos, la asimilación de elementos nutricionales y la fotosíntesis (Martinez, 2014; He et al., 2008; Hussain et al., 2019; Qin et al., 2020; Chang et al., 2013; Pereira de Araújo et al., 2017).

El cacao es una planta que tiene la capacidad de absorber, acumular y translocar Cd a los diferentes órganos y tejidos (Pereira de Araújo et al., 2017; Rodriguez, 2017; Sandoval, 2019; Jácome, 2017). Cambios en parámetros fisiológicos bioquímicos, moleculares y ultra estructurales han sido observados en plantas de cacao sometidas a estrés por Cd (Pereira de Araújo et al., 2017).

En Colombia, la propagación de *T. cacao* se realiza principalmente a través de la técnica de injertación, combinando de este modo atributos agronómicos de interés y de importancia económica de los portainjertos, como resistencia a plagas y enfermedades y tolerancia a factores de estrés abiótico, con características de productividad y de calidad de grano en los materiales utilizados como copas. La injertación es una técnica de propagación de plantas que permite unir dos materiales genéticos en un solo árbol, e influye en los caracteres de

productividad y desempeño favorable bajo diferentes condiciones de estrés biótico y abiótico (Rasool et al., 2020). La técnica de injertación ha sido utilizada durante muchos años en cultivos perennes y hortalizas (Goldschmidt, 2014).

Un efecto del portainjerto ha sido observado en la acumulación de Cd y otros minerales en algunas especies de cultivo tales como *Solanum melongena* (Yuan et al., 2019 & Arao et al., 2008), *Cucumber* (Rouphael et al., 2008) y especies frutales (Savvas et al., 2010). En cacao no hay estudios, hasta la fecha, que evalúen el efecto del portainjerto en la acumulación de Cd.

Diferencias en la absorción y acumulación de Cd en diferentes materiales genéticos de cacao han sido observadas (Lewis et al., 2018) sugiriendo un efecto del genotipo en la acumulación de Cd. A pesar de que en Colombia el cacao se siembra en combinaciones copa x portainjerto, no se cuenta con suficiente información de la acumulación de Cd en las combinaciones cultivadas en el país, ni del efecto del elemento pesado en su crecimiento y fisiología. Los materiales genéticos IMC67 y PA121 constituyen dos de los portainjertos más ampliamente utilizados en el país, avalados por el Consejo Nacional Cacaotero mencionado anteriormente. Por otra parte, dentro de los cultivares comerciales más ampliamente cultivados en Colombia se encuentran el ICS95 y CCN51 (Fedecacao, 2012). El cultivar ICS95 (Imperial College Selection 95) fue seleccionado en Trinidad y sobresale por su resistencia a *Moniliophthora roreri*, una de las principales limitantes fitosanitarias del cacao en el país (Jaimes & Aranzazu, 2010). En el caso de CCN51 (Colección Castro Naranjal 51), se destaca por ser muy productivo y adaptado a varias condiciones edafoclimáticas, su limitante es la susceptibilidad a *Phytophthora* sp (Aranzazu et al., 2009).

Este estudio permitió evaluar el efecto de la acumulación de Cd sobre variables de crecimiento y parámetros fisiológicos de dos de los portainjertos de cacao más ampliamente cultivados en Colombia, IMC67 y PA121, así como de combinaciones copa x portainjerto con dos cultivares comerciales de amplia difusión en el país, ICS95 y CCN51, utilizados como copa. Los resultados mostraron un efecto del Cd sobre el crecimiento de la planta, tasa de fotosíntesis, uso eficiente del agua, toma de elementos nutricionales y pérdida de electrolitos. Además, se observaron diferencias en el efecto tóxico del Cd entre combinaciones copa x portainjerto.

1.2 Materiales y métodos

1.2.1 Localización del experimento

El experimento se llevó a cabo bajo condiciones de vivero, ubicado en el Centro de Investigación (C.I) Palmira de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria AGROSAVIA, Centro de Investigación (CI) Palmira, con coordenadas geográficas N 03° 30' 56,2" W 76° 08' 56,2", una altitud de 1001 m.s.n.m, temperatura media anual de 23.8 ° C y humedad relativa anual entre 70 y 76 %. Las condiciones ambientales, durante el desarrollo del experimento, fueron registradas con una estación meteorológica WatchDog 1000 series Micro Station.

1.2.2 Establecimiento del experimento y material vegetal

Material vegetal

En el banco de germoplasma de cacao, del C.I Palmira, se colectaron frutos obtenidos de polinización abierta de IMC67 y PA121, materiales genéticos avalados por el Consejo Nacional Cacaotero para ser utilizados como portainjertos en el país. Además de los frutos obtenidos de libre polinización, se llevaron a cabo cruzamientos dirigidos entre IMC67 y PA121 siguiendo la metodología descrita por Royaert *et al.* (2011) (Figura 1).

Los botones florales de árboles escogidos como parentales fueron cubiertos con tubos plásticos transparentes, conteniendo plastilina en el extremo adherido al árbol mientras que el otro extremo fue sellado con muselina para evitar la entrada de insectos. Las flores seleccionadas como madre o receptoras se identificaron por su aspecto abultado indicando que estaban próximas a abrir. Al día siguiente, entre las 7 y 10 de la mañana, se procedió a emasculación de las flores del genotipo materno para lo cual se retiraron los estambres de la flor seleccionada como receptora, además de dos o tres estaminodios para facilitar el acceso al estilo. La preparación de la flor seleccionada como donadora o padre consistió en la remoción de los pétalos dejando de este modo libre los estambres con sus anteras.

La coloración blanca del polen, indicativo de su viabilidad, fue confirmada antes de la polinización. Finalmente, se procedió a frotar las anteras sobre el estigma y se cubrió nuevamente la flor receptora o madre. Las flores polinizadas se marcaron con láminas plásticas indicando la fecha de polinización y el cruzamiento dirigido. También fueron evaluadas progenies de los mismos genotipos obtenidas a partir de polinización libre.

Una vez obtenidos los frutos, tanto de cruzamientos dirigidos como de libre polinización (LP), las almendras se extrajeron de las mazorcas, se eliminó el mucilago con arena y se sembraron en bolsas de polietileno de 20 cm de diámetro x 30 cm de alto, conteniendo arena lavada de río donde permanecieron por dos meses.



Figura 1. Procedimiento de polinización dirigida realizado en flores de cacao siguiendo la metodología de Royaert et al. (2011). A) Selección de flores receptoras de polen y cubrimiento de flores con tubos plásticos transparentes, plastilina y muselina en uno de los extremos. B y C) Eliminación de pétalos en flor donadora de polen. D) Flor lista para ser polinizada y procedimiento de frotar las anteras con polen viable en el estigma de la flor receptora. E) Flor recién polinizada y cubierta con tubo de plástico para impedir la entrada de insectos. F) Flor rotulada donde se indica la fecha de la polinización y cruzamiento dirigido realizado. G y H) Pepinillo de cacao indicativo de polinización exitosa.

El fertirriego del material vegetal experimental se llevó a cabo con solución nutritiva Hoagland con la siguiente composición: 2.5 mM KNO_3 , 2.5 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 1.0 mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.5 mM KH_2PO_4 , y elementos menores: 1.01 ppm Fe, 0.5 ppm B, 0.5 ppm Mn, 0.05 ppm Zn, 0.02 ppm Cu, 0.01 ppm Mo. La solución nutritiva fue preparada con agua destilada.

Establecimiento del experimento en vivero

Para el establecimiento del experimento se utilizó suelo colectado en el norte del departamento del Valle del Cauca, Colombia, en zona productora de cacao. El suelo presentaba un pH de 4,48. El suelo colectado fue secado al aire y posteriormente pasado por un tamiz de 2mm mesh. Una vez tamizado, fue dividido en dos grupos, uno de los cuales se enriqueció con una solución de nitrato de cadmio $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ seguido de incubación durante un mes en condiciones de vivero. Durante el tiempo de incubación el suelo fue mezclado constantemente. Tanto el suelo sin adición de Cd, como el suelo enriquecido con

el metal pesado, fueron utilizados para la preparación de sustrato en vivero en una mezcla con arena lavada de río y cascarilla de arroz en una relación 3:1:1.

La concentración final de Cd en el sustrato preparado con el suelo sin adición de Cd fue de 0,43 mg.kg⁻¹ y de 7,49 mg.kg⁻¹ en el caso del sustrato preparado con suelo enriquecido con el metal pesado. Plantas jóvenes, bien desarrolladas, de aproximadamente 2 meses de edad, fueron trasplantadas a bolsas de polietileno de 25 cm de diámetro x 45 cm de alto, calibre 4, con capacidad de 12 kg de sustrato.

1.2.3 Diseño experimental

Portainjerto

La distribución de las plantas se realizó bajo un diseño en bloques completos al azar con cuatro repeticiones y dos factores (Figura 2):

Factor A. Concentración de Cd en suelo con dos niveles (0,43 y 7,49 mg. Kg⁻¹).

Factor B. Portainjertos de cacao con cuatro niveles (IMC67 LP, PA121 LP, IMC67 x PA121 y PA121 x IMC67).

El tamaño de la unidad experimental fue de 10 plantas. Los tratamientos se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Listado de tratamientos utilizados en la evaluación de los portainjertos

No	Tratamiento
1	IMC67 x PA121 Cd
2	IMC67 x PA121
3	PA121
4	PA121 x IMC67 Cd
5	IMC67
6	PA121
7	IMC67 Cd
8	PA121 x IMC67

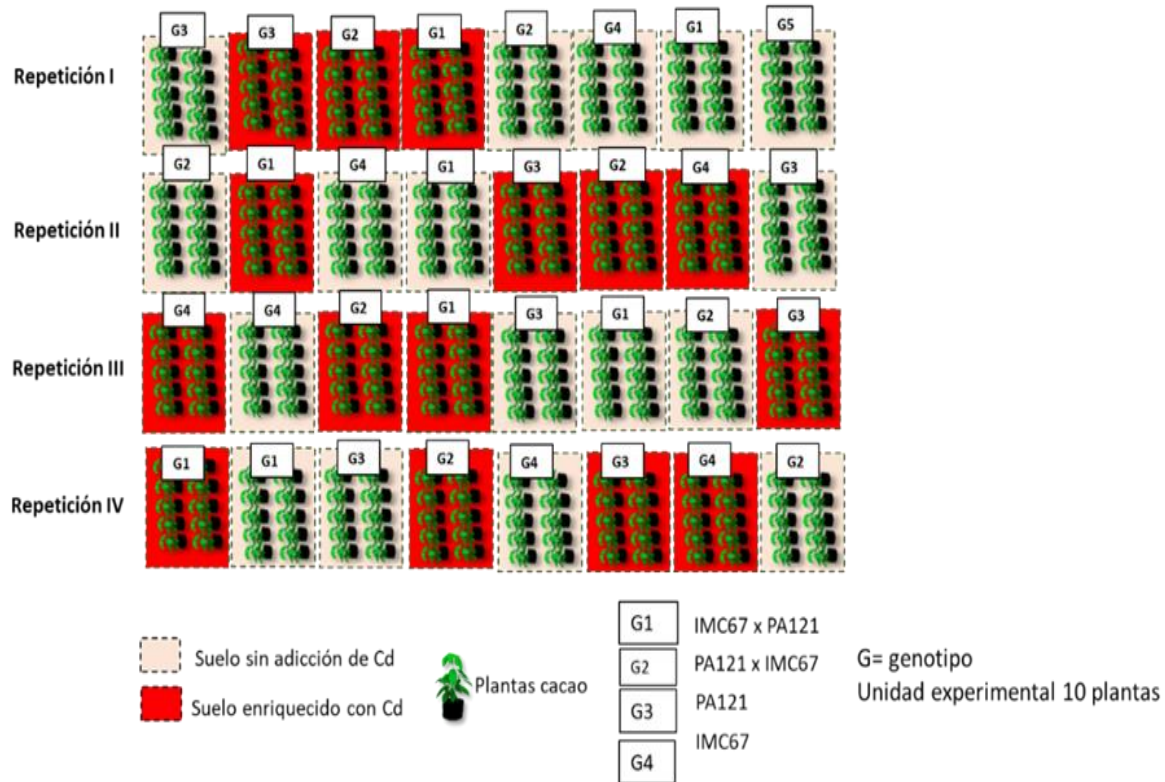


Figura 2. Diseño experimental utilizado en vivero para la evaluación del efecto del cadmio sobre plantas de cacao. Diez plantas por unidad experimental y cuatro portainjertos, dos obtenidos mediante libre polinización y dos a partir de polinización dirigida, establecidos en sustrato conteniendo suelo enriquecido con cadmio y en suelo sin adición del metal pesado.

Cinco (5) meses después del establecimiento de las plantas en sustrato con los dos niveles de Cd, se realizó la evaluación de variables fisiológicas seguido de un muestreo destructivo tomando dos (2) plantas por unidad experimental por tratamiento, por repetición ($n=8$). A fin de lavar el Cd adherido a la superficie de la raíz para evitar cuantificarlo en los análisis como si hubiera sido absorbido por la planta, una vez extraídas las plantas de las bolsas de vivero y retirado el suelo adherido a las raíces, estas fueron sumergidas en una solución de 5 mM EDTA y 20 mM TRIS (pH 8.0) durante 3 minutos con agitación manual, seguido de tres lavados con agua destilada durante tres minutos cada uno (Nguyen et al., 2016). Las plantas fueron divididas en raíces, tallo y hojas. El peso fresco y seco de cada órgano, longitud de raíz y parte aérea y área foliar fueron determinados.

1.2.4 Parámetros evaluados

A continuación, se relacionan los parámetros evaluados.

-Área foliar (cm^2): Fue determinada utilizando un medidor digital de área foliar de laboratorio marca LICOR-3000.

-Crecimiento (g): El peso fresco de raíces, tallos y hojas fue determinado utilizando una balanza analítica marca Mettler Toledo referencia PM4600. Posteriormente, las muestras fueron dispuestas en bolsas de papel debidamente rotuladas y secadas en horno a 60 °C durante 72 horas, después de este periodo de tiempo, el peso seco de cada muestra fue determinado nuevamente en balanza analítica. La longitud de raíz y parte aérea fue determinada con la ayuda de una cinta métrica.

-Fluorescencia de la clorofila: La fluorescencia de la clorofila se determinó mediante un fluorómetro portátil de pulsos modulares marca Opti-Sciences OS P30+. Dos mediciones se tomaron con la ayuda de un clip en una hoja joven, completamente expandida, sana y fotosintéticamente activa de las plantas evaluadas, las hojas fueron inicialmente adaptadas a la oscuridad durante un periodo de 30 minutos (Pereira *et al.*, 2017), entre las 7 a.m. y 12 p.m. El tejido de la hoja se iluminó con un haz de luz actínica de 3500 μmol de fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, con el objetivo de conseguir una saturación completa en los centros de reacción de fotosistema II (PSII). Se midió el rendimiento fotoquímico máximo del PSII (F_v/F_m), fluorescencia inicial (F_0) y fluorescencia máxima (F_m).

-Intercambio de gases: Las mediciones de fotosíntesis neta (P_N) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiración (E) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), conductancia estomática (g_s) ($\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), y carbono interno (C_i) ($\mu\text{mol mol}^{-1}$), se realizaron mediante un analizador de gases portátil de sistema abierto, marca ADC modelo LCpro+, entre las 8:00 a.m. y 11 a.m., las medidas se tomaron sin control de CO_2 y con luz natural de 250 a 450 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$. En la misma hoja usada para la evaluación de la fluorescencia de la clorofila, se registraron dos mediciones por planta, las cuales se promediaron.

También se calculó mediante la siguiente fórmula el uso eficiente del agua (WUE por sus siglas en inglés).

$$\text{WUE} = \frac{\text{Tasa de fotosíntesis (PN)}}{\text{Tasa de transpiración (E)}}$$

-Pigmentos fotosintéticos: El contenido de pigmentos fotosintéticos (mg/g) (Clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total (*a+b*) y carotenoides totales), se determinó en las mismas hojas seleccionadas para la medición de intercambio de gases y fluorescencia de la clorofila, siguiendo la metodología descrita por Melgarejo (2010), previa modificación (Información anexa 1) y basada en extracciones con acetona al 80% previamente enfriada a -10°C . La absorbancia de los extractos se determinó con un espectrofotómetro marca Perkin Elmer Lambda 25/35/45, utilizando las siguientes longitudes de onda: 663 nm, 647 nm y 470 nm para *Chl a*, *Chl b* y carotenoides respectivamente.

La concentración de pigmentos fue calculada a partir de las siguientes ecuaciones según Lichtenthaler, (1987).

$$\begin{aligned} \text{Ca} &= 12,25 A_{663-2.79} A_{647} \\ \text{Cb} &= 21,5 A_{647-5.1} A_{663} \\ \text{C a + b} &= 7,15 A_{663+18.7} A_{647} \\ \text{Cx + c} &= 1000 A_{470-1.82} \text{Ca} - 85,02 \text{Cb}/198 \end{aligned}$$

-Pérdida de electrolitos (PE): La pérdida de electrolitos se determinó en la misma hoja usada para la evaluación del contenido de pigmentos fotosintéticos, de la cual se extrajeron, al momento del muestreo, tres discos de 1 cm de diámetro, que fueron lavados con agua desionizada, para eliminar los electrolitos adheridos a la superficie de la hoja. Los discos foliares fueron dispuestos en tubos de reacción tipo falcón de 15 mL conteniendo 3 mL de agua desionizada. Las muestras fueron incubadas a temperatura ambiente ($\pm 22^{\circ}\text{C}$) durante cinco horas, después de este periodo de tiempo, los discos foliares fueron calentados en baño María a 80°C durante diez minutos. Se registró la conductividad eléctrica mediante un conductímetro marcar Consort C5020 cada hora durante las cinco

horas de incubación a temperatura ambiente y después de calentar a 80°C. La pérdida de electrolitos se calculó usando la siguiente fórmula.

$$PE = \frac{CE1}{CE2} * 100$$

*CE1: medición realizada antes de calentar

*CE2: medición realizada después de calentar

-Proteína total soluble: Para la extracción de proteína total se utilizó una hoja sana, completamente expandida y fotosintéticamente activa, la hoja colectada se almacenó en nevera a -80°C hasta su posterior análisis. La muestra colectada fue macerada en nitrógeno líquido. La extracción de proteína total se realizó siguiendo el protocolo descrito por Bradford (1976) y la cuantificación de la coloración en lector de microplacas marca BioTek EPOCH 2 a 595 nm. La concentración se expresó en mg/g de material fresco equivalente a una curva de patrón de BSA (albumin estándar bovino) de la marca Thermo Scientific.

-Contenido de cadmio y nutrientes en tejido vegetal: La determinación del contenido de Cd en tejido foliar y raíces se realizó cinco (5) meses después del establecimiento de los portainjertos en sustrato conteniendo suelo enriquecido con Cd, y dos (2) y cuatro (4) meses después de la injertación mediante espectrofotometría de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP OES). La determinación de elementos nutricionales se realizó en tejido foliar cinco (5) meses después de establecimiento y dos (2) meses después de injertación, en el mismo número de muestras anteriormente descritas para Cd así el nitrógeno (N) fue cuantificado mediante técnica volumétrica, fósforo (P), azufre (S) y boro (B) por técnica colorimétrica, potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg), hierro (Fe), manganeso (Mn), cobre (Cu), zinc (Zn) y sodio (Na) por técnica de Espectroscopía de Absorción Atómica (EAA). Las muestras colectadas fueron secadas en horno a 60°C durante 72 horas,

previamente rotuladas y fueron analizadas por el laboratorio de servicios ambientales y agrícolas AGRILAB. La tabla anexa 1 muestra las técnicas utilizadas por AGRILAB para cada uno de los elementos cuantificados en las muestras de tejido.

1.2.5 Injertación

Una vez evaluadas las variables de respuesta de los portainjertos, ramas portayemas de los cultivares comerciales de cacao ICS95 y CCN51, procedentes del banco de germoplasma localizado en el C.I Palmira, fueron injertadas mediante la técnica de púa terminal en los portainjertos de cacao evaluados y conservados bajo condiciones de vivero (Figura 3) y (Tabla 2). Cuatro plantas por unidad experimental fueron injertadas con ICS95 y las otras cuatro con CCN51 (Figura 4). Dos (2) y cuatro (4) meses después de la injertación (ddi), las combinaciones copa x portainjerto fueron evaluadas a partir de las mismas variables de crecimiento y parámetros fisiológicos indicados anteriormente.

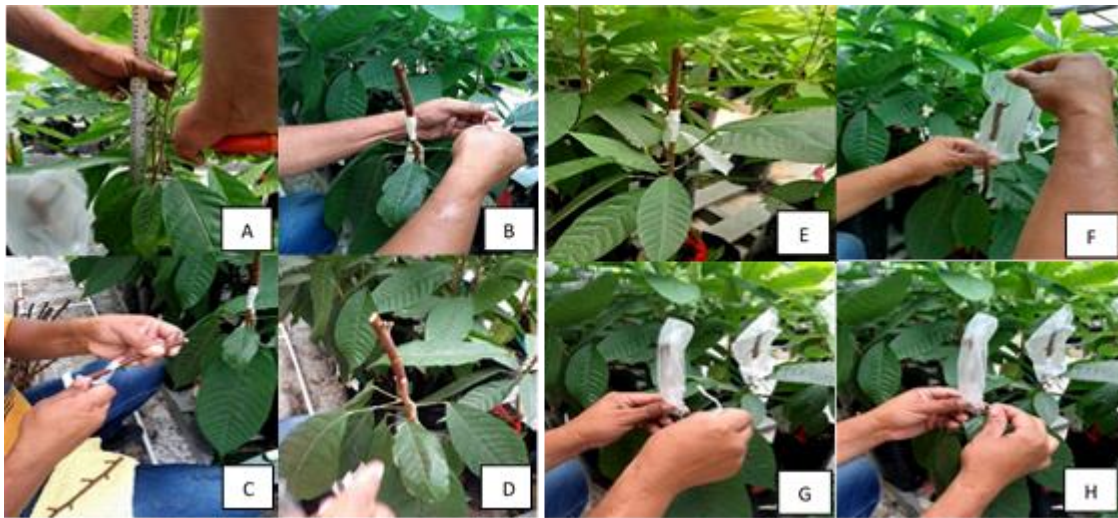


Figura 3. Procedimiento de injertación mediante la técnica de púa terminal. A. Eliminación de hojas del portainjerto a una altura aproximada de 40 cm desde la base del tallo. B. Incisión del tallo con navaja. C. Vareta portayemas preparada para injertación. D. Vareta portayemas injertada en el patrón. E. Injerto de cacao en púa terminal con cinta de adhesión. F. Injerto de cacao cubierto con bolsa de plástico transparente, necesaria para contener humedad. G. Bolsa plástica con sujetador, necesaria para ayudar a contener humedad en el injerto. H. Injerto púa terminal listo.

Tabla 2. Listado de tratamientos utilizados en la evaluación de las combinaciones copa x portainjerto

No.	Tratamiento*
1	IMC67 x PA121/ICS95
2	IMC67 x PA121 Cd/ICS95
3	IMC67 x PA121/CCN51
4	IMC67 x PA121 Cd/CCN51
5	PA121 x IMC67/ICS95
6	PA121 x IMC67 Cd/ICS95
7	PA121 x IMC67/CCN51
8	PA121 x IMC67 Cd/CCN51
9	IMC 67/ICS95
10	IMC67 Cd/ICS95
11	IMC67/CCN51
12	IMC67 Cd/CCN51
13	PA121/ICS95
14	PA121 Cd/ICS95
15	PA121/CCN51
16	PA121 Cd/CCN51

*Los tratamientos son indicados así: portainjerto / copa.

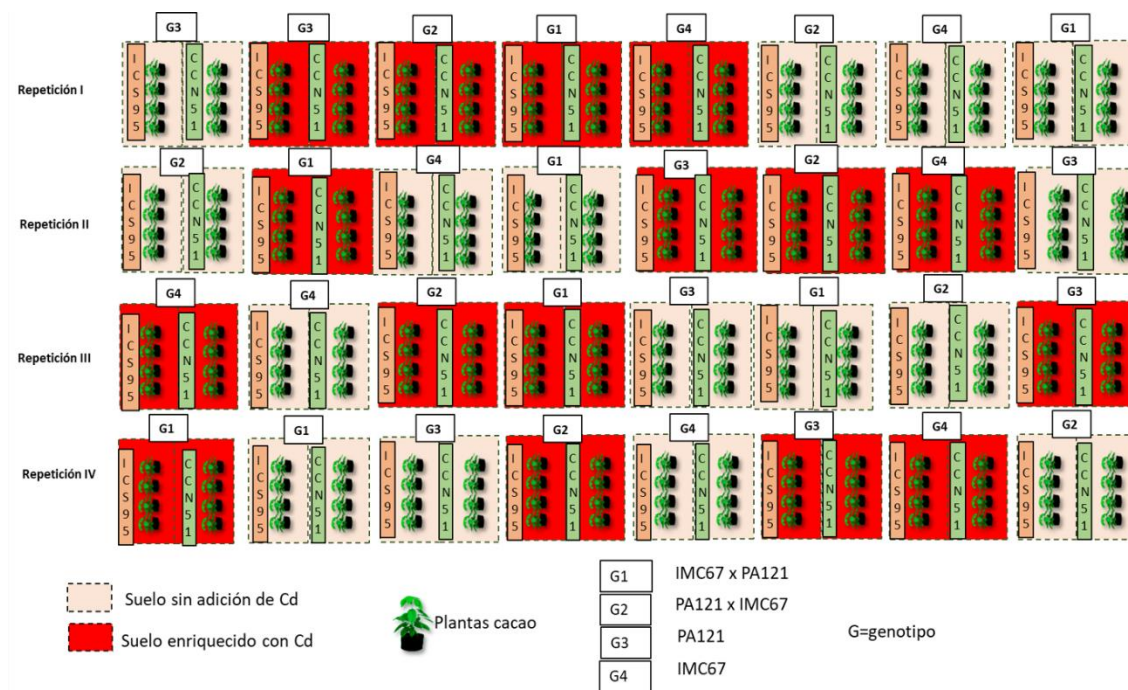


Figura 4. Representación esquemática de las combinaciones copa x portainjerto utilizadas en el presente estudio.

1.2.6 Prácticas agronómicas

Durante el desarrollo del experimento se llevaron a cabo prácticas agronómicas que incluyeron deshierbes manuales, aplicación de insecticidas siguiendo recomendación de ficha técnica, tales como Engeo (Tiametoxam +Lambdacihalotrina) o Lorsban (Clorpirifos) para el control de insectos defoliadores, aplicación de fertirriego según indicaciones anteriores, aplicación de riego según necesidad de la planta, manteniendo el sustrato a capacidad de campo y monitoreo del estado fitosanitario.

1.2.7 Análisis de datos

En primer lugar, se comprobó el cumplimiento de supuesto de normalidad mediante el método de Shapiro y Wilk. Una vez revisado el cumplimiento del supuesto de normalidad de los residuos de las variables, los datos obtenidos, tanto en el muestreo de portainjertos como en el de combinaciones copa x portainjerto, fueron analizados mediante un Modelo Lineal mixto (MLM).

El procesamiento de los datos se realizó mediante el programa estadístico R Studio versión 3.6.3.

1.3 Resultados

Las tablas anexas 1, 2 y 3 muestran los resultados obtenidos del MLM para los portainjertos y las combinaciones copa x portainjerto establecidas en dos concentraciones contrastantes de Cd en suelo.

1.3.1 Acumulación de cadmio

La acumulación de Cd en raíces de PA121 x IMC67 fue significativamente ($p < 0.05$) mayor que la observada en IMC67 e IMC67 x PA121 (Figura 5). No se observaron diferencias significativas en la acumulación de Cd en tejido foliar entre los diferentes portainjertos sometidos a estrés por Cd en suelo. Las plantas de los cuatro (4) portainjertos establecidos en suelo con adición del metal pesado acumularon la mayor cantidad de Cd en las hojas en su orden así IMC67 x PA121 (54,28 %), IMC67 (52,6 %), PA121 x IMC67 (42,3%) y PA121 (33,8%), respecto a la acumulación de Cd en raíces (Figura anexa 1).

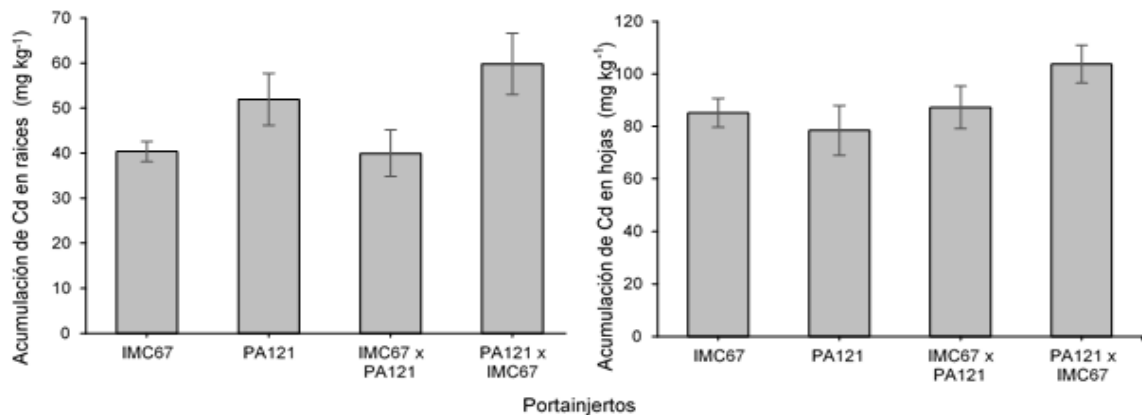


Figura 5. Acumulación de cadmio en portainjertos de cacao cinco meses después de establecidos en sustrato enriquecido con cadmio. A) Acumulación de cadmio en raíces. B) Acumulación de cadmio en tejido foliar. Los datos corresponden a promedios de 8 plantas (\pm SE).

De acuerdo con los resultados obtenidos, dos (2) meses después de la injertación (ddi), se observó una menor acumulación de Cd en tejido foliar de ICS95 injertado sobre IMC67 obtenido de libre polinización (LP) (Figura 6A). Por otra parte, no se observaron diferencias significativas en la acumulación de Cd en las raíces de ninguno de los portainjertos sobre los cuales fue injertado ICS95 dos meses ddi

(Figura 6C). Cuatro meses ddi, se observó una mayor acumulación de Cd en tejido foliar de ICS95 injertado sobre PA121 \times IMC67 (Figura 6A). Además, la acumulación de Cd en los portainjertos IMC67 (LP) e IMC67 \times PA121 fue menor a de los otros dos portainjertos utilizados en el estudio cuando se injertaron con ICS95 cuatro meses ddi (Figura 6C).

A diferencia de ICS95, dos meses ddi no se observaron diferencias significativas en la acumulación de Cd de CCN51 injertado sobre ninguno de los portainjertos utilizados en el estudio (Figura 6B). Por otra parte, una mayor acumulación de Cd fue observada en el portainjerto PA121 \times IMC67 dos meses ddi con CCN51 (Figura 6D). Cuatro meses ddi, una mayor acumulación de Cd fue observada en tejido foliar de CCN51 injertado sobre IMC67 \times PA121 y el cruzamiento recíproco (Figura 6B). Esta vez no se observaron diferencias significativas en la acumulación de Cd entre los portainjertos injertados con CCN51 (Figura 6D).

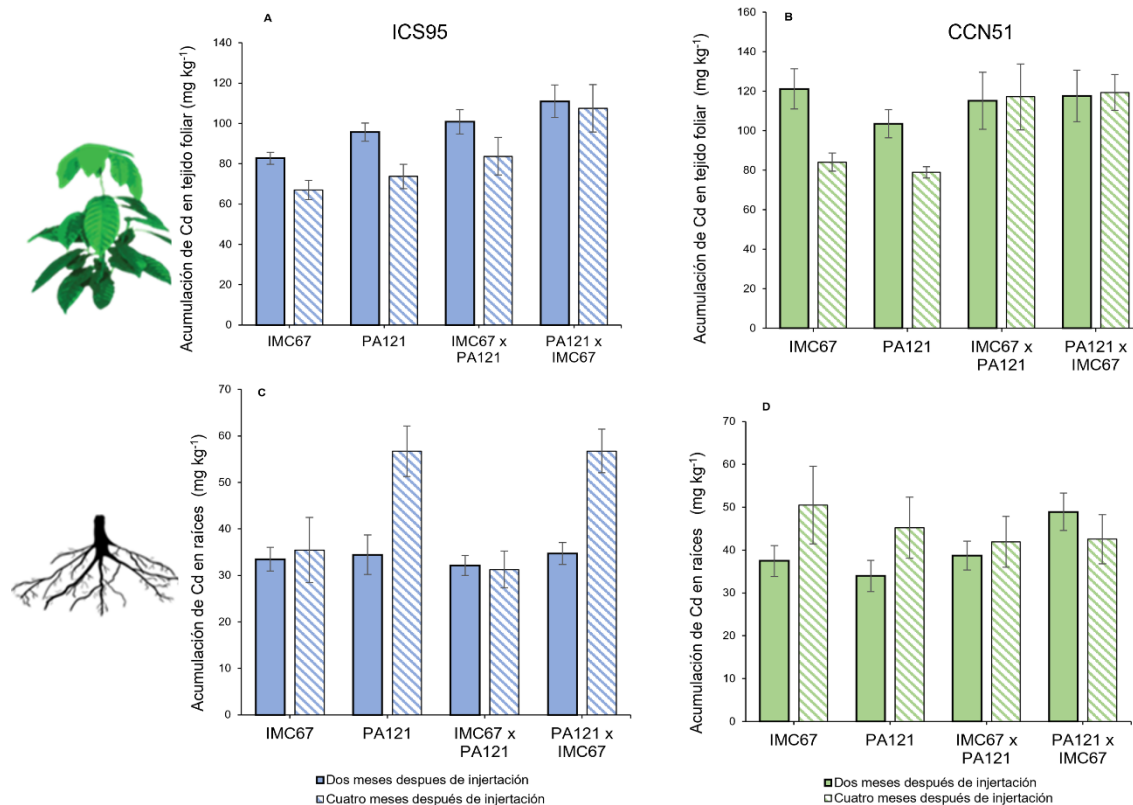


Figura 6. Acumulación de cadmio en combinaciones copa x portainjerto dos y cuatro meses después de la injertación. Barras azules corresponden a injertos con ICS95 como copa. Barras verdes corresponden a injertos con CCN51 como copa. Barras de color uniforme corresponden a la acumulación de cadmio dos meses después de la injertación. Barras con rayas diagonales corresponden a la acumulación de cadmio cuatro meses después de la injertación. Los datos corresponden a promedios de 8 plantas (\pm SE).

La acumulación de Cd en tejido foliar de CCN51, injertado sobre IMC67 LP, dos y cuatro meses ddi, fue significativamente mayor que la observada en ICS95 injertado sobre el mismo portainjerto (Figura 7). Es de resaltar que en Colombia uno de los portainjertos más comúnmente utilizados por los productores de cacao es IMC67 LP. Una significativa mayor acumulación de Cd en CCN51 fue también observada cuatro meses ddi cuando se injertó sobre IMC67 x PA121. No se observaron diferencias significativas en la acumulación de Cd, entre los dos cultivares utilizados como copa, cuando se injertaron sobre los otros portainjertos utilizados en el estudio (Figura 7).

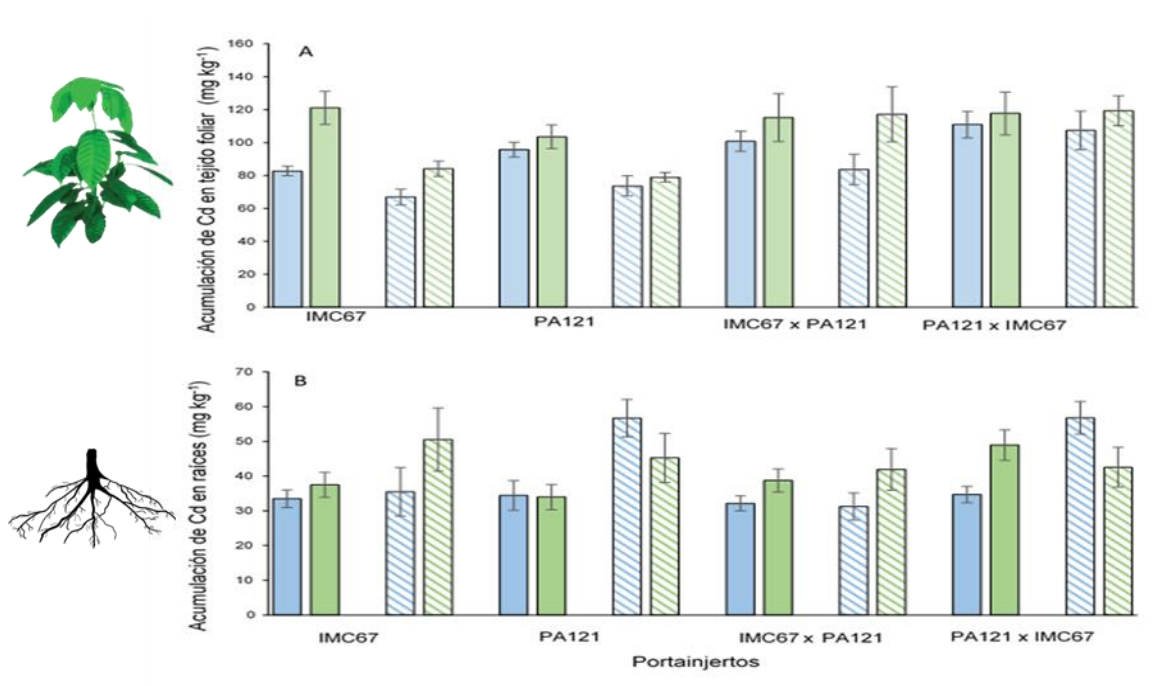


Figura 7. Acumulación de Cd en combinaciones copa x portainjerto dos y cuatro meses después de la injertación. Barras azules corresponden a injertos con ICS95 como copa. Barras verdes corresponden a injertos con CCN51 como copa. Barras de color uniforme corresponden a la

acumulación de cadmio dos meses después de la injertación. Barras con rayas diagonales corresponden a la acumulación de cadmio cuatro meses después de la injertación. Los datos corresponden a promedios de 8 plantas (\pm SE).

Una vez más se observó mayor acumulación del metal pesado en el tejido foliar de las dos copas injertadas sobre los cuatro portainjertos. Diferencias significativas entre la acumulación de Cd, entre los diferentes órganos, fueron observada para cada combinación, excepto para la copa ICS95 injertada con PA121, tanto a los dos meses después de injertación, como a los cuatro (Figuras anexas 2 y 3).

1.3.2 Crecimiento

Una significativa disminución en biomasa, en la longitud de parte aérea y en el área foliar, fue observada cinco meses después del establecimiento de los portainjertos en sustrato enriquecido con Cd. El peso fresco del tallo disminuyó 13.7%, 37.6%, 8.3% y 13.2% para IMC67 LP, PA121 LP, IMC67 \times PA121 y PA121 \times IMC67, respectivamente, comparado con los portainjertos establecidos en suelo sin adición de Cd (Figura 8A). Igualmente se observó una mayor disminución del peso seco de tallos (37.4%) y raíces (19.5%) de PA121 LP establecido en suelo enriquecido con Cd (Figura 8B y D). El peso fresco de hojas se vio reducido significativamente en los portainjertos IMC67 (19%), PA121 (20%) y PA121 \times IMC67 (13%) (Figura 8C), respecto al control. En cuanto a la longitud de la parte aérea, se observó una disminución del 15.8%, 32%, 13.6% y 2.8% para IMC67, PA121, IMC67 \times PA121 y PA121 \times IMC67, respectivamente, comparado con los portainjertos establecidos en suelo sin adición de Cd (Figura 8E). Una disminución significativa del área foliar del 20,5%, 23,72% y 15,92% fue observada para IMC67 LP, PA121 LP y PA121 \times IMC67, respectivamente comparado con los portainjertos establecidos en sustrato conteniendo suelo sin adición de Cd (Figura 8F).

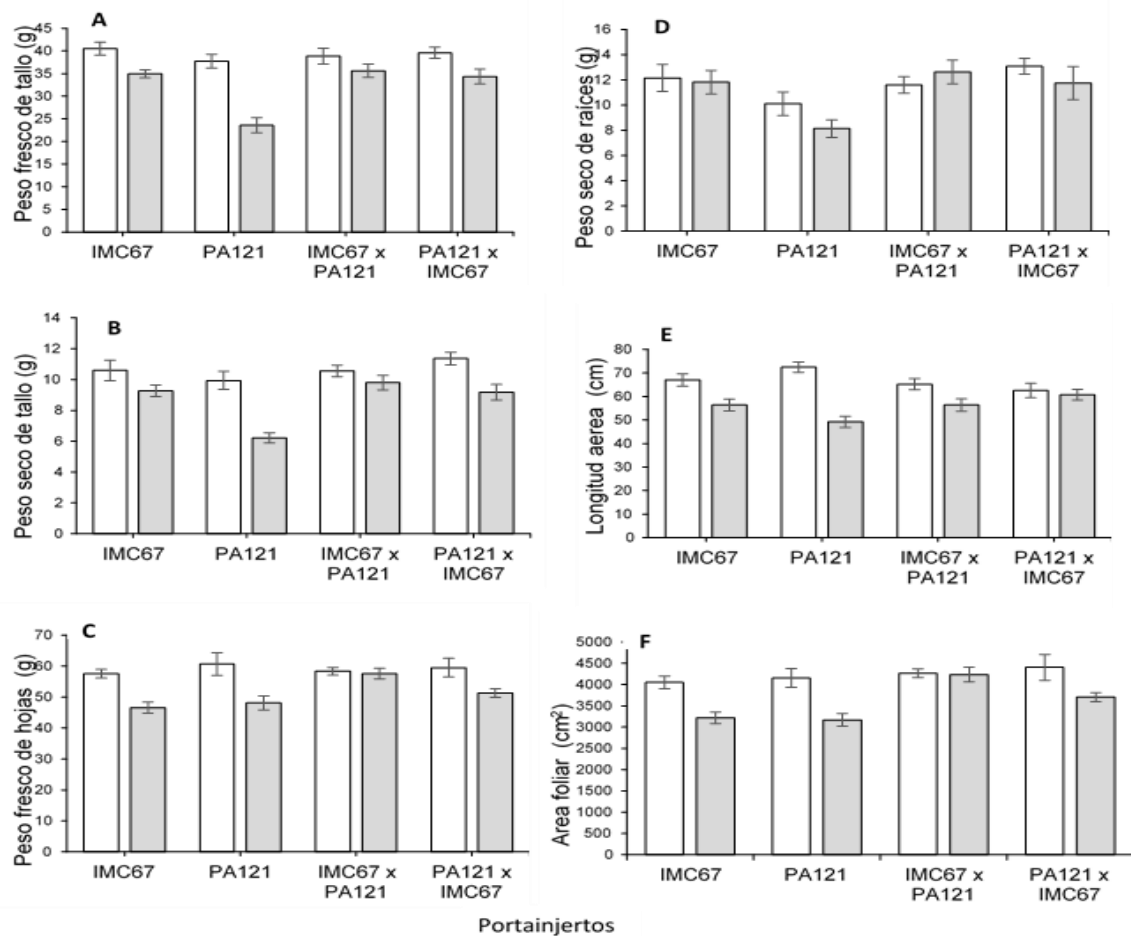


Figura 8. Crecimiento de cuatro familias de portainjertos establecidos en suelo bajo dos concentraciones de cadmio. Barras blancas representan el crecimiento de los portainjertos establecidos en sustrato conteniendo suelo sin adición de cadmio. Barras grises representan el crecimiento de los portainjertos establecidos en sustrato conteniendo suelo enriquecido con cadmio. A) Peso fresco del tallo. B) Peso seco del tallo. C) Peso fresco de tejido foliar. D) Peso seco de la raíz. E) Longitud de parte aérea. F) Área foliar. Los datos corresponden a promedios de 8 plantas (\pm SE).

Dos meses después de la injertación, se observaron cambios significativos en la biomasa de la raíz de las combinaciones copa x portainjerto que tenían como copa tanto a CCN51 como a ICS95 (Figura 9). El peso fresco y seco de las raíces de PA121 injertado tanto con CCN51 como con ICS95 disminuyó significativamente, es así como una disminución del peso fresco y seco de la raíz correspondiente al 25.5% y al 24.6%, respectivamente, fue observada cuando PA121 se injertó con ICS95 bajo condiciones de estrés por cadmio

(Figura 9A y C), por otra parte, una disminución del peso fresco y seco de la raíz correspondiente al 35.13% y 36.15%, respectivamente, comparado con el control, fue observada cuando PA121 fue injertado con CCN51 (Figura 9B y D).

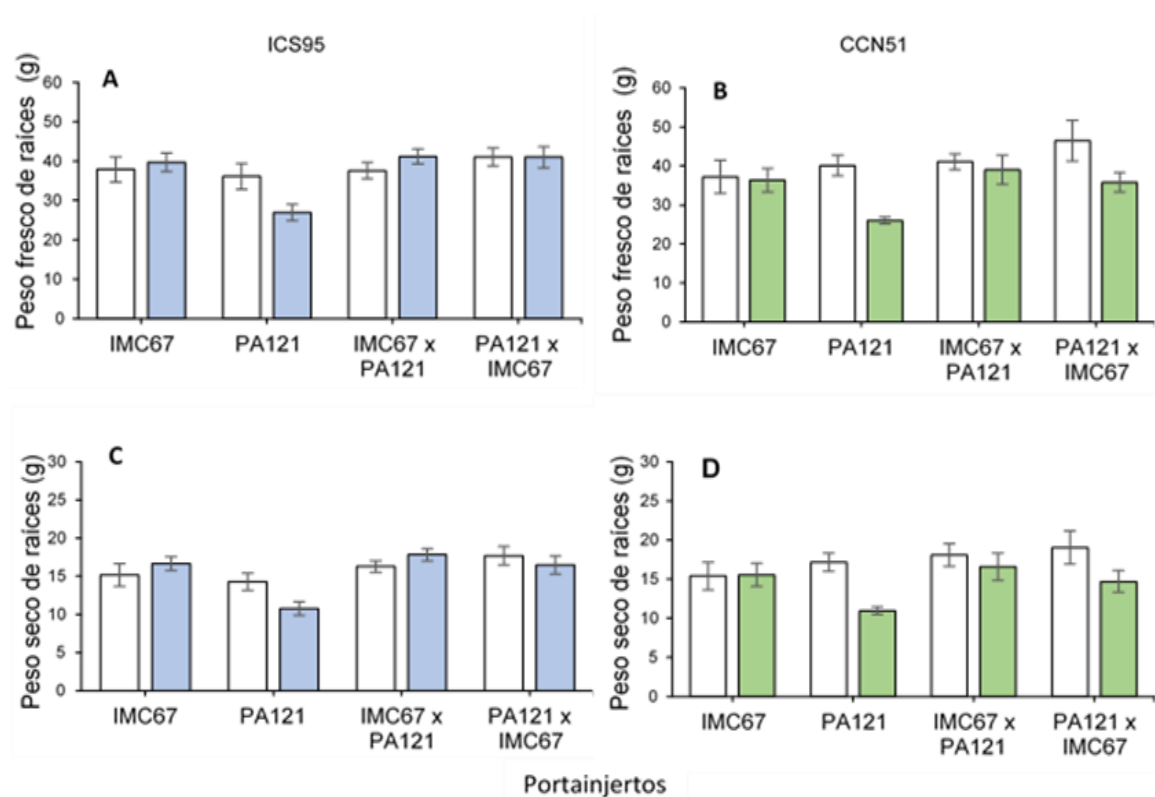


Figura 9. Crecimiento de combinaciones copa x portainjerto dos meses después de la injertación. Barras blancas representan el crecimiento de combinaciones copa x portainjerto establecidas en sustrato conteniendo suelo sin adición de cadmio. Barras azules corresponden a combinaciones copa x portainjerto con ICS95 como copa establecidos en sustrato conteniendo suelo enriquecido con cadmio. Barras verdes corresponden a combinaciones copa x portainjerto con CCN51 como copa establecidos en sustrato conteniendo suelo enriquecido con cadmio. A) y B) Peso fresco de raíz. C) y D) Peso seco de raíz. Los datos corresponden a promedios de 8 plantas (\pm SE).

La disminución en la biomasa de las raíces se observó también cuatro meses después de la injertación con ICS95 (Figura 10 A y C). En el caso de las combinaciones que tenían CCN51 como copa, cuatro meses después de la injertación, además de observar cambios significativos en el crecimiento del portainjerto, también se observaron cambios en el crecimiento de la copa comparados con el control. Es así como se observó una disminución significativa

en el área foliar (Figura anexa 4) y en el peso fresco y seco del tejido foliar de CCN51 injertado sobre todos los portainjertos utilizados en el estudio, excepto cuando se injertó sobre PA121 x IMC67 (Figura 10 B y D).

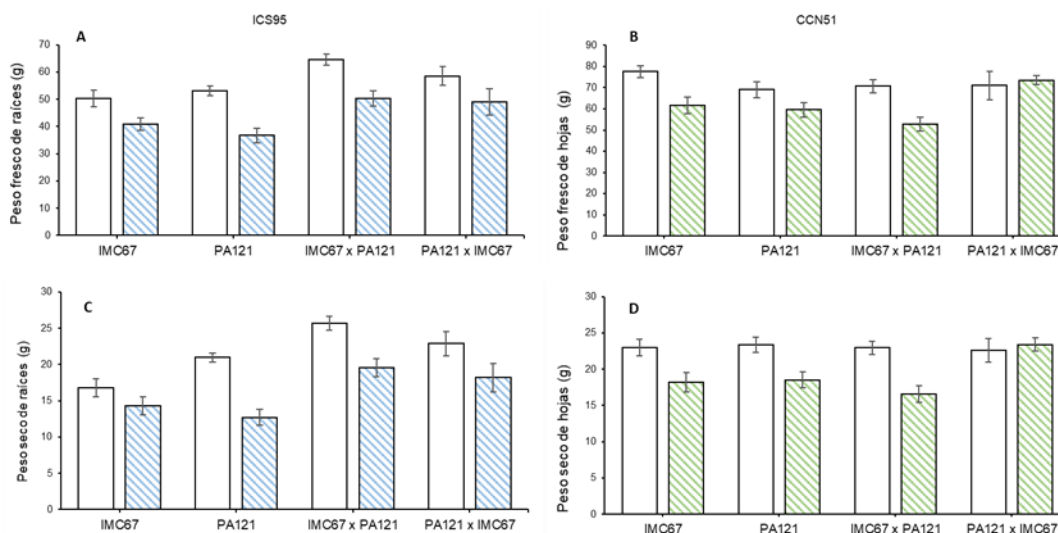


Figura 10. Crecimiento de combinaciones copa x portainjerto cuatro meses después de la injertación. Barras blancas representan el crecimiento de combinaciones copa x injerto establecidas en sustrato conteniendo suelo sin adición de cadmio. Barras azules corresponden a combinaciones con ICS95 como copa establecidos en suelo enriquecido con cadmio. Barras verdes corresponden a combinaciones con CCN51 como copa establecidos en suelo enriquecido con cadmio. A) Peso fresco de raíz, B) Peso fresco de hojas C) Peso seco de raíces y D) Peso seco de hojas. Los datos corresponden a promedios de 8 plantas (\pm SE).

1.3.3 Fluorescencia de la clorofila

No se observaron diferencias significativas en las variables asociadas a la fluorescencia de la clorofila entre portainjertos establecidos en sustrato conteniendo suelo con o sin adición de Cd antes de la injertación (Tabla anexa 1).

Dos meses después de la injertación, se observó una significativa disminución en F_m evaluada en ICS95 injertado sobre todos los portainjertos utilizados en el estudio, excepto cuando se injertó en PA121 x IMC67 (Figura 11A). El efecto del Cd sobre la F_m resultó en un cambio sobre la relación F_v/F_m , es así como una significativa disminución de F_v/F_m fue observada en ICS95 injertado en PA121 LP

y en IMC67 x PA121 (Figura 11B). A diferencia de los anteriores, un incremento en la relación F_v/F_m fue observada en ICS95 injertado en PA121 x IMC67 dos meses después de la injertación (Figura 11B). Este incremento fue observado nuevamente en la misma combinación copa x portainjerto cuatro meses después de la injertación (Figura 11C). Por otra parte, no se observaron diferencias significativas en las variables de la fluorescencia de la clorofila de CCN51, injertado sobre ninguno de los portainjertos utilizados en el estudio, dos o cuatro meses después de la injertación (Tablas anexa 2 y 3). Estos resultados sugieren un mayor efecto del Cd sobre ICS95 a través del tiempo de exposición al metal pesado. Lo que pone en evidencia la sensibilidad de la copa ICS95 al metal pesado a través del tiempo de exposición.

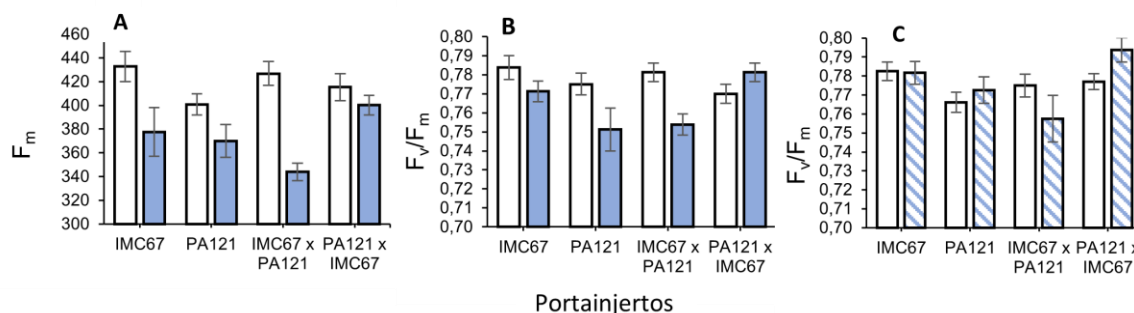


Figura 11. Fluorescencia de la clorofila evaluada en ICS95 injertada en cuatro familias de portainjertos de cacao establecidos en sustrato conteniendo suelo con dos concentraciones diferentes de Cd, bajo condiciones de invernadero. A) F_m dos meses después de la injertación. B) F_v/F_m dos meses después de la injertación. C) F_v/F_m cuatro meses después de la injertación. Las barras blancas representan combinaciones copa x portainjerto establecidas en sustrato conteniendo suelo sin adición de Cd ($0,43 \text{ mg.kg}^{-1}$). Las barras azules representan combinaciones copa x portainjerto establecidas en sustrato conteniendo suelo enriquecido con Cd ($7,49 \text{ mg.kg}^{-1}$). Los datos corresponden al promedio de 8 plantas \pm SE ($n = 8$).

1.3.4 Intercambio de gases

En el presente estudio se observó una disminución en la tasa de fotosíntesis neta (P_N) y en el uso eficiente del agua (WUE) en portainjertos establecidos en sustrato

conteniendo suelo con adición de Cd antes de la injertación. Una significativa disminución del 40.09% en P_N y del 40.6% en WUE fue observada en PA121 LP comparado con el control (sustrato conteniendo suelo sin adición de Cd) (Figura 12). No se observaron diferencias significativas en las variables de intercambio gaseoso evaluadas en ICS95 o en CCN51, en ninguna de las combinaciones con los portainjertos utilizados en este estudio, a los dos o a los cuatro meses después de la injertación (Tablas anexas 2 y 3).

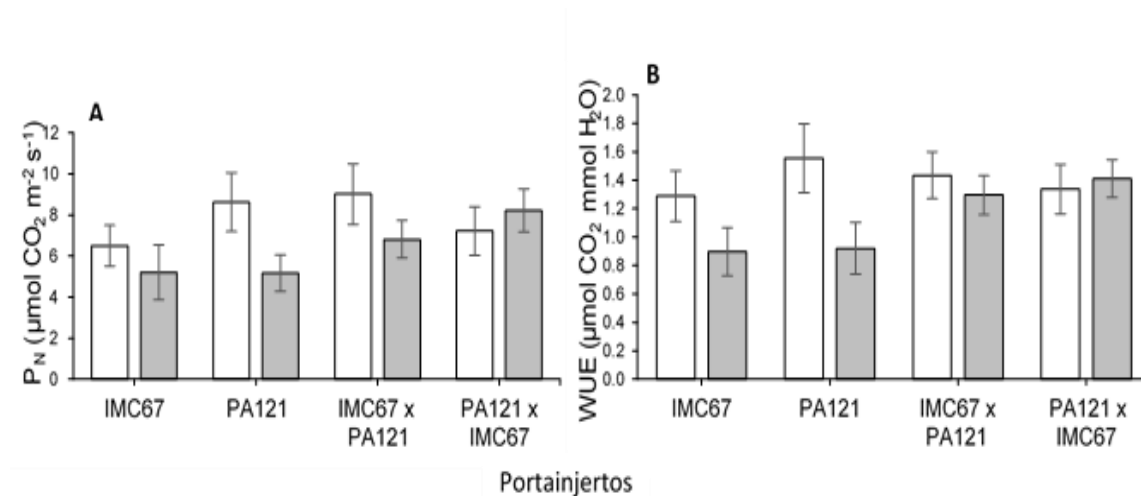


Figura 12. Variables de Intercambio de gases evaluadas en portainjertos sometidos a dos concentraciones diferentes de cadmio en suelo bajo condiciones de invernadero cinco meses después del tratamiento con Cd. A) tasa fotosintética (P_N) y B) uso eficiente del agua (WUE). Las barras blancas representan portainjertos establecidos en suelo sin adición de Cd ($0,43 \text{ mg kg}^{-1}$). Las barras grises representan portainjertos establecidos en suelo enriquecido con Cd ($7,49 \text{ mg kg}^{-1}$). Los datos corresponden a promedio de 8 plantas \pm SE ($n = 8$).

1.3.5 Pigmentos fotosintéticos

En el presente estudio, el cambio en el contenido de pigmentos cloroplásticos fue un indicador del efecto tóxico del Cd sobre los portainjertos. Un aumento significativo en el contenido de Chl *a* se observó para las progenies de IMC 67 LP y PA121 x IMC67, correspondiente a 42% y 28%, respectivamente, en comparación con el control (Figura 13A). En el caso de la Chl *b* se observó un comportamiento similar en IMC67 y PA121 x IMC67, observándose un incremento del 32% y 30%, en Chl *b* respectivamente, en comparación con el control

(Figura 13B). Como resultado de lo anterior, incrementos significativos en Chl total ($a + b$) fueron observados para IMC 67 y PA121 x IMC67 correspondientes a 39% y 28% en comparación con el control. Las otras progenies de portainjertos mostraron disminuciones en el contenido de Chl total ($a + b$); sin embargo, estas diferencias no fueron significativas (Figura 13C). La concentración de carotenoides disminuyó en todos los portainjertos sometidos a estrés por Cd, excepto en IMC67 LP, en el cual, el contenido de carotenoides incrementó en 17% comparado con el control (Figura 13D).

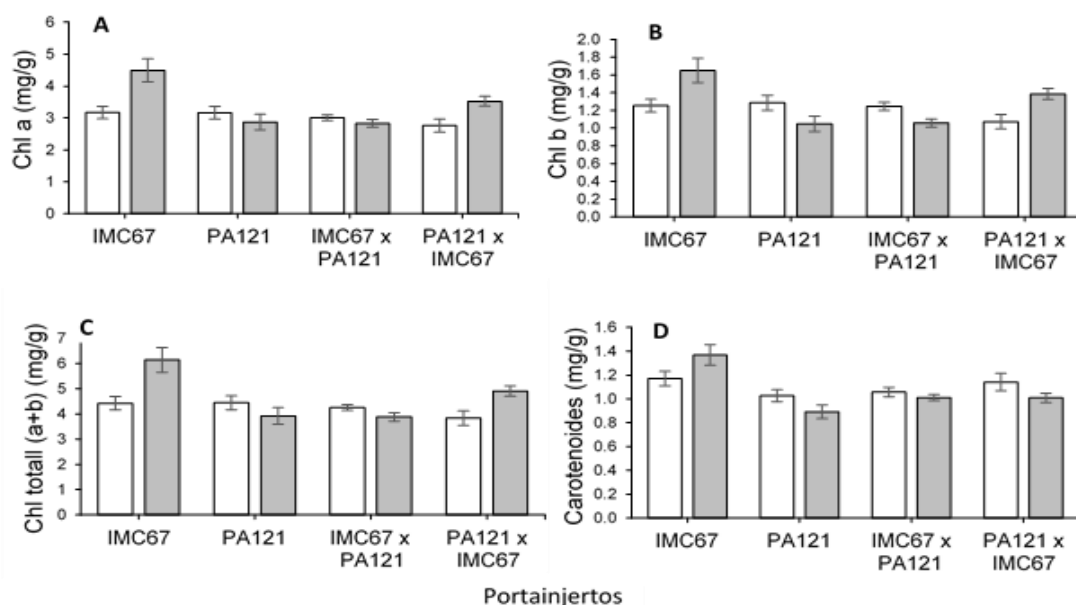


Figura 13. Concentración de pigmentos fotosintéticos en portainjertos sin injertar sometidos a dos concentraciones diferentes de Cd en suelo bajo condiciones de invernadero cinco meses después tratamiento con Cd. A) Concentración de clorofila a. B) Concentración de clorofila b. C) Concentración de clorofila total. D) Concentración de carotenoides. Las barras blancas representan las plantas cultivadas en suelo sin adición de Cd ($0,43 \text{ mg kg}^{-1}$). Las barras grises representan las plantas establecidas en suelo enriquecido con Cd ($7,49 \text{ mg kg}^{-1}$). Los datos corresponden a promedio de 8 plantas \pm SE ($n = 8$).

Diferencias significativas fueron observadas en ICS95 y CCN51, injertadas sobre diferentes genotipos, para las variables Chl a, Chl b, Chl total ($a+b$) dos meses ddi; sin embargo, estas diferencias fueron observadas tanto en plantas establecidas en suelo enriquecido con Cd como en plantas que no fueron sometidas a estrés por el metal pesado.

No se puede atribuir un efecto de la acumulación de Cd en las copas evaluadas para las variables Chl *a*, Chl *b* y Chl total, ya que las diferencias mencionadas, se observaron tanto en las plantas establecidas en sustrato conteniendo suelo con adición de Cd, como en plantas establecidas en sustrato sin adición del metal pesado (Tabla anexa 2).

1.3.6 Concentración de elementos nutricionales

Diferencias en la concentración de elementos nutricionales en tejido foliar evaluada cinco meses después del establecimiento de las familias de portainjertos en los tratamientos de Cd fueron observados para N, Zn, Na, B y Mn (Tabla 3). Diferencias en la concentración de P, K, Mg, Fe y Cu fueron también observadas entre portainjertos; sin embargo, estas diferencias fueron observadas a las dos concentraciones contrastantes de Cd.

La evaluación realizada dos meses ddi mostró diferencias en las plantas establecidas en suelo enriquecido con Cd y cuya copa era ICS95 para los nutrientes N, K, Mg, Cu, Zn y Na. Cuando se analizó la concentración de nutrientes en las plantas cuya copa era CCN51 se evidenció que las diferencias para N, K, Cu y B solo fueron en las combinaciones copa x portainjerto sometidas a sustrato conteniendo suelo enriquecido con Cd, mientras que Mg presentó diferencias en ambas concentraciones contrastantes de Cd en suelo (Tabla 4). Por otro lado, la concentración foliar de P, Zn y Na mostró diferencia en la copa CCN51 solo cuanto esta crecía en sustrato conteniendo suelo sin adición de Cd.

Tabla 3. Concentración de nutrientes minerales en el tejido foliar de portainjertos no injertados cinco meses después del tratamiento con Cd. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas en la concentración de elementos minerales entre portainjertos sometidos a una misma concentración de Cd según Duncan ($p < 0.005$). Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas en la concentración de elementos minerales para un mismo portainjerto sometido a dos concentraciones de Cd en suelo según Duncan ($p < 0,05$). Los datos corresponden a promedios de 8 plantas (\pm SE).

Concentración de Cd en suelo (mg.kg ⁻¹)	Portainjertos			
	IMC67	PA121	IMC67 X PA121	PA121 X IMC67
Macronutrientes				
N (%)				
0,43	2,08 \pm 0,05 a A	2,09 \pm 0,05 a A	2,2 \pm 0,03 a A	2,14 \pm 0,08 a A
7,49	1,99 \pm 0,09 ab A	1,93 \pm 0,07 ab A	1,88 \pm 0,05 b B	2,08 \pm 0,06 a A
P (%)				
0,43	0,13 \pm 0,00 a A	0,13 \pm 0,00 a A	0,12 \pm 0,00 a A	0,10 \pm 0,00 b A
7,49	0,12 \pm 0,00 ab A	0,12 \pm 0,00 a A	0,10 \pm 0,00 b B	0,11 \pm 0,00 ab A
K (%)				
0,43	1,52 \pm 0,04 a A	1,50 \pm 0,02 a B	1,46 \pm 0,04 a A	1,33 \pm 0,02 b B
7,49	1,57 \pm 0,02 b A	1,72 \pm 0,06 a A	1,48 \pm 0,02 b A	1,56 \pm 0,04 b A
Ca (%)				
0,43	1,03 \pm 0,05 a A	1,02 \pm 0,03 a A	1,06 \pm 0,04 a A	1,07 \pm 0,06 a A
7,49	0,98 \pm 0,03 a A	1,01 \pm 0,04 a A	1,07 \pm 0,04 a A	1,08 \pm 0,02 a A
Mg (%)				
0,43	0,44 \pm 0,01 a A	0,38 \pm 0,01 b A	0,39 \pm 0,00 b B	0,39 \pm 0,01 b A
7,49	0,48 \pm 0,02 a A	0,39 \pm 0,01 b A	0,43 \pm 0,01 ab A	0,39 \pm 0,01 b A
Micronutrientes				
Fe (mg kg⁻¹)				
0,43	209,75 \pm 16,22 a A	141,3 \pm 8,32 c A	166,87 \pm 9,67 bc A	177,62 \pm 16,56 ab A
7,49	175,5 \pm 6,51 a B	134,75 \pm 5,96 b A	171,87 \pm 4,17 a A	182,5 \pm 6,31 a A
Zn (mg kg⁻¹)				
0,43	70,02 \pm 3,93 a A	70,68 \pm 5,28 a A	67,9 \pm 5,43 a A	64,98 \pm 3,31 a A
7,49	68,01 \pm 3,18 a A	52,4 \pm 3,69 c B	59,03 \pm 3,79 bc A	64,45 \pm 3,22 ab A
S (%)				
0,43	0,19 \pm 0,00 a A	0,19 \pm 0,00 a A	0,19 \pm 0,00 a A	0,18 \pm 0,00 a A
7,49	0,18 \pm 0,00 a A	0,19 \pm 0,00 a A	0,17 \pm 0,01 a A	0,19 \pm 0,00 a A
Na (mg kg⁻¹)				
0,43	152,37 \pm 8,79 a B	142,75 \pm 10,06 a A	149,5 \pm 7,43 a A	151 \pm 9,05 a A
7,49	177,62 \pm 9,58 a A	147,62 \pm 6,00 b A	150,75 \pm 8,87 b A	167,12 \pm 6,51 a A
Cu (mg kg⁻¹)				
0,43	11,96 \pm 0,83 ab A	12,45 \pm 0,75 a A	11,87 \pm 0,56 ab A	10,78 \pm 0,42 b A
7,49	10,30 \pm 0,65 b A	11,68 \pm 0,68 a A	9,41 \pm 0,29 b B	10,04 \pm 0,66 b A
B (mg kg⁻¹)				
0,43	58,41 \pm 4,16 a A	54,97 \pm 6,14 a A	53,4 \pm 2,35 a A	56,83 \pm 5,45 a A
7,49	67,77 \pm 7,73 a A	48,73 \pm 2,26 b A	56,87 \pm 2,20 ab A	53,42 \pm 2,30 b A
Mn (mg kg⁻¹)				
0,43	647,37 \pm 45,87 a A	639,12 \pm 21,93 a A	713,5 \pm 24,28 a A	707,12 \pm 44,74 a A
7,49	489,12 \pm 19,35 b B	568,87 \pm 22,93 a B	559,87 \pm 32,03 a B	625,37 \pm 22,13 a A

Tabla 4. Concentración de nutrientes minerales en tejido foliar de clones de cacao dos meses después de la injertación en cuatro portainjertos. Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas en la concentración de elementos minerales en el tejido foliar de ICS95 o CCN51 injertados en portainjertos establecidos en la misma concentración Cd en suelo según Duncan ($P < 0,05$). Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas en la concentración de elementos minerales de ICS95 o CCN51 sometidos a dos concentraciones de cadmio en suelo según Duncan ($p < 0,05$). Los datos corresponden a promedios de 8 plantas (\pm SE).

Copa	Concentración de Cd en suelo (mg kg ⁻¹)	Portainjertos			
		IMC67	PA121	IMC67 X PA121	PA121 X IMC67
Macronutrientes t					
N (%)					
ICS95	0,43	1,95 \pm 0,06 a A	1,95 \pm 0,14 a A	1,92 \pm 0,11 a A	1,83 \pm 0,12 a A
	7,49	1,54 \pm 0,06 b B	1,59 \pm 0,07 b B	1,50 \pm 0,10 b B	1,81 \pm 0,05 a A
CCN51	0,43	2,09 \pm 0,11 a A	2,07 \pm 0,12 a A	2,04 \pm 0,09 a A	1,89 \pm 0,13 a A
	7,49	1,67 \pm 0,05 bc B	1,73 \pm 0,10 ab B	1,52 \pm 0,09 c B	1,90 \pm 0,08 a A
P (%)					
ICS95	0,43	0,18 \pm 0,01 a A	0,18 \pm 0,01 a A	0,17 \pm 0,01 a A	0,17 \pm 0,02 a A
	7,49	0,14 \pm 0,01 a B	0,17 \pm 0,01 a A	0,14 \pm 0,01 a B	0,14 \pm 0,01 a A
CCN51	0,43	0,20 \pm 0,01 a A	0,17 \pm 0,01 b A	0,19 \pm 0,01 ab A	0,17 \pm 0,01 b A
	7,49	0,18 \pm 0,01 a A	0,16 \pm 0,01 ab A	0,15 \pm 0,01 b B	0,16 \pm 0,01 ab A
K (%)					
ICS95	0,43	1,76 \pm 0,06 a A	1,70 \pm 0,08 a B	1,74 \pm 0,09 a A	1,74 \pm 0,10 a A
	7,49	1,76 \pm 0,06 b A	2,07 \pm 0,10 a A	1,83 \pm 0,08 b A	1,78 \pm 0,07 b A
CCN51	0,43	1,83 \pm 0,06 a A	1,68 \pm 0,08 b B	1,84 \pm 0,08 a A	1,77 \pm 0,05 ab A
	7,49	1,72 \pm 0,09 b A	1,91 \pm 0,09 a A	1,97 \pm 0,08 a A	1,86 \pm 0,08 a A
Ca (%)					
ICS95	0,43	0,68 \pm 0,03 a B	0,76 \pm 0,05 a B	0,69 \pm 0,05 a B	0,73 \pm 0,05 a B
	7,49	0,83 \pm 0,08 a A	0,89 \pm 0,04 a A	0,91 \pm 0,05 a A	0,88 \pm 0,06 a A
CCN51	0,43	0,70 \pm 0,03 a B	0,80 \pm 0,06 a A	0,68 \pm 0,05 a B	0,78 \pm 0,06 a A
	7,49	0,92 \pm 0,07 a A	0,90 \pm 0,06 a A	0,98 \pm 0,09 a A	0,79 \pm 0,05 a A
Mg (%)					
ICS95	0,43	0,53 \pm 0,03 a B	0,49 \pm 0,04 a B	0,50 \pm 0,03 a B	0,52 \pm 0,03 a A
	7,49	0,71 \pm 0,04 a A	0,60 \pm 0,02 b A	0,70 \pm 0,02 a A	0,61 \pm 0,04 ab A
CCN51	0,43	0,54 \pm 0,02 a B	0,48 \pm 0,02 b B	0,52 \pm 0,03 ab B	0,57 \pm 0,03 a A
	7,49	0,75 \pm 0,04 a A	0,61 \pm 0,03 b A	0,76 \pm 0,05 a A	0,57 \pm 0,03 b A

Continuación

Copa	Concentración de Cd en suelo (mg kg^{-1})	Micronutrientes			
		Fe (mg kg^{-1})			
ICS95	0,43	77,04 ± 5,52 a A	91,38 ± 9,09 a A	76,85 ± 6,67 a B	79,23 ± 5,45 a A
	7,49	87,68 ± 4,30 a A	103,85 ± 10,94 a A	106,45 ± 9,15 a A	90,88 ± 9,93 a A
CCN51	0,43	88,35 ± 7,33 a A	100,21 ± 9,12 a A	88,19 ± 6,00 a B	101,18 ± 8,87 a A
	7,49	91,16 ± 5,89 a A	97,81 ± 9,51 a A	104,99 ± 4,53 a A	93,53 ± 12,35 a A
S (%)					
ICS95	0,43	0,23 ± 0,01 a A	0,23 ± 0,001 a A	0,22 ± 0,01 a B	0,23 ± 0,01 a A
	7,49	0,23 ± 0,01 a A	0,23 ± 0,01 a A	0,24 ± 0,01 a A	0,23 ± 0,0 a A
CCN51	0,43	0,23 ± 0,01 a A	0,21 ± 0,004 a B	0,22 ± 0,01 a A	0,22 ± 0,01 a A
	7,49	0,24 ± 0,01 a A	0,23 ± 0,01 a A	0,23 ± 0,01 a A	0,22 ± 0,004 a A
Na (mg kg^{-1})					
ICS95	0,43	115,60 ± 5,31 a A	115,00 ± 9,01 a A	121,86 ± 12,96 a A	103,11 ± 6,95 a A
	7,49	113,10 ± 5,76 b A	125,63 ± 6,58 ab A	134,38 ± 9,56 a A	107,46 ± 6,76 b A
CCN51	0,43	114,99 ± 7,45 ab A	93,71 ± 5,89 c A	131,25 ± 10,17 a A	112,5 ± 6,88 b A
	7,49	107,49 ± 6,06 ab A	102,49 ± 6,55 b A	129,99 ± 9,78 a A	109,98 ± 7,80 ab A
Cu (mg kg^{-1})					
ICS95	0,43	11,89 ± 0,63 a A	13,89 ± 0,91 a A	12,11 ± 0,98 a A	12,38 ± 1,11 a A
	7,49	8,12 ± 0,40 b B	11,84 ± 0,80 a A	9,23 ± 1,20 ab B	10,45 ± 1,12 ab A
CCN51	0,43	13,31 ± 0,76 a A	11,57 ± 0,82 a A	13,23 ± 0,78 a A	11,50 ± 0,79 a A
	7,49	9,98 ± 0,71 bc B	13,18 ± 1,32 a A	8,38 ± 0,66 c B	12,39 ± 0,79 ab A
B (mg kg^{-1})					
ICS95	0,43	40,79 ± 4,21 a A	45,50 ± 5,03 a A	49,30 ± 7,32 a A	47,18 ± 7,44 a A
	7,49	44,66 ± 6,99 a A	37,61 ± 3,85 a A	44,90 ± 4,65 a A	45,91 ± 6,23 a A
CCN51	0,43	44,85 ± 4,28 ab A	40,60 ± 4,58 b A	53,41 ± 5,48 a A	42,18 ± 5,86 ab A
	7,49	48,74 ± 4,24 ab A	39,10 ± 5,87 b A	59,34 ± 6,73 a A	43,73 ± 5,23 b A
Mn (mg kg^{-1})					
ICS95	0,43	486,75 ± 41,66 a A	489,00 ± 35,51 a A	487,88 ± 46,26 a A	541,75 ± 53,29 a A
	7,49	482,00 ± 57,38 a A	483,00 ± 24,03 a A	563,50 ± 72,51 a A	621,38 ± 78,10 a A
CCN51	0,43	516,50 ± 32,28 a A	594,63 ± 50,32 a A	561,50 ± 46,90 a A	576,63 ± 57,53 a A
	7,49	527,50 ± 70,39 a A	504,50 ± 19,57 a B	626,25 ± 49,85 a A	590,88 ± 87,93 a A
Zn (mg kg^{-1})					
ICS95	0,43	65,14 ± 3,32 b A	73,35 ± 4,79 ab A	68,23 ± 3,34 b A	82,81 ± 6,61 a A
	7,49	63,73 ± 6,02 ab A	48,93 ± 4,38 b B	68,24 ± 3,65 a A	72,43 ± 6,59 a A
CCN51	0,43	69,23 ± 1,65 b A	65,88 ± 2,76 b A	69,14 ± 3,15 b A	79,28 ± 4,68 a A
	7,49	66,45 ± 1,88 a A	52,63 ± 3,46 a B	66,49 ± 7,61 a A	66,15 ± 4,21 a A

1.3.7 Pérdida de electrolitos

La pérdida de electrolitos fue significativamente diferente entre los portainjertos evaluados en suelo enriquecido con Cd cinco meses después de establecimiento experimental (Figura 14). Un incremento significativo del 24.7% y 30.6% en pérdida de electrolitos fue observado en IMC67 LP y PA121 LP establecidos en sustrato conteniendo suelo con adición de Cd. Contrario a lo anterior, no se observaron diferencias significativas en pérdida de electrolitos ni para ICS95 ni para CCN51 injertadas en portainjertos sometidos a estrés por Cd dos meses ddi.

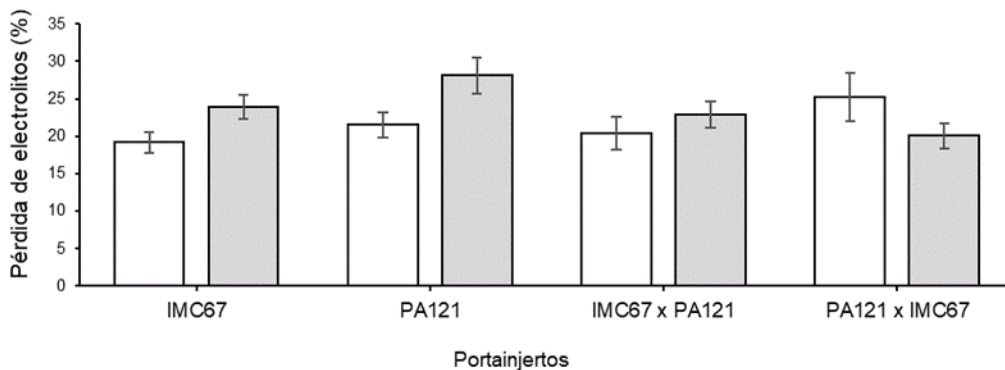


Figura 14. Pérdida de electrolitos en portainjertos sometidos a dos concentraciones diferentes de cadmio en suelo bajo condiciones de invernadero cinco meses después del tratamiento con Cd. Las barras blancas representan portainjertos establecidos en suelo sin adición de cadmio (0,43 mg.kg⁻¹). Las barras grises representan portainjertos establecidos en suelo enriquecido con Cd (7,49 mg.kg⁻¹). Los datos corresponden a promedios de 8 plantas (\pm SE).

1.3.8 Proteína total soluble.

La concentración de proteína total soluble en las hojas de los portainjertos evaluados 5 meses después del establecimiento experimental, mostró diferencias significativas cuando las plantas fueron sometidas a suelo enriquecido con Cd (Figura 15 A).

Dos meses después de la injertación, una disminución significativa en el contenido de proteína total soluble del 39.5% y el 38.5% fue observada en ICS95

injertado en IMC67 LP e IMC67 x PA121, respectivamente, comparado con el control (sustrato con suelo sin adición de Cd) (Figura 15B). Dos meses después de la injertación, también se observó una disminución significativa del 31% en CCN51 injertado en IMC67 LP comparado con el control (Figura 15C). Sin embargo, las diferencias encontradas en la copa CCN51, injertada sobre las cuatro familias de portainjertos, fueron observadas en ambas concentraciones de Cd en suelo, lo que una vez más no puede asociarse directamente a un efecto del Cd en las plantas (Figura 15C).

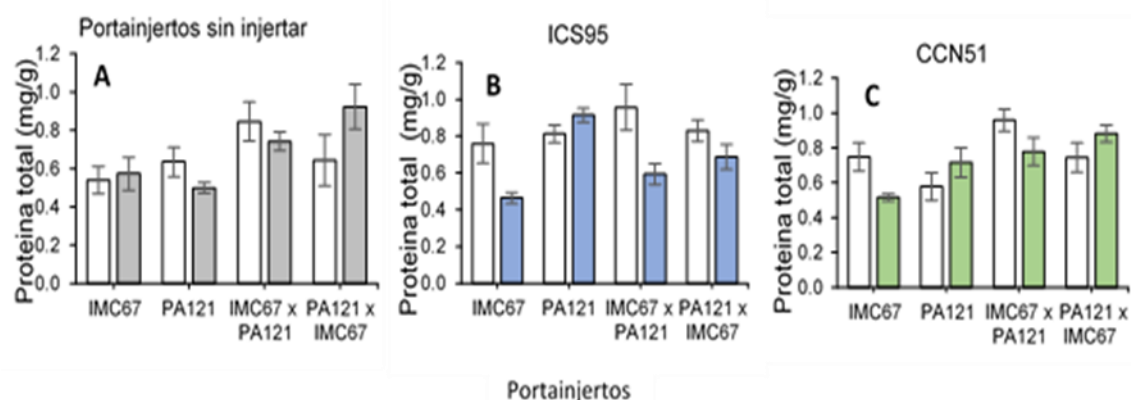


Figura 15. Contenido de proteína total soluble en tejido foliar de portainjertos y combinaciones copa x portainjertos sometidos a dos concentraciones diferentes de cadmio en suelo bajo condiciones de invernadero. A) Contenido de proteína en el tejido foliar de portainjertos sin injertar cinco meses después del tratamiento con Cd. B) Contenido de proteína en el tejido foliar de ICS95 dos meses después de la injertación en cuatro portainjertos diferentes. C) Contenido de proteína en el tejido foliar de CCN51 dos meses después de la injertación en cuatro portainjertos diferentes. Las barras blancas representan portainjerto o combinaciones copa x portainjertos establecidos en suelo sin adición de cadmio (0,43 mg kg⁻¹). Las barras grises representan portainjertos establecidos en suelo enriquecido con cadmio (7,49 mg kg⁻¹). Las barras azules representan ICS95 injertado sobre portainjertos establecidos en suelo enriquecido con cadmio (7,49 mg kg⁻¹). Las barras verdes representan CCN51 injertado sobre portainjertos establecidos en suelo enriquecido con cadmio (7,49 mg kg⁻¹). Los datos corresponden a promedios de 8 plantas (\pm SE).

1.4 Discusión

El presente estudio permitió evaluar el efecto del Cd sobre el crecimiento y parámetros fisiológicos de portainjertos de cacao ampliamente cultivados en Colombia, además del efecto sobre combinaciones copa x portainjerto común en el país. Los resultados contribuyen al conocimiento del efecto que genera la absorción y acumulación de Cd en portainjertos y combinaciones copa x portainjerto de cacao utilizando genotipos ampliamente cultivados en el país. Una mayor acumulación de Cd en tejido foliar fue observada, sugiriendo una eficiente traslocación del metal pesado a los órganos aéreos de la planta. La mayor acumulación de metales pesados en partes aéreas es una característica de plantas tolerantes al metal pesado (Sterckeman & Thomine, 2020), mientras que retención de metales pesados en las raíces sugiere intolerancia a elementos tóxicos por parte de las plantas (Choppala et al., 2014). La traslocación de esos elementos desde la raíz a la parte aérea ha evolucionado de manera más eficiente en plantas hiperacumuladoras (Verbruggen et al., 2009 & Reichman, 2002). En estudios realizados en cacao, bajo condiciones de vivero, se encontró un patrón similar de acumulación de Cd al observado en el presente estudio (Sandoval 2019). Es así como, Jácome (2017) cuando evaluó en vivero la acumulación de Cd en el portainjerto IMC67, establecido en suelo enriquecido con Cd y con adición de hongos formadores de micorrizas, observó mayor acumulación de Cd en la parte aérea. Por el contrario, Pereira de Araújo et al., (2017), no observaron diferencias en la acumulación de Cd entre diferentes órganos de plantas jóvenes de CCN51.

1.4.1 Crecimiento

Un efecto del metal pesado sobre el crecimiento de las plantas de cacao establecidas en sustrato conteniendo suelo con adición de Cd fue observado, tanto en los portainjertos como en las combinaciones copa x portainjerto, los cuales redujeron significativamente el

crecimiento de sus órganos. Variables como área foliar mostraron una disminución significativa como resultado del efecto tóxico del Cd. Resultados similares fueron encontrados en *Brassica oleracea* L. (Jinadasa et al., 2016), cacao (Sandoval, 2019) y *Prunus dulcis* (Nada et al., 2007). La biomasa radical también se vio significativamente reducida en las plantas establecidas en suelo enriquecido con Cd. Estos resultados son similares a otros estudios en los que la biomasa de raíces se vio reducida al someter las plantas a estrés por Cd, tanto en condiciones hidropónicas como medios de cultivo en suelo (Jácome, 2017; Huang et al., 2015; Nada et al., 2007 & Liu et al., 2020). Cabe destacar que algunas investigaciones han observado efectos adversos en el crecimiento de las plantas sometidas a estrés por Cd únicamente en concentraciones altas del metal pesado. Jácome, (2017) solo evidenció diferencias significativas en el peso seco de raíz, tallo y hojas de plántulas de IMC67, evaluadas en vivero, cuando éstas crecían en las concentraciones más altas de Cd: 12 y 24 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ suelo.

Las reducciones en el crecimiento de las plantas, debido a la acumulación del metal pesado, en los diferentes órganos, pueden estar asociadas con aumentos en las actividades de las especies reactivas del oxígeno (ROS), ya que estas ocasionan daños irreversibles en varias biomoléculas e impiden el normal desarrollo vegetal (Gill & Tuteja, 2010). Los iones libres de Cd^{2+} no participan en proceso redox, como si lo hacen otros metales, como el Fe^{2+} y Cu^{2+} . Sin embargo, si pueden actuar como generadores de ROS, al reducir el contenido de glutatión, necesario para la producción de fitoquelatinas, disminuyendo así la maquinaria antioxidante de las células (Rodríguez et al., 2009 & Pinto et al., 2003).

1.4.2 Fluorescencia de la clorofila

La fluorescencia de la clorofila ha sido utilizada como un indicativo de estrés en las plantas (Baker, 2008). El valor F_v/F_m se asocia al rendimiento cuántico de PSII en las plantas y se relaciona con el potencial de transporte de electrones que

tiene el aparato fotosintético (González et al., 2008). En el presente estudio, no se observaron diferencias, en las variables asociadas a la fluorescencia de la clorofila, para los portainjertos evaluados, las diferencias encontradas solo fueron observadas en ICS95 evaluada dos y cuatro meses ddi. La medición directa de la fluorescencia de la clorofila brinda información sobre los procesos fotoquímicos ocurridos durante la etapa de fotoabsorción (Azcon & Talon, 2008) debido a que varios estreses, incluido la presencia de metales pesados, pueden alterar la óptima funcionalidad en la cadena de transporte de electrones. El Cd puede influir en la cadena de transporte de electrones del PSII, especialmente en el sistema multiproteico, ya sea en el lado donador o aceptor de electrones reemplazando elementos importantes como el Mn, Ca y Cl (Nováková et al., 2004) ya que compite con otros elementos en los canales de entrada y proteínas transportadoras en la célula (Clemens et al., 2002). Cambios significativos en las variables asociadas a la fluorescencia de la clorofila también han sido observados en *Taxodium* (Ma et al., 2018), *Abelmoschus esculentus* (Sharma et al., 2010) y *Populus* (Jiao et al., 2015) lo que sugiere efectos del Cd en los procesos fotoquímicos. En cacao, Pereira de Araújo et al., (2017) observaron diferencias significativas en todas las variables de fluorescencia evaluadas; sin embargo, para los valores de F_m las diferencias encontradas solo fueron observadas con el tiempo de exposición del metal pesado, sugiriendo que la exposición prolongada al Cd afectó aún más el PSII. La concentración de Cd en suelo también juega un papel importante en las respuestas de las plantas al metal pesado. En los estudios conducidos por Sandoval, (2019) y Jácome, (2017) únicamente las concentraciones altas del metal pesado en suelo evidenciaron daños del aparato fotosintético.

1.4.3 Intercambio de gases

Los resultados del presente estudio mostraron diferencias significativas en los valores de P_N de los cuatro portainjertos establecidos en suelo con adición de Cd. Esto concuerda con lo observado en plantas de fresa (Martínez, 2014), cacao

(Pereira de Araújo et al., 2017), *Abelmoschus esculentus* (Sharma et al., 2010) arroz (He et al., 2008) y trigo (Paunov et al., 2018). Según lo informado por Fuhrer (1982) los efectos nocivos del Cd se pueden observar en los procesos de carboxilación de la fotosíntesis, principalmente cuando altera la funcionalidad de las enzimas, por medio de las reacciones en sus grupos tiol, entre ellas la RuBisCo y la fosfoenol piruvato carboxilasa (PEPC). Los iones libres de Cd^{2+} pueden dañar la estructura nativa de la RuBisCo al sustituir los iones de Mg, que sirven como cofactores en las reacciones de carboxilación (Nováková et al., 2004). Sin embargo, en las evaluaciones realizadas en ICS95 y CCN51, no se evidenció un cambio significativo en ninguna de las variables de intercambio gaseoso en combinaciones copa × portainjerto establecidas en sustrato conteniendo suelo con adición de Cd. Plantas de lechuga sometidas a $1\mu\text{M}$ Cd en cultivo hidropónico mostraron valores de P_N , g_s y E similares al control; sin embargo, incrementos en el contenido de Cd, superiores a $10\mu\text{M}$ Cd, resultaron en una disminución de estos valores (Dias et al., 2013).

1.4.4 Pigmentos fotosintéticos

La concentración de pigmentos fotosintéticos fue otro indicador de estrés por parte de las plantas expuestas al metal pesado. Un efecto del Cd sobre el contenido de pigmentos cloroplásticos ha sido observado en *Phragmites australis* (Pietrini et al., 2003) algodón (Farooq et al., 2016) *Helianthus annuus* (Saidi et al., 2014), fresa (Martinez, 2014) y lechuga (Dias et al., 2013). Los resultados del presente estudio mostraron solo aumentos significativos en el contenido de clorofila en los portainjertos sometidos a suelo enriquecido con Cd antes de injertar, si bien en las combinaciones copa × portainjerto también hubo diferencias significativas, estas no pueden asociarse directamente al efecto del metal pesado, ya que como se mencionó anteriormente, esas diferencias fueron también observadas en combinaciones establecidas en suelo sin adición de Cd. Un incremento en el contenido de clorofilas durante los primeros días de estrés por el metal pesado, seguido por una significativa disminución a medida que el tiempo

de exposición al Cd aumentó ha sido observado en *Populus* (Jiao et al., 2015; Ge et al., 2015). Resultados contrastantes fueron observados en un estudio conducido por Pereira de Araújo et al., (2017) quienes encontraron disminuciones significativas en el contenido de pigmentos fotosintéticos de plantas jóvenes de cacao, CCN51, sometidas a estrés por Cd en suelo. Efectos tóxicos del Cd pueden variar según las especies e incluso dentro de variedades de la misma especie (Rodríguez et al., 2008).

El Cd puede distorsionar la ultraestructura de la clorofila, tanto en su composición como en su producción. En el presente estudio solo se observó aumentos significativos de pigmentos fotosintéticos en portainjertos, seguido de una disminución en combinaciones copa x portainjerto en ambas concentraciones contrastante de Cd en suelo. Se puede considerar que según lo observado por Parmar et al., (2013), el metal pesado puede generar disminución en el número de cloroplastos y en el contenido de almidón de la organela, además, de alterar el apilamiento de las granas, esta ausencia o perturbación de los cloroplastos ocasiona disminución en los complejos captadores de luz, como lo son las Chl *a* y *b*. Por otro lado, la síntesis de pigmentos en hojas nuevas y su degradación en hojas viejas, puede también ser una consecuencia tóxica de la presencia del metal pesado en las células. El aminolevulinato (ALA) es un compuesto encargado de producir los pigmentos fotosintéticos, el Cd puede inhibir la síntesis de ALA en los sitios celulares de disponibilidad del glutamato y perturbar en el grupo sulfhídrico de la enzima δ -aminolevulínico deshidratasa ácida (Myśliwa-Kurziel & Strzałka, 2002) y en la porfobilinógeno deaminasa (Skrebsky et al., 2008). Además, que al disminuir la absorción de Mn, Fe y Mg, y aumentar la concentración de Cd celular, este interfiere en la inserción del Mg en protoporfirino o puede causar sustitución del Mg y destrucción de la molécula de clorofila (Gillet et al., 2006).

1.4.5 Concentración de elementos nutricionales

La presencia de Cd en el suelo puede alterar la absorción y acumulación de nutrientes minerales en las plantas (Liu et al., 2003; Nazar et al., 2012; Pereira de Araújo et al., 2017; Carvalho, et al., 2012; Li et al., 2016; Metwally et al., 2005; Zhi et al., 2015; Nedjimi & Daoud, 2009). En el presente estudio se observó diferencia significativa en la acumulación N, K, Mg, Mn, Cu, Zn, B y Na. En un estudio conducido por Pereira de Araújo et al., (2017) se observaron cambios significativos en la concentración foliar de N, P, Ca, Mg, Fe y Mn de plantas jóvenes de CCN51 sometidas a suelo con $0.05 \text{ g. Cd kg}^{-1}$ y $0.1 \text{ g. Cd kg}^{-1}$ respecto al control. Estos mismos autores no evidenciaron cambios en la acumulación en tejido foliar de Cu y Zn. Los resultados de este estudio mostraron disminuciones en la concentración de Mn de los portainjertos sometidos a suelo enriquecido con Cd comparados con el control. En contrastaste, Ramos et al., (2002) informaron aumentos en la absorción y translocación de Mn en brotes de plantas de lechuga (*Lactuca* sp.) con aumentos en la concentración de Cd, mientras que Liu et al., (2011), reportaron disminuciones leves en la concentración de Mn como resultado del incremento en el contenido de Cd en hojas de *Lonicera japonica*, indicando que ocurre interacción durante la absorción y translocación entre Cd y Mn. Por otra parte, se ha reportado que el Cd compite con el Ca en sitios de intercambio catiónico en suelo y en canales de entrada a la planta (Perfus et al., 2002). Si bien hay otros estudios que corroboran una posible competencia de esos dos elementos, en el presente estudio no se puede afirmar un efecto en la absorción de Ca causado por la presencia de Cd en suelo.

1.4.6 Pérdida de electrolitos

En este estudio se observó un incremento en la pérdida de electrolitos en las plantas establecidas en suelo enriquecido con Cd. Un incremento en la pérdida de electrolitos ha sido también observado en fresa (Martinez, 2014), Vicia faba (Ahmad et al., 2017) y *Brassica juncea* (Mobin & Khan, 2007) a causa de la exposición de las plantas al Cd. El incremento en el porcentaje de pérdida de

electrolitos por parte de las plantas es un indicativo de una posible ruptura de la membrana plasmática, como consecuencia de la peroxidación de lípidos causada por las ROS en las células (Gill & Tuteja, 2010), alteraciones en los lípidos de membrana y su grado de saturación o inhibición de la H⁺ATPasa que producen un cambio en la fluidez de la membrana plasmática y modifican sus estabilidad (Astolfi et al., 2003).

1.4.7 Proteína total soluble

Los resultados mostraron diferencias significativas en la concentración de proteína total soluble en los portainjertos evaluados en suelo con adición de Cd, mientras que en las combinaciones copa × portainjerto solo se presentaron diferencias significativas en ICS95. La proteína total es un indicador importante de cambios en el metabolismo de las plantas causados por una variedad de estreses (Singh & Tewari, 2003). Cambios significativos en la concentración de proteína total han sido reportados en varias especies de plantas expuestas a estrés por Cd, tanto en experimentos utilizando suelo como medio de cultivo como bajo condiciones hidropónicas (Martinez, 2014; Jiao et al., 2015; Pena et al., 2006 & Zhang et al., 2009). Una reducción en la concentración de proteína causada por el Cd puede estar relacionada con la inhibición de la síntesis de enzimas involucradas en los procesos fotosintéticos (Krantev et al., 2008 & Wang et al., 2009). Mientras que un aumento podría deberse a la síntesis de enzimas relacionados con los mecanismos antioxidantes, para contrarrestar el efecto de las ROS (León et al., 2002 & Gill & Tuteja, 2010). El estrés oxidativo causado por la presencia de Cd en el metabolismo aumenta la producción de ROS afectando la integridad de algunas biomoléculas, incluidas las proteínas (Gill & Tuteja, 2010). Asimismo, mayores actividades de enzimas proteasas, pueden ser la causa de la disminución del contenido de proteína total, estas inducidas por la modificación oxidativa que se genera como consecuencia de la presencia de Cd, convirtiéndose en el sustrato ideal para las proteasas (Sandalio et al., 2001).

1.4.8 Interacción copa x portainjerto

La utilización de genotipos con baja acumulación de Cd es una alternativa para disminuir los efectos tóxicos del metal pesado en las plantas, tanto en portainjertos como en combinaciones copa x portainjerto (Savvas et al., 2010 & Lin et al., 2016). En el presente estudio se encontró menor acumulación de Cd en la copa ICS95 injertada sobre el portainjerto IMC67 y comparada con CCN51 injertada sobre el mismo portainjerto. Investigaciones recientes, en diferentes especies, han observado que algunos portainjertos pueden restringir la absorción de metales pesados hacia la copa (Arao et al., 2008; Roupael et al., 2008; Mori et al., 2009). En el estudio conducido por Arao et al., (2008) se encontró menor acumulación de Cd en frutos, hojas y tallos de berenjena injertada sobre *Solanum torvum*, comparada con la acumulación de Cd de plantas injertadas sobre *Solanum melongena* y *Solanum integrifolium*. Una posible relación entre la acumulación de Cd entre la copa y el portainjerto podría resultar en avances significativos para mitigar la toxicidad del metal pesado en las plantas. El injerto no solo funciona para propagar las plantas, sino que también ayuda a contrarrestar los efectos causados por condiciones adversas, como la acumulación de Cd (Savvas et al., 2010).

1.5 Conclusiones

- El Cd genera efectos tóxicos en la fisiología de las plantas como disminución en la biomasa de hojas, raíces y área foliar, alteración en la concentración de pigmentos fotosintéticos, disminución en las tasas de fotosíntesis y uso eficiente del agua, alteraciones en la concentración de nutrientes minerales, disminución en la concentración de proteína total soluble y aumento en la pérdida de electrolitos.
- La presencia de cadmio en el suelo generó un efecto diferencial sobre los parámetros evaluados, tanto en los portainjertos como en las combinaciones copa x portainjerto utilizadas en el estudio.
- Diferencias en los resultados obtenidos en la evaluación realizada a los portainjertos sin injertar con los observados después de la injertación pueden atribuirse a tiempos de exposición del metal pesado y a la relación que existe entre la copa y el portainjerto.
- La acumulación de Cd en la planta parece estar determinada por la combinación copa x portainjerto
- Este estudio puede contribuir, en los programas de mejoramiento genético, a la selección de genotipos que acumulen menos cadmio.

1.6 Recomendaciones

- Se recomienda seguir con el estudio del efecto de la acumulación de cadmio en plantaciones adultas de cacao.
- Se recomienda realizar investigaciones que conduzcan a establecer los mecanismos de absorción y acumulación de cadmio por parte de las plantas de cacao, ya que la información obtenida, hasta el momento, es escasa. Si bien se postuló al cacao como una especie hiperacumuladora del metal pesado, es necesario establecer estudios sobre los mecanismos de absorción, traslocación, transporte, almacenamiento y detoxificación de metales pesados por parte de plantas de cacao.

- Es recomendable estudiar la acumulación de Cd en combinaciones copa x portainjerto utilizando un mayor número tanto de copas como de portainjertos.

Bibliografía

- Ahmad, P., Alyemeni, M. N., Wijaya, L., Alam, P., Ahanger, M. A., & Alamri, S. A. (2017). Jasmonic acid alleviates negative impacts of cadmium stress by modifying osmolytes and antioxidants in faba bean (*Vicia faba* L.). *Archives of Agronomy and Soil Science*, 63(13), 1889–1899. <https://doi.org/10.1080/03650340.2017.1313406>
- Aranzazu, F., Martínez, N., Palencia, G., Coronado, R., & Rincon, D. (2009). *Mejoramiento genético para incrementar la producción y productividad del sistema de cacao en Colombia*.
- Arao, T., Takeda, H., & Nishihara, E. (2008). Reduction of cadmium translocation from roots to shoots in eggplant (*Solanum melongena*) by grafting onto *Solanum torvum* rootstock. *Soil Science and Plant Nutrition*, 54(4), 555–559. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0765.2008.00269.x>
- Arnon, D. & Stout, P. The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper. *Plant Physiol.* 1939 Apr;14(2):371-5. doi: 10.1104/pp.14.2.371.
- Arvelo, M. A., González, D., Maroto, S., Delgado, T., & Montoya, P. (2017). Manual técnico del cultivo de cacao Buenas prácticas para América Latina. In *Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA)*.
- Astolfi, S., Zuchi, S., Chiani, A., & Passera, C. (2003). In vivo and in vitro effects of cadmium on H⁺ATPase activity of plasma membrane vesicles from oat (*Avena sativa* L.) roots. *Journal of Plant Physiology*, 160(4), 387–393. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00832>
- Azcon, J. & Talón, M. (2008). Fundamentos de fisiología vegetal. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Segunda, Vol. 53, Issue 9). McGRAW-HILL. <http://www.elsevier.com/locate/scp>
- Baker, N. R. (2008). Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 89–113. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092759>
- Barceló, J., & Poschenrieder, C. (1992). RESPUESTAS DE LAS PLANTAS A LA CONTAMINACION POR METALES PESADOS. *Suelo y Plantas*, 2, 345–361. <https://www.researchgate.net/publication/285841974>
- Bravo, D., Pardo, S., Benavides, J., Rengifo, G., Braissant, O., & Leon, C. (2018). Cadmium and cadmium-tolerant soil bacteria in cacao crops from northeastern Colombia. *Journal of Applied Microbiology*, 124(5), 1175–1194. <https://doi.org/10.1111/jam.13698>

- Bravo, I., Arboleda, C., & Martín, F. (2014). Efecto de la calidad de la materia orgánica asociada con el uso y manejo de suelos en la retención de cadmio en sistemas altoandinos de Colombia. *Acta Agronomica*, 63(2), 164–172. <https://doi.org/10.15446/acag.v63n2.39569>
- Carvalho, A., Cannata, M. G., Carvalho, R., Ribeiro Bastos, A. R., Puggina Freitas, M., & dos Santos Augusto, A. (2012). Lycopersicon esculentum submitted to Cd-stressful conditions in nutrition solution: Nutrient contents and translocation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 86, 176–181. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.09.011>
- Chang, Y. Sen, Chang, Y. J., Lin, C. T., Lee, M. C., Wu, C. W., & Lai, Y. H. (2013). Nitrogen fertilization promotes the phytoremediation of cadmium in *Pentas lanceolata*. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 85, 709–714. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.05.021>
- Cho, U., & Seo, N. (2005). Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. *Plant Science*, 168, 113–120. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.07.021>
- Choppala, G., Saifullah, Bolan, N., Bibi, S., Iqbal, M., Rengel, Z., Kunhikrishnan, A., Ashwath, N., & Ok, Y. S. (2014). Cellular Mechanisms in Higher Plants Governing Tolerance to Cadmium Toxicity. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 33(5), 374–391. <https://doi.org/10.1080/07352689.2014.903747>
- Clemens, S., Palmgren, M., & Kramer, U. (2002). Long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Plant Science*, 7, 309–315. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.12.008>
- Cooper, J., Bolbot, J. A., Saini, S., & Setford, S. J. (2007). Electrochemical method for the rapid on site screening of cadmium and lead in soil and water samples. *Water, Air, and Soil Pollution*, 179(1–4), 183–195. <https://doi.org/10.1007/s11270-006-9223-x>
- Daymond, A. J., & Hadley, P. (2004). The effects of temperature and light integral on early vegetative growth and chlorophyll fluorescence of four contrasting genotypes of cacao (*Theobroma cacao*). *Ann. Appl. Biol.*, 145, 257–262.
- Degryse, F., Buekers, J., & Smolders, E. (2004). Radio-labile cadmium and zinc in soils as affected by pH and source of contamination. *European Journal of Soil Science*, 55(1), 113–122. <https://doi.org/10.1046/j.1351-0754.2003.0554.x>
- Dias, M. C., Monteiro, C., Moutinho-Pereira, J., Correia, C., Gonçalves, B., & Santos, C. (2013). Cadmium toxicity affects photosynthesis and plant growth at different levels. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(4), 1281–1289. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1167-8>

- Domínguez, M. T., Marañón, T., Murillo, J. M., & Redondo-Gómez, S. (2011). Response of Holm oak (*Quercus ilex* subsp. *ballota*) and mastic shrub (*Pistacia lentiscus* L.) seedlings to high concentrations of Cd and Tl in the rhizosphere. *Chemosphere*, 83(8), 1166–1174. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.01.002>
- Ekmekçi, Y., Tanyolaç, D., & Ayhan, B. (2008). Effects of cadmium on antioxidant enzyme and photosynthetic activities in leaves of two maize cultivars. *Journal of Plant Physiology*, 165(6), 600–611. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.01.017>
- Farooq, M. A., Ali, S., Hameed, A., Bharwana, S. A., Rizwan, M., Ishaque, W., Farid, M., Mahmood, K., & Iqbal, Z. (2016). Cadmium stress in cotton seedlings: Physiological, photosynthesis and oxidative damages alleviated by glycinebetaine. *South African Journal of Botany*, 104, 61–68. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.11.006>
- Fedecacao. (2012). *Guía técnica para el cultivo del cacao*.
- Fedecacao, F. N. D. C. (2004). *Cacaocultura en el Departamento De Cundinamarca*. http://www.fedecacao.com.co/portal/images/recourses/pub_doctecnicos/fedecacao-pub-doc_08B.pdf
- Fedecacao, (2021). Economía nacional. Federación nacional de cacaoteros. Recuperado de <https://www.fedecacao.com.co/economianacional>.
- Fernández, J. (2018). Estudio del efecto de diferentes líneas monospóricas de *Rhizophagus irregularis* en la respuesta del cacao al cadmio bajo condiciones de déficit hídrico en vivero. Universidad Nacional de Colombia. Tesis.
- Fernández, R., Bertrand, A., Reis, R., Mourato, M. P., Martins, L. L., & González, A. (2013). Growth and physiological responses to cadmium stress of two populations of *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter. *Journal of Hazardous Materials*, 244–245, 555–562. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.10.044>
- Fuhrer, J. (1982). Ethylene Biosynthesis and Cadmium Toxicity in Leaf Tissue of Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) . *Plant Physiology*, 70(1), 162–167. <https://doi.org/10.1104/pp.70.1.162>
- Ge, W., Jiao, Y., Zou, J., Jiang, W., & Liu, D. (2015). Ultrastructural and photosynthetic response of *Populus 107* leaves to cadmium stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, 24(2), 519–527. <https://doi.org/10.15244/pjoes/27814>
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12), 909–930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>
- Gillet, S., Decottignies, P., Chardonnet, S., & Le Maréchal, P. (2006). Cadmium response and redoxin targets in *Chlamydomonas reinhardtii*: A proteomic approach. *Photosynthesis Research*, 89(2), 201–211. <https://doi.org/10.1007/s11120-006-9108-2>

- Goldschmidt, E. E. (2014). Plant grafting: New mechanisms, evolutionary implications. *Frontiers in Plant Science*, 5(DEC), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00727>
- González, S., Perales, H., & Salcedo, M. (2008). LA FLUORESCENCIA DE LA CLOROFILA a COMO HERRAMIENTA EN LA INVESTIGACIÓN DE EFECTOS TÓXICOS EN EL APARATO FOTOSINTÉTICO DE PLANTAS Y ALGAS* (Vol. 27, Issue 4).
- Guerinot ML. The ZIP family of metal transporters. *Biochim Biophys Acta*.1;1465(1-2):190-8. doi: 10.1016/s0005-2736(00)00138-3.
- Hassan, W., Bano, R., Bashir, S., & Aslam, Z. (2016). Cadmium toxicity and soil biological index under potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivation. *Soil Research*, 54(4), 460–468. <https://doi.org/10.1071/SR14360>
- He, J. Y., Zhu, C., Ren, Y. F., Yan, Y. P., Chang, C., Jiang, D. A., & Sun, Z. X. (2008). Uptake, Subcellular Distribution, and Chemical Forms of Cadmium in Wild-Type and Mutant Rice1 1 Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30671255), the National Key Technologies R&D Program of China during the 11th Five-Y. *Pedosphere*, 18(3), 371–377. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(08\)60027-2](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(08)60027-2)
- He, J, Ren, Y., Zhu, C., Yan, Y., & Jiang, D. (2008). Effect of Cd on growth, photosynthetic gas exchange, and chlorophyll fluorescence of wild and Cd-sensitive mutant rice. *Photosynthetica*, 46(3), 466–470. <https://doi.org/10.1007/s11099-008-0080-2>
- He, Jiali, Zhou, J., Wan, H., Zhuang, X., Li, H., Qin, S., & Lyu, D. (2020). Rootstock–Scion Interaction Affects Cadmium Accumulation and Tolerance of Malus. *Frontiers in Plant Science*, 11(August), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01264>
- He, S., Yang, X., He, Z., & Baligar, V. (2017). Morphological and Physiological Responses of Plants to Cadmium Toxicity: A Review. *Pedosphere*, 27(3), 421–438. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(17\)60339-4](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(17)60339-4)
- Hernández, L., & Cooke, D. (1997). Modification of the root plasma membrane lipid composition of cadmium-treated *Pisum sativum*. *Journal of Experimental Botany*, 48(312), 1375–1381. <https://doi.org/10.1093/jxb/48.7.1375>
- Huang, B., Xin, J., Dai, H., Liu, A., Zhou, W., Yi, Y., & Liao, K. (2015). Root morphological responses of three hot pepper cultivars to Cd exposure and their correlations with Cd accumulation. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(2), 1151–1159. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3405-7>
- Hussain, A., Ali, S., Rizwan, M., Rehman, M. Z. ur, Qayyum, M. F., Wang, H., & Rinklebe, J. (2019). Responses of wheat (*Triticum aestivum*) plants grown in a Cd contaminated soil to the application of iron oxide nanoparticles. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 173(August 2018), 156–164. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.118>

- Hussain, A., Ali, S., Rizwan, M., Zia-ur-Rehman, M., Yasmeen, T., Hayat, M. T., Hussain, I., Ali, Q., & Hussain, S. M. (2018). Morphological and Physiological Responses of Plants to Cadmium Toxicity. In *Cadmium Toxicity and Tolerance in Plants: From Physiology to Remediation*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814864-8.00003-6>
- ICCO. (2019). *Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics. Production of cocoa* (Vol. XLV). <https://doi.org/10.1037/0033-2909.126.1.78>
- IICA. (2006). Guía técnica Cultivo de Cacao. In *Plan De Agricultura Familiar*.
- Irfan, M., Hayat, S., Ahmad, A., & Alyemeni, M. N. (2013). Soil cadmium enrichment: Allocation and plant physiological manifestations. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.11.004>
- Jácome, D. (2017). *Efecto de la inoculación de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) sobre un sistema suelo-planta de cacao en suelos contaminados con cadmio en etapa de vivero*. Universidad Nacional de Colombia.
- Jaimes, Y., & Aranzazu, F. (2010). Manejo de las enfermedades del cacao. In *Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria AGROSAVIA*. Colombia
- Jiao, Y., Zou, J., Ge, W., Jiang, W., & Liu, D. (2015). Physiological and ultrastructural effects of cadmium on poplar (*Populus x euramericana*) leaves. *Baltic Forestry*, 21(1), 106–113.
- Jimenez, C. (2015). *Global legal status of cadmium in cacao (Theobroma cacao): a fantasy or a reality Estado legal mundial do cádmio em cacau (Theobroma cacao): fantasia ou realidade* (Vol. 10, Issue 1).
- Krantev, A., Yordanova, R., Janda, T., Szalai, G., & Popova, L. (2008). Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. *Journal of Plant Physiology*, 165(9), 920–931. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2006.11.014>
- León, A. M., Palma, J. M., Corpas, F. J., Gómez, M., Romero-Puertas, M. C., Chatterjee, D., Mateos, R. M., Del Río, L. A., & Sandalio, L. M. (2002). Antioxidative enzymes in cultivars of pepper plants with different sensitivity to cadmium. *Plant Physiology and Biochemistry*, 40(10), 813–820. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(02\)01444-4](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(02)01444-4)
- 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*, 696–703. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.365>

- Li, X., Zhou, Q., Sun, X., & Ren, W. (2016). Effects of cadmium on uptake and translocation of nutrient elements in different welsh onion (*Allium fistulosum* L.) cultivars. *Food Chemistry*, *194*, 101–110.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.114>
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. In *Methods in Enzymology* (Vol. 148, Issue C).
[https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
- Lin, L., Yang, D., Wang, X., Liao, M., Wang, Z., Lv, X., Tang, F., Liang, D., Xia, H., Lai, Y., & Tang, Y. (2016). Effects of grafting on the cadmium accumulation characteristics of the potential Cd-hyperaccumulator *Solanum photeinocarpum*. *Environmental Monitoring and Assessment*, *188*(2), 1–11.
<https://doi.org/10.1007/s10661-015-5084-3>
- Liu, J. G., Liang, J. S., Li, K. Q., Zhang, Z. J., Yu, B. Y., Lu, X. L., Yang, J. C., & Zhu, Q. S. (2003). Correlations between cadmium and mineral nutrients in absorption and accumulation in various genotypes of rice under cadmium stress. *Chemosphere*, *52*(9), 1467–1473. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00484-3](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00484-3)
- Liu, J., Yu, G., Jiang, P., Zhang, X., Meng, D., Chen, Z., Baker, A. J. M., & Qiu, R. (2020). Interaction of Mn and Cd during their uptake in *Celosia argentea* differs between hydroponic and soil systems. *Plant and Soil*, *450*(1–2), 323–336.
<https://doi.org/10.1007/s11104-020-04514-3>
- Liu, W., Sun, L., Zhong, M., Zhou, Q., Gong, Z., Li, P., Tai, P., & Li, X. (2012). Cadmium-induced DNA damage and mutations in *Arabidopsis* plantlet shoots identified by DNA fingerprinting. *Chemosphere*, *89*(9), 1048–1055.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.05.068>
- Liu, Z., He, X., & Chen, W. (2011). Effects of cadmium hyperaccumulation on the concentrations of four trace elements in *Lonicera japonica* Thunb. *Ecotoxicology*, *20*(4), 698–705. <https://doi.org/10.1007/s10646-011-0609-1>
- López, A. F., Sagardoy, R., Solanas, M., Abadía, A., & Abadía, J. (2009). Cadmium toxicity in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants grown in hydroponics. *Environmental and Experimental Botany*, *65*(2–3), 376–385.
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2008.11.010>
- Lu, Z., Zhang, Z., Su, Y., Liu, C., & Shi, G. (2013). Cultivar variation in morphological response of peanut roots to cadmium stress and its relation to cadmium accumulation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *91*, 147–155.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.01.017>
- Ma, Y. L., Wang, H. F., Wang, P., Yu, C. G., Luo, S. Q., Zhang, Y. F., & Xie, Y. F. (2018). Effects of cadmium stress on the antioxidant system and chlorophyll fluorescence characteristics of two *Taxodium* clones. *Plant Cell Reports*, *37*(11), 1547–1555.
<https://doi.org/10.1007/s00299-018-2327-0>

- Martinez, R. (2014). *Caracterización de parámetros fisiológicos y bioquímicos en plantas de fresa (Fragaria x ananassa Duch.) variedad Albin*. [Universidad Nacional de Colombia]. <http://www.bdigital.unal.edu.co/42989/>
- McLaughlin, M. J. (2016). Heavy metals in agriculture with a focus on Cd. In *CSIRO Land and Water*.
- MADR. (2021). Cadena del cacao. Dirección de cadenas agrícolas y forestales. Ministerio de agricultura y desarrollo rural. Recuperado de <https://sioc.minagricultura.gov.co/Cacao/Documentos/2021-0331%20Cifras%20Sectoriales.pdf>
- Melgarejo, L. M., Romero, M., Hernández, S., Jaime, S. M. E., Suárez, D., and Pérez, W. (2010). *Experimentos en Fisiología Vegetal Lab Fisiol Bioquímica Veg*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. Available online at: <https://www.uv.mx/personal/tcarmona/files/2019/02/Melgarejo-2010.pdf>
- Metwally, A., Safronova, V. I., Belimov, A. A., & Dietz, K. J. (2005). Genotypic variation of the response to cadmium toxicity in *Pisum sativum* L. *Journal of Experimental Botany*, *56*(409), 167–178. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri017>
- Mobin, M., & Khan, N. A. (2007). Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. *Journal of Plant Physiology*, *164*(5), 601–610. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2006.03.003>
- Monteiro, M., Santos, C., Soares, A., & Mann, R. (2009). Assessment of biomarkers of cadmium stress in lettuce. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *72*(3), 811–818. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.08.002>
- Mori, S., Uraguchi, S., Ishikawa, S., & Arao, T. (2009). Xylem loading process is a critical factor in determining Cd accumulation in the shoots of *Solanum melongena* and *Solanum torvum*. *Environmental and Experimental Botany*, *67*(1), 127–132. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.05.006>
- Motamayor, J. C., Lachenaud, P., da Silva e Mota, J. W., Loor, R., Kuhn, D. N., Brown, J. S., & Schnell, R. J. (2008). Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L). *PLoS ONE*, *3*(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003311>
- Myśliwa-Kurdziel, B., & Strzałka, K. (2002). Influence of Metals on Biosynthesis of Photosynthetic Pigments. In *Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants*. https://doi.org/10.1007/978-94-017-2660-3_8
- Nada, E., Ferjani, B. A., Ali, R., Bechir, B. R., Imed, M., & Makki, B. (2007). Cadmium-induced growth inhibition and alteration of biochemical parameters in almond seedlings grown in solution culture. *Acta Physiologiae Plantarum*, *29*(1), 57–62. <https://doi.org/10.1007/s11738-006-0009-y>

- Navarro, J., Aguilar, I., & López, J. (2007). Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas*, 16(2), 10–25.
- Nazar, R., Iqbal, N., Masood, A., Khan, M. I. R., Syeed, S., & Khan, N. A. (2012). Cadmium Toxicity in Plants and Role of Mineral Nutrients in Its Alleviation. *American Journal of Plant Sciences*, 03(10), 1476–1489. <https://doi.org/10.4236/ajps.2012.310178>
- Nedjimi, B., & Daoud, Y. (2009). Cadmium accumulation in *Atriplex halimus* subsp. *schweinfurthii* and its influence on growth, proline, root hydraulic conductivity and nutrient uptake. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 204(4), 316–324. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2008.03.004>
- Nguyen, N. T., McInturf, S. A., & Mendoza-Cózatl, D. G. (2016). Hydroponics: A versatile system to study nutrient allocation and plant responses to nutrient availability and exposure to toxic elements. *Journal of Visualized Experiments*, 2016(113), 1–9. <https://doi.org/10.3791/54317>
- Nouairi, I., Ammar, W. Ben, Youssef, N. Ben, Daoud, D. B. M., Ghorbal, M. H., & Zarrouk, M. (2006). Comparative study of cadmium effects on membrane lipid composition of *Brassica juncea* and *Brassica napus* leaves. *Plant Science*, 170(3), 511–519. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.10.003>
- Nováková, M., Matějova, E., & Sofrová, D. (2004). Cd^{2+} Effect on photosynthetic apparatus in *synechococcus elongatus* and spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Photosynthetica*, 42(3), 425–430. <https://doi.org/10.1023/B:PHOT.0000046162.87918.98>
- Parmar, P., Kumari, N., & Sharma, V. (2013). Structural and functional alterations in photosynthetic apparatus of plants under cadmium stress. *Botanical Studies*, 54(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/1999-3110-54-45>
- Paunov, M., Koleva, L., Vassilev, A., Vangronsveld, J., & Goltsev, V. (2018). Effects of different metals on photosynthesis: Cadmium and zinc affect chlorophyll fluorescence in durum wheat. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3). <https://doi.org/10.3390/ijms19030787>
- Pena, L., Pasquini, L., Tomaro, M., & Gallego, S. (2006). Proteolytic system in sunflower (*Helianthus annuus* L.) leaves under cadmium stress. *Plant Science*, 171(4), 531–537. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.06.003>
- Pence, N. S., Larsen, P. B., Ebbs, S. D., Letham, D. L. D., Lasat, M. M., Garvin, D. F., Eide, D., & Kochian, L. V. (2000). The molecular physiology of heavy metal transport in the Zn/Cd hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(9), 4956–4960. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.9.4956>

- Pereira de Araujo, R., Furtado de Almeida, A. A., Silva Pereira, L., Mangabeira, P. A. O., Olimpio Souza, J., Pirovani, C. P., Ahnert, D., & Baligar, V. C. (2017). Photosynthetic, antioxidative, molecular and ultrastructural responses of young cacao plants to Cd toxicity in the soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *144*, 148–157. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.06.006>
- Perfus, L., Leonhardt, N., Vavasseur, A., & Forestier, C. (2002). Heavy metal toxicity: Cadmium permeates through calcium channels and disturbs the plant water status. *Plant Journal*, *32*(4), 539–548. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2002.01442.x>
- Pietrini, F., Iannelli, M. A., Pasqualini, S., & Massacci, A. (2003). Interaction of Cadmium with Glutathione and Photosynthesis in Developing Leaves and Chloroplasts of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel. *Plant Physiology*, *133*(2), 829–837. <https://doi.org/10.1104/pp.103.026518>
- Pinto, E., Sigaud-Kutner, T. C. S., Leitão, M. A. S., Okamoto, O. K., Morse, D., & Colepicolo, P. (2003). Heavy metal-induced oxidative stress in algae. *Journal of Phycology*, *39*(6), 1008–1018. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.2003.02-193.x>
- Popova, L., Maslenskova, L., Yordanova, R., Ivanova, A., Krantev, A., Szalai, G., & Janda, T. (2009). Exogenous treatment with salicylic acid attenuates cadmium toxicity in pea seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, *47*(3), 224–231. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2008.11.007>
- Qin, S., Liu, H., Nie, Z., Rengel, Z., Gao, W., Li, C., & Zhao, P. (2020). Toxicity of cadmium and its competition with mineral nutrients for uptake by plants: A review. *Pedosphere*, *30*(2), 168–180. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(20\)60002-9](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(20)60002-9)
- Ramos, I., Esteban, E., Lucena, J. J., & Gárate, A. (2002). Cadmium uptake and subcellular distribution in plants of *Lactuca* sp. Cd-Mn interaction. *Plant Science*, *162*, 761–767. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00017-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00017-1)
- Rasool, A., Mansoor, S., Bhat, K. M., Hassan, G. I., Baba, T. R., Alyemeni, M. N., Alsahli, A. A., El-Serehy, H. A., Paray, B. A., & Ahmad, P. (2020). Mechanisms Underlying Graft Union Formation and Rootstock Scion Interaction in Horticultural Plants. *Frontiers in Plant Science*, *11*(December). <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.590847>
- Reichman, S. M. A. (2002). The Response Of Plant To Metal Toxicity: A Review Of Focusing On Copper, Magnase And Zinc. In *Australian Minerals and Energy Environment Foundation* (Issue January 2002).
- Rodriguez, H. (2017). *Dinámica del cadmio en suelos con niveles altos del elemento, en zonas productoras de cacao de Nilo y Yacopí, Cundinamarca*. Universidad Nacional de Colombia.
- Rodríguez, M., Martínez, N., Romero, M. C., Del Río, L. A., & Sandalio, L. M. (2008). Toxicidad del Cadmio en Plantas. *Ecosistemas*, *17*(3), 139–146. <http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?id=558>

- Rodriguez, M., Romero, M., Pazmino, D., Testillano, P., Risueno, M., Del Río, L., & Sandalio, L. (2009). Cellular response of pea plants to cadmium toxicity: Cross talk between reactive oxygen species, nitric oxide, and calcium. *Plant Physiology*, *150*(1), 229–243. <https://doi.org/10.1104/pp.108.131524>
- Rouphael, Y., Cardarelli, M., Rea, E., & Colla, G. (2008). Grafting of cucumber as a means to minimize copper toxicity. *Environmental and Experimental Botany*, *63*(1–3), 49–58. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.10.015>
- Rueda, G., Rodríguez, J., & Madriñán, R. (2011). Metodologías para establecer valores de referencia de metales pesados en suelos agrícolas: Perspectivas para Colombia. Methods for establishing baseline values for heavy metals in agricultural soils: Prospects for Colombia. *Acta Agronomica*, *60*(3), 203–218.
- Saidi, I., Chtourou, Y., & Djebali, W. (2014). Selenium alleviates cadmium toxicity by preventing oxidative stress in sunflower (*Helianthus annuus*) seedlings. *Journal of Plant Physiology*, *171*(5), 85–91. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.09.024>
- Sandalio, L., Dalurzo, H., Gomez, M., Romero-Puertas, M., & del Río, L. (2001). Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. *Journal of Experimental Botany*, *52*(364), 2115–2126. <http://jxb.oxfordjournals.org/content/52/364/2115.full.pdf>
- Sandoval, F. (2019). *Efecto de las comunidades locales de hongos formadores de micorrizas arbusculares y patrones de injertación en la fisiología de plantulas de cacao sometidas a estres por cadmio y zinc*. Universidad Nacional de Colombia.
- Savvas, D., Colla, G., Rouphael, Y., & Schwarz, D. (2010). Amelioration of heavy metal and nutrient stress in fruit vegetables by grafting. In *Scientia Horticulturae* (Vol. 127, Issue 2, pp. 156–161). <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.09.011>
- Shah, K., Kumar, R. G., Verma, S., & Dubey, R. S. (2001). Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Science*, *161*(6), 1135–1144. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00517-9](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00517-9)
- Sharma, R. K., Agrawal, M., & Agrawal, S. B. (2010). Physiological, biochemical and growth responses of lady's finger (*Abelmoschus esculentus* L.) Plants as affected by Cd contaminated soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, *84*(6), 765–770. <https://doi.org/10.1007/s00128-010-0032-y>
- Singh, P. K., & Tewari, R. K. (2003). Cadmium toxicity induced changes in plant water relations and oxidative metabolism of Brassicajuncea L. plants. *Journal of Environmental Biology*, *24*(1), 107–112.

- Skrebsky, E. C., Tabaldi, L. A., Pereira, L. B., Rauber, R., Maldaner, J., Cargnelutti, D., Gonçalves, J. F., Castro, G. Y., Shetinger, M. R. C., & Nicoloso, F. T. (2008). Effect of cadmium on growth, micronutrient concentration, and δ -aminolevulinic acid dehydratase and acid phosphatase activities in plants of *Pfaffia glomerata*. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, *20*(4), 285–294. <https://doi.org/10.1590/s1677-04202008000400004>
- Song, Y., Jin, L., & Wang, X. (2017). Cadmium absorption and transportation pathways in plants. *International Journal of Phytoremediation*, *19*(2), 133–141. <https://doi.org/10.1080/15226514.2016.1207598>
- Souza, V., De Almeida, A., Lima, S., Carcardio, J., Silva, D., Mangabeira, P., & Gomes, F. (2011). Morphophysiological responses and programmed cell death induced by cadmium in *Genipa americana* L. (Rubiaceae). *BioMetals*, *24*(1), 59–71. <https://doi.org/10.1007/s10534-010-9374-5>
- Sterckeman, T., & Thomine, S. (2020). Mechanisms of Cadmium Accumulation in Plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, *39*(4), 322–359. <https://doi.org/10.1080/07352689.2020.1792179>
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2002). Plant physiology. In *Science progress* (3rd ed.). <https://doi.org/10.1017/9781108486392>
- Verbruggen, N., Hermans, C., & Schat, H. (2009). Mechanisms to cope with arsenic or cadmium excess in plants. *Plant Biology*, *12*, 364–372. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.05.001>
- Wang, F. Y., Lin, X. G., & Yin, R. (2007). Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungus *Acaulospora mellea* decreases Cu phytoextraction by maize from Cu-contaminated soil. *Pedobiologia*, *51*(2), 99–109. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2007.02.003>
- Wang, H., Zhao, S. C., Liu, R. L., Zhou, W., & Jin, J. Y. (2009). Changes of photosynthetic activities of maize (*Zea mays* L.) seedlings in response to cadmium stress. *Photosynthetica*, *47*(2), 277–283. <https://doi.org/10.1007/s11099-009-0043-2>
- Wang, P., Deng, X., Huang, Y., Fang, X., Zhang, J., Wan, H., & Yang, C. (2016). Root morphological responses of five soybean [*Glycine max* (L.) Merr] cultivars to cadmium stress at young seedlings. *Environmental Science and Pollution Research*, *23*(2), 1860–1872. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5424-4>
- Williams, L. E., Pittman, J. K., & Hall, J. L. (2000). Emerging mechanisms for heavy metal transport in plants. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1465*, 104–126. www.elsevier.com/locate/bba
- Ying, R. R., Qiu, R. L., Tang, Y. T., Hu, P. J., Qiu, H., Chen, H. R., Shi, T. H., & Morel, J. L. (2010). Cadmium tolerance of carbon assimilation enzymes and chloroplast in Zn/Cd hyperaccumulator *Picris divaricata*. *Journal of Plant Physiology*, *167*(2), 81–87. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.07.005>

- Zhang, S., Zhang, H., Qin, R., Jiang, W., & Liu, D. (2009). Cadmium induction of lipid peroxidation and effects on root tip cells and antioxidant enzyme activities in *Vicia faba* L. *Ecotoxicology*, *18*(7), 814–823. <https://doi.org/10.1007/s10646-009-0324-3>
- Zhao, F.-J., Hamon, R. E., Lombi, E., Mclaughlin, M. J., & Mcgrath, S. P. (2002). Characteristics of cadmium uptake in two contrasting ecotypes of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Journal of Experimental Botany*, *53*(368), 535–543.
- Zhi, Y., He, K., Sun, T., Zhu, Y., Zhou, Q., & Glycine, L. (2015). Assessment of potential soybean cadmium excluder cultivars at different concentrations of Cd in soils. *Journal of Environmental Sciences*, *35*, 108–114. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2015.01.031>

A. Tablas anexas

Tabla anexa 1. Técnicas de análisis químico de material vegetal más metales pesados

ANÁLISIS QUÍMICO DE MATERIAL VEGETAL MÁS METALES PESADOS			
Variable	Expresión /Sigla	Unidad	Extractante/Técnica/Referencia
Nitrógeno Orgánico	N	%	Micro-Kjeldahl / Volumétrico / NTC 370
Fósforo	P	%	MVH Ác. Nítrico:Ác. Perclórico / Colorimétrico / NTC 234
Potasio	K	%	MVH Ác. Nítrico:Ác. Perclórico / EAA / P.A.P.
Calcio	Ca	%	MVH Ác. Nítrico:Ác. Perclórico / EAA / P.A.P.
Magnesio	Mg	%	MVH Ác. Nítrico:Ác. Perclórico / EAA / P.A.P.
Azufre	S	%	MVH Ác. Nítrico:Ác. Perclórico / Colorimétrico / NTC 1154
Hierro	Fe	mg.kg ⁻¹	MVH Ác. Nítrico:Ác. Perclórico / EAA / P.A.P.
Manganeso	Mn	mg.kg ⁻¹	MVH Ác. Nítrico:Ác. Perclórico / EAA / P.A.P.
Cobre	Cu	mg.kg ⁻¹	MVH Ác. Nítrico:Ác. Perclórico / EAA / P.A.P.
Zinc	Zn	mg.kg ⁻¹	MVH Ác. Nítrico:Ác. Perclórico / EAA / P.A.P.
Boro	B	mg.kg ⁻¹	MVH Ác. Nítrico:Ác. Perclórico / Colorimétrico / NTC 1860
Sodio	Na	mg.kg ⁻¹	MVH Ác. Nítrico:Ác. Perclórico / EAA / P.A.P.
Cadmio	Cd	mg.kg ⁻¹	EAM HNO ₃ : H ₂ O ₂ Hansen / ICP OES / EPA 6010D

Espectroscopía de Absorción Atómica/EAA. Espectroscopía de Emisión Atómica/EEA. Espectroscopía de Plasma Acoplado/ EPA. Mineralización Vía Húmeda/MVH.

Tabla anexa 2. Análisis del modelo lineal mixto realizado a los portainjertos de cacao cinco meses después de establecimiento en suelo con adición de cadmio. Los valores de F son datos arrojados por la prueba de Fisher, los valores de p corresponden a la significancia de los residuos para cada variable y los valores de cada portainjerto en cada variable corresponden al intercepto con IMC67. Significancia del (p<0,05).

Tipo de variable	Variables	Suelo con adición de Cd						Suelo sin adición de Cd					
		F	p	IMC67	PA121	IMC67 x PA121	PA121 x IMC67	F	p	IMC67	PA121	IMC67 x PA121	PA121 x IMC67
Cd	Cd en tejido foliar	1.80	0.174	85.20	-6.71	2.05	18.54	0.58	0.635	0.86	0.02	-0.16	-0.30
	Cd en raíces	3.35	0.035	40.36	11.59	-0.39	19.48	0.27	0.848	0.71	0.07	-0.16	-0.08
Nutrientes	N	1.96	0.146	2.00	-0.06	-0.12	0.09	0.81	0.499	2.09	0.01	0.12	0.05
	P	2.43	0.089	0.12	0.01	-0.01	-0.01	5.06	0.007	0.13	0.00	-0.01	-0.02
	K	5.56	0.005	1.57	0.15	-0.09	-0.01	4.80	0.009	1.52	-0.01	-0.06	-0.19
	Ca	1.36	0.276	0.99	0.03	0.08	0.09	0.19	0.903	1.04	-0.01	0.03	0.04
	Mg	5.33	0.006	0.48	-0.08	-0.04	-0.08	6.06	0.003	0.45	-0.06	-0.05	-0.06
	S	1.64	0.206	0.18	0.01	-0.01	0.01	0.64	0.599	0.19	0.00	0.00	-0.01
	Fe	17.05	0.000	175.50	-40.75	-3.63	7.00	6.02	0.003	209.75	-68.45	-42.88	-32.13
	Mn	5.32	0.006	489.13	79.75	70.75	136.25	1.18	0.338	647.38	-8.25	66.13	59.75
	Cu	4.16	0.016	10.31	1.37	-0.90	-0.26	2.19	0.114	11.96	0.49	-0.09	-1.18
	Zn	5.64	0.004	68.01	-15.61	-8.98	-3.56	0.31	0.815	70.03	0.66	-2.13	-5.04
	B	4.03	0.018	67.78	-19.04	-10.90	-14.35	0.33	0.804	58.41	-3.44	-5.01	-1.58
Na	8.09	0.001	177.63	-30.00	-26.88	-10.50	0.53	0.666	152.38	-9.63	-2.88	-1.38	
Biomasa	Peso fresco de hojas (g)	7.53	0.001	46.55	1.55	11.01	4.78	0.33	0.806	57.54	3.11	0.78	1.96
	Peso fresco de tallos (g)	16.53	0.000	34.95	-11.38	0.68	-0.61	0.62	0.607	40.53	-2.76	-1.66	-0.95
	Peso fresco de raíces (g)	2.79	0.061	40.01	-11.25	3.25	-0.53	0.71	0.553	38.76	-3.83	-1.75	2.55
	Longitud de raíces (cm)	1.27	0.307	53.96	1.78	1.73	-2.58	0.39	0.758	52.30	3.09	-2.38	0.50
	Longitud aérea (cm)	3.89	0.021	56.40	-7.15	-0.05	4.31	2.69	0.068	67.00	5.43	-1.78	-4.49
	Area foliar (cm ²)	12.19	0.000	3217.31	-47.31	1018.14	488.41	0.67	0.579	4048.64	107.25	220.75	358.36
	Peso seco de hojas (g)	2.71	0.066	14.53	-1.25	1.21	1.13	0.66	0.581	17.66	-0.52	0.29	0.74
	Peso seco de tallo (g)	14.50	0.000	9.26	-3.04	0.54	-0.09	1.24	0.315	10.60	-0.66	-0.04	0.76
Peso seco de raíces (g)	4.06	0.018	11.81	-3.68	0.81	-0.07	2.36	0.096	12.14	-2.04	-0.56	0.93	
Fluorescencia de la clorofila	Fo	1.37	0.275	99.19	5.81	6.06	4.13	1.17	0.341	102.06	-2.56	2.75	3.31
	Fm	2.60	0.074	404.31	29.38	25.31	18.06	1.77	0.179	418.88	-4.56	24.06	2.50
	Fv/Fm	0.22	0.885	0.75	0.01	0.00	0.00	1.19	0.335	0.76	0.00	0.01	-0.01
Pérdida de electrolitos	Pérdida de electrolitos (%)	3.10	0.045	23.93	4.17	-1.00	-3.89	2.35	0.097	19.20	2.32	1.16	6.09
Intercambio de gases	Ci	1.43	0.258	355.75	-1.63	-9.00	-12.69	0.96	0.426	343.63	-5.56	-11.38	-8.38
	E	1.95	0.147	5.28	0.54	-0.10	0.51	2.75	0.064	5.01	0.62	1.01	0.21
	gs	0.33	0.801	0.58	0.05	0.00	0.12	2.32	0.100	0.46	0.20	0.12	-0.01
	P _N	3.38	0.034	5.21	-0.04	1.61	3.01	2.58	0.076	6.51	2.12	2.51	0.72
	WUE	4.23	0.015	0.90	0.02	0.40	0.51	1.38	0.272	1.29	0.27	0.15	0.05
Pigmentos fotosintéticos	Chl A (mg/g)	11.53	0.000	4.49	-1.62	-1.66	-0.97	1.18	0.339	3.17	-0.01	-0.16	-0.41
	Chl B (mg/g)	11.42	0.000	1.65	-0.60	-0.59	-0.27	1.74	0.185	1.25	0.03	-0.01	-0.18
	Total chl A (mg/g)	11.52	0.000	6.14	-2.22	-2.25	-1.23	1.30	0.297	4.42	0.02	-0.17	-0.59
	Carotenoides	13.52	0.000	1.37	-0.48	-0.36	-0.36	1.41	0.262	1.17	-0.14	-0.11	-0.03
Proteína total soluble	Proteína total soluble	5.85	0.004	0.57	-0.07	0.17	0.35	1.87	0.160	0.54	0.09	0.30	0.10

Tabla anexa 3. Análisis del modelo lineal mixto realizado a las combinaciones copa x portainjerto de cacao establecidas en suelo con adición de cadmio dos meses después de injertación. Los valores de F son datos arrojados por la prueba de Fisher, los valores de p corresponden a la significancia de los residuos para cada variable y los valores de cada portainjerto en cada variable corresponden al intercepto con IMC67. Significancia del ($p < 0,05$).

Tipo de variable	Variable	ICS95											
		Suelo con adición de Cd						Suelo sin adición de Cd					
		F	p	IMC67	PA121	IMC67 x PA121	PA121 x IMC67	F	p	IMC67	PA121	IMC67 x PA121	PA121 x IMC67
Cd	Cd en tejido foliar	5.38	0.006	81.39	14.29	19.40	29.58	0.81	0.499	0.45	0.08	0.06	0.05
	Cd en raíces	0.26	0.856	33.65	0.76	-1.54	1.44	1.91	0.156	0.77	0.11	-0.41	-0.30
Nutrientes	N	5.31	0.006	1.54	0.05	-0.04	0.27	0.47	0.704	1.95	0.00	-0.04	-0.12
	P	2.01	0.138	0.14	0.03	0.00	0.00	0.37	0.775	0.18	0.00	-0.01	-0.01
	K	5.69	0.004	1.76	0.31	0.08	0.02	0.46	0.712	1.76	-0.07	-0.02	-0.03
	Ca	0.36	0.779	0.83	0.06	0.08	0.05	0.53	0.666	0.68	0.08	0.02	0.05
	Mg	3.17	0.042	0.71	-0.11	-0.01	-0.09	0.30	0.825	0.53	-0.04	-0.03	-0.01
	S	0.66	0.585	0.23	0.01	0.01	0.00	0.29	0.835	0.23	0.00	-0.01	0.00
	Fe	1.82	0.170	87.68	16.18	18.78	3.20	1.02	0.399	77.04	14.34	-0.19	2.19
	Mn	1.24	0.318	482.00	1.00	81.50	139.38	0.36	0.779	486.75	2.25	1.13	55.00
	Cu	3.04	0.048	8.12	3.73	1.11	2.33	1.64	0.204	11.89	2.00	0.22	0.49
	Zn	3.74	0.024	63.73	-14.80	4.51	8.70	2.80	0.061	65.14	8.21	3.09	17.68
	B	1.72	0.188	44.66	-7.05	0.24	1.25	0.55	0.654	40.79	4.71	8.51	6.39
Na	3.18	0.041	113.10	12.53	21.28	-5.64	1.26	0.309	115.60	-0.60	6.26	-12.49	
Biomasa	Peso fresco de hojas (g)	1.24	0.315	21.95	3.83	1.20	5.50	0.45	0.721	39.93	1.28	0.96	-3.59
	Peso fresco de raíces (g)	9.12	0.000	39.68	-12.74	1.51	1.33	0.59	0.630	37.90	-1.73	-0.35	3.15
	Longitud de raíces (cm)	2.11	0.124	63.36	-4.88	-10.59	-9.05	1.65	0.203	54.58	-3.11	-3.14	4.93
	Area foliar (cm ²)	1.64	0.204	1036.99	267.55	38.03	348.88	0.97	0.423	2215.77	-93.13	13.20	-430.29
	Peso seco de hojas (g)	1.20	0.329	5.57	0.33	-0.37	1.13	0.49	0.693	10.49	-0.79	0.29	-0.91
	Peso seco de raíces (g)	11.08	0.000	16.65	-5.88	1.16	-0.16	1.63	0.209	15.15	-0.87	1.11	2.54
Fluorescencia de la clorofila	Fo	2.28	0.103	85.38	5.69	-1.69	1.88	1.70	0.194	92.88	-3.06	0.00	2.44
	Fm	3.03	0.048	377.56	-7.56	-33.63	22.75	1.96	0.146	432.69	-31.81	-5.94	-17.38
	Fv/Fm	4.50	0.012	0.77	-0.02	-0.02	0.01	1.29	0.299	0.78	-0.01	0.00	-0.01
Pérdida de electrolitos	Pérdida de electrolitos (%)	0.83	0.491	23.59	2.15	2.83	3.25	0.97	0.423	22.76	3.57	3.42	1.95
Intercambio de gases	Ci	0.75	0.532	360.00	-13.00	-10.06	0.81	2.45	0.087	337.81	22.38	3.25	-4.00
	E	0.53	0.669	5.45	0.19	-0.28	-0.47	1.28	0.304	5.31	-0.59	-0.20	0.40
	gs	2.72	0.066	0.82	-0.34	-0.05	0.20	2.63	0.072	0.78	-0.06	-0.14	-0.38
	P _N	0.83	0.491	6.16	-1.12	0.27	1.16	2.62	0.073	7.57	-2.14	0.29	-2.19
	WUE	1.56	0.224	1.10	-0.21	0.26	0.35	3.24	0.039	1.44	-0.29	0.21	-0.50
Pigmentos fotosintéticos	Chl A (mg/g)	4.01	0.019	1.53	0.03	-0.35	0.25	7.20	0.001	2.53	-0.09	-0.04	-0.93
	Chl B (mg/g)	4.44	0.012	0.59	0.10	-0.11	0.12	4.25	0.015	1.03	0.02	0.15	-0.37
	Total chl A (mg/g)	4.13	0.017	2.12	0.12	-0.46	0.37	5.52	0.005	3.55	-0.06	0.37	-1.30
	Carotenoides	5.31	0.006	0.64	-0.04	-0.14	0.10	4.54	0.011	0.90	-0.06	-0.01	-0.24
Proteína total soluble	Proteína total soluble	13.87	0.000	0.46	0.45	0.13	0.22	0.84	0.484	0.76	0.05	0.20	0.07

Continuación

		CCN51											
Tipo de variable	Variable	Suelo con adición de Cd						Suelo sin adición de Cd					
		F	p	IMC67	PA121	IMC67 x PA121	PA121 x IMC67	F	p	IMC67	PA121	IMC67 x PA121	PA121 x IMC67
Cd	Cd en tejido foliar	0.55	0.653	121.13	-17.61	-5.95	-3.44	0.39	0.764	0.50	0.04	0.03	0.04
	Cd en raíces	4.23	0.016	37.37	-3.42	1.33	11.54	0.90	0.457	0.35	0.06	0.00	0.01
Nutrientes	N	6.33	0.002	1.67	0.06	-0.15	0.24	1.35	0.280	2.09	-0.02	-0.05	-0.20
	P	2.40	0.091	0.18	-0.02	-0.04	-0.03	3.29	0.037	0.20	-0.03	-0.01	-0.04
	K	6.55	0.002	1.72	0.19	0.25	0.14	2.55	0.079	1.83	-0.15	0.01	-0.06
	Ca	1.26	0.309	0.92	-0.02	0.06	-0.13	1.99	0.141	0.70	0.10	-0.02	0.08
	Mg	6.59	0.002	0.75	-0.13	0.01	-0.17	4.24	0.015	0.54	-0.06	-0.02	0.04
	S	1.24	0.316	0.24	0.00	-0.01	-0.02	0.97	0.421	0.23	-0.02	-0.01	-0.01
	Fe	0.92	0.444	91.16	6.65	13.83	2.36	1.08	0.374	88.35	11.86	-0.16	12.83
	Mn	0.85	0.479	527.50	-23.00	98.75	63.38	0.59	0.629	516.50	78.13	45.00	60.13
	Cu	6.87	0.002	9.98	3.19	-1.61	2.40	2.53	0.080	13.31	-1.75	-0.08	-1.81
	Zn	2.07	0.130	66.45	-13.83	0.04	-0.30	3.24	0.039	69.23	-3.35	-0.09	10.05
	B	4.86	0.008	48.74	-9.64	10.60	-5.01	2.37	0.095	44.85	-4.25	8.56	-2.68
Na	2.66	0.070	107.49	-5.00	22.50	2.49	6.87	0.002	114.99	-21.28	16.26	-2.49	
Biomasa	Peso fresco de hojas (g)	2.93	0.053	23.00	1.79	-1.05	9.93	2.32	0.100	39.24	-6.48	-2.29	-7.55
	Peso fresco de raíces (g)	5.23	0.006	36.39	-10.38	2.60	-0.59	1.19	0.334	37.21	2.89	3.85	9.30
	Longitud de raíces (cm)	1.88	0.158	58.61	-4.59	-6.54	-8.73	0.06	0.979	54.55	-0.91	-1.48	0.08
	Area foliar (cm ²)	2.45	0.087	1186.64	151.68	-17.01	655.38	1.48	0.244	2381.22	-520.51	-171.92	-399.50
	Peso seco de hojas (g)	2.45	0.087	5.45	0.49	-0.13	2.70	0.81	0.498	9.79	-0.89	-0.17	-1.39
	Peso seco de raíces (g)	4.71	0.010	15.53	-4.58	1.05	-0.84	0.94	0.435	15.38	1.77	2.69	3.65
Fluorescencia de la clorofila	Fo	1.57	0.222	90.44	5.25	-1.06	3.50	2.66	0.070	94.63	-5.38	1.25	5.00
	Fm	1.51	0.238	370.50	-4.81	-12.38	29.88	1.73	0.187	434.44	-31.25	-13.69	-23.31
	Fv/Fm	1.74	0.185	0.76	-0.03	-0.01	0.01	2.59	0.075	0.78	0.00	-0.01	-0.03
Pérdida de electrolitos	Pérdida de electrolitos (%)	1.03	0.395	25.44	2.76	-0.95	2.71	2.89	0.055	21.94	2.25	6.53	3.87
Intercambio de gases	Ci	0.59	0.625	361.75	-3.56	-9.94	1.63	2.37	0.095	338.19	17.50	9.44	-13.94
	E	0.84	0.485	5.55	-0.67	-0.62	-0.68	0.77	0.521	5.40	-0.14	0.16	0.68
	gs	1.41	0.265	0.64	-0.03	-0.17	0.03	3.18	0.041	0.62	0.18	0.25	-0.15
	P _N	0.40	0.752	4.74	0.61	0.02	0.98	0.05	0.986	6.85	0.44	0.58	0.62
	WUE	0.79	0.512	0.88	0.22	0.12	0.32	0.17	0.913	1.29	0.06	0.04	-0.14
Pigmentos fotosintéticos	Chl A (mg/g)	5.80	0.004	1.44	0.11	-0.44	0.09	4.08	0.017	3.29	-0.60	-0.79	-1.07
	Chl B (mg/g)	11.05	0.000	0.64	0.58	-0.04	-0.04	5.47	0.005	1.40	-0.26	-0.45	-0.49
	Total chl A (mg/g)	7.31	0.001	2.08	0.69	-0.48	0.05	4.54	0.011	4.68	-0.86	-1.24	-1.56
	Carotenoides	4.41	0.013	0.63	0.11	-0.13	0.03	2.86	0.057	1.05	-0.10	-0.15	-0.22
Proteína total soluble	Proteína total soluble	7.04	0.001	0.52	0.26	0.20	0.37	4.02	0.018	0.75	0.21	-0.17	0.00

Tabla anexa 4. Análisis del modelo lineal mixto realizado a las combinaciones copa x portainjerto de cacao establecidas en suelo con adición de cadmio cuatro meses después de injertación. Los valores de F son datos arrojados por la prueba de Fisher, los valores de p corresponden a la significancia de los residuos para cada variable y los valores de cada portainjerto en cada variable corresponden al intercepto con IMC67. Significancia del ($p < 0,05$).

Tipo de variable	Variable	ICS95											
		Suelo con adición de Cd					Suelo sin adición de Cd						
		F	p	IMC67	PA121	IMC67 x PA121	PA121 x IMC67	F	p	IMC67	PA121	IMC67 x PA121	PA121 x IMC67
Cd	Cd en tejido foliar	3.96	0.021	66.97	6.70	16.73	40.48	4.19	0.018	1.01	-0.34	-0.24	-0.51
	Cd en raíces	7.08	0.002	35.45	21.24	-4.21	21.30	0.29	0.834	0.78	-0.23	-0.18	-0.11
Biomasa	Peso fresco de hojas (g)	1.76	0.183	69.38	-7.30	-3.18	3.45	0.15	0.930	73.51	1.66	1.11	3.23
	Peso fresco de raíces (g)	3.98	0.020	41.34	-4.64	8.91	7.70	6.22	0.003	50.24	2.94	14.30	8.28
	Longitud de raíces (cm)	1.63	0.210	63.55	-8.25	-10.36	-3.78	2.74	0.065	54.46	-6.49	-0.08	1.37
	Area foliar (cm ²)	1.34	0.286	4022.02	-324.64	-74.60	293.20	0.12	0.946	4538.64	-91.43	-186.03	-148.20
	Peso seco de hojas (g)	2.37	0.097	20.85	-2.95	0.55	2.54	1.77	0.180	23.09	1.61	1.23	3.15
	Peso seco de raíces (g)	5.48	0.005	14.68	-2.00	4.89	3.51	14.44	0.000	16.79	4.20	8.89	5.91
Fluorescencia de la clorofila	Fo	0.88	0.466	89.00	0.75	3.31	-1.69	1.13	0.358	87.75	4.06	6.00	1.04
	Fm	1.82	0.172	408.84	-11.27	-21.09	13.79	1.17	0.342	404.56	-9.56	14.06	-2.90
	Fv/Fm	3.30	0.038	0.78	-0.01	-0.02	0.01	1.73	0.187	0.78	-0.02	-0.01	-0.01
Intercambio de gases	Ci	1.04	0.392	368.83	-1.27	7.23	20.85	3.61	0.028	358.06	8.69	-5.31	-22.70
	E	1.07	0.381	5.06	-0.27	-0.59	-1.02	5.70	0.004	5.03	-1.10	0.15	0.12
	gs	0.29	0.834	0.58	0.09	0.00	0.03	1.26	0.310	0.47	0.04	0.08	-0.03
	P _N	0.23	0.871	5.41	0.20	-0.85	-0.69	0.90	0.455	5.59	1.60	1.63	2.20
	WUE	0.18	0.908	1.05	0.06	-0.05	0.11	1.75	0.183	1.11	0.75	0.35	0.42

Continuación

Tipo de variable	Variable	CCN51											
		Suelo con adición de Cd					Suelo sin adición de Cd						
		F	p	IMC67	PA121	IMC67 x PA121	PA121 x IMC67	F	p	IMC67	PA121	IMC67 x PA121	PA121 x IMC67
Cd	Cd en tejido foliar	4.94	0.009	84.10	-5.19	33.07	35.24	3.20	0.044	0.99	-0.41	-0.38	-0.17
	Cd en raíces	0.33	0.803	50.55	-5.33	-8.64	-7.79	2.75	0.069	0.58	-0.23	-0.26	-0.13
Biomasa	Peso fresco de hojas (g)	7.65	0.001	61.61	-2.03	-8.83	11.96	1.12	0.364	77.68	-8.43	-6.90	-6.39
	Peso fresco de raíces (g)	2.30	0.102	46.11	-7.96	5.16	0.24	0.87	0.474	55.36	-1.51	6.49	1.20
	Longitud de raíces (cm)	1.01	0.406	58.85	-8.14	-3.88	-4.13	1.23	0.325	54.48	-3.55	-2.64	3.58
	Area foliar (cm ²)	3.50	0.030	3925.93	-100.12	-121.21	843.41	0.99	0.419	5237.36	-697.12	-480.68	-477.63
	Peso seco de hojas (g)	7.74	0.001	18.22	0.28	-1.66	5.19	0.06	0.981	23.00	0.36	-0.05	-0.37
	Peso seco de raíces (g)	4.93	0.008	16.61	-2.56	6.30	0.60	1.11	0.366	21.72	0.65	3.34	-1.44
Fluorescencia de la clorofila	Fo	1.39	0.269	93.44	2.94	-4.81	2.94	0.71	0.556	90.94	-0.44	4.13	5.54
	Fm	0.48	0.700	413.06	-24.75	-3.31	-21.50	1.43	0.263	399.38	-4.73	17.31	4.03
	Fv/Fm	1.06	0.383	0.77	-0.05	0.01	-0.02	0.23	0.877	0.77	0.00	0.00	-0.01
Intercambio de gases	Ci	1.67	0.200	385.88	-1.19	-21.19	5.56	1.74	0.191	356.69	21.73	-4.81	-2.91
	E	0.53	0.664	4.44	0.56	0.04	-0.04	2.49	0.088	4.98	-0.93	0.42	0.32
	gs	2.22	0.110	0.51	0.21	0.04	0.29	1.77	0.184	0.44	0.18	0.05	0.09
	P _N	0.43	0.735	3.82	0.43	1.38	0.82	0.46	0.710	4.70	0.93	1.34	1.77
	WUE	0.99	0.412	0.83	0.09	0.44	0.23	0.73	0.545	0.95	0.41	0.19	0.23

B. Figuras anexas

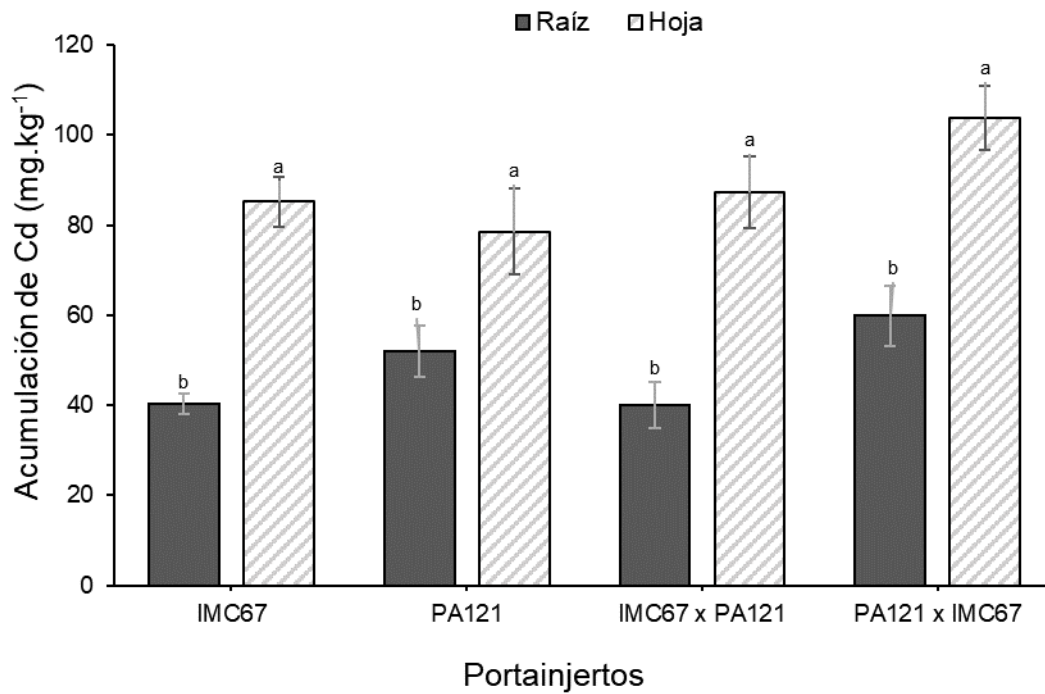


Figura anexa 1. Acumulación de cadmio en tejido foliar y raíces de portainjertos evaluados cinco meses después de establecidos en suelo con adición de cadmio. Las letras diferentes indican diferencia significativa entre la acumulación de cadmio en tejido foliar y raíces para un mismo portainjerto por Duncan ($p < 0,05$). Los datos corresponden a promedios de 8 plantas (\pm SE).

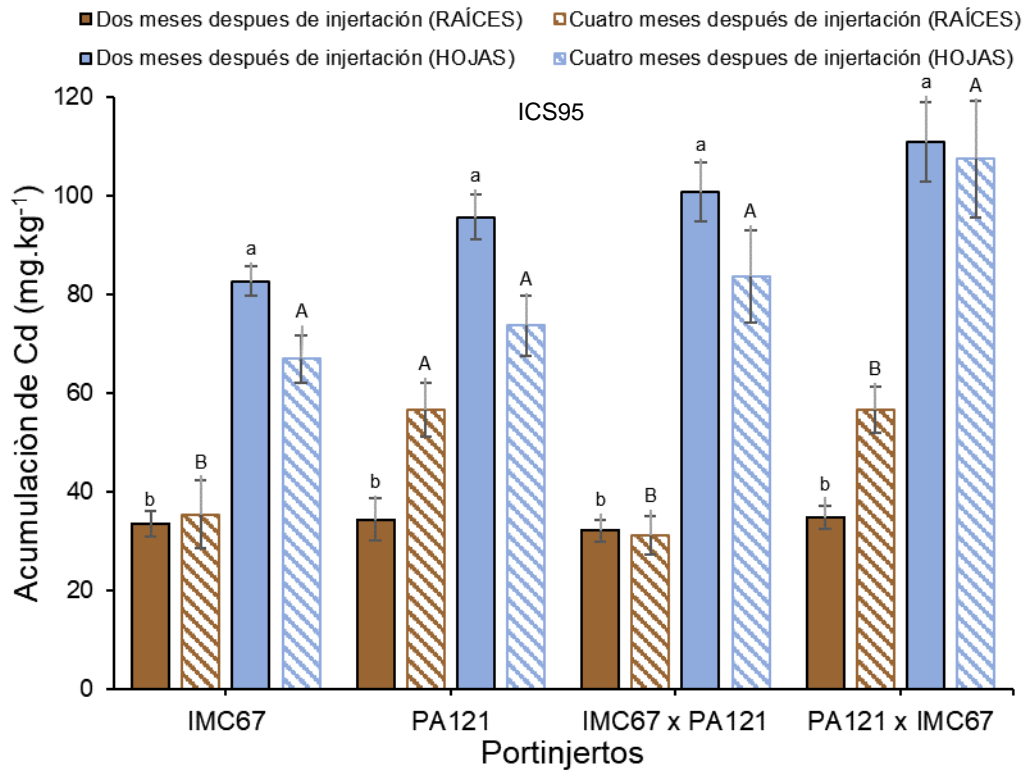


Figura anexa 2. Acumulación de cadmio en tejido foliar y raíces en combinaciones copa x portainjerto del clon ICS95 de cacao dos y cuatro meses después de injertación y establecidas en suelo enriquecido con cadmio. Letras diferentes minúsculas en un mismo portainjerto indican diferencia significativa entre la acumulación de cadmio en tejido foliar y raíces por Duncan ($p < 0,05$) dos meses después de injertación. Letras diferentes mayúsculas en un mismo portainjerto indican diferencia significativa entre la acumulación de cadmio en tejido foliar y raíces por Duncan ($p < 0,05$) cuatro meses después de injertación. Los datos corresponden a promedios de 8 plantas (\pm SE).

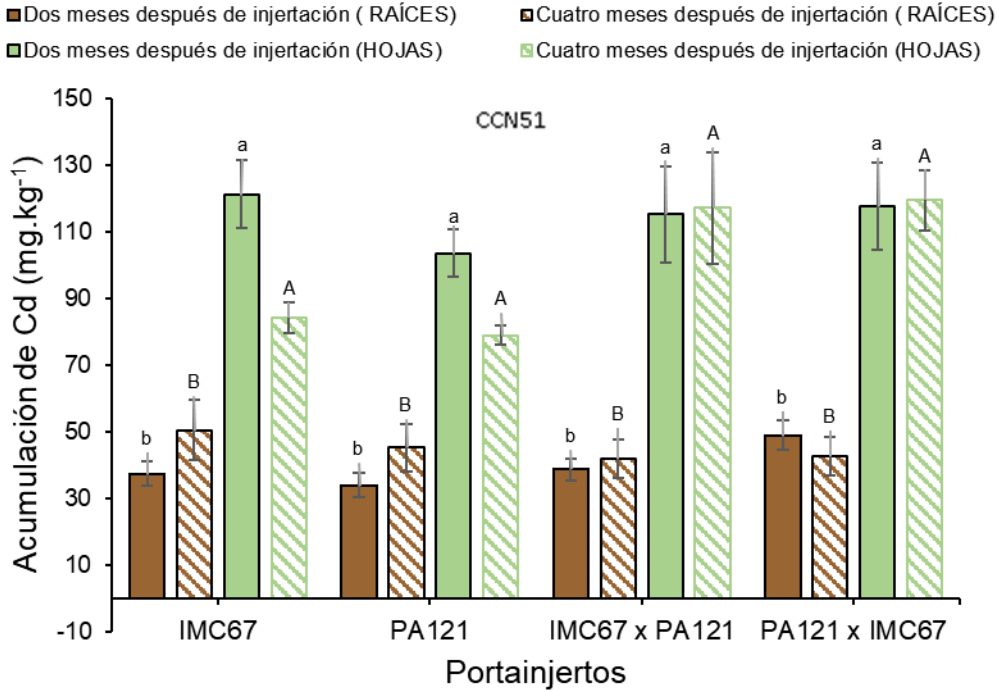


Figura anexa 3. Acumulación de cadmio en tejido foliar y raíces en combinaciones copa x portainjerto del clon CCN51 de cacao dos y cuatro meses después de injertación y establecidas en suelo enriquecido con cadmio. Letras diferentes minúsculas en un mismo portainjerto indican diferencia significativa entre la acumulación de cadmio en tejido foliar y raíces por Duncan ($p < 0,05$) dos meses después de injertación. Letras diferentes mayúsculas en un mismo portainjerto indican diferencia significativa entre la acumulación de cadmio en tejido foliar y raíces por Duncan ($p < 0,05$) cuatro meses después de injertación. Los datos corresponden a promedios de 8 plantas (\pm SE).

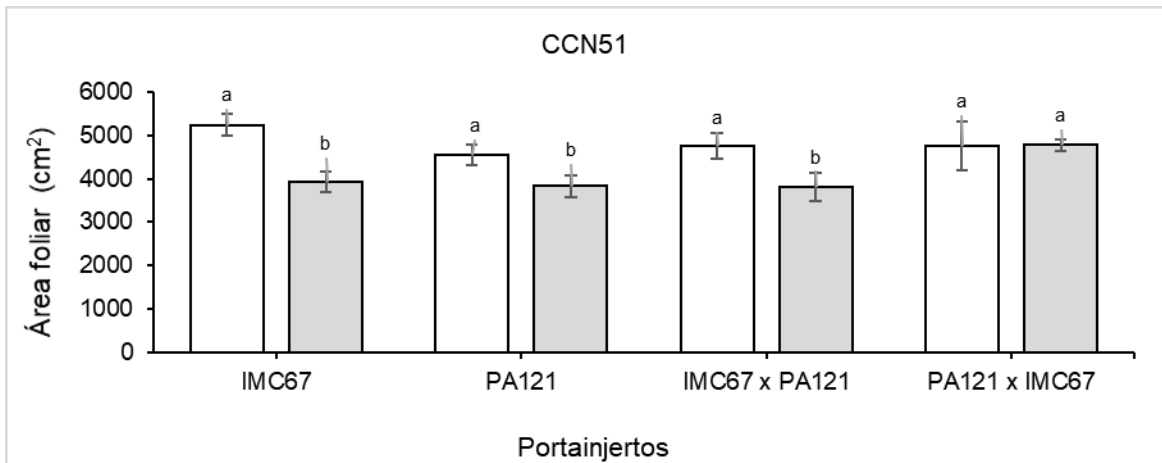


Figura anexa 4. Área foliar de las copas CCN51 cuatro meses después de injertadas sobre los cuatro portainjertos y establecidas en suelo con adición de cadmio. Las letras indican diferencias significativas por Duncan ($p < 0,05$) entre las diferentes combinaciones copa x portainjerto establecidas en suelo con concentraciones contrastantes de cadmio. La barra color blanco son las combinaciones establecidas en suelo con $0,43 \text{ mg.kg}^{-1}$ y las barras grises son las combinaciones establecidas en suelo con $7,49 \text{ mg.kg}^{-1}$. Los datos corresponden a promedios de 8 plantas ($\pm \text{SE}$).

C. Contenido anexo

Información anexa 1. La metodología de Melgarejo (2010), fue previamente adaptada. No se tomaron 500 mg, de tejido foliar de cacao macerado, para la extracción de pigmentos fotosintéticos, debido a la escasez del material vegetal para el análisis. Se utilizó una masa de 50 mg de tejido foliar de cacao macerado y se realizaron las respectivas diluciones de acuerdo con la metodología citada por el autor. La masa del material vegetal fue tomada en cuenta en el cálculo de cada pigmento fotosintético. Los demás procedimientos fueron seguidos al pie de la letra.

A continuación, se anexa los análisis químicos de los diferentes elementos nutricionales y del metal pesado realizado a los sustratos, tanto sustrato conteniendo suelo enriquecido con Cd como sin enriquecer.

INFORME DE RESULTADOS

Informe N°	31964-V1-2020	N° de Laboratorio	ASU-17396-2020
-------------------	----------------------	--------------------------	-----------------------

Información del Cliente

Remitente	LA CORPORACION COLOMBIANA DE INVESTIGACION AGROPECUARIA - AGROSAVIA	Responsable	ING. CAREN RODRIGUEZ
Propietario	AGROSAVIA C.I PALMIRA	email contacto	cdrodriguez@agrosavia.co
Fecha Ingreso	30-09-2020	Fecha Emisión	22-10-2020

Información de la Muestra enviada por el cliente

Cultivo / Variedad	CACAO - NO ESPECIFICADO		Lote / Bloque	S1: VIVERO CACAO
Municipio/Departamento/Finca	PALMIRA - VALLE DEL CAUCA	C.I PALMIRA	N° Contrato	N.A.
Información adicional	SUELO VIVERO DE THEOBROMA CACAO		Condiciones recepción	CONFORME

ANÁLISIS FISICOQUÍMICO DE SUELOS MÁS METALES PESADOS

Variable	Expresión /Sigla	Resultados	Unidades	Rango Medio		Extractante/Técnica/Referencia
pH	pH	4.90	pH_unit	5.50	6.50	Pasta de saturación / Conductimétrico / USDA Salinity Laboratory
Conductividad Eléctrica	CE	0.80	dS/m	N.R.	N.R.	Pasta de saturación / Conductimétrico / USDA Salinity Laboratory
Capacidad de Intercambio Catiónica Efectiva	CICE	4.58	meq/100g	N.R.	N.R.	Cálculo
Saturación de Humedad Media	N.A.	25.1	%	20.0	40.0	Pasta de saturación / Gravimétrico / USDA Salinity Laboratory
Carbono Orgánico Oxidable	COOx	4.88	%	2.00	4.00	Sln. Dicromato de Potasio / Colorimétrico / NTC 5403 Walkley-Black
Materia Orgánica	MO	8.41	%	N.R.	N.R.	Cálculo
Nitrógeno Total	N Total	0.407	%	N.R.	N.R.	Cálculo
Densidad Aparente	d.a.	0.971	g/cm3	N.R.	N.R.	Cálculo

Determinación de Textura

Arcilla	Tex.	10.0	%	Análisis directo / Método de Bouyoucos
Arena	Tex.	44.0	%	Análisis directo / Método de Bouyoucos
Limo	Tex.	46.0	%	Análisis directo / Método de Bouyoucos
Textura	Tex.	Franco	Adimensional	Análisis directo / Método de Bouyoucos

Variable	Expresión	Resultado (mg/kg)	Resultado (meq/100g)	Rango medio		Extractante / Técnica / Referencia
Potasio Intercambiable	K	184	0.471	0.30	0.60	Sln. Acetato de Amonio / EEA / NTC 5349
Calcio Intercambiable	Ca	480	2.40	3.00	6.00	Sln. Acetato de Amonio / EAA / NTC 5349
Magnesio Intercambiable	Mg	99.0	0.814	1.50	3.00	Sln. Acetato de Amonio / EAA / NTC 5349
Sodio Intercambiable	Na	56.0	0.243	0.04	0.48	Sln. Acetato de Amonio / EEA / NTC 5349
Acidez Intercambiable	Ac. Inter.	59.0	0.655	0.20	0.40	Sln. KCl 1N / Volumétrico / NTC 5263
Hierro	Fe	32.7	N.A.	N.R.	N.R.	Sln. Ácida Mehlich I / ICP-OES / NTC 5526
Manganeso	Mn	41.2	N.A.	N.R.	N.R.	Sln. Ácida Mehlich I / ICP-OES / NTC 5526

Efecto fisiológico de la absorción de cadmio (Cd^{2+}) sobre accesiones de cacao
(*Theobroma cacao* L.).

Variable	Expresión	Resultado (mg/kg)	Resultado (meq/100g)	Rango medio		Extractante / Técnica / Referencia
Cobre	Cu	1.51	N.A.	N.R.	N.R.	Sln. Ácida Mehlich I / ICP-OES / NTC 5526
Zinc	Zn	2.34	N.A.	N.R.	N.R.	Sln. Ácida Mehlich I / ICP-OES / NTC 5526
Boro	B	0.230	N.A.	0.50	1.00	Sln. Fosfato Monobásico de Calcio / Colorimétrico / Método Interno
Fósforo	P	14.2	N.A.	15.0	30.0	Sln. Bray II / Colorimétrico / NTC 5350
Azufre	S	44.3	N.A.	30.0	60.0	Sln. Fosfato Monobásico de Calcio / Turbidimétrico / Método Interno

RELACIONES MATEMÁTICAS

Variable	Expresión	Resultado	Unidades	Extractante / Técnica / Referencia
Saturación de Magnesio	Sat. Mg	17.8	%	Cálculo
Saturación de Sodio	Sat. Na	5.31	%	Cálculo
Saturación de Aluminio	Sat. Al	14.3	%	Cálculo
Saturación de Potasio	Sat. K	10.3	%	Cálculo
Saturación de Calcio	Sat. Ca	52.4	%	Cálculo
Relación Calcio/Magnesio	Ca/Mg	2.95	Adimensional	Relación matemática
Relación Calcio/Potasio	Ca/K	5.10	Adimensional	Relación matemática
Relación Magnesio/Potasio	Mg/K	1.73	Adimensional	Relación matemática
Relación (Ca+Mg)/K	(Ca+Mg)/K	6.82	Adimensional	Relación matemática

METALES PESADOS

Variable	Expresión	Resultado	Unidades	Extractante / Técnica / Referencia
Cadmio	Cd	436	ug/kg	EAM HNO ₃ :HCl ISO DIS 54321:2020 / ICP OES / EPA 6010D

Observaciones a los resultados:	Convenciones:
NINGUNO	N.R. No registra / N.A. No Aplica / Sln. Solución / N.S. No Suministrada / N.D.No Detectado / MVH Mineralización Vía Húmeda / M.I. Muestra Insuficiente EAA Espectroscopía de Absorción Atómica / EAA Espectroscopía de Emisión Atómica

Notas:

- El presente informe registra fielmente los resultados de las variables solicitadas por el cliente y corresponden exclusivamente a la muestra enviada y analizada en las fechas indicadas.
- El informe solo tiene validez si está firmado por el personal autorizado por AGRILAB LABORATORIOS S.A.S.
- El presente informe no puede ser reproducido parcial o totalmente, salvo autorización expresa por parte del laboratorio AGRILAB S.A.S.
- La fecha de ejecución de los ensayos corresponde al periodo comprendido entre la fecha de ingreso y la fecha de emisión del presente informe de resultados.
- AGRILAB LABORATORIOS S.A.S. no presta los servicios de muestreo en campo, por lo tanto, la idoneidad y representatividad de la muestra analizada y por ende de sus resultados, es responsabilidad del remitente de esta.
- En el caso de análisis subcontratados, AGRILAB LABORATORIOS S.A.S. es responsable frente al cliente del trabajo realizado por el subcontratista, siempre y cuando este haya sido aprobado y contratado por el laboratorio y aceptado por el cliente.
- La verificación de resultados mediante ensayos de laboratorio se realizará máximo 15 días hábiles luego de emitido el presente informe de resultados, siempre y cuando las condiciones de estabilidad del analito en la muestra permitan su reproducibilidad.
- Los valores de los Niveles Medios corresponden a los reportados en las siguientes referencias: "Fertilización de cultivos en clima frío (1998), Fertilización de cultivos en clima medio (1995) y Fertilización de cultivos en clima cálido, editados por Guerrero R. y publicados por Monómeros Colombo Venezolanos S.A." Su interpretación y aplicación es responsabilidad del profesional de campo responsable de la muestra.
- En Agrilab estamos interesados en la satisfacción de nuestros clientes. Para conocer sus Peticiones, Quejas, Reclamos o Sugerencias (PQRS) sobre los resultados emitidos y/o los servicios prestados, hemos dispuesto el siguiente correo electrónico: servicioalcliente@agrilab.com.co, por favor comuníquese con nosotros a través de este medio y con gusto le brindaremos una respuesta clara y oportuna a su solicitud.

Autorizado por:

 Teresa del C. Cocco T.

Revisado por:

 Aliano Soriano D.

INFORME DE RESULTADOS

Informe N°	31965-V1-2020	N° de Laboratorio	ASU-17397-2020
-------------------	----------------------	--------------------------	-----------------------

Información del Cliente

Remitente	LA CORPORACION COLOMBIANA DE INVESTIGACION AGROPECUARIA - AGROSAVIA	Responsable	ING. CAREN RODRIGUEZ
Propietario	AGROSAVIA C.I PALMIRA	email contacto	cdrodriguez@agrosavia.co
Fecha Ingreso	30-09-2020	Fecha Emisión	22-10-2020

Información de la Muestra enviada por el cliente

Cultivo / Variedad	CACAO - NO ESPECIFICADO		Lote / Bloque	S2: VIVERO CACAO
Municipio/Departamento/Finca	PALMIRA - VALLE DEL CAUCA	C.I PALMIRA	N° Contrato	N.A.
Información adicional	SUELO VIVERO DE THEOBROMA CACAO		Condiciones recepción	CONFORME

ANÁLISIS FISICOQUÍMICO DE SUELOS MÁS METALES PESADOS

Variable	Expresión /Sigla	Resultados	Unidades	Rango Medio		Extractante/Técnica/Referencia
pH	pH	4.80	pH_unit	5.50	6.50	Pasta de saturación / Conductimétrico / USDA Salinity Laboratory
Conductividad Eléctrica	CE	1.41	dS/m	N.R.	N.R.	Pasta de saturación / Conductimétrico / USDA Salinity Laboratory
Capacidad de Intercambio Catiónica Efectiva	CICE	6.08	meq/100g	N.R.	N.R.	Cálculo
Saturación de Humedad Media	N.A.	25.7	%	20.0	40.0	Pasta de saturación / Gravimétrico / USDA Salinity Laboratory
Carbono Orgánico Oxidable	COOx	6.17	%	2.00	4.00	Sln. Dicromato de Potasio / Colorimétrico / NTC 5403 Walkley-Black
Materia Orgánica	MO	10.6	%	N.R.	N.R.	Cálculo
Nitrógeno Total	N Total	0.514	%	N.R.	N.R.	Cálculo
Densidad Aparente	d.a.	0.861	g/cm3	N.R.	N.R.	Cálculo

Determinación de Textura

Arcilla	Tex.	8.00	%	Análisis directo / Método de Bouyoucos
Arena	Tex.	42.0	%	Análisis directo / Método de Bouyoucos
Limo	Tex.	50.0	%	Análisis directo / Método de Bouyoucos
Textura	Tex.	Franco	Adimensional	Análisis directo / Método de Bouyoucos

Variable	Expresión	Resultado (mg/kg)	Resultado (meq/100g)	Rango medio		Extractante / Técnica / Referencia
Potasio Intercambiable	K	198	0.506	0.30	0.60	Sln. Acetato de Amonio / EEA / NTC 5349
Calcio Intercambiable	Ca	710	3.54	3.00	6.00	Sln. Acetato de Amonio / EAA / NTC 5349
Magnesio Intercambiable	Mg	128	1.05	1.50	3.00	Sln. Acetato de Amonio / EAA / NTC 5349
Sodio Intercambiable	Na	68.0	0.296	0.04	0.48	Sln. Acetato de Amonio / EEA / NTC 5349
Acidez Intercambiable	Ac. Inter.	62.2	0.692	0.20	0.40	Sln. KCl 1N / Volumétrico / NTC 5263
Hierro	Fe	16.3	N.A.	N.R.	N.R.	Sln. Ácida Mehlich I / ICP-OES / NTC 5526
Manganeso	Mn	48.1	N.A.	N.R.	N.R.	Sln. Ácida Mehlich I / ICP-OES / NTC 5526

Variable	Expresión	Resultado (mg/kg)	Resultado (meq/100g)	Rango medio		Extractante / Técnica / Referencia
Cobre	Cu	1.37	N.A.	N.R.	N.R.	Sln. Ácida Mehlich I / ICP-OES / NTC 5526
Zinc	Zn	4.17	N.A.	N.R.	N.R.	Sln. Ácida Mehlich I / ICP-OES / NTC 5526
Boro	B	0.178	N.A.	0.50	1.00	Sln. Fosfato Monobásico de Calcio / Colorimétrico / Método Interno
Fósforo	P	15.2	N.A.	15.0	30.0	Sln. Bray II / Colorimétrico / NTC 5350
Azufre	S	28.5	N.A.	30.0	60.0	Sln. Fosfato Monobásico de Calcio / Turbidimétrico / Método Interno

RELACIONES MATEMÁTICAS

Variable	Expresión	Resultado	Unidades	Extractante / Técnica / Referencia
Saturación de Magnesio	Sat. Mg	17.3	%	Cálculo
Saturación de Sodio	Sat. Na	4.87	%	Cálculo
Saturación de Aluminio	Sat. Al	11.4	%	Cálculo
Saturación de Potasio	Sat. K	8.32	%	Cálculo
Saturación de Calcio	Sat. Ca	58.2	%	Cálculo
Relación Calcio/Magnesio	Ca/Mg	3.37	Adimensional	Relación matemática
Relación Calcio/Potasio	Ca/K	7.00	Adimensional	Relación matemática
Relación Magnesio/Potasio	Mg/K	2.08	Adimensional	Relación matemática
Relación (Ca+Mg)/K	(Ca+Mg)/K	9.07	Adimensional	Relación matemática

METALES PESADOS

Variable	Expresión	Resultado	Unidades	Extractante / Técnica / Referencia
Cadmio	Cd	7490	ug/kg	EAM HNO ₃ :HCl ISO DIS 54321:2020 / ICP OES / EPA 6010D

Observaciones a los resultados:	Convenciones:
NINGUNO	N.R. No registra / N.A. No Aplica / Sln. Solución / N.S. No Suministrada / N.D.No Detectado / MVH Mineralización Vía Húmeda / M.I. Muestra Insuficiente EAA Espectroscopía de Absorción Atómica / EAA Espectroscopía de Emisión Atómica

Notas:

- El presente informe registra fielmente los resultados de las variables solicitadas por el cliente y corresponden exclusivamente a la muestra enviada y analizada en las fechas indicadas.
- El informe solo tiene validez si está firmado por el personal autorizado por AGRILAB LABORATORIOS S.A.S.
- El presente informe no puede ser reproducido parcial o totalmente, salvo autorización expresa por parte del laboratorio AGRILAB S.A.S.
- La fecha de ejecución de los ensayos corresponde al periodo comprendido entre la fecha de ingreso y la fecha de emisión del presente informe de resultados.
- AGRILAB LABORATORIOS S.A.S. no presta los servicios de muestreo en campo, por lo tanto, la idoneidad y representatividad de la muestra analizada y por ende de sus resultados, es responsabilidad del remitente de esta.
- En el caso de análisis subcontratados, AGRILAB LABORATORIOS S.A.S. es responsable frente al cliente del trabajo realizado por el subcontratista, siempre y cuando este haya sido aprobado y contratado por el laboratorio y aceptado por el cliente.
- La verificación de resultados mediante ensayos de laboratorio se realizará máximo 15 días hábiles luego de emitido el presente informe de resultados, siempre y cuando las condiciones de estabilidad del analito en la muestra permitan su reproducibilidad.
- Los valores de los Niveles Medios corresponden a los reportados en las siguientes referencias: "Fertilización de cultivos en clima frío (1998), Fertilización de cultivos en clima medio (1995) y Fertilización de cultivos en clima cálido, editados por Guerrero R. y publicados por Monómeros Colombo Venezolanos S.A." Su interpretación y aplicación es responsabilidad del profesional de campo responsable de la muestra.
- En Agrilab estamos interesados en la satisfacción de nuestros clientes. Para conocer sus Peticiones, Quejas, Reclamos o Sugerencias (PQRS) sobre los resultados emitidos y/o los servicios prestados, hemos dispuesto el siguiente correo electrónico: servicioalcliente@agrilab.com.co, por favor comuníquese con nosotros a través de este medio y con gusto le brindaremos una respuesta clara y oportuna a su solicitud.

Autorizado por:

 Teresa del C. Cocco T.

Revisado por:

 Adriano Soriano D.