



TÉCNICAS DE REMEDIACIÓN DE METALES PESADOS CON
POTENCIAL APLICACIÓN EN EL CULTIVO DE CACAO
HEAVY METALS REMEDIATION WITH POTENTIAL APPLICATION IN COCOA
CULTIVATION

Javier Andrés Castebianco

Universidad Pedagógica y Tecnológica De Colombia UPTC, Avenida Central del Norte 39-115, 150003 Tunja, Tunja, Boyacá, Colombia.

*Autor para correspondencia: javierancaste@hotmail.com

Manuscrito enviado el 7 de agosto de 2017. Aceptado, tras revisión el 5 de enero de 2018. Publicado el 1 de marzo de 2018.

Resumen

El cacao (*Theobroma cacao*) a nivel mundial ha aumentado su área sembrada y rendimiento por hectárea, sin embargo actualmente los productores se enfrentan a una fuerte legislación emanada por la Unión Europea respecto a los contenidos máximos de plomo y cadmio que deben tener los chocolates que contienen una cantidad mayor o igual al 50% de sólidos de cacao. En base a una revisión de los trabajos realizados alrededor del mundo y que han sido publicados en los últimos tres años en bases de datos mundiales se presentan, en primera instancia, los problemas ocasionados en las personas por el consumo de alimentos contaminados por metales pesados y las rutas a través de las cuales se puede contaminar el cacao, desde su siembra hasta su procesamiento. A continuación y dando cumplimiento al objetivo de la revisión se muestran las técnicas de remediación (fitoremediación y bioremediación) que han obtenido buenos resultados respecto a la limpieza de suelos contaminados o que evitan la traslocación de los contenidos de plomo y cadmio del suelo a varios cultivos de interés comercial para tener opciones de potencial aplicación en las zonas cacaoteras de Colombia o cualquier parte del mundo. De los resultados obtenidos se resalta la importancia que tiene la implementación de un sistema integrado de remediación de suelos que incluya la incorporación gradual de árboles nativos, plantas herbáceas, plantas acuáticas, biochar, bacterias y micorrizas arbusculares.

Palabras clave: Fitoremediación, bioremediación, plomo, cadmio.

Abstract

Cacao (*Theobroma cacao*) worldwide has increased its area sown and yield per hectare, however currently producers are facing strong legislation issued by the European Union regarding the maximum levels of lead and cadmium that must have chocolates that contain an amount greater than or equal to 50% cocoa solids. Based on a review of the work carried out around the world and published in the last three years in global databases are presented, in the first instance, the problems caused in people by the consumption of food contaminated by heavy metals and the routes through which the cocoa can be contaminated, from its planting to its processing. The remediation techniques (phytoremediation and bioremediation) that have obtained good results regarding the cleaning of contaminated soils or that avoid the transfer of the contents of lead and cadmium from the soil to several crops of commercial interest to have options of potential application in the cacao areas of Colombia or anywhere in the world. The results show the importance of implementing an integrated soil remediation system that includes the gradual incorporation of native trees, herbaceous plants, aquatic plants, biochar, bacteria and arbuscular mycorrhizae.

Keywords: Phytoremediation, bioremediation, lead, cadmium

Forma sugerida de citar: Castebianco, J. A. 2018. Técnicas de remediación de metales pesados con potencial aplicación en el cultivo de cacao. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*. Vol. 27(1):21-35. <http://doi.org/10.17163/lgr.n27.2018.02>.

1 Introducción

El cacao es un producto alimenticio que ha tenido un crecimiento bastante marcado en los países productores debido a su fácil manejo y los excelentes beneficios económicos que presenta (TECHNOSERVE, 2015). Sin embargo, los productores de cacao de todo el mundo se inquietaron cuando la Unión Europea anunció planes para aplicar regulaciones respecto a que el chocolate con una cantidad mayor o igual al 50% de sólidos de cacao debía contener un máximo de 0,3 mg/kg de cadmio y 1 mg/kg de plomo (CODEX Alimentarius, 2015).

El plomo o el cadmio en los suelos puede tener un origen natural o antrópico, pero independientemente de ello las plantas lo absorben y pueden acumularlo en distintas estructuras y proporciones (Londño Franco, Londño Muñoz y Muñoz García, 2016; Covarrubias y Cabriales, 2017). Esta situación se presenta en el cacao con acumulación importante en sus semillas y hojas (Guerra Sierra *et al.*, 2014) y dado que la mayoría de los productos derivados del cacao son consumidos por niños se hace necesario minimizar la presencia de estos metales en el producto final (CODEX Alimentarius, 2015).

El objetivo de esta revisión es señalar parte de la investigación que en los últimos tres años se ha desarrollado a nivel mundial respecto a las técnicas de remediación (fitoremediación y bioremediación) de metales pesados presentes en el suelo, con énfasis en plomo y cadmio, y que potencialmente podría ser utilizada para manejar los niveles presentes en las zonas productoras de Colombia o cualquier parte del mundo.

2 Marco referencial

El árbol del cacao se cultiva en las regiones tropicales. Es comercialmente cultivado entre 15° al norte y 15° al sur de la línea ecuatorial. El rango de temperatura promedio anual va de 23 a 30 °C. Se cultiva desde el nivel del mar hasta los 1 200 msnm. Asimismo, necesita humedad relativa anual promedio de entre el 70% y 80% (Vizcaíno Cabezas y Betancourt, N.d.; Ramírez Sosa y Orrego Suaza, 2014).

La producción mundial de cacao (*T. cacao L.*) se ha incrementado linealmente desde 1,2 millones de toneladas en 1961 a 4,6 millones de toneladas de cacao en grano seco en 2013. Durante el mismo período, la superficie anual de cacao tuvo un incremen-

to anual promedio del 2,5% (Vanhove, Vanhoudt y Damme, 2016) y aunque la demanda mundial de cacao sigue aumentando se evidencia al mismo tiempo que la producción declina como consecuencia de múltiples factores incluyendo plagas y enfermedades, disminución de la fertilidad del suelo y un clima cada vez más caliente y seco (TRANSMAR GROUP, 2014; Blaser *et al.*, 2017), y esto ha venido acompañado de un aumento en los precios internacionales de comercialización del cacao en virtud de la elevación de los precios del petróleo, lo que encarece la producción de fertilizantes, plaguicidas y combustibles (Callejas, 2016), incluso a partir del 2001 se empezó a hablar de un déficit del cacao que se consolidaría hacia 2020, debido al decrecimiento de la producción, generado por las malas condiciones de los cultivadores en los principales países de origen, sumado al aumento del consumo industrial, que ha sido estable en los últimos años (ProExport Colombia, 2014).

La producción mundial de cacao es absorbida principalmente por tres países (60% de las importaciones), siendo Suiza el mayor importador (29,4%), seguido de Estados Unidos (16,7%) y Alemania con 13,9%. La mayor parte de las exportaciones seguirá siendo de cacao en grano, aunque hay intentos de los países productores en añadir más valor y es de esperarse que dentro de veinte años, el cacao sea tan escaso, que convierta al chocolate en un carísimo producto de lujo, el chocolate auténtico será dentro de dos décadas un carísimo y escaso producto que hará honor a su origen: *Theobroma cacao*, “el alimento de los dioses” (Anga, 2015).

Los altos precios internacionales y la demanda por parte de las industrias procesadoras ha generado que la dinámica mundial del cacao se encuentre activa, incentivando así las expectativas por parte de los productores colombianos ya que a lo anterior se suma el trabajo que viene haciendo la Federación nacional de cacaoteros, FEDECACAO, relacionado con el posicionamiento y reconocimiento de la calidad del cacao a nivel internacional, lo cual se traduce en nuevas oportunidades de mercado para los granos de altísima calidad producidos por los cacaocultores de todas las regiones del país. En tal sentido, se espera seguir acrecentando la presencia en los mercados internacionales donde ya comienza a reconocerse el cacao colombiano como fino de sabor y aroma y se espera poder obtener unas primas extras sobre el precio base, lo cual también se traduce en mejores ingresos y servicios para los ca-

caocultores (Cacao de Colombia, 2014).

Dada esta importancia social y económica del cacao, varios países productores y exportadores, incluyendo Colombia, se muestran interesados en conocer los niveles de metales pesados presentes en las zonas de cultivo (Jaramillo, 2013; Reyes *et al.*, 2016; CAOBISSCO/ECA/FCC, 2015), ya que en los últimos años han existido progresivas regulacio-

nes de la Comunidad Europea, donde se establecen unos límites máximos respecto al contenido permisible de plomo y cadmio en el chocolate y otros derivados del cacao comercializados en Europa, (Tabla 1), según los reglamentos CE 1881/2006 y CE 488/2014 (FAO/WHO, 2014; Lanza *et al.*, 2016; Chavez *et al.*, 2015).

Tabla 1. Contenidos máximos permisibles de plomo y cadmio en el chocolate (CODEX Alimentarius, 2015). Sobresale el alto valor asignado para chocolates con % total de materia seca $\geq 50\%$

Producto	% total materia seca	Límite máximo de cadmio permitido**
Chocolate de leche	<30%	0,10 mg/kg
Chocolate de leche	$\geq 60\%$	0,30 mg/kg
Chocolate	<50%	0,30 mg/kg
Chocolate	$\geq 50\%$	0,80 mg/kg
Cacao en polvo*	-	0,60 mg/kg

* Este límite aplica tanto al chocolate en polvo o cacao en polvo vendido al consumidor final como al usado como ingrediente en cacao en polvo edulcorado vendido al consumidor (chocolate para tomar).

** Estos límites empezarán a regir a partir de 1 de enero de 2019.

En consecuencia, es fundamental para cualquier país contar con datos de referencia sobre el contenido de plomo y cadmio en los alimentos, sobre todo en aquellos que son consumidos preferentemente por niños, como lo es el cacao, lo cual permitirá fijar una posición clara ante las regulaciones internacionales que podrían representar un riesgo para las exportaciones del producto y encaminar las investigaciones necesarias para manejar la incidencia y severidad de este problema sobre la salud de las personas (Uyttendaele, Boeck y Jacxsens, 2016), haciendo énfasis en las técnicas naturales y de fácil acceso para los agricultores conocidas como remediación, que incluyen conceptos como fitoremediación (empleo de material vegetal que disminuye la presencia del metal en las plantas de interés) (Ahkami *et al.*, 2017; Tahir, Yasmin y Khan, 2016; Luo *et al.*, 2016) y bioremediación (empleo de microorganismos solos o en conjunto de material vegetal que disminuye la presencia del metal en las plantas de interés (Brown *et al.*, 2017; Galdames *et al.*, 2017; Leal *et al.*, 2017; Aggangan *et al.*, 2017).

3 Problemas asociados a cadmio y plomo

Las recientes investigaciones sobre la contaminación con plomo y cadmio, y otros metales pesados, en los alimentos (Al-Hossainy *et al.*, 2017; Perryman *et al.*, 2017; Siriengkawut *et al.*, 2017), y sus consecuencias sobre la salud humana como afecciones con lesiones en el embarazo, irritación gastrointestinal, náuseas, vómitos, daños renales, enfisema, y cáncer pulmonar (Antoine, Fung y Grant, 2017; AbuShady *et al.*, 2017; Shakir, Zahraw y Al-Obaidy, 2017; Amadi, Igweze y Orisakwe, 2017) dejan ver claramente las razones acerca de la preocupación que se ha despertado a nivel mundial sobre esta temática y sobre todo debido a la acumulación progresiva de estos metales en los tejidos de humanos y animales, lo que trae como consecuencia daños a nivel genético molecular (Abarshi, Dantala y Mada, 2017; Al-Gburi, Al-Tawash y Al-Lafta, 2017; Skiba, Kobylecka y Wolf, 2017; Nkansah *et al.*, 2016). Respecto a la entrada del Cadmio en el cuerpo (Díaz García y Arceo, 2017) determina que se hace vía gástrica con un mecanismo de daño que incluye: disfunción por formación de radicales libres, apoptosis o activación por vía de las caspasas,

desnaturalización proteica y por disminución de la resistencia transepitelial. Respecto a la entrada del plomo en el cuerpo, este mismo autor, determina que se hace vía gástrica, respiratoria y por contacto, con diversos mecanismos que incluyen: almacenamiento en huesos, daño mitocondrial y formación de radicales libres, apoptosis, inflamación por activación FN- κ B, SRAA y atracción de macrófagos y disminución de producción de NO.

Chumbipuma, en 2016 describe que con respecto al plomo sus efectos sistémicos son inespecíficos, incluyen adinamia, trastornos del sueño, cefalea, dolores en huesos y músculos, síntomas digestivos (estreñimiento), dolor en abdominales, náuseas, vómito y disminución del apetito. También refiere que la toxicidad aguda por plomo se presenta luego de una exposición respiratoria a altas concentraciones, con encefalopatía, insuficiencia renal y síntomas gastrointestinales, y finalmente concluye que los trabajadores expuestos por mucho tiempo y sin medidas de protección personal pueden presentarse con una polineuropatía periférica, que afecta predominantemente los miembros superiores, los músculos extensores, los flexores y más el lado dominante, lo que se ha dado en llamar la “mano del pintor” porque se presentaba en estos trabajadores por el uso de pinturas con alto contenido de plomo.

Anderson, en 2016 demostró que el incremento de las concentraciones de plomo en la sangre de jóvenes estudiantes universitarios disminuye la vitalidad y la movilidad lineal rápida en sus espermatozoides. Según Londoño Franco, Londoño Muñoz y Muñoz García (2016), la Organización Mundial de la Salud menciona con respecto al cadmio que la presentación y severidad de los signos, síntomas y alteraciones en el organismo se relaciona con las cantidades, el tiempo de exposición y con la vía de entrada del metal; en exposición crónica se observa anemia, disfunción renal, cálculos renales, osteoporosis, osteomalacia, trastornos respiratorios, hipertensión, trastornos nerviosos (cefalea, vértigo, alteración del sueño, temores, sudoración, parestia, contracciones musculares involuntarias), pérdida de peso y apetito, cáncer de próstata y pulmón; en intoxicación aguda hay neumonitis y edema pulmonar, gastroenteritis, náuseas, vómito, dolor abdominal, diarrea, fallo renal, y finalmente puede ocurrir aberraciones cromosómicas, efectos teratógenicos y congénitos y que en el riñón (túbulos renales) se puede acumular hasta por treinta años.

Contaminantes en cacao

Los contaminantes metálicos del cacao pueden definirse como aquellos metales, no añadidos intencionalmente, que se encuentran presentes en el cacao como resultado de la producción (Chavez *et al.*, 2015; Ramtahal *et al.*, 2016), fabricación, elaboración, preparación (Vargas-Moreno *et al.*, 2017), tratamiento, empaquetado, transporte, almacenamiento o como producto de contaminaciones ambientales con potencialidad de presentar riesgos sobre la salud de las personas (CODEX Alimentarius, 2015; Londoño Franco, Londoño Muñoz y Muñoz García, 2016). Estos metales pueden hallarse en los suelos de forma natural o como resultado de la actividad antropogénica, ser absorbidos por las plantas, concentrados en las semillas y tomados de ellas por el ser humano, lo cual constituye un riesgo potencial para la salud (Amadi, Igweze y Orisakwe, 2017; Paul, 2017; El-Amier, Elnaggar y El-Alfy, 2017).

Diversas investigaciones han demostrado que durante el proceso del beneficio del cacao, existen variaciones en las características fisicoquímicas del grano en función al tipo de fermentador utilizado y al tiempo de secado, que pueden afectar las concentraciones de los metales, así como la calidad e inocuidad del producto final (Uyttendaele, Boeck y Jaxsens, 2016; Lares Amaiz *et al.*, 2013).

Dentro de este marco, es claro que la fuente de origen de contaminación con plomo y/o cadmio del cacao es diversa, la translocación desde el suelo hacia las distintas partes de la planta es compleja y poco estudiada y la manifestación de su presencia trae consecuencias que son palpables no solo para las plantas sino también para el ser humano y por ello es necesario actualizar las técnicas disponibles que existen sobre el manejo de este problema en distintos cultivos, para tener un marco de referencia que potencialmente pueda ser aplicado en el cacao, y así poder seleccionar aquellas que más sean apropiadas para las condiciones ambientales y naturales en las cuales se desarrolla este cultivo dentro de Colombia o en cualquier parte del mundo.

4 Fitoremediación de metales pesados

Las especies vegetales ideales para la fitoextracción son aquellas que poseen la capacidad de acumular y tolerar altas concentraciones de metales en el tejido cosechable (Tariq y Ashraf, 2016) y esto es posible ya que ellas tienen el poder de eliminar contami-

nantes que persisten en el medio ambiente a través de diversos mecanismos como la fitofiltración, fitoestabilización, fitoextracción, fitovolatilización y fitotransformación (da Conceição Gomes *et al.*, 2016), además de la contención y la degradación de metales, compuestos fenólicos y colorantes diversos, así como otros contaminantes orgánicos e inorgánicos (Tahir, Yasmin y Khan, 2016). A continuación se presentan investigaciones en fitoremediación que presentan potencialidad de ser aplicadas en el cultivo de cacao, dada la disponibilidad del material con el que se trabajó.

Tariq y Ashraf (2016) señalaron que los hiperacumuladores poseen diferentes potenciales de acumulación para diferentes metales. El estudio desarrollado por ellos a nivel de laboratorio demostró que el maíz (*Zea mays*, L) es un hiperacumulador para Co y Cr después de la aplicación de un quelante como EDTA, mientras que el girasol (*Helianthus annuus*) demostró ser un hiperacumulador para Cd en condiciones similares, con una remoción del 56,03%. La planta de nabo (*Brassica campestris*) exhibió propiedades hiperacumulativas para Cr. Por otra parte, la arveja (*Pisum sativum*) se encontró que es el mejor acumulador de Pb sin aplicación del quelato EDTA con una eficiencia de remoción del 96,23% (Ojoawo, Udayakumar y Naik, 2015; Tariq y Ashraf, 2016).

Se ha comprobado que la habilidad de la soja (*Glycine max*) para acumular metales pesados presentes en el suelo es baja comparada con su natural predisposición a tolerarlos (Ibiang, Mitsumoto y Sakamoto, 2017), sin embargo se evidenció que su poder acumulador se puede potencializar al sembrarla en conjunto con material del género *Melastoma* (Syam *et al.*, 2016). Otro trabajo ha comprobado la efectividad de la soja como hiperacumuladora de cadmio, pues agregando hasta 300 mg/Kg de nano partículas de TiO₂ en el suelo se obtiene hasta un 400% adicional de µg de cadmio/planta (Singh y Lee, 2016).

La corteza y hojas de *Moringa oleifera* se puede utilizar como absorbente alternativo para la eliminación de metales pesados de aguas contaminadas a través de una técnica de obtención de ácido cítrico modificado (CAMOB y CAMOL, por sus siglas en inglés) y su uso en suelos se plantea como potencial para investigación (George *et al.*, 2016). A nivel del suelo se han usado aplicaciones de extracto foliar para concentrar los contenidos de plomo del suelo en donde se cultiva frijol (*Phaseolus vulgaris*) logran-

do un notable mejoramiento en el estrés ocasionado por este elemento a través de la activación del sistema antioxidante de las raíces del frijol (Howladar, 2014).

Un estudio desarrollado en la frontera entre India y Pakistán, en un área cultivada con caña de azúcar y sorgo, en donde se usan grandes cantidades de fertilizantes fosforados que están reportados como fuentes de metales pesados en los suelos resultaron en reportes del uso potencial de estas plantas como, fitoextractoras de plomo, cadmio y cobre pues sus Factores de Bioacumulación de Metales (BAF) estuvieron alrededor de 1, lo que resulta ser un muy buen indicador (Singh y Lee, 2016). En Estados Unidos, el sorgo sembrado en suelos contaminados por metales pesados también mostró su habilidad fitoextractora, solo o en mezcla con micorrizas arbusculares del tipo *Azotobacter chroococcum* (Dhawi, Datta y Ramakrishna, 2016).

Los humus extraídos de materiales compostados de residuos de la extracción de palma de aceite *Elaeis guineensis*, principalmente los racimos vacíos mejorados con adición de fertilizantes de base NPK fueron evaluados en su poder fertilizante y de fitoextracción de metales pesados, especialmente el cobre (Cu) en plantas de pepino (*Cucurbita pepo*). Los resultados indican que el contenido nutricional de los racimos vacíos es bajo, pero el aporte de potasio es el más significativo. Respecto a su efecto en los metales pesados, se concluyó que con adición suplementaria de Nitrógeno se mejora la extracción de cobre, tal como había resultado en otros trabajos desarrollados por Moreira *et al* en 2011 (Winarso, Pandutama y Purwanto, 2016).

Un cultivo igualmente promisorio para la extracción de metales pesados es la colza o canola (*Brassica napus*), debido a varias ventajas: 1. tiene gran capacidad de acumular metales (2000 mg/K para cadmio), 2. produce bastante biomasa, es fácil de cultivar y tiene gran adaptabilidad climática y 3. puede ser usada en la industria.

En China se hizo un estudio que comprobó que existen variedades que acumulan cadmio en sus raíces o semillas y por esta razón si la variedad con la que se trabaja hiperacumula en la semilla debe ser usada para la fabricación de biodiesel y en caso contrario, que la hiperacumulación ocurra en las raíces ésta debe ser usada en la fabricación de aceites vegetales comestibles (Fu *et al.*, 2016). Otra investigación comprobó que esta planta tiene un poder hiperacumulador de zinc y que se desarrolla muy bien

en suelos contaminados con este metal (Belouchrani *et al.*, 2016).

Con el fin de remover plomo y cadmio de aguas residuales, y con potencial uso en suelos regados con estas aguas, se emplearon plantas de las especies *Eichhornia sp.*, *Lemna sp.*, *Spirodella sp.*, *Azolla sp.*, *Pistia sp.* y se concluye que es promisorio el uso de *Lemna sp.* por su excelente hiperacumulación de los dos metales, independientemente del pH del agua tratada (Verma y Suthar, 2015).

Se trabajó en Egipto con *Solanum nigrum* y se comprobó que tiene un gran poder de acumulación de zinc en sus raíces y hojas, de plomo en sus tallos y frutos, de cobalto en sus raíces y frutos. Se resalta que los niveles encontrados en sus tejidos muchas veces fueron superiores a los encontrados en el suelo estudiado (Saad-Allah y Elhaak, 2017). Se ha encontrado que esta planta se encuentra asociada a micorrizas arbusculares del *Phylum Ascomycota* y por ello su excelente rol como hiperacumuladora de cadmio (Khan *et al.*, 2017).

En Australia se comprobó la fitoextracción producida por *Acacia pycnantha* y *Eucalyptus camaldulensis* concluyendo que el *E.camaldulensis* presenta en sus hojas un 1 500% más de cobre que los niveles presentes en el suelo; que el promedio de factores de bioconcentración son más altos en *E.camaldulensis* y están muy cercanos a uno (1) para el cobre, zinc, cadmio y plomo y además el factor de traslocación de zinc y cadmio es más alto en *Acacia pycnantha* (Nirrola *et al.*, 2015). En Italia con la aplicación durante cuatro años de un Sistema Integrado de Fitorremediación (IPS), que incluye *Acacia saligna*, *E. camaldulensis*, rizobacterias y micorrizas se comprobó que se puede producir una fitoestabilización en el suelo de plomo, cadmio y zinc (Guarino y Sciarrillo, 2017).

La capacidad de *Marsilea crenata* para acumular plomo en sus raíces y trasladarlo hacia sus hojas y rebrotes fue comprobado mediante un experimento a nivel de laboratorio en plantas de tomate. Las evaluaciones fueron hechas mediante la técnica de medición de sus respuestas bioeléctricas y se pudo establecer que esta planta puede ser utilizada como bioindicadora de contaminación por plomo en cultivos comerciales de arroz o tomate, pues sus hojas se tornan amarillentas cuando en el suelo hay presencia excesiva de este metal (Nurhayati, Hariadi y Lestari, 2015).

En un estudio desarrollado bajo condiciones de invernadero en Túnez se evaluó el papel de la alfalfa

Medicago sativa y se encontró que su factor de bioconcentración (la relación entre el contenido de los metales en el suelo respecto al contenido en el follaje) demuestra su potencial uso en cualquier cultivo aprovechando el amplio rango de adaptación presente en esta leguminosa (Elouear *et al.*, 2016). Estos resultados se ajustan a otros encontrados por (Flores-Cáceres, 2013); (Coyago y Bonilla, 2016).

5 Bioremediación de metales pesados

La bioremediación utiliza agentes biológicos (microorganismos) para la eliminación completa de contaminantes y/o sustancias tóxicas del medio ambiente, mientras que la transformación de contaminantes tóxicos en formas inocuas a través de las modificaciones químicas llevadas a cabo por organismos vivos (bacterias y hongos) se denomina biotransformación (Dzionek, Wojcieszynska y Guzik, 2016). En este sentido se han desarrollado en los últimos años trabajos de investigación que han tenido bastante éxito y que muestran posibles mecanismos de bioremediación de suelos contaminados (Benyahia y Embaby, 2016), y que presentan potencialidad de ser aplicadas en el cultivo de cacao, dada la facilidad de conseguir el material biológico con el cual se trabajó.

Una de las dificultades que se le otorgan a la bioremediación es el largo tiempo que ha de pasar para que se vean los efectos, sin embargo en trabajos desarrollados en distintas partes del mundo se ha comprobado que las bacterias endófitas asociadas a especies vegetales hiperacumuladoras favorecen la eficiencia del proceso de bioremediación y aumentan la producción de biomasa vegetal mediante tres mecanismos: (1) incremento de la superficie de la raíz y la producción de pelos radiculares, (2) incremento de la disponibilidad de los metales, (3) incremento en la transferencia de metales solubles desde la rizósfera hasta la planta (Ahemad, 2015). Algunas de las especies de bacterias utilizadas para mejorar la extracción de metales pesados e hidrocarburos son: *Burkholderia sp.* (Yang *et al.*, 2016), *Scirpus triqueter* (Chen *et al.*, 2017), *Pseudomonas sp.* J4AJ (Di Martino, 2015), *Bacillus subtilis* (Oyetibo *et al.*, 2017), *Microbacterium sp.* SUCR140 (Soni *et al.*, 2013), *Delftia sp.* JD2 (Ahemad, 2015).

En Brasil se diseñó un sistema de rehabilitación que incluía la plantación de *E. camaldulensis* en sur-

cos y *Brachiaria decumbens* entre los surcos intermedios, acompañado de siembra de micorrizas arbusculares del tipo *Glomus sp.*, que ya ha sido usado en programa de rehabilitación de áreas contaminadas por metales pesados (Liu *et al.*, 2017). Se encontró un gran poder de extracción en esta combinación de materiales en la *Brachiaria*, con un orden de eficiencia de acumulación en su biomasa de Zn, Cu, Cd y Pb. Además, se concluye en este trabajo que el conocimiento de la dinámica de estos hongos en su papel rehabilitador de suelos contaminados contribuye a la revegetalización y establecimiento de nuevos materiales vegetales en áreas muy contaminadas (Lopes *et al.*, 2016; Nirola *et al.*, 2015). También se ha trabajado con incorporación al suelo de micorrizas arbusculares *Glomus mosseae*, *Glomus intraradices*, *Glomus etunicatum* para minimización de cadmio en el suelo y se encontró que *Bassia indica* puede ser utilizada en mezcla con estos hongos para disminuir la dispersión del cadmio en el suelo (Hashem *et al.*, 2016).

La aplicación de biochar de *Conocarpus* en el suelo al momento de la siembra redujo significativamente las concentraciones de metales pesados en plantas de maíz, mostrando un gran poder de inmovilización: 60,5% en manganeso, 28% en zinc, 60% en cobre, 47% en cobre (Al-Wabel *et al.*, 2015).

En un test realizado a nivel de laboratorio en Austria, en plantas de maíz inoculadas con la bacteria *Burkholderia phytofirmans* PsJN en mezcla con lodos de grava se comprobó que ésta mejora significativamente la fijación de metales pesados en el suelo, evitando que contaminen el material vegetativo a través de procesos de inmovilización y estabilización (Touceda-González *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2016).

En la India se investigó la habilidad natural de las bacterias nativas para reducir y destoxificar de plomo, cadmio y cromo los efluentes industriales de curtiembres depositados en ríos y tierras aledañas a las fábricas. Después de hacer una caracterización bioquímica se encontró que *Micrococcus sp.* y *Hafnia sp.* tienen gran potencial de bioremediación de los citados metales (Marzan *et al.*, 2017).

La bacteria *Microbacterium oleivorans* ha sido estudiada por su poder de descomponer hidrocarburos aromáticos policíclicos como el petróleo, y también se ha evaluado para descontaminar tierras contaminadas con metales pesados encontrándose que aún en pequeñas dosificaciones sus resultados son bastante alentadores para continuar probándola en

diferentes condiciones y cultivos (Avramov *et al.*, 2016; Xia *et al.*, 2015).

Los microorganismos cuentan con amplias capacidades metabólicas que les permiten utilizar diferentes tipos de sustratos con el objetivo de obtener energía y en muchos casos transformarlos; los metales pesados son sustratos que pueden ser inmovilizados o transformados por estos organismos utilizando diversas estrategias, lo cual puede afectar su biodisponibilidad.

Esta situación ha permitido que se puedan implementar técnicas de biorremediación que involucren el uso de hongos y bacterias con el fin de reducir la carga contaminante de diversos ambientes (Beltrán-Pineda y Gómez-Rodríguez, 2016). La utilización de técnicas de ingeniería genética ha permitido manipular cepas microbianas que exhiben naturalmente buenas capacidades biorremediadoras para generar microorganismos con capacidades potenciadas que muestran resultados promisorios en estudios a nivel *in vitro* y a nivel de campo, sin embargo, los mejores resultados se han obtenido al utilizar en conjunto las capacidades de plantas y microorganismos en un mecanismo conocido como simbiótico (Baghour *et al.*, 2001).

Las plantas hiperacumuladoras (metalófitas) tienen la capacidad para remover, reducir, transformar, mineralizar, degradar, volatilizar o estabilizar metales pesados gracias a su alta capacidad de acumulación en las raíces y translocación diferentes órganos vegetativos, alcanzando niveles de remoción de hasta del 100% (Buta *et al.*, 2014). Dentro de las adaptaciones fisiológicas y bioquímicas se incluye el desarrollo de estructuras complejas llamadas metal-proteínas o metalotioneínas, que permiten el control en la acumulación de Cd, Cr y Hg, y que protegen a la célula ante efectos tóxicos (Paz-Ferreiro *et al.*, 2014).

Por otra parte, gracias a los avances en ingeniería genética muchos genes que generan resistencia a metales pesados han sido introducidos dentro de las células vegetales, como es el caso de las especies vegetales transgénicas que expresan las proteínas organomercurial liasa (MerB) y MerA (mercurio reductasa), presentan una mayor tolerancia a complejos de Hg orgánico y reduciendo Hg (II) a Hg (0). La microremediación y la fitorremediación son consideradas tecnologías promisorias en el tratamiento de la contaminación de metales pesados, su utilización en campo y laboratorio evidencian el potencial biotecnológico en la recuperación de ambientes

afectados (Swain, Adhikari y Mohanty, 2013).

6 Conclusión

En la naturaleza existen numerosos organismos con la capacidad de fijar o absorber los metales pesados, la mayoría con origen antrópico, que se encuentran presentes en la solución del suelo y que luego terminan contaminando los alimentos consumidos. Para el cultivo de cacao es necesario desarrollar programas integrales de remediación, que incluyan técnicas de fitoremediación (*B. campestris*, *M. sativa* o *E.camaldulensis*) y de bioremediación (micorrizas arbusculares del género *Glomus*, y bacterias como *M. oleivorans* y *B. phytofirmans*) y aunque los mejores resultados se logran en tiempos relativamente largos, es necesario iniciar desde ahora para tener la seguridad de ofrecer un chocolate con buen sabor y aroma y que cumpla con la normatividad vigente sobre contenidos de plomo y cadmio.

Referencias

- Abarshi, Muawiya Musa, Edward Oyedeji Dantala y Sanusi Bello Mada. 2017. "Bioaccumulation of heavy metals in some tissues of croaker fish from oil spilled rivers of Niger Delta region, Nigeria." *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 7(6):563–568. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.05.008>.
- AbuShady, Mones M., Hanan A. Fathy, Gihan A. Fathy, Samer abd el Fatah, Alaa Ali y Mohamed A. Abbas. 2017. "Blood lead levels in a group of children: the potential risk factors and health problems." *Journal de Pediatria* 93(6):619–624. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.jpmed.2016.12.006>.
- Aggangan, Nelly, Nina Cadiz, Arlene Llamado y Asuncion Raymundo. 2017. "Jatropha Curcas for Bioenergy and Bioremediation in Mine Tailing Area in Mogpog, Marinduque, Philippines." *Energy Procedia* 110:471–478. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.03.171>. 1st International Conference on Energy and Power, ICEP2016, 14-16 December 2016, RMIT University, Melbourne, Australia.
- Ahemad, Munees. 2015. "Enhancing phytoremediation of chromium-stressed soils through plant-growth-promoting bacteria." *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 13(1):51–58. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2015.02.001>.
- Ahkami, Amir H., Richard Allen White, Pubudu P. Handakumbura y Christer Jansson. 2017. "Rhizosphere engineering: Enhancing sustainable plant ecosystem productivity." *Rhizosphere* 3:233–243. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2017.04.012>. New Understanding of Rhizosphere Processes Enabled by Advances in Molecular and Spatially Resolved Techniques.
- Al-Gburi, Hind Fadhil Abdullah, Balsam Salim Al-Tawash y Hadi Salim Al-Lafta. 2017. "Environmental assessment of Al-Hammar Marsh, Southern Iraq." *Heliyon* 3(2):e00256. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2017.e00256>.
- Al-Hossainy, Ahmed F., Adila E. Mohamed, Fatma S.M. Hassan y M.M. Abd Allah. 2017. "Determination of cadmium and lead in perch fish samples by differential pulse anodic stripping voltammetry and furnace atomic absorption spectrometry." *Arabian Journal of Chemistry* 10:S347–S354. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2012.09.005>.
- Al-Wabel, Mohammad I., Adel R.A. Usman, Ahmed H. El-Naggar, Anwar A. Aly, Hesham M. Ibrahim, Salem Elmaghraby y Abdurassoul Al-Omran. 2015. "Conocarpus biochar as a soil amendment for reducing heavy metal availability and uptake by maize plants." *Saudi Journal of Biological Sciences* 22(4):503–511. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.12.003>.
- Amadi, Cecilia Nwadiuto, Zelinjo Nkeiruka Igweze y Orish Ebere Orisakwe. 2017. "Heavy metals in miscarriages and stillbirths in developing nations." *Middle East Fertility Society Journal* 22(2):91–100. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.mefs.2017.03.003>.
- Anga, Jean-Marc. 2015. "Mercado Mundial del Cacao: Retos y oportunidades para productores de cacao en Nicaragua Managua." Organización Internacional del Cacao. [en línea] disponible en: <https://goo.gl/u1xSmD>.
- Antoine, Johann M.R., Leslie A. Hoo Fung y Charles N. Grant. 2017. "Assessment of the potential health risks associated with the aluminium, arsenic, cadmium and lead content in selected fruits

- and vegetables grown in Jamaica." *Toxicology Reports* 4:181–187. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2017.03.006>.
- Avramov, Anton P., M.B. Couger, Emily L. Hartley, Craig Land, Rachel Wellendorf, Radwa A. Hanafy, Connie Budd, Donald P. French, Wouter D. Hoff y Noha Youssef. 2016. "Draft genome sequence of *Microbacterium oleivorans* strain Wellendorf implicates heterotrophic versatility and bioremediation potential." *Genomics Data* 10:54–60. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.gdata.2016.09.005>.
- Baghour, Mourad, Diego A. Moreno, Gemma Villoira, Joaquín Hernández, Nicolás Castilla y Luis Romero. 2001. "Phytoextraction of Cd and Pb and Physiological Effects in Potato Plants (*Solanum Tuberosum* Var. Spunta). Importance of Root Temperature." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49(11):5356–5363. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1021/jf010428x>. PMID: 11714328.
- Belouchrani, Amel Souhila, Nabil Mameri, Nadia Abdi, Hocine Grib, Hakim Lounici y Nadjib Drouiche. 2016. "Phytoremediation of soil contaminated with Zn using Canola (*Brassica napus* L)." *Ecological Engineering* 95:43–49. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.06.064>.
- Beltrán-Pineda, A. E y A. M. Gómez-Rodríguez. 2016. "Biorremediación de Metales Pesados Cadmio (Cd), Cromo (Cr) y Mercurio (Hg), Mecanismos Bioquímicos e Ingeniería Genética: Una Revisión." *Revista Facultad de Ciencias Básicas* 12(2):172–197. [en línea] doi: <https://doi.org/10.18359/rfcb.2027>.
- Benyahia, Farid y Ahmed Shams Embaby. 2016. "Bioremediation of crude oil contaminated desert soil: Effect of biostimulation, bioaugmentation and bioavailability in biopile treatment systems." *International Journal of Environmental Research and Public Health* 13(2):1–11. [en línea] doi: <https://doi.org/10.3390/ijerph13020219>.
- Blaser, W.J., J. Oppong, E. Yeboah y J. Six. 2017. "Shade trees have limited benefits for soil fertility in cocoa agroforests." *Agriculture, Ecosystems & Environment* 243:83–91. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.04.007>.
- Brown, David M., Samson Okoro, Juami van Gils, Rob van Spanning, Matthijs Bonte, Tony Hutchings, Olof Linden, Uzoamaka Egbuche, Kim Bye Bruun y Jonathan W.N. Smith. 2017. "Comparison of landfarming amendments to improve bioremediation of petroleum hydrocarbons in Niger Delta soils." *Science of The Total Environment* 596–597:284–292. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.072>.
- Buta, Erzsébet, Anamária Török, Bilassé Zongo, Maria Cantor, Mihai Buta, Cornelia Majdik y Árpád Csog. 2014. "Comparative Studies of the Phytoextraction Capacity of Five Aquatic Plants in Heavy Metal Contaminated Water." *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 42(1):173–179. [en línea] doi: <http://dx.doi.org/10.15835/nbha4219341>.
- Cacao de Colombia. 2014. "Resumen Ejecutivo Diseño de un sistema de calificación y clasificación de estándares de calidad para el cacao fino y de aroma de Colombia, p. 30." Alma café, Swiss contact. [en línea] disponible en: <https://goo.gl/Z6b3b6>.
- Callejas, Edmar Salinas. 2016. "La onda larga de los precios de alimentos 1990-2016." *Economía Informa* 401:85–92. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecin.2016.11.005>.
- CAOBISCO/ECA/FCC. 2015. *Cacao en Grano: Requisitos de calidad de la industria del chocolate y del cacao*. Editores End, M.J. y Dand, R. [en línea] disponible en: <https://goo.gl/3PHLw8>.
- Chavez, E., Z.L. He, P.J. Stoffella, R.S. Mylavarapu, Y.C. Li, B. Moyano y V.C. Baligar. 2015. "Concentration of cadmium in cacao beans and its relationship with soil cadmium in southern Ecuador." *Science of The Total Environment* 533:205–214. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.106>.
- Chen, Xiao, Xiaoyan Liu, Xinying Zhang, Liya Cao y Xiaoxin Hu. 2017. "Phytoremediation effect of *Scirpus triqueter* inoculated plant-growth-promoting bacteria (PGPB) on different fractions of pyrene and Ni in co-contaminated soils." *Journal of Hazardous Materials* 325:319–326. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.12.009>.
- CODEX Alimentarius. 2015. "Norma general para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos y piensos. CODEX STAN 193-1995." [en línea] disponible en: <https://goo.gl/XqGcyo>.

- Covarrubias, Sergio y J. Cabriales. 2017. "Contaminación ambiental por metales pesados en México: Problemática y Estrategias de Fitorremediación." *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 33(0):7–21. [en línea] doi: <http://dx.doi.org/10.20937/RICA.2017.33.esp01.01>.
- Coyago, E y S. Bonilla. 2016. "Absorción de plomo de suelos altamente contaminados en especies vegetativas usadas para consumo animal y humano." *La Granja, Revista de ciencia y tecnología* 23(1):35–46. [en línea] doi: <https://doi.org/10.15446/acag.v66n2.58476>.
- da Conceição Gomes, Maria Angélica, Rachel Ann Hauser-Davis, Adriane Nunes de Souza y Angela Pierre Vitória. 2016. "Metal phytoremediation: General strategies, genetically modified plants and applications in metal nanoparticle contamination." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 134:133–147. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.08.024>.
- Dhawi, Faten, Rupali Datta y Wusirika Ramakrishna. 2016. "Mycorrhiza and heavy metal resistant bacteria enhance growth, nutrient uptake and alter metabolic profile of sorghum grown in marginal soil." *Chemosphere* 157:33–41. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.04.112>.
- Di Martino, C. 2015. Estudio de bacterias del género *Pseudomonas* en la degradación de hidrocarburos y síntesis de biosurfactantes: análisis del efecto de los polihidroxialcanoatos PhD thesis Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. [en línea] disponible en: <https://goo.gl/vDp8mg>.
- Díaz García, J. D y E. Arceo. 2017. "Daño renal asociado a metales pesados." *Revista Colombiana de Nefrología* 5(1):[en línea] doi: <http://dx.doi.org/10.22265/acnef.5.2.254>.
- Dzionic, Anna, Danuta Wojcieszynska y Urszula Guzik. 2016. "Natural carriers in bioremediation: A review." *Electronic Journal of Biotechnology* 23:28–36. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2016.07.003>.
- El-Amier, Yasser A., Abdelhamid A. Elnaggar y Muhammad A. El-Alfy. 2017. "Evaluation and mapping spatial distribution of bottom sediment heavy metal contamination in Burullus Lake, Egypt." *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences* 4(1):55–66. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejbas.2016.09.005>.
- Elouear, Zouheir, Farah Bouhamed, Nesrine Boujelben y Jalel Bouzid. 2016. "Application of sheep manure and potassium fertilizer to contaminated soil and its effect on zinc, cadmium and lead accumulation by alfalfa plants." *Sustainable Environment Research* 26(3):131–135. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.serj.2016.04.004>.
- FAO/WHO. 2014. "Anteproyecto de niveles máximos para el cadmio en el chocolate y productos derivados de cacao." Comisión del Codex Alimentarius. [en línea] disponible en: <https://goo.gl/5MeHzF>.
- Flores-Cáceres, M. L. 2013. Caracterización de los mecanismos de respuesta antioxidante de *Medicago sativa* a metales pesados PhD thesis Universidad Autónoma de Madrid, Facultad de Ciencias. [en línea] disponible en: <https://goo.gl/C54pkd>.
- Fu, D, L Jiang, A Mason, M Xiao, L Zhu, L Li, Q Zhou, C Shen y C. Huang. 2016. "Research progress and strategies for multifunctional rapeseed: A case study of China." *Journal of Integrative Agriculture* 15(8):1673–1684. [en línea] doi: [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61384-9](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61384-9).
- Galdames, A., A. Mendoza, M. Orueta, I.S. de Soto García, M. Sánchez, I. Virto y J.L. Vilas. 2017. "Development of new remediation technologies for contaminated soils based on the application of zero-valent iron nanoparticles and bioremediation with compost." *Resource-Efficient Technologies* 3(2):166–176. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.reffit.2017.03.008>.
- George, K. Shinomol, K. Bhanu Revathi, N. Deepa, C. Pooja Sheregar, T.S. Ashwini y Suchandrima Das. 2016. "A Study on the Potential of Moringa Leaf and Bark Extract in Bioremediation of Heavy Metals from Water Collected from Various Lakes in Bangalore." *Procedia Environmental Sciences* 35:869–880. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2016.07.104>. Waste Management for Resource Utilisation.
- Guarino, Carmine y Rosaria Sciarillo. 2017. "Effectiveness of in situ application of an Integrated

- Phytoremediation System (IPS) by adding a selected blend of rhizosphere microbes to heavily multi-contaminated soils." *Ecological Engineering* 99:70–82. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.11.051>.
- Guerra Sierra, B. E, A. X Sandoval Meza, L. S Manrique González y S. P. Barrera Rangel. 2014. "Ensayos preliminares in vitro de biosorción de cadmio cepas fúngicas nativas de suelos contaminados." *Innovaciencia Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 2(1):53–58. [en línea] doi: <http://dx.doi.org/10.15649/2346075X.256>.
- Hashem, Abeer, Elsayed Fathi Abd Allah, Abdulaziz A. Alqarawi, Jahangir Ahmad Malik, Stephan Wirth y Dilfuza Egamberdieva. 2016. "Role of calcium in AMF-mediated alleviation of the adverse impacts of cadmium stress in *Bassia indica* [Wight] A.J. Scott." *Saudi Journal of Biological Sciences* p. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.11.003>.
- Howladar, Saad M. 2014. "A novel Moringa oleifera leaf extract can mitigate the stress effects of salinity and cadmium in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 100:69–75. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.11.022>.
- Ibiang, Young Bassey, Hiroko Mitsumoto y Kazunori Sakamoto. 2017. "Bradyrhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi modulate manganese, iron, phosphorus, and polyphenols in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) under excess zinc." *Environmental and Experimental Botany* 137:1–13. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.01.011>.
- Jaramillo, R. 2013. Metales pesados en plantaciones: Antecedentes y manejo. In *Cumbre Mundial de Cacao, Guayaquil, Ecuador 26-28 de Agosto de 2013*. [en línea] disponible en: <https://goo.gl/fqvzXr>.
- Khan, Abdur Rahim, Muhammad Waqas, Ihsan Ullah, Abdul Latif Khan, Muhammad Aaqil Khan, In-Jung Lee y Jae-Ho Shin. 2017. "Culturable endophytic fungal diversity in the cadmium hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and their role in enhancing phytoremediation." *Environmental and Experimental Botany* 135:126–135. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.03.005>.
- Lanza, J. G, P. C Churión, N. J Lieno y V. H. López. 2016. "Evaluación del contenido de metales pesados en cacao (*Teobroma cacao* L.) de Santa Bárbara de Zulia, Venezuela." *SABER. Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente* 28:106–115. [en línea] disponible en: <https://goo.gl/pu5XaQ>.
- Lares Amaiz, M, E Pérez Sira, C Álvarez Fernández, J Perozo González y S. El Khori. 2013. "Cambios de las propiedades físico-químicas y perfil de ácidos grasos en cacao de Chuao, durante el beneficio." *Agronomía Tropical* 63(1–2):37–47. [en línea] disponible en: <https://goo.gl/zEao4S>.
- Leal, Aline Jaime, Edmo Montes Rodrigues, Patricia Lopes Leal, Aline Daniela Lopes Júlio, Rita de Cássia Rocha Fernandes, Arnaldo Chaer Borges y Marcos Rogério Tótola. 2017. "Changes in the microbial community during bioremediation of gasoline-contaminated soil." *Brazilian Journal of Microbiology* 48(2):342–351. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.018>.
- Liu, Mohan, Jian Sun, Yang Li y Yan Xiao. 2017. "Nitrogen fertilizer enhances growth and nutrient uptake of *Medicago sativa* inoculated with *Glomus tortuosum* grown in Cd-contaminated acidic soil." *Chemosphere* 167:204–211. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.09.145>.
- Londño Franco, L. F, P. T Londoño Muñoz y F. G. Muñoz García. 2016. "Los riesgos de los metales pesados en la salud humana y animal." *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 14:145–153. [en línea] disponible en: <https://goo.gl/xRvptr>.
- Lopes, Patricia, Maryeimy Varón-López, Isabelle Gonçalves de Oliveira Prado, Jesse Valentim dos Santos, Claudio Roberto Fonseca Sousa Soares, Jose Oswaldo Siqueira y Fatima Maria de Souza Moreira. 2016. "Enrichment of arbuscular mycorrhizal fungi in a contaminated soil after rehabilitation." *Brazilian Journal of Microbiology* 47(4):853–862. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.06.001>.
- Luo, Jie, Shihua Qi, X.W. Sophie Gu, Jinji Wang y Xianming Xie. 2016. "Evaluation of the phytoremediation effect and environmental risk in remediation processes under different cultivation

- systems." *Journal of Cleaner Production* 119:25–31. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.01.043>.
- Marzan, Lolo Wal, Mehjabeen Hossain, Sohana Akter Mina, Yasmin Akter y A.M. Masudul Azad Chowdhury. 2017. "Isolation and biochemical characterization of heavy-metal resistant bacteria from tannery effluent in Chittagong city, Bangladesh: Bioremediation viewpoint." *The Egyptian Journal of Aquatic Research* 43(1):65–74. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2016.11.002>.
- Nirola, Ramkrishna, Mallavarapu Megharaj, Thavamani Palanisami, Rupak Aryal, Kadiyala Venkateswarlu y Ravi Naidu. 2015. "Evaluation of metal uptake factors of native trees colonizing an abandoned copper mine a quest for phytostabilization." *Journal of Sustainable Mining* 14(3):115–123. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.jsm.2015.11.001>.
- Nkansah, Marian Asantewah, Mavis Korankye, Godfred Darko y Matt Dodd. 2016. "Heavy metal content and potential health risk of geophagic white clay from the Kumasi Metropolis in Ghana." *Toxicology Reports* 3:644–651. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2016.08.005>.
- Nurhayati, Arry Y., Yuda C. Hariadi y P. Lestari. 2015. "Early Detection of Lead Stress on *Marsilea Crenata* Using Bioelectricity Measurement." *Procedia Environmental Sciences* 28:57–66. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2015.07.009>. The 5th Sustainable Future for Human Security (Sustain 2014).
- Ojoawo, Samson O., Gaddale Udayakumar y Pushparaj Naik. 2015. "Phytoremediation of Phosphorus and Nitrogen with *Canna x generalis* Reeds in Domestic Wastewater through NMAMIT Constructed Wetland." *Aquatic Procedia* 4:349–356. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.aqpro.2015.02.047>. INTERNATIONAL CONFERENCE ON WATER RESOURCES, COASTAL AND OCEAN ENGINEERING (ICWRCOE'15).
- Oyetibo, Ganiyu Oladunjoye, Mei-Fang Chien, Wakako Ikeda-Ohtsubo, Hitoshi Suzuki, Oluwafemi Sunday Obayori, Sunday Adekunle Adebusey, Matthew Olusoji Ilori, Olukayode Oladipo Amund y Ginro Endo. 2017. "Biodegradation of crude oil and phenanthrene by heavy metal resistant *Bacillus subtilis* isolated from a multi-polluted industrial wastewater creek." *International Biodeterioration & Biodegradation* 120:143–151. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.aqpro.2015.02.047>.
- Paul, Dipak. 2017. "Research on heavy metal pollution of river Ganga: A review." *Annals of Agrarian Science* 15(2):278–286. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.aasci.2017.04.001>.
- Paz-Ferreiro, J., H. Lu, S. Fu, A. Méndez y G. Gascó. 2014. "Use of phytoremediation and biochar to remediate heavy metal polluted soils: a review." *Solid Earth* 5(1):65–75. [en línea] doi: <https://doi.org/10.5194/se--5--65--2014>.
- Perryman, Shane E., Imran Laping, Akhmad Mustafa, Rosiana Sabang y Michael A. Rimmer. 2017. "Potential of metal contamination to affect the food safety of seaweed (*Caulerpa* spp.) cultured in coastal ponds in Sulawesi, Indonesia." *Aquaculture Reports* 5:27–33. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2016.12.002>.
- ProExport Colombia. 2014. "Oportunidades de mercado para exportar cacao colombiano." [en línea] disponible en: <https://goo.gl/M52BH6>.
- Ramírez Sosa, C y S. Orrego Suaza. 2014. "Modelación económica con información espacialmente explícita de la deforestación en Urabá, Colombia, 1980-2000." *Semestre Económico* 14(29):31–51. [en línea] doi: <https://doi.org/10.22395/seec.v14n29a2>.
- Ramtahal, G, I Chang Yen, I Bekele, F Bekele, L Wilson, K Maharaj y L. Harrynanan. 2016. "Relationships between Cadmium in Tissues of Cacao Trees and Soils in Plantations of Trinidad and Tobago." *Food and Nutrition Sciences* 7(1):37–43. [en línea] doi: <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2016.71005>.
- Reyes, Yulieth, Ines Vergara, Omar Torres, Mercedes Díaz-Lagos y Edgar González-Jimenez. 2016. "Contaminación por metales pesados: Implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria." *Ingeniería Investigación y Desarrollo* 16(2):66–77. [en línea] doi: <http://dx.doi.org/10.1007/BF01616705>.
- Saad-Allah, Khalil M. y M.A. Elhaak. 2017. "Hyperaccumulation activity and metabolic responses

- of *Solanum nigrum* in two differentially polluted growth habitats." *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 16(3):227–235. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2015.08.001>.
- Shakir, Eman, Zahraa Zahraw y Abdul Hameed M.J. Al-Obaidy. 2017. "Environmental and health risks associated with reuse of wastewater for irrigation." *Egyptian Journal of Petroleum* 26(1):95–102. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2016.01.003>.
- Singh, Jiwan y Byeong-Kyu Lee. 2016. "Influence of nano-TiO₂ particles on the bioaccumulation of Cd in soybean plants (*Glycine max*): A possible mechanism for the removal of Cd from the contaminated soil." *Journal of Environmental Management* 170:88–96. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.01.015>.
- Siriangkawut, Watsaka, Patcharee Sittichan, Kraingkrai Ponghong y Piyanete Chantiratikul. 2017. "Quality assessment of trace Cd and Pb contaminants in Thai herbal medicines using ultrasound-assisted digestion prior to flame atomic absorption spectrometry." *Journal of Food and Drug Analysis* 25(4):960–967. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.12.011>.
- Skiba, E, J Kobylecka y W. Wolf. 2017. "Influence of 2,4-D and MCPA herbicides on uptake and translocation of heavy metals in wheat (*Triticum aestivum* L.)." *Environmental Pollution* 220:882–890. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.10.072>.
- Soni, S. K, R Singh, A Awasthi y A. Kalra. 2013. "Cr(VI)-reducing Microbacterium sp. strain SUCR140 enhances growth and yield of Zea mays in Cr(VI) amended soil through reduced chromium toxicity and improves colonization of arbuscular mycorrhizal fungi." *Environmental Science and Pollution Research* 21(3):1971–1979. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2098-7>.
- Swain, G, S Adhikari y P. Mohanty. 2013. "Phytoremediation of Copper and Cadmium from Water Using Water Hyacinth, *Eichhornia crassipes*." *International Journal of Agricultural Science and Technology* 2(1):[en línea] doi: <https://doi.org/10.14355/ijast.2014.0301.01>.
- Syam, Netty, Tatik Wardiyati, Muhammad Dawam Maghfoer, Eko Handayanto, Bahtiar Ibrahim y Aminah Muchdar. 2016. "Effect of Accumulator Plants on Growth and Nickel Accumulation of Soybean on Metal-contaminated Soil." *Agriculture and Agricultural Science Procedia* 9:13–19. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2016.02.109>. International Conference on Food, Agriculture and Natural Resources, IC-FANRes 2015.
- Tahir, Uruj, Azra Yasmin y Umair Hassan Khan. 2016. "Phytoremediation: Potential flora for synthetic dyestuff metabolism." *Journal of King Saud University - Science* 28(2):119–130. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2015.05.009>.
- Tariq, Saadia R. y Azka Ashraf. 2016. "Comparative evaluation of phytoremediation of metal contaminated soil of firing range by four different plant species." *Arabian Journal of Chemistry* 9(6):806–814. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.09.024>.
- TECHNOSERVE. 2015. *Construcción de un modelo de agricultura competitiva en Colombia*. [en línea] disponible en: <https://goo.gl/sRXTEm>.
- Touceda-González, María, Günter Brader, Livio Antonielli, Vivek Balakrishnan Ravindran, Georg Waldner, Wolfgang Friesl-Hanl, Erika Corretto, Andrea Campisano, Michael Pancher y Angela Sessitsch. 2015. "Combined amendment of immobilizers and the plant growth-promoting strain *Burkholderia phytofirmans* PsJN favours plant growth and reduces heavy metal uptake." *Soil Biology and Biochemistry* 91:140–150. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.04.007>.
- TRANSMAR GROUP. 2014. *Situación y perspectivas del mercado mundial de cacao*. World Bank Webinar. [en línea] disponible en: <https://goo.gl/EvhecY>.
- Uyttendaele, Mieke, Elien De Boeck y Liesbeth Jacobsens. 2016. "Challenges in Food Safety as Part of Food Security: Lessons Learnt on Food Safety in a Globalized World." *Procedia Food Science* 6:16–22. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2016.02.003>. International Conference of Sabaragamuwa University of Sri Lanka 2015 (ICSUSL 2015).
- Vanhove, Wouter, Niels Vanhoudt y Patrick Van Damme. 2016. "Effect of shade tree planting

- and soil management on rehabilitation success of a 22-year-old degraded cocoa (*Theobroma cacao* L.) plantation." *Agriculture, Ecosystems & Environment* 219:14–25. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.12.005>.
- Vargas-Moreno, Paola, Leonardo Silva-Gómez, Sandra Chaparro Acu na y Oswaldo Cárdenas. 2017. "Cadmium voltametric quantification in table chocolate produced in Chiquinquirá-Boyaca, Colombia." *Acta Agronómica* 66(2):172–177. [en línea] doi: <https://doi.org/10.15446/acag.v66n2.58476>.
- Verma, Rashmi y Surindra Suthar. 2015. "Lead and cadmium removal from water using duckweed *Lemna gibba* L.: Impact of pH and initial metal load." *Alexandria Engineering Journal* 54(4):1297–1304. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.aej.2015.09.014>.
- Vizcaíno Cabezas, D. A y R. Betancourt. N.d. *Manual de Aplicabilidad de Buenas Prácticas Agrícolas para Cacao*. Agrocalidad, Ecuador. [en línea] disponible en: <https://goo.gl/XsmQy5>.
- Winarso, Sugeng, Martinus H. Pandutama y Lutfi Dwi Purwanto. 2016. "Effectivity of Humic Substance Extracted from Palm Oil Compost as Liquid Fertilizer and Heavy Metal Bioremediation." *Agriculture and Agricultural Science Procedia* 9:146–157. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2016.02.110>. International Conference on Food, Agriculture and Natural Resources, IC-FANRes 2015.
- Xia, Ye, Seth DeBolt, Jamin Dreyer, Delia Scott y Mark A. Williams. 2015. "Characterization of culturable bacterial endophytes and their capacity to promote plant growth from plants grown using organic or conventional practices." *Frontiers in Plant Science* 6:490. [en línea] doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00490>.
- Yang, Zhihui, Zhi Zhang, Liyuan Chai, Yong Wang, Yi Liu y Ruiyang Xiao. 2016. "Bioleaching remediation of heavy metal-contaminated soils using *Burkholderia* sp. Z-90." *Journal of Hazardous Materials* 301:145–152. [en línea] doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.08.047>.