

Tech note: bioremediation, enemy of cadmium

Yeimy Nieves, Norbis Parra, Samuel Villanueva*, Magaly Henríquez

Gerencia de Proyectos de Investigación, Desarrollo e Innovación, Centro Nacional de Tecnología Química, Caracas, Venezuela

Abstract.- At present there is a great concern for the contamination of agricultural soils due to the presence of heavy metals directly involved with damage to plants and humans. In order to determine the technologies developed worldwide aimed at the remediation of contaminated soil with cadmium. Specifically to the processes oriented in bioremediation, an information survey was developed consulting databases of patents and scientific publications. This research describes two technologies based on the use of plants and fungi respectively, which are of potential application to a cocoa producing region, located in Miranda State, Venezuela.

Keywords: biotechnology; soils; bioremediation; cadmium; cocoa; surveillance technological; intelligence competitive.

Nota técnica: biorremediación, enemigo del cadmio

Resumen.- En la actualidad existe una gran preocupación por la contaminación de suelos agrícolas debido a la presencia de metales pesados involucrados directamente con daños en plantas y humanos. Con la finalidad de determinar las tecnologías desarrolladas a nivel mundial orientadas a la remediación de suelos contaminados con cadmio, específicamente a los procesos orientados en la bioremediación, se desarrolló un levantamiento de información consultando bases de datos de patentes y de publicaciones científicas. En la presente investigación se describen dos tecnologías basadas en el uso de plantas y hongos respectivamente, las cuales son de potencial aplicación a una región productora de cacao, ubicada en el Estado Miranda, Venezuela.

Palabras clave: biotecnología; suelos; biorremediación; cadmio; cacao; vigilancia tecnológica; inteligencia competitiva.

Recibido: 26 noviembre 2018

Aceptado: 22 marzo 2019

1. Introducción

Desde la época precolombina el cacao *Theobroma Cacao L.* ha sido un cultivo de vital importancia, usado tanto para rituales como en la dieta de los habitantes de las Américas [1]. En Latinoamérica el cacao es cultivado en países como Ecuador, Perú, Brasil, México, El Salvador y Venezuela, la producción del período 2017-2018 en América es de alrededor de 748 mil toneladas lo que representa un 16,3 % de la producción mundial y aproximadamente 1.700 millones de dólares norteamericanos. No obstante, debido a las regulaciones implementadas el 1 de enero de 2019 por la Unión Europea sobre las concentraciones

permitidas de cadmio (Cd) en el chocolate y productos derivados de cacao, la exportaciones al mercado europeo estarán seriamente afectadas [2].

El cadmio es un metal pesado que no cumple ninguna función metabólica tanto en la planta de cacao como en humanos por lo que es considerado un metal tóxico debido a que puede ocasionar disfunción tubular renal, cálculos renales, alteración del metabolismo del calcio y esquelético, defectos endocrinos, reproductivos y respiratorios [3]. El cadmio entra en la alimentación humana con los vegetales y productos animales. Se fija a las plantas más rápidamente que el plomo. Esto ha generado una gran preocupación a nivel mundial por lo que se han tomado medidas al respecto, estableciéndose límites a la concentración de cadmio que pueden contener los alimentos y así sean aptos para el consumo humano, además de la ingesta semanal de cadmio según el peso corporal.

El *Theobroma Cacao L.* absorbe el cadmio

*Autor para correspondencia: S. Villanueva publicacionesgpidi.cntq@gmail.com

(Cd) del suelo y lo acumula en las almendras de cacao convirtiéndose en un riesgo para la salud de los consumidores [4]. Es importante tomar en cuenta en materia de exportación que, la comunidad europea es la región que importa más cacao y sus derivados en el mundo, con cantidades aproximadas de 6.000.000 de toneladas por año [2]. A partir del primero de enero de 2019 entrará en vigencia una nueva legislación para las importaciones de cacao y sus derivados en la que la comisión económica europea regulará el contenido de Cd en las importaciones de cacao.

En cuanto a la remediación de suelos para cultivos existen una cantidad interesante de tecnologías enfocadas en la biorremediación. Método que aplica agentes biológicos para la eliminación parcial o total de contaminantes y/o sustancias tóxicas del medio ambiente. A continuación presentaremos una sinopsis sobre las diferentes tecnologías aplicadas a la recuperación de suelos contaminados por metales pesados con la finalidad de que sean consideradas como posibles alternativas para la eliminación de cadmio en plantaciones de *Theobroma Cacao L.* [5].

2. Aspectos Teóricos y Antecedentes

El cadmio

El cadmio es un metal de color blanco azulado, dúctil, blando, maleable y con una densidad $8,642 \text{ g/cm}^3$. Es un elemento poco abundante en la naturaleza, constituye aproximadamente 0.1 ppm de la corteza terrestre y se encuentra asociado a compuestos de zinc. Específicamente en suelos no contaminados, el cadmio debe ser menor a 1 mg/kg . Como metal puro, no se encuentra en el ambiente, es más abundante en forma de óxidos complejos, sulfuros y carbonatos de zinc, plomo y menas de cobre. La concentración de cadmio en aire de áreas industriales varía de $9,1$ a $26,7 \text{ mg/m}^3$ y en áreas rurales de $0,1$ a 6 mg/m^3 . El tiempo de permanencia del cadmio en suelos es de hasta 300 años y el 90 % permanece sin transformarse [6].

Contaminación de suelo por metales pesados

Los metales pesados están directamente relacionados con los riesgos por contaminación de

los suelos, toxicidad en las plantas y los efectos negativos sobre la calidad de los recursos naturales y el ambiente. Estos peligros dependen de la toxicidad específica del metal, la bioacumulación, persistencia y no biodegradabilidad [7]. En el suelo el mayor peligro reside en su acumulación por las plantas y la transferencia a los animales incluido el hombre [8]. En general, la distribución de metales pesados en los suelos es un fenómeno complejo que se ve influenciado por factores como el potencial redox, el pH, el contenido de materia orgánica, la capacidad de intercambio catiónico, el nivel de las aguas subterráneas y sus fluctuaciones, entre otros [9]. En los últimos años, se han realizado estudios con el fin de determinar la concentración de metales pesados como el cadmio en suelos y así analizar su presencia en diferentes cultivos de gran consumo humano e interés mundial.

En el campo ambiental, el cadmio es un elemento relativamente raro en la litosfera. Las principales fuentes de contaminación son: la minero metalurgia de metales no ferrosos, la metalurgia del hierro y acero, la fabricación de fertilizantes fosfatados, la incineración de residuos de madera, carbón o “plásticos”, la combustión de hidrocarburos y las aplicaciones industriales de cadmio [6].

Los procesos naturales de liberación de Cd como fuente de contaminación son insignificantes en comparación con el procedente de la actividad humana. La contaminación del suelo proviene de pigmentos, pinturas, baterías, PVC, aleaciones y fertilizantes químicos fosfatados. La concentración de cadmio promedio en los suelos va de $0,07$ a $1,1 \text{ mg/kg}$. A valores altos de pH el cadmio no es móvil posiblemente por la baja solubilidad de los carbonatos y fosfatos, aunque el pH y el potencial redox son importantes en su movilidad y alta afinidad con la materia orgánica, oxihidroxidos de hierro, alofano e imogolita, no así con las arcillas. En general podemos decir que a pH ácidos los oxihidroxidos de hierro y la materia orgánica controlan la solubilidad del cadmio y que a pH alcalinos el Cd precipita por lo que es inmóvil. La concentración de Cd en la solución del suelo va de $0,2$ a $6 \text{ } \mu\text{g/L}$, en suelos contaminados se ha llegado a reportar concentraciones hasta de $400 \text{ } \mu\text{g/L}$. Para

recuperar los suelos contaminados por cadmio, es recomendable entre otras cosas: lavados en suelos ácidos, encalar (para elevar el pH) y aumentar la capacidad de intercambio de cationes [10].

Cacao y cadmio

El cacao es un producto de exportación importante para economías en desarrollo como África, Asia, Oceanía, América Latina y el Caribe, su valor en el mercado global es de aproximadamente 12 mil millones de dólares. A pesar del futuro promisorio, se ha evidenciado la presencia de cadmio (Cd) en el grano de cacao y sus derivados. Las plantas de cacao expuestas a altos niveles de cadmio sufren una reducción importante en procesos vitales tales como la fotosíntesis, la absorción de agua y de nutrientes. En consecuencia, presentan clorosis, inhibición del crecimiento, pardeamiento de las puntas de las raíces y finalmente, su muerte [11, 12].

En este sentido, durante el año 2009, el Panel de contaminantes de La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA por European Food Safety Authority) estableció una ingesta semanal de 2,5 mg/kg de peso corporal para el cadmio [1, 13]. Luego, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), a través del Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios Conjunto FAO/OMS (JECFA Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives), en el año 2011, ratificó la misma ingesta, a través del documento Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain [14].

Debido a lo anteriormente planteado, la Unión Europea notificó al Comité de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias de la Organización Mundial del Comercio, el Proyecto de Reglamento de la Comisión que modifica el Reglamento (EC) Nro. 1881/2006 en cuanto a los niveles máximos de cadmio en los productos alimenticios, en el cual incluye a otros alimentos que no fueron tomados en cuenta en el documento del año 2006, para los niveles máximos de cadmio permitido. Entre ellos están el cacao y los derivados del chocolate que se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1: Valores máximos (Vm) de Cd permitidos (mg/Kg) en cacao y productos derivados del chocolate para la Unión Europea [15]

Productos de Cacao	Vm
Chocolate con leche con un contenido de materia seca total de cacao < 30 %	0,1
Chocolate con leche con un contenido de materia seca total de cacao < 50 %; chocolate con leche con un contenido de materia seca total de cacao ≥ 30 %	0,3
Chocolate con leche con un contenido de materia seca total de cacao ≥ 50 %	0,8
Cacao en polvo vendido al consumidor final o como ingrediente en cacao en polvo edulcorado vendido al consumidor final	0,6

La Unión Europea notificó que la adición al Reglamento 1881 de 2006 entra en vigencia a partir de enero de 2019 [16] y lo ratifica en el reglamento 488 del 12 de mayo de 2014 [15]. Específicamente para el cacao y sus derivados, la Comisión Europea se apoyó en que el chocolate y el cacao en polvo que se venden al consumidor final puede contener altos niveles de cadmio [16]. Como tales productos son consumidos por los niños hay que establecer los niveles máximos de cadmio para los distintos tipos de chocolates y de cacao en polvo de venta al consumidor final.

Proceso de biorremediación

La biorremediación describe una variedad de sistemas que utilizan organismos vivos como plantas, hongos, bacterias, entre otros para degradar, transformar o remover compuestos orgánicos tóxicos a productos metabólicos inocuos o menos tóxicos. La estrategia biológica a emplearse dependerá de las actividades catabólicas de los organismos, y por consiguiente de su capacidad para utilizar los contaminantes como fuente de alimento y energía. El proceso de biorremediación se caracteriza por ser ampliamente utilizado como parte de las tendencias de investigación en el campo biológico debido a que presenta grandes ventajas respecto a otros métodos que emplean mecanismos químicos y/o industriales que afectan negativamente el entorno biológico de las plantaciones. Es importante destacar que

durante este proceso ocurren reacciones de oxidoreducción, procesos de absorción e intercambio iónico e incluso reacciones de acomplejamiento y quelación a nivel molecular [17].

Una de las ventajas de esta tecnología es que la forma de biodegradar al contaminante dependerá de su estructura química y las especies microbianas empleadas, aunque no todos los compuestos orgánicos son susceptibles a la biodegradación, los procesos de biorremediación se han usado con éxito para tratar suelos, lodos y sedimentos contaminados [17].

Los suelos representan un sistema naturalmente equilibrado, con niveles importantes de vulnerabilidad a distintos factores como lo son: la contaminación de aguas residuales, desechos industriales por metales pesados y uso irracional de fertilizantes, ocasionando de forma temporal o permanente daños en su composición que pueden afectar los ecosistemas y los seres vivos.

De acuerdo con esto, durante los últimos años se han incrementado los estudios sobre la recuperación de suelos contaminados con metales pesados. Según el trabajo de González [18] resumió las principales alternativas biológicas que pueden usarse para la descontaminación haciendo énfasis en que el uso de plantas, requiere considerar a sus microorganismos simbióticos mutualistas de la rizosfera. El autor concluye que la interacción planta-microorganismos rizosféricos necesita considerarse para incrementar el éxito de las alternativas biológicas, que se utilicen con Elementos Potencialmente Tóxicos (EPTs). La utilidad de los microorganismos rizosféricos dependerá básicamente del nivel de contaminación, del tipo de contaminante del suelo y de los objetivos establecidos para la recuperación.

En este contexto, Ortiz-Cano *et al* [19] indicaron que la incorporación de micorrizas incrementó significativamente la concentración de Pb y Cd en raíz, tallo y hoja de quelite. Los investigadores concluyeron que la planta de *Amaranthus hybridus* L. tiene la capacidad de concentrar en sus tejidos plomo y cadmio al crecer en suelos contaminados conforme aumenta la edad de la planta independientemente de la agregación de micorrizas (*Entrophospora columbiana*, *Glomus*

intraradices, *G. etunicatum*, *G. clarum*), lo que hace que esta especie represente una solución potencial para la remediación de suelos contaminados con metales pesados.

Los hongos utilizados en el estudio presentaron una relación simbiótica con las plantas. Observándose una asociación positiva y significativa entre el porcentaje de colonización y la concentración de Pb y Cd en los tejidos de raíz, tallo y hoja. Mejorándose la colonización micorrízica y la capacidad extractora de Pb y Cd conforme se incrementó la edad de la planta [19].

Por otra parte, Muga [20] reportó que cultivos de *Cosmos bipinnatus* ubicados en zonas agrícolas aledañas a depósitos de desechos tóxicos fueron capaces de acumular metales pesados en raíces y partes aéreas. El estudio se realizó en un período de dos meses, demostrando la capacidad de absorción del *Cosmos bipinnatus* y su uso potencial como agente fitorremediador de suelos contaminados con metales pesados.

3. Metodología

Una búsqueda en la base de datos PATENTSCOPE fue desarrollada usando la ecuación ((bioremediation OR biosorption) AND cadmium) en el campo título. Los resultados fueron recuperados para el periodo 01/01/2012 – 31/12/2017, se seleccionó una (1) patente por familia y las veintiuna (21) solicitudes y concesiones de patentes relevantes fueron almacenadas, tratadas y analizadas.

Para las publicaciones científicas, se utilizó la base de Google Académico y en cuanto a la literatura gris las plataformas correspondientes a la Universidad Central de Venezuela, Universidad Simón Bolívar, Universidad de Carabobo, Universidad de Los Andes y la Universidad del Zulia para el mismo periodo de tiempo.

4. Resultados y Discusión

A continuación, estarán esbozados los resultados obtenidos a través del desarrollo del área de conocimiento realizando un análisis y evaluación a profundidad de las tendencias de investigación e invención sobre el tema de interés.

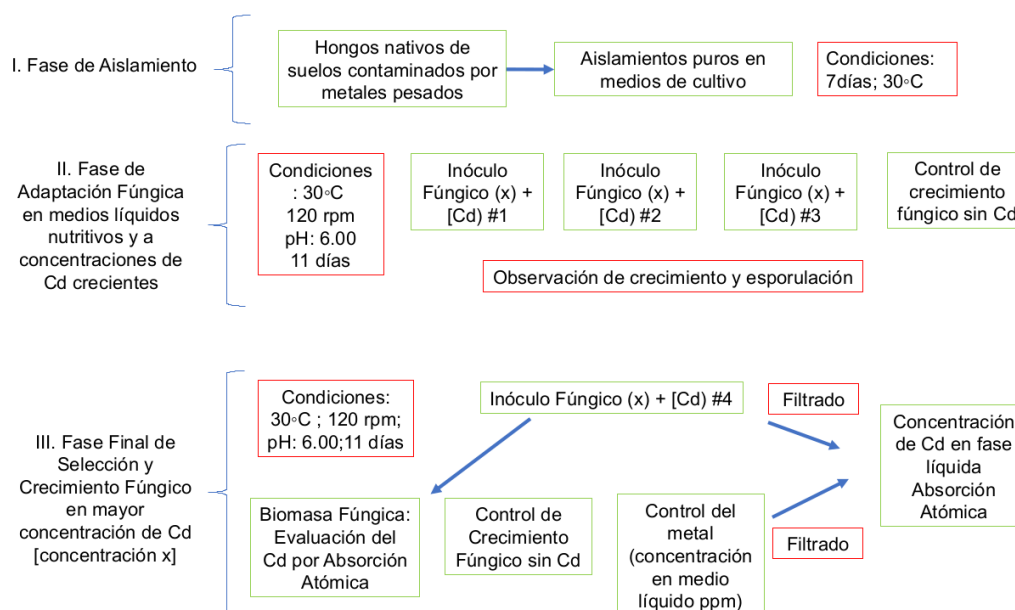


Figura 1: Metodología general para evaluar la capacidad de biosorción de hongos de vida libre nativos de suelos contaminados por Cd [17].

4.1. Tecnologías de biorremediación utilizadas para evitar la biosorción de cadmio por plantas de cacao

a) Biosorción de cadmio por cepas fúngicas nativas de suelos contaminados, tecnologías con microorganismos

La biosorción es un fenómeno ampliamente estudiado para la biorremediación de metales como el cadmio (Cd), cromo (Cr), plomo (Pb), níquel (Ni), zinc (Zn) y cobre (Cu). La biosorción está determinada por los mecanismos altamente específicos para absorber, traslocar y acumular nutrientes [21]. Por ello, los investigadores, Guerra y colaboradores en el 2014 [17] estudiaron adaptar, seleccionar y evaluar en medios nutritivos líquidos, la capacidad de biosorción de cadmio por cepas fúngicas nativas de vida libre, a fin de obtener las más eficientes. Las cepas fueron aisladas de suelos contaminados por metales pesados en cultivos de cacao del municipio de San Vicente de Chucuri y el Carmen (Departamento de Santander-Colombia) y de suelos mineros de la región de California (Departamento de Santander-Colombia) en Colombia donde tomaron 15 muestras de suelo al azar con una profundidad de 20 cm desde de la

superficie, con un peso aproximado de 1 Kg para cada muestra. La Figura 1 muestra un diagrama de la metodología empleada.

Entre los resultados, los autores seleccionaron tres (03) grupos de organismos con características morfológicas comunes (morfoespecies) destacadas por su capacidad de adaptación y crecimiento en soluciones nutritivas y suplementadas con concentraciones crecientes de cadmio, el cual afecta las características morfológicas y la esporulación de los microorganismos dependiendo de la cepas empleadas.

La Tabla 2 refleja que en medios líquidos, la acumulación de los hongos es elevada y cumplen con el siguiente orden creciente de actividad; *Penicillium*–L004 (88,93 %) < *Trichoderma*–L006 (96,06 %) < *Aspergillus*–L007 (98,63 %). Los resultados permiten inferir que las cepas L006 y L007 pudiesen ser empleadas en la remoción de metales pesados según la metodología desarrollada.

b) Tecnologías de Fitorremediación ó Fitoextracción de Suelos Contaminados con cadmio utilizando *Galinsoga parviflora* (*Albahaca silvestre*)

En el marco de ofrecer alternativas para la fitorremediación de suelos contaminados con

Tabla 2: Porcentaje de captación de metales pesados por cepas aisladas de suelos contaminados. Municipios: San Vicente de Chucuri, El Carmen y California (Santander) [17].

Nomenclatura por sitio de muestreo	Morfoespecie fúngica	Concentración de [Cd] ppm, en el filtrado	Concentración de [Cd] ppm en la biomasa fúngica**	Porcentaje de captación de Cd
EC5	<i>Aspergillus</i> –L007	1,11	80,09	98,63
EC2	<i>Trichoderma</i> –L006	3,20	78,00	96,06
SV6	<i>Penicillium</i> –L004	8,99	72,21	88,93
–	Control	81,20	0,00	0,00

EC: Suelos Cacaoteros del Municipio del Carmen, Departamento de Santander, Colombia;

SV: Suelos de la Región Cacaotera de San Vicente de Chucuri, Departamento de Santander, Colombia.

* ** los valores obtenidos corresponden a la medida obtenida de muestras evaluadas por absorción atómica por triplicado.

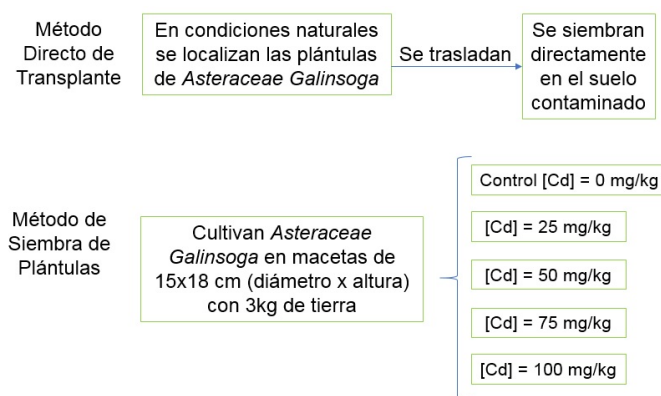


Figura 2: Metodología empleada por Mingan L., Lijin L, y col. como método de recuperación de suelos contaminados por cadmio utilizando la *Galinsoga parviflora* denominada comúnmente en Venezuela como: Albahaca silvestre bajo el registro de patente CN103447290B en la República Popular de China [21].

cadmio en plantaciones de cacao, los inventores Ming'an L., Lijin L, y col, patentaron en la República Popular de China bajo el registro (CN103447290B), un método de recuperación de suelos contaminados por cadmio utilizando la *Galinsoga parviflora* denominada comúnmente en Venezuela como Albahaca silvestre. La *Galinsoga p.* es una planta herbácea de florecimiento anual que se encuentra en mayor proporción en México y Argentina.

La Figura 2 muestra la metodología aplicada en la cual la *Galinsoga p.* en un lapso de 60 días, acumuló un promedio de 75 mg/kg de cadmio en forma de CdCl_2 . El análisis estructural celular y de fotosíntesis indicó que las afectaciones al crecimiento y de biomasa no son significativas.

Los que nos permite inferir que su aplicación como herramienta para la remediación de suelos es prometedora [21].

4.2. Comparación de las tecnologías de micorremediación y fitoremediación de suelos contaminados con cadmio

Las nuevas tecnologías aplicadas para la recuperación de los suelos contaminados apuntan hacia el uso de métodos biorremediadores.

La metodología de micorremediación aplicada por la Universidad de Santander, se basó en las capacidades de crecimiento, adaptación y biosorción de hongos nativos con la finalidad de aplicarse en suelos agrícolas. Mostró resultados interesantes que indican una viabilidad técnica

Tabla 3: Comparación de los métodos de micorremediación y fitorremediación

Tecnología de remediación.	Biosorción de cadmio por cepas fúngicas nativas de suelos contaminados.	Fitorremediación de Suelos Contaminados con cadmio utilizando la <i>Galinsoga parviflora</i> (Albahaca silvestre).
Organismo o compuesto empleado. Disponibilidad del Organismo.	<i>Aspergillus</i> y <i>Trichoderma</i> sp. Se presentan naturalmente en diferentes ambientes, son hongos comunes de suelos agrícolas.	<i>Galinsoga parviflora</i> (Albahaca silvestre). Crece sin condiciones climáticas estrictas, es de fácil propagación, se puede cultivar con gran facilidad. Tiene éxito particularmente en suelos húmedos y se ve favorecido por un fotoperíodo largo y una alta intensidad de luz.
Aspecto económico.	Esta técnica resulta beneficiosa ya que los hongos de interés están disponibles en la naturaleza.	La Albahaca silvestre se reproduce rápidamente, al hacer una inversión en semillas luego se pueden obtener muchas plántulas, bien sea por la propia dispersión del viento, o de manera asexual.
Nivel Investigativo.	<i>In Vitro</i> , esto resulta ser una limitante ya que existen otros parámetros que evaluar a la hora de poner en práctica esta técnica, como lo es el pH del suelo, un factor determinante, y la interacción planta-hongo con el fin de maximizar los beneficios. Adicionalmente, debe existir un conocimiento técnico en cuanto a la manipulación de las cepas fúngicas a nivel de laboratorio en medio líquido.	<i>In Situ</i> , esto representa un gran avance, sin embargo hay que considerar que la Albahaca silvestre se debe cultivar bajo controles pertinentes ya que se puede convertir en maleza afectando así el desarrollo del cultivo.
Condiciones Mínimas.	Se deben considerar factores ambientales como el pH, la temperatura y la humedad, los cuales brindan las condiciones óptimas y son clave para el crecimiento de <i>Aspergillus</i> sp. y <i>Trichoderma</i> sp.	La Albahaca silvestre puede crecer en suelos con pocos requerimientos nutritivos. Es una hierba común que se encuentra a menudo en hábitat alterados y áreas agrícolas de muchas partes de regiones templadas y subtropicales del mundo.

potencial como una herramienta para la extracción de cadmio. No obstante, el desarrollo de la invención, se encuentra a nivel de laboratorio, siendo necesario el estudio de diversos parámetros con el objetivo de conocer el alcance de la metodología y su escalamiento. En cuanto al proceso de fitorremediación registrado por la inventora Lin Lijin, es de menor desarrollo tecnológico, requiere una baja inversión y control. Sin embargo, la actividad de acumulación de las plantas depende de la concentración de cadmio en los suelos contaminados. Ambos procesos requieren de posteriores estudios para determinar su viabilidad técnica y económica.

Es importante recordar que los últimos años

los avances en las áreas de biotecnología e ingeniería recombinante han permitido potenciar las actividades y propiedades de los microorganismos. Los resultados alcanzados por las técnicas de biorremediación representan un primer paso hacia la solución de los suelos contaminados por metales pesados. En la Tabla 3, se comparan algunos aspectos de las diferentes tecnologías estudiadas.

5. Conclusiones

De acuerdo con la revisión realizada los estudios se centran en el uso de técnicas biorremediadoras basadas en biosorción de cadmio por cepas fúngicas nativas de suelos contaminados y fito-

rremediación de suelos contaminados con cadmio utilizando la *Galinsoga parviflora* (Albahaca silvestre). Siendo altamente efectiva el uso de las cepas fúngicas en medio acuoso, los tres tipos de cepas estudiados *Aspergillus*-L007, *Trichoderma*-L006 y *Penicillium*-L004 presentaron porcentajes de biosorción de cadmio en medio líquido de 98,63 %, 96,06 % y 88,93 % respectivamente a nivel de laboratorio. En el caso de la *Galinsoga parviflora* como técnica de fitorremediación fue patentada por investigadores de la República Popular de China, resultando una tecnología efectiva para suelos altamente contaminados por metales pesados, en este caso cadmio, tomando en cuenta que debe aplicarse previo al desarrollo de cultivos, donde exista una incidencia de luz solar considerable con una humedad controlada del 80 %.

Ambas biotecnologías tienen un uso potencial en suelos y aguas de riego contaminados con cadmio. La biorremediación mediante cepas fúngicas podría emplearse a través del agua de riego del cultivo de cacao. Por otra parte, el tratamiento de fitorremediación con *Galinsoga parviflora* tiene facilidades para ser aplicado a suelos. Sin embargo, para garantizar el éxito del control del cadmio en el fruto del árbol de *Theobroma Cacao L.* debe considerarse un estudio a nivel de laboratorio de ambas biotecnologías aplicadas de acuerdo a las características climatológicas de la región, y posteriormente llevar a escala piloto. Para el desarrollo de las cepas fúngicas, se requiere de un personal especializado, mientras que para la fitorremediación con *Galinsoga parviflora* es suficiente con conocimientos básicos de *buenas prácticas agrícolas*.

6. Referencias

- [1] M.A. Arvelo, T. Delgado, S. Maroto, J. Rivera, I. Higuera y A. Navarro. Estado actual sobre la producción y el comercio del cacao en América. Reporte técnico, Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. (CIATEJ), Jalisco, México, 2016.
- [2] A. Ramirez. Toxicología del cadmio. conceptos actuales para evaluar exposición ambiental u ocupacional con indicadores biológicos. *Anales de la Facultad de Medicina*, 63(1):51 – 64, 2002.
- [3] M.P. Benavides, S.M. Gallego, and M.L. Tomaro. Cadmium toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1):21 – 33, 2005.
- [4] E. Chavez, Z.L. He, P. J. Stoffella, R.S. Mylavarapu, Y.C. Li, and V.C. Baligar. Chemical speciation of cadmium: An approach to evaluate plantavailable cadmium in ecuadorian soils under cacao production. *Chemosphere*, 150:57 – 62, febrero 2016.
- [5] G. Hernández-Ruiz, N. Álvarez Orozco y L. Ríos-Osorio. Biorremediación de organofosforados por hongos y bacterias en suelos agrícolas: revisión sistemática. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria*, 18(1):139 – 159, Enero – Abril 2017.
- [6] M. McBride. Comments on “adsorption of heavy metals by silicon and aluminum oxide surfaces on clay minerals”. *Soil Science Society of America Journal*, 55(5):1508, 1991.
- [7] S. Wang, Y. Wang, R. Zhang, W. Wang, D. Xu, J. Guo, P. Li, and K. Yu. Historical levels of heavy metals reconstructed from sedimentary record in the hejiang river, located in a typical mining region of southern china. *Sci Total Environ*, 532:645 – 654, Noviembre 2015.
- [8] X. Liu, Q. Song, Y. Tang, W. Li, J. Xu, J. Wu, F. Wang, and P.C. Brookes. Human health risk assessment of heavy metals in soil-vegetable system: a multi-medium analysis. *Sci Total Environ*, Octubre 2013.
- [9] D. Jordanova, S. Rao Goddu, T. Kotsev, and N. Jordanova. Industrial contamination of alluvial soils near Fe/Pb mining site revealed by magnetic and geochemical studies. *Geoderma*, 192:237–248, Enero 2013.
- [10] X. Xian. Effect of chemical forms of cadmium, zinc, and lead in polluted soils on their uptake by cabbage plants. *Plant and Soil*, 113:257 – 264, Enero 1989.
- [11] C. Jiménez-Tobón. Estado legal mundial del cadmio en cacao (*Theobroma cacao*): fantasía o realidad. *Producción + Limpia*, 10(1):89 – 104, Junio 2015.
- [12] C. Nava-Ruiz y M. Méndez-Armenta. Efectos neurotóxicos de metales pesados (cadmio, plomo, arsénico y talio). *Arch Neurocién México*, 16(3):140 – 147, julio – septiembre 2011.
- [13] S. Clemens, M.G. Aarts, S. Thomine, and N. Verbruggen. Plant science: the key to preventing slow cadmium poisoning. *Trends Plant Sci*, 18(2):92 – 99, febrero 2013.
- [14] European Food Safety Authority. Cadmium in food: Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. *EFSA Journal*, 7:1–139, 2009.
- [15] Reglamento (UE) Nro. 488/2014 de la comisión de 12 de mayo de 2014 que modifica el reglamento (CE) Nro. 1881/2006 por lo que respecta al contenido máximo de cadmio en los productos alimenticios, Comisión Europea, Bruselas, Bélgica.

- [16] Amending regulation. (2013). (EC) Nro. 1881/2006 as regards maximum levels of cadmium in foodstuffs, World Trade organization, European Comission, Bruselas, Belgica.
- [17] B. Guerra, A. Sandoval Meza, L. Manrique González y S. Barrera Rangel. Ensayos preliminares *in vitro* de biosorción de cadmio por cepas fúngicas nativas de suelos contaminados. *Innovaciencia*, 2(1):53 – 58, Octubre 2014.
- [18] M. González-Chávez. Recuperación de suelos contaminados con metales pesados utilizando plantas y microorganismos rizosféricos. *Terra Latinoamericana*, 23:29 – 37, Agosto 2003.
- [19] H. Ortiz-Cano, R. Trejo-Calzada, R. Valdez-Cepeda, J. Arreola-Ávila, A. Flores-Hernández y B. López-Ariza. Fitoextracción de plomo y cadmio en suelos contaminados usando quelite (*Amaranthus hybridus L.*) y micorrizas. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 15(2):161 – 168, Julio 2009.
- [20] J. Muga-Paredes. Fitoextracción de cadmio en el suelo por medio del cultivo de cosmos (*Cosmos bipinnatus*), del distrito e corcon, harochirí 2017. Trabajo especial para obtener el título profesional de: Ingeniero ambiental, Universidad César Vallejo. Facultad de Ingeniería. Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental, Lima, Perú, 2017.
- [21] L. Ming'an, L. Lijin, R. Yajun, W. Zhihui, L. Xiulan, and J. Qian. CN103447290B A method of heavy metal cadmium contamination orchard soil remediation galinsoga based, 2016.