

MITIGACIÓN DE CADMIO POR MICROORGANISMOS



**“CAJA DE HERRAMIENTAS PARA LA PREVENCIÓN Y MITIGACIÓN DE LA
CONTAMINACIÓN DE CADMIO EN LA CADENA DE CACAO-ECUADOR”**



sembramos
Futuro

Lenín



GUÍA 12

MITIGACIÓN DE CADMIO POR MICROORGANISMOS

Dirigida a: asesores, técnicos e investigadores.

AUTORES

Fabrizio Canchignia Martínez¹; Javier Auhing Arcos¹; Ángel Cedeño Moreira¹; Manuel Carrillo^{2,1}; Daniel Bravo³

REVISIÓN PARES EXTERNOS

Raju Naddela⁴; Martín Marcial⁵

¹Universidad Tecnológica Estatal de Quevedo, UTEQ. Quevedo, Ecuador. hfcanma@gmail.com ; javier.auhing@uteq.edu.ec ; angelvmor.cedeno@uteq.edu.ec

²Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, INIAP. Estación Experimental Tropical Pichilingue. Mocache, Ecuador. manuel.carrillo@iniap.gob.ec

³Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, AGROSAVIA. Colombia. dbravo@agrosavia.co

⁴Universidad Técnica de Manabí, UTM. Portoviejo, Ecuador. mnraju8875@gmail.com

⁵Pontificia Universidad Católica del Ecuador, PUCE. Quito, Ecuador. msmarcial@puce.edu.ec

Coordinación general

República del Ecuador
Ministerio de Agricultura y Ganadería
Programa Nacional de Reactivación de Café y Cacao

Coordinación editorial

Magdalena López, Consultor Programas Cadena de Valor, GIZ
Pedro Ramírez, GIZ
José Luis Cueva Cango, MOCCA-Rikolto

Revisores internos

Andrés Proaño, MAG; Luis Herrera, MAG; Luis Orozco, MOCCA-LWR; Verónica Proaño, AVSF;
Ana Gabriela Velasteguí, CESA; Natalia Palomino, MOCCA-Rikolto; Luis Gualotuña, MAG

Fotografías

Pedro Ramírez, GIZ; Andrés Proaño, MAG; Javier Auhing, UTEQ

Corrección de estilo y diagramación editorial

Carla Bohórquez; Ricardo Bravo; Martín Quirola

Cita del documento

Versión digital:

Canchignia, F., Auhing, J., Cedeño, Á., Carrillo, M. & Bravo, D. (2021). Guía 12: Mitigación de cadmio por microorganismos. *Caja de herramientas para la prevención y mitigación de la contaminación de cadmio en la cadena de cacao-Ecuador* (1.ª ed., pp. 1-32). Quito, Ecuador. https://balcon.mag.gob.ec/mag01/magapaldia/Caja%20de%20Herramientas_Cadmio_Cacao/

“La presente publicación ha sido elaborada con el apoyo financiero de la Unión Europea y el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA). Su contenido es responsabilidad exclusiva de los autores y no necesariamente refleja los puntos de vista de los donantes”.

Copyright © 2021. Todos los derechos reservados. Este documento puede reproducirse para fines no comerciales citando la fuente.

ISBN: 978-9942-22-525-2





ÍNDICE

1. Introducción	1
2. Mecanismos de reducción de los niveles de cadmio en suelos cacaoteros	4
2.1 Biosorción	4
2.2 Biolixiviación	5
2.3 Biotransformación	6
2.4 Biodegradación de agente quelante	7
2.5 Biomineralización	8
2.6 Quimisorción	9
2.7 Bioacumulación	10
3. El avance en las estrategias de biorremediación en el mundo	12
4. Avance de investigaciones iniciadas sobre la biorremediación de cadmio en el cacao, Ecuador	14
5. Diversidad de bacterias tolerantes al cadmio que pueden ser usadas para escalar un bioproducto para la mitigación de cadmio en el cultivo de cacao	15
6. Características y condiciones edáficas óptimas para el crecimiento de microorganismos que reducen la absorción de cadmio	18
7. Criterios de selección de bioformulado a base de bacterias tolerantes al cadmio	22
7.1 Certificar la actividad metabólica del principio activo	22
7.2 Concentración de células viables en el producto	22
7.3 Factores que afectan la viabilidad del producto	23
7.4 Certificaciones	24

7.5 Composición	24
8. Recomendaciones	25
9. Referencias	26

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Algunas bacterias aerobias implicadas en la biorremediación de metales pesados.</i>	16
Tabla 2. <i>Organismos con actividades antagonistas, promotoras del crecimiento y solubilizadoras de minerales.</i>	17
Tabla 3. <i>Factores principales que afectan el éxito de la biorremediación de contaminantes en el suelo.</i>	19
Tabla 4. <i>Concentración de células viables en el bioproducto.</i>	23
Tabla 5. <i>Condiciones de almacenamiento.</i>	24

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Ilustración del mecanismo de Biosorción.</i>	4
Figura 2. <i>Ilustración del mecanismo de Biolixiviación.</i>	5
Figura 3. <i>Ilustración del mecanismo de Biotransformación.</i>	6
Figura 4. <i>Ilustración del mecanismo de Biodegradación.</i>	7
Figura 5. <i>Ilustración del mecanismo de Biomineralización.</i>	8
Figura 6. <i>Ilustración del mecanismo de Quimisorción.</i>	9
Figura 7. <i>Ilustración del mecanismo de Bioacumulación.</i>	10
Figura 8. <i>Resistencia al Cd²⁺ de bacterias.</i>	11

1. Introducción

Este documento tiene como propósito dar a conocer la biorremediación como una de las estrategias de mitigación del contenido de cadmio (Cd) en suelos bajo cultivos de cacao. En Ecuador, esta es una estrategia que apenas está iniciando, pero que, por su potencial e innovación para disminuir la absorción y acumulación de este metal en la almendra de cacao, se la ha considerado dentro de las herramientas a ser desarrollada en el país.

Para reducir la absorción de cadmio en las plantas de cacao es posible utilizar mecanismos naturales de inmovilización y/o transformación a nivel del sistema suelo-planta-microorganismo. Este tipo de biorremediación puede ser una alternativa ecológica y efectiva, pero deberán realizarse previamente ensayos con bacterias, hongos, enzimas u otros metabolitos a nivel de laboratorio, invernadero y campo, para posteriormente desarrollar y registrar el producto biológico obtenido por la autoridad nacional competente, y poner al servicio del agricultor, con el fin de recuperar ambientes alterados por contaminantes a su condición natural.

La implementación de la biorremediación permite obtener resultados bastante favorables de reducción de cadmio disponible en el suelo. Además, los microorganismos provocan un impacto menor al medio ambiente (en cuanto a la contaminación) y menor costo, en comparación con otras tecnologías alternativas (fitorremediación, adición de enmiendas orgánicas e inorgánicas) que se utilizan para reducir la disponibilidad del cadmio en el cultivo de cacao (Garzón et al., 2017).

Para comprender el papel ecológico de los microorganismos con capacidades metabólicas especiales, relacionadas a la inmovilización de cadmio, es necesario seleccionar y evaluar los actores biológicos involucrados en la translocación (principalmente hongos) y en la inmovilización (principalmente bacterias) de este metal como alternativas potenciales para mitigar la absorción de cadmio (Babich & Stotzky, 1977; Bai et al., 2008). Considerando que un solo microorganismo no podría inmovilizar y/o translocar los metales pesados de un sitio contaminado, es

importante evaluar consorcios microbianos que ayuden a contrarrestar la toxicidad del cadmio (Clausen, 2000).

Cabe resaltar que los microorganismos nativos son más tolerantes a las condiciones ambientales de un determinado hábitat, debido a la selectividad y adaptabilidad de crecimiento en relación al contaminante. Por lo tanto, es importante reforzar la capacidad biorremediadora de bacterias y hongos nativos tolerantes al cadmio. Para ello se requiere que estos sean aislados, caracterizados, propagados y luego reintroducidos en el ambiente a ser remediado (Dirk, 2019).

En la presente guía dirigida a asesores, técnicos e investigadores, se aborda en forma breve los mecanismos que favorecen la inmovilización de cadmio en el suelo, por actividad microbiológica; también se nombran algunas especies de microorganismos denominados “bacterias tolerantes al cadmio” (en inglés se denominan CdtB por el acrónimo de Cadmium-tolerant Bacteria), que pueden inmovilizar o transformar el metal *in situ*, lo cual puede minimizar la toxicidad y la biodisponibilidad del metal pesado en el suelo, evitar la absorción y consecuentemente la acumulación de cadmio en la almendra del cacao. Además, se indica las condiciones edáficas óptimas para el crecimiento de CdtB y los criterios para seleccionar un Bioformulado a base de CdtB, como alternativa de mitigación de cadmio.



2. Mecanismos de reducción de los niveles de cadmio en suelos cacaoteros

Los mecanismos responsables de reducir la biodisponibilidad de los metales por actividad microbiana son varios y pueden expresarse dependiendo del microorganismo a utilizarse y su ambiente. A continuación se describe de forma breve y gráfica algunos de ellos:

2.1 Biosorción

La biosorción es un proceso pasivo, que consiste en la adsorción de cadmio a la superficie de la biomasa microbiana, que se puede dar tanto en biomasa viva como en muerta. Los cationes como el Cd^{2+} son retenidos a través de mecanismos físicos y químicos, como la adsorción y atracción electrostática, tal como se ilustra en la Figura 1 (Mejía, 2006).

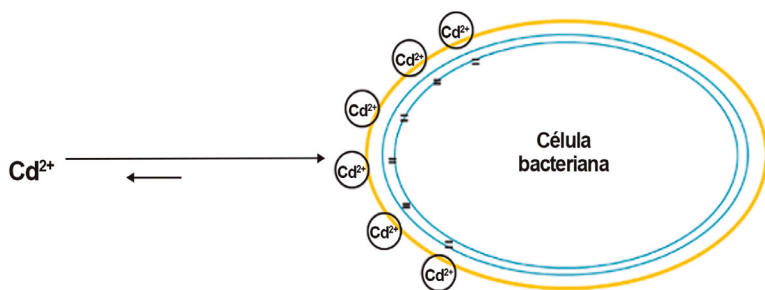


Figura 1. Ilustración del mecanismo de Biosorción.

Entre los microorganismos, las bacterias son excelentes biosorbentes, debido a su alta relación superficie-volumen y gran cantidad de sitios de quimio-sorción activos, que pueden inmovilizar o retener el cadmio (Mejía, 2006). Además, la afinidad de las bacterias a la adsorción de Cd^{2+} se atribuye a la calidad y cantidad de exopolisacáridos (EPS) o sustancias poliméricas extracelulares (Rajendran, Muthukrishnan & Gunasekaran, 2003).

2.2 Biolixiviación

Está basada en la capacidad de ciertas bacterias para solubilizar metales pesados presentes en matrices insolubles (ejemplo: sulfuro de cadmio- CdS) transformándolos en formas solubles mediante la producción de ácidos orgánicos. Por ejemplo, ácido oxálico, el bi-anión, denominado oxalato, actúa como ligando quelante¹, que se une a los iones de Cd^{2+} para formar el quelato oxalato de cadmio (CdC_2O_4 o CdOx), como se ilustra en la Figura 2 (Krebs et al., 1997; Bravo et al., 2011).

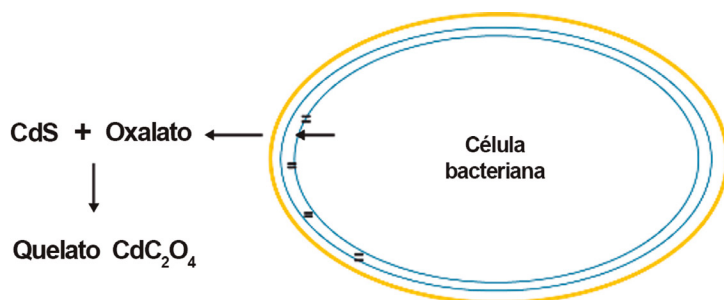


Figura 2. Ilustración del mecanismo de Biolixiviación.

¹Ligando quelante: Es una sustancia que forma complejos con iones de metales pesados.

2.3 Biotransformación

Los microorganismos tienen la capacidad de remediar suelos contaminados con metales pesados mediante la transformación de valencia, precipitación química extracelular.

Varias bacterias han sido reportadas por reducir mediante reacciones enzimáticas, peróxido de cadmio (CdO_2^{2+}) (oxidado) a dióxido de cadmio (CdO_2) (reducido) que es menos tóxico y menos soluble, como se ilustra en la Figura 3 (Garbisu & Alkorta, 2003).

Como ejemplo, las Bacterias Sulfato Reductoras (BSR), tienen la capacidad de reducir sulfato de cadmio (CdSO_4) (oxidado) a sulfuro de cadmio (CdS) (reducido) menos soluble, como se ilustra en la Figura 3 (Garbisu & Alkorta, 2003; Iwamoto & Nasu, 2001; Lens & Kuenen, 2001).

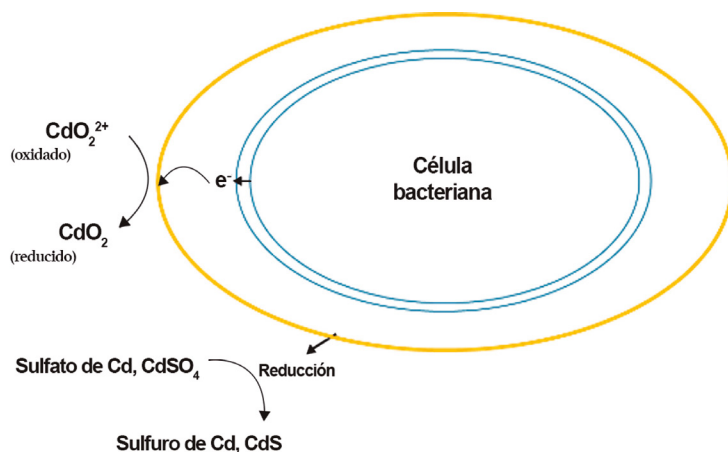


Figura 3. Ilustración del mecanismo de Biotransformación.

2.4 Biodegradación de agente quelante

El término “biodegradación” se utiliza para describir un proceso biológico que convierte un compuesto orgánico como el quelato de oxalato de cadmio o el citrato de cadmio en CO_2 , H_2O y/o sal(es) inorgánica(s) (por ejemplo, fosfato de cadmio) como se ilustra en la Figura 4 (Varjani, Kumar, Gnansounou & Gurunathan, 2018) o, a veces, en un producto intermedio que podría tener una toxicidad mayor o menor que la del compuesto original (Dirk, 2019). Este compuesto es de transición y no se encuentra normalmente en el suelo de forma abundante por ser un producto metabólico pobre.

Los iones metálicos libres (por ejemplo, Cd^{2+}) resultantes de la biodegradación de los quelatos metálicos se pueden adsorber y/o absorber en los minerales o formar precipitados que serían menos móviles y así lograr una inmovilización deseable de los contaminantes en el lugar (Tabak et al., 2005).

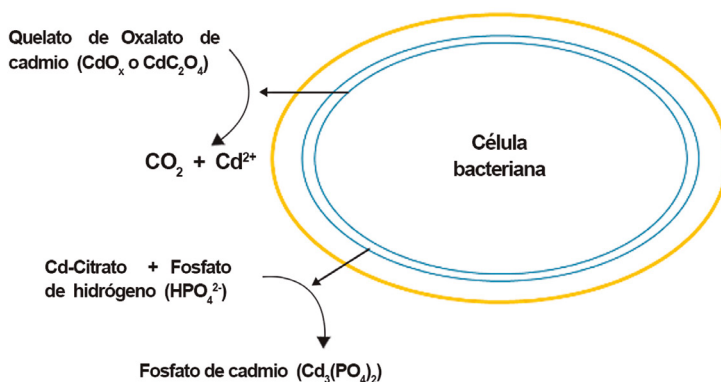


Figura 4. Ilustración del mecanismo de Biodegradación.

2.5 Biomineralización

Los microorganismos inmovilizan metales a través de la precipitación extracelular (Rajendran et al., 2003; Gadd, 2008). Las bacterias ureolíticas producen la enzima ureasa, que puede hidrolizar la urea. Debido a esta reacción enzimática, el pH del suelo aumenta y se producen carbonatos que se unen a los iones metálicos presentes en el agua del suelo (por ejemplo, Cd^{2+}) y precipitan como otavita (CdCO_3) (Al Qabany et al., 2012; Bhattacharya et al., 2018; Kang et al., 2014; Li et al., 2013).

También, las bacterias pueden precipitar el Cd^{2+} en forma de sales insolubles fuera de las células como: sulfuro de cadmio (CdS) (greenockita y hawleyita), fosfato de hidrógeno de cadmio (CdHPO_4) y fosfato de cadmio (CdPO_4), como se ilustra en la Figura 5.

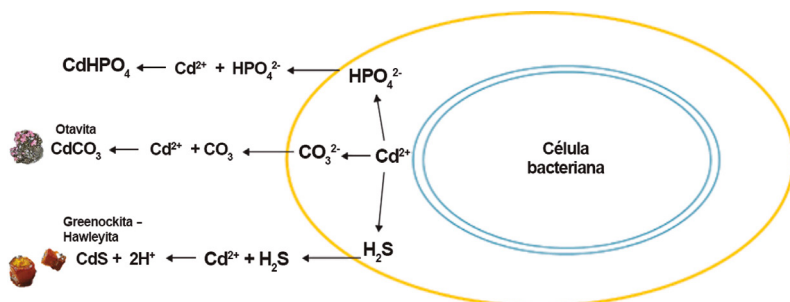


Figura 5. Ilustración del mecanismo de Biomineralización.

2.6 Quimisorción

La quimisorción es un tipo de adsorción que implica una reacción química entre la superficie bacteriana y el adsorbato (metal pesado). Por ejemplo, las bacterias que utilizan el ion fosfato de hidrógeno (HPO_4^{2-}), como aceptor final del ion de Cd^{2+} , lo inmovilizan mediante micro-precipitaciones de hidrógeno-fosfato de cadmio (CdHPO_4), que se acumulan en la superficie celular bacteriana (Figura 6) (Abbas et al., 2018; Khadivinia et al., 2014; Tabak et al., 2005).

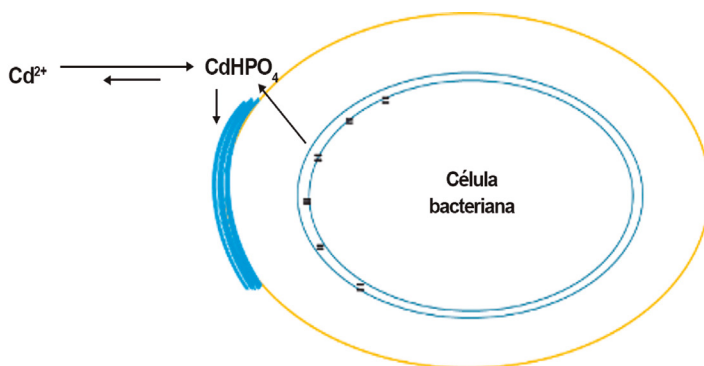


Figura 6. Ilustración del mecanismo de Quimisorción.

2.7 Bioacumulación

La bioacumulación es un proceso celular que involucra un sistema de transporte de membrana que internaliza el metal pesado presente en el entorno celular con gasto de energía. Este consumo energético se realiza a través de la H^+ -ATPasa (Figura 8); una vez incorporado el metal pesado al citoplasma de la célula bacteriana, el cadmio es secuestrado por Metaloil-proteínas o Metalotioneína (MT) del grupo tiol o sulfhidrilos ($-SH$) (Son péptidos que se unen y forman complejos estables con el Cd^{2+}), neutralizando de esta forma la toxicidad del metal pesado (Figura 7) (Marrero & Coto, 2010; Pócsi, 2011; Mejía, 2006).

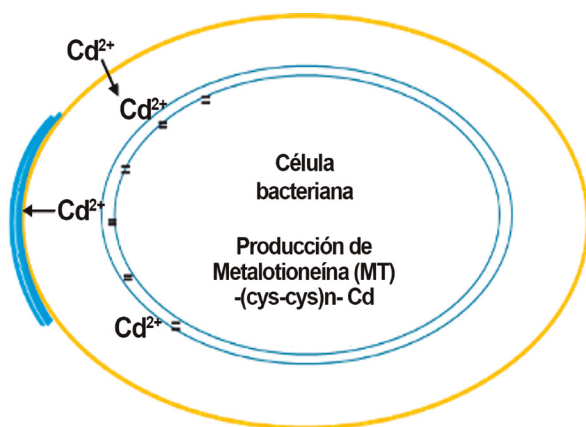


Figura 7. Ilustración del mecanismo de Bioacumulación.

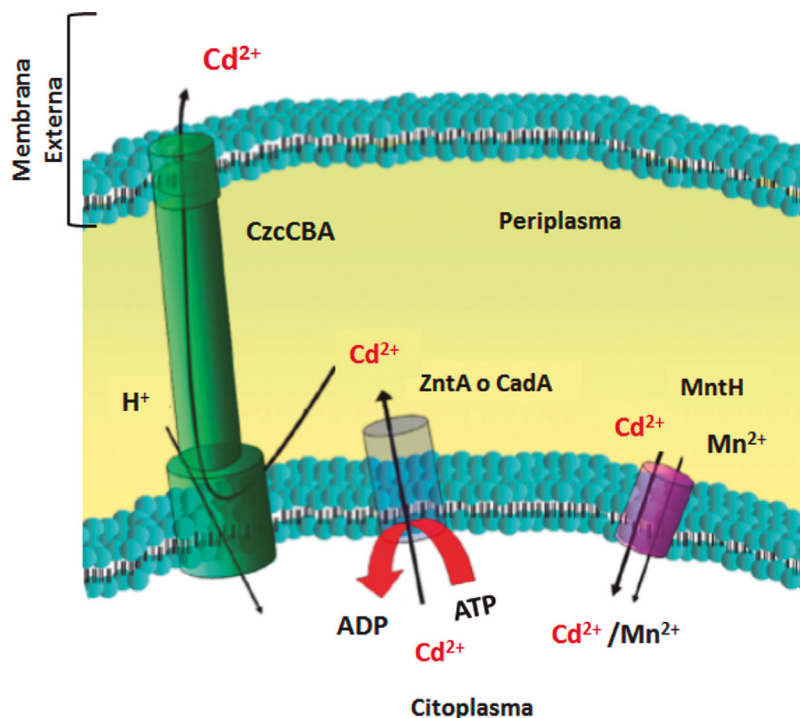
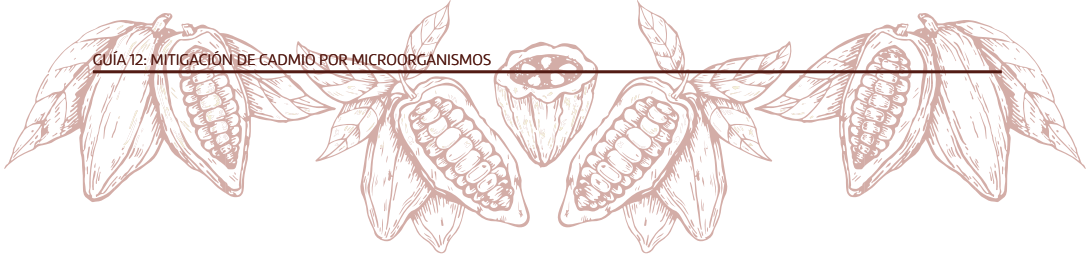


Figura 8. Resistencia al Cd^{2+} de bacterias. Entrada y salida de cadmio en una célula bacteriana Gram negativa. El cadmio atraviesa la membrana citoplasmática a través de una vía de transporte de manganeso (MntH), que depende del potencial de la membrana (ver estructura púrpura). El cadmio también puede ingresar a la célula a través del transportador de zinc ZntA o CadA (ver flecha roja). El sistema de eflujo de cadmio (CzcCBA) excreta cadmio a través de una proteína anti-puerto $\text{Cd}^{2+} / 2\text{H}^+$ (ver estructura verde).

Fuente: Roane et al. (2015).



3. El avance en las estrategias de biorremediación en el mundo

Una de las estrategias de biorremediación es la utilización de bacterias que producen exopolisacáridos. Los EPS son una mezcla compleja de biopolímeros bacterianos de alto peso molecular; su composición aniónica neta permite al biopolímero secuestrar efectivamente cationes de metales pesados, como el Cd^{2+} (Gupta & Diwan, 2017). Un ejemplo es el que presentaron los investigadores Kiliç & Dönmez (2008), quienes probaron que bacterias del género *Pseudomonas* tienen la capacidad de biosorción o bioacumulación de cadmio por la producción de EPS. Maddela et al. (2020), resaltan que la caracterización de los EPS de bacterias nativas es importante en el campo de la biorremediación, porque ofrece una alternativa para el desarrollo de una agricultura económica, ecológica y sostenible.

En el estudio desarrollado por Bravo et al. (2018) se aislaron bacterias tolerantes al cadmio (BtCd), asociadas a la rizosfera de suelos cacaoteros con presencia de Cd^{2+} y mediante caracterización morfológica, bioquímica (solubilización de potasio y oxalato), termodinámica y molecular (ARNr 16S y el gen *CadA*), se logró identificar microorganismos tolerantes al Cd^{2+} asociados al cultivo de cacao, destacando las bacterias oxalotróficas que mediante la ruta oxalato-carbonato (OCP, Oxalate-Carbonate Pathway), transforman el oxalato de cadmio (CdC_2O_4) en compuestos geoestables de cadmio, como la otavita, alrededor de los sistemas de raíces del árbol de cacao (rizoplaneo y nichos de suelo de la rizosfera). Entre las cepas de BtCd aisladas e identificadas, se encuentran las bacterias del género *Enterobacter*, que demostraron tener alta capacidad de inmovilización de cadmio disuelto, con una tasa de inmovilización de $0,22 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ de Cd^{2+} . Sin embargo, hay que tener cuidado con las bacterias que tengan patogenicidad en plantas y humanos.

En la India Bhattacharya et al. (2018), observaron que *Serratia marcescens* y *Enterobacter cloacae* EMB19 inmovilizaban eficazmente el Cd^{2+} del medio de cultivo, mediante precipitaciones de carbonato de Ca-Cd provocadas por la acción de la enzima ureasa en experimentos in vitro. La precipitación o mineralización de Cd^{2+} ocurrió principalmente en la copresencia de calcio como compuestos de Ca-Cd para ambas cepas. Li et al. (2013), indicaron que los microorganismos pueden mediar en la formación de minerales mediante un proceso de biomineralización. Esto ofrece una forma eficiente de secuestrar contaminantes inorgánicos, incluidos los metales pesados. En general, se puede decir que la remediación de Cd^{2+} mediada por bacterias con capacidad de producir la enzima ureasa, podría usarse eficazmente para remediar la contaminación por cadmio y otros metales pesados en el suelo.

4. Avance de investigaciones iniciadas sobre la biorremediación de cadmio en el cacao, Ecuador

En Ecuador, se está iniciando investigaciones de biorremediación y se ha partido con la ejecución de estudios de bioprospección de bacterias biorremediadoras de metales pesados, mediante la clasificación e investigación para fines comerciales de nuevas fuentes de microorganismos nativos, con capacidad potencial para mitigar el cadmio en el cultivo de cacao. Este estudio se ejecuta entre la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ) y el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), donde se han aislado bacterias nativas tolerantes al cadmio de suelos, en tres localidades cacaoteras del Ecuador, ubicadas en las provincias de Manabí, Cañar y Esmeraldas, con un promedio de concentración de cadmio de 0,88; 0,97 y 1,04 mg kg⁻¹ (datos tomados de Argüello et al., 2019).

En este estudio, de un total de 30 aislados bacterianos, se seleccionaron cuatro BtCd nativas de cada provincia; estas fueron identificadas mediante caracterización morfológica y bioquímica (tinción de Gram, ureasa, proteasa, catalasa, emisión de fluorescencia y capacidad de solubilizar potasio y fósforo), tolerancia a antibióticos (cloranfenicol y ampicilina) y niveles de 50 mg L⁻¹ de cadmio (4,5 mL de solución stock de 1000 mg L⁻¹ de cadmio en 1000 mL de H₂O). Actualmente, se está realizando los análisis de caracterización molecular al gen ARNr 16S y dos genes de resistencia al cadmio CadA y CadR, para la identificación de bacterias nativas tolerantes al Cd²⁺, para posteriormente determinar la disminución en la absorción de cadmio por plantas trampa, a nivel de vivero, por efecto de la aplicación de bacterias (BtCd), y finalmente, lograr optimizar un bioformulado de bajo costo, con alta producción de biomasa-metabolitos y que mantenga su efectividad de biorremediación.

5. Diversidad de bacterias tolerantes al cadmio que pueden ser usadas para escalar un bioproducto para la mitigación de cadmio en el cultivo de cacao

Muchos microorganismos del suelo son tolerantes a los metales pesados y juegan un papel importante en la inmovilización de estos elementos. El grupo funcional de bacterias tolerantes al cadmio (BtCd) es diverso, no corresponde a un taxón o *phylum* específico. Las bacterias como *Novosphingobium* sp., *Ensifer* sp., *Burkholderia* sp., *P. aeruginosa*, son un grupo de bacterias que tienen excelente capacidad de metabolización de metales pesados, pero hay que mencionar que estas bacterias están asociadas al desarrollo de enfermedades en seres humanos y especies vegetales, por lo tanto, no se recomiendan usar en procesos de biorremediación de cadmio en agricultura (Bravo et al., 2018; Chellaiah, 2018).

En la Tabla 1 se presenta la capacidad de biosorción de cadmio por algunas bacterias. Esta capacidad depende de la especie o de la cepa bacteriana, observándose que *Acinetobacter anitratus*, *Enterobacter* sp., *Serratia marcescens* y *Pseudomonas* sp., presentan mayor capacidad de biosorción.

Tabla 1. Algunas bacterias aerobias implicadas en la biorremediación de metales pesados.

Metal ion	Bacteria	Capacidad de Biosorción (mg g ⁻¹ h ⁻¹)	Referencia
Cd	<i>Acinetobacter anitratus</i>	274	Umes Ahuja et al. (2001)
Cd	<i>Enterobacter cloacae</i>	276	Dash et al. (2013); Bhattacharya et al. (2018)
Cd	<i>Enterobacter</i> sp.	46,2	Lu et al. (2006)
Cd	<i>Enterobacter</i> sp. (CdDB41)	220	Bravo et al. (2018)
Cd	<i>Pseudomonas putida</i>	8,0	Pardo et al. (2003); Andreoni et al. (2003); Xu et al. (2012); Liu et al. (2019)
Cd	<i>Pseudomonas</i> sp.	278	Sheng & Xia (2006); Ziagova et al. (2007); Sayyed (2019)
Cd	<i>Pseudomonas veronii</i> (2E)	54,0	Vullo et al. (2008)
Cd	<i>Serratia marcescens</i>	510	Bhattacharya et al. (2018); Sayyed (2019)
Cd	<i>Staphylococcus xylosus</i>	250	Samuelson et al. (2000); Ziagova et al. (2007)
Cd	<i>Streptomyces pimprina</i>	30,4	Puranik et al. (1995)
Cd	<i>Streptomyces rimosus</i>	64,9	Selatnia et al. (2004)

El proceso de biorremediación en suelos agrícolas debe enfocarse a la aplicación de consorcios bacterianos, que impliquen la funcionalidad de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento (PGPR) y la adición de bacterias tolerantes al cadmio (Ghosh et al., 2019; C. Kang et al., 2016; B. Wu et al., 2019). Por lo tanto, para el desarrollo de una agricultura sostenible se requiere el empleo de bacterias con capacidad de inmovilizar metales pesados y características que ayuden a proteger las plantas de patógenos, mitigar el estrés por los metales pesados y facilitar la solubilización de minerales (Tabla 2).

Tabla 2. Organismos con actividades antagonistas, promotoras del crecimiento y solubilizadoras de minerales.

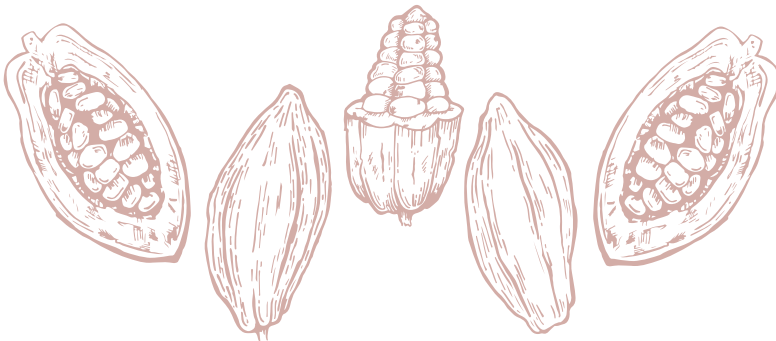
	Organismos	Cepa	Metabolitos antagonicos*				S d	AIA	Solubilización de minerales		
			PR	HCN	Prn	DAP G			P	K	N
1	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	BMR2-12			+		+		+	+	+
2	<i>Klebsiella variicola</i>	BO3-4	+	+	+		+				
3	<i>Enterobacter asburiae</i>	BA4-19	+				+				
4	<i>Enterobacter asburiae</i>	PM3-14	+	+	+		+				
5	<i>Pseudomonas protegens</i>	CHA0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	<i>Pseudomonas veronii</i>	R4	+		+		+	+	+	+	+
7	<i>Serratia marcescens</i>	PM3-8	+	+			+		+	+	+

* Metabolitos: PR-Proteasa, HCN-cianuro de hidrógeno, Prn-pirrolnitrina, 2,4-DAPG diacetilfloroglucinol, Sd-sideróforos, AIA-ácido indol-3-acético.

Fuente 1: Chávez et al. (2018).

Fuente 2: Peñafiel Jaramillo et al. (2016).

El productor debe entender que la obtención de un bioproducto involucra un proceso que requiere de verificaciones y validaciones a nivel de laboratorio, invernadero y campo, antes de registrar un producto de insumos agropecuarios en la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario – AGROCALIDAD autoridad competente en Ecuador.



6. Características y condiciones edáficas óptimas para el crecimiento de microorganismos que reducen la absorción de cadmio

En la Tabla 3 se resume las características y condiciones edáficas óptimas para el crecimiento de microorganismos que reducen la absorción de cadmio realizado por Dirk (2019); y Singh & Tripathi (2015). A manera de ejemplo, como se indicó, en Ecuador se debe poner a punto todas estas variables, una vez que se haya terminado la fase inicial de aplicaciones en campo de microorganismos.



Tabla 3. Factores principales que afectan el éxito de la biorremediación de contaminantes en el suelo.

Factores	Rangos/Consideraciones hipotéticas	
Factores biológicos	Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por gramo de suelo (g): < 1×10^5 Son bajos > 1×10^6 Son deseables	
Factores fisicoquímicos	Materia Orgánica del Suelo (MOS): < 0,5% son bajos > 2,0% son deseables Niveles tóxicos de cadmio para microorganismos del suelo: Superior a 2 mg kg^{-1} de cadmio	
Factores medioambientales	Efectos sobre microorganismos	Rangos hipotéticos
Nutrientes	Si el contaminante es parte del sustrato principal de la comunidad microbiana biosorbente y está presente en altas concentraciones, se necesitan otros nutrientes como N, P y O para mantener el crecimiento de los microorganismos	La relación óptima: 100% C: 10% N: 1% P
Oxígeno (O)	Generalmente, la biosorción aeróbica es más rápida que la biosorción anaeróbica.	Aerobios: $[\text{O}_2]$ disuelto > 0.2 mg L^{-1} Anaeróbicos: $[\text{O}_2]$ < 1% en volumen
Textura y estructura del suelo	La textura del suelo influye en las comunidades de microorganismos, porque es uno de los factores que definen: a) la porosidad del suelo y su aireación, b) la disponibilidad de agua (capacidad de retención de agua) y c) la permeabilidad del suelo. Los suelos arcillosos tienen una alta capacidad de retención de agua y baja permeabilidad; por lo tanto, la movilidad de los contaminantes es baja. La estructura del suelo que presenta una buena porosidad y una alta permeabilidad es recomendada. Ejemplo: estructura prismática y de bloques.	Porosidad óptima para microorganismos aeróbicos entre: 38% y 81%, valores menores del límite inferior pueden crear asfixia en las raíces. Los suelos están divididos según su textura e influye en la fisiología y capacidad metabólica de inmovilización de metales pesados por parte de los microorganismos (Bravo et al., 2018). Arenoso arcilloso: 35% o más de arcilla y 45% o más de arena. Limo-arcilloso: 40% de arcilla y 40% o más de limo. Franco: contienen igual proporción de arena, limo y arcilla. La estructura prismática, bloques y granular en suelos de textura franca, en ese orden son recomendadas para el crecimiento de los microorganismos.

Continuación Tabla 3

Factores medioambientales	Efectos sobre microorganismos	Rangos hipotéticos														
Intercambio catiónico	La capacidad de intercambio catiónico (CIC), es la habilidad de las partículas de suelo de atraer y retener cationes. Suelos con una alta CIC son más fértiles, porque retienen una mayor cantidad de cationes (Ca, Mg, Na, K, NH4, etc.). Los suelos que tienen altos contenidos de arcilla, materia orgánica y minerales, en general su CIC es alta, y en estos suelos hay mayor concentración de microorganismos. En los suelos con una baja CIC, los espacios donde pueden adherirse los nutrientes son pocos, por lo que muchos de ellos quedan en la solución del suelo, expuestos a ser lavados por el agua de riego o lluvias. Un suelo con bajo CIC en general tiene baja concentración de microorganismos.	<table><tr><td>Textura</td><td>CIC (moles kg⁻¹ de suelo)</td></tr><tr><td>Arenoso</td><td>1 – 5</td></tr><tr><td>Franco arenoso</td><td>5 – 10</td></tr><tr><td>Franco limoso</td><td>5 – 15</td></tr><tr><td>Franco arcilloso</td><td>15 – 30</td></tr><tr><td>Arcilloso</td><td>> 30</td></tr><tr><td colspan="2">(Toledo, 2016)</td></tr></table>	Textura	CIC (moles kg ⁻¹ de suelo)	Arenoso	1 – 5	Franco arenoso	5 – 10	Franco limoso	5 – 15	Franco arcilloso	15 – 30	Arcilloso	> 30	(Toledo, 2016)	
Textura	CIC (moles kg ⁻¹ de suelo)															
Arenoso	1 – 5															
Franco arenoso	5 – 10															
Franco limoso	5 – 15															
Franco arcilloso	15 – 30															
Arcilloso	> 30															
(Toledo, 2016)																
Contenido de humedad del suelo	La humedad del suelo es esencial para las reacciones enzimáticas y mecanismos bioquímicos de los microbios del suelo. El contenido de humedad del suelo controla el espacio poroso y la difusión de oxígeno en el suelo.	Nivel óptimo de humedad: Del 30% al 90% de la capacidad de retención de agua del suelo.														
Temperatura	La mayoría de los microorganismos bioadsorbentes son activos en condiciones mesofílicas (temperaturas entre 20 °C a 45 °C). La temperatura afecta la composición microbiana.	Bravo et al. (2018), reportaron que la mejor condición para su metabolismo es 25 °C.														
pH del suelo	El pH también puede cambiar la carga de algunas arcillas, materia orgánica y minerales del suelo, afectando a la biorremediación y la biodisponibilidad para las comunidades microbianas.	El crecimiento bacteriano es óptimo entre: pH 6,5 – 8,0 Biodegradación por hongos entre: pH fuertemente ácido (< 5) a pH ligeramente ácido 5,1 – 6,6														



7. Criterios de selección de bioformulado a base de bacterias tolerantes al cadmio

Actualmente, se ofertan productos biológicos comerciales con posibles efectos en la biorremediación de cadmio, pero algunos de ellos no cuentan con especificaciones técnicas para las condiciones del cultivo y certificación de estudios e investigaciones previas que respalden su eficiencia.

Es importante tener en cuenta el uso adecuado de los bioproductos, porque las malas prácticas como mezclar diversos productos para ahorrar tiempo, agua y mano de obra, puede significar pérdida de la eficiencia cuando los principios activos no son compatibles. Antes de adquirir productos biológicos bacterianos para mitigar la absorción de Cd^{2+} , se debe cumplir con ciertas variables: actividad metabólica, concentración del producto, dosis, frecuencia de aplicación, viabilidad del producto (vida útil, temperatura, humedad y luminosidad de almacenamiento) y disponibilidad del producto (registro).

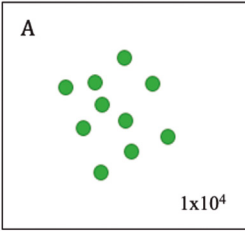
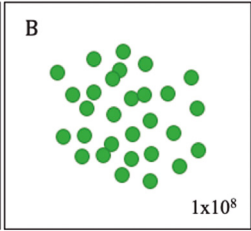
7.1 Certificar la actividad metabólica del principio activo

Mediante técnicas calorimétricas y espectrométricas se puede determinar la capacidad metabólica real y bajo diferentes condiciones de preparación, para que un bioformulado sea eficiente y pueda ofertarse bajo escenarios particulares del cultivo.

7.2 Concentración de células viables en el producto

El recuento de Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC ml^{-1}), determina la concentración de células viables en el bioproducto.

Tabla 4. Concentración de células viables en el bioproducto.

Células viables en el producto (UFC mL ⁻¹)	
• Concentraciones adecuadas > 1x10⁶ células por mL de producto bacteriano • La concentración celular se reduce a medida que transcurre el tiempo. • La carga bacteriana está estrechamente relacionada con la viabilidad y fecha de caducidad del bioproducto.	A  1x10⁴ B  1x10⁸ A. baja concentración y B. alta concentración

La dosis y frecuencia de aplicación deben estar especificadas en la etiqueta del producto de acuerdo con la concentración del producto.

7.3 Factores que afectan la viabilidad del producto

- Los productos biológicos al estar compuestos principalmente por organismos vivos, tienen un tiempo de vida útil limitado que se ve afectado por las condiciones de almacenamiento como humedad ambiental, temperatura y luminosidad.
- Cada producto biológico varía su tiempo de vida útil dependiendo de la concentración celular, composición de la formulación, tanto de excipientes² como de elementos coadyuvantes³.

²Excipientes: Sustancia inactiva usada para incorporar el principio activo.

³Coadyuvantes: Elementos que mejoran la efectividad del bioproducto.

Tabla 5. Condiciones de almacenamiento.

Condiciones	Características	Rangos
Humedad ambiental	La humedad mayor al 70% genera un microclima perceptible por las bacterias, que se mantienen en constante crecimiento en los contenedores.	< 70%
Temperatura	Las temperaturas altas favorecen el crecimiento acelerado y como consecuencia, se tiene la producción excesiva de metabolitos secundarios e intoxicación del medio.	< 25 °C
Luminosidad	Genera lisis ⁴ celular y alteraciones en la composición del producto, evitar comprar el bioproducto con envases transparentes.	0

7.4 Certificaciones

Los productos biológicos que se producen y comercializan en el territorio ecuatoriano, deben contar con una certificación emitida por organismos reguladores como AGROCALIDAD (<https://www.agrocalidad.gob.ec/>), MAG (<https://www.agricultura.gob.ec/>) y MAE (<https://www.ambiente.gob.ec/>). Esta certificación cuenta con un registro único que consta en la etiqueta de cada envase y permite validar la eficacia y cumplimiento de las normativas de producción y comercialización.

7.5 Composición

Se debe evitar la adquisición de bioproductos con altas concentraciones de N-P-K, ya que estos afectan el metabolismo bacteriano ocasionando alteraciones en el pH, facilitando así la muerte celular y reducción de unidades formadoras de colonias.

⁴Lisis: se refiere al deterioro de la célula debido a una lesión en su membrana plasmática (exterior).

8. Recomendaciones

- Antes de la aplicación de un bioproducto, el agricultor, con apoyo de un técnico, debe asegurarse que este tenga certificaciones por la autoridad competente, que permita asegurar la calidad y pertinencia del mismo, en función de investigaciones y validación correspondiente.
- Adicionalmente, el productor, cuando tenga acceso a un bioproducto, debe verificar si en el etiquetado del producto indica la composición relativa (salvaguardando el secreto industrial del formulado), dosis, forma, frecuencias de aplicación, fecha de elaboración y vencimiento, condiciones de almacenamiento, registro sanitario y permiso de comercialización de bioproductos agropecuarios por la entidad competente.
- En general un bioproducto de calidad, normalmente presenta recomendaciones previas como: análisis de suelos, condiciones de la finca y/o la concentración de cadmio en diferentes componentes del sistema de cultivo, como: suelos, tejido vegetal, grano fresco y grano seco (Bravo & Benavides-Erazo, 2020).
- Asegurarse con un técnico que las bacterias tolerantes al cadmio, presentes en el bioproducto, no presenten efectos adversos a la salud humana y/o promuevan la proliferación de microorganismos patógenos o enfermedades a la planta de cacao.

9. Referencias

- Abbas, S. Z., Rafatullah, M., Hossain, K., Ismail, N., Tajarudin, H. A., & Abdul Khalil, H. P. S. (2018). A review on mechanism and future perspectives of cadmium-resistant bacteria. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 15(1), 243–262. <https://doi.org/10.1007/s13762-017-1400-5>
- Al Qabany, A., Soga, K., & Santamarina, C. (2012). Factors affecting efficiency of microbially induced calcite precipitation. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 138(8), 992–1001. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)GT.1943-5606.0000666](https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0000666)
- Andreoni, V., Colombo, M., Colombo, A., Vecchio, A., & Finoli, C. (2003). Cadmium and zinc removal by growing cells of *Pseudomonas putida* strain B14 isolated from a metal-impacted soil. *Annals of Microbiology*, 53(2), 135–148.
- Argüello, D., Chávez, E., Lauryssen, F., Vanderschueren, R., Smolders, E., & Montalvo, D. (2019). Soil properties and agronomic factors affecting cadmium concentrations in cacao beans: A nationwide survey in Ecuador. *Science of the Total Environment*, 649, 120–127. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.292>
- Babich, H., & Stotzky, G. (1977). Effect of Cadmium on Fungi and on Interactions Between Fungi and Bacteria in Soil: Influence of Clay Minerals and pH. *Applied and Environmental Microbiology* (Vol. 33).
- Bai, H.-J., Zhang, Z.-M., Yang, G.-E., & Li, B.-Z. (2008). Bioremediation of cadmium by growing *Rhodobacter sphaeroides*: Kinetic characteristic and mechanism studies. *Bioresource Technology*, 99(16), 7716–7722. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.01.071>
- Bhattacharya, A., Naik, S. N., & Khare, S. K. (2018). Harnessing the bio-mineralization ability of urease producing *Serratia marcescens*

- and *Enterobacter cloacae* EMB19 for remediation of heavy metal cadmium (II). *Journal of Environmental Management*, 215, 143–152. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.03.055>
- Bravo, D., Pardo–Díaz, S., Benavides–Erazo, J., Rengifo–Estrada, G., Braissant, O., & Leon–Moreno, C. (2018). Cadmium and cadmium-tolerant soil bacteria in cacao crops from northeastern Colombia. *International Journal of Laboratory Hematology*, 38(1), 42–49. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12426>
- Chávez, K., Guato, J., Peñafiel, M., Mestanza, C., & Canchignia, H. (2018). Bacterias fluorescentes productoras de metabolitos antagónicos de cultivares nativos de *Musa* sp. y su diversidad filogenética al gen ARNr 16S. *Agricultural Sciences*, 11(2), 17–29.
- Chellaiah, E. R. (2018). Cadmium (heavy metals) bioremediation by *Pseudomonas aeruginosa*: a minireview. *Applied Water Science*, 8(6), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s13201-018-0796-5>
- Clausen, C. A. (2000). Copper , Chromium , and Arsenic From Treated Wood, 264–268.
- Dash, H. R., Mangwani, N., Chakraborty, J., Kumari, S., & Das, S. (2013, January). Marine bacteria: Potential candidates for enhanced bioremediation. *Applied Microbiology and Biotechnology*. *Appl Microbiol Biotechnol*. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4584-0>
- Dirk van Elsas, J. (2019). *Modern Soil Microbiology Third Edition*. Taylor and Francis (Vol. Three).
- Garbisu, C., & Alkorta, I. (2003). Basic concepts on heavy metal soil bioremediation. *Mineral Processing and Environmental Protection*, 3(1), 58–66.
- Garzón, J. M., Rodríguez Miranda, J. P., & Hernández Gómez, C. (2017). Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y

su relación con el desarrollo sostenible. *Universidad Y Salud*, 19(2), 309. <https://doi.org/10.22267/rus.171902.93>

- Ghosh, A., Mehta, A., & Khan, A. M. (2019). Metagenomic Analysis and its Applications. In *Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology* (pp. 184–193). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.20178-7>
- Gupta, P., & Diwan, B. (2017). Bacterial Exopolysaccharide mediated heavy metal removal: A Review on biosynthesis, mechanism and remediation strategies. *Biotechnology Reports*, 13, 58–71. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2016.12.006>
- Iwamoto, T., & Nasu, M. (2001). Current bioremediation practice and perspective. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 92(1), 1–8. <https://doi.org/10.1263/jbb.92.1>
- Kang, C. H., Han, S. H., Shin, Y., Oh, S. J., & So, J. S. (2014). Bioremediation of Cd by microbially induced calcite precipitation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172(4), 1929–1937. <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0626-z>
- Kang, C., Kwon, Y., & So, J. (2016). Bioremediation of heavy metals by using bacterial mixtures. *Ecological Engineering*, 89, 64–69. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.01.023>
- Khadivinia, E., Sharafi, H., Hadi, F., Zahiri, H. S., Modiri, S., Tohidi, A., ... Noghabi, K. A. (2014). Cadmium biosorption by a glyphosate-degrading bacterium, a novel biosorbent isolated from pesticide-contaminated agricultural soils. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 20(6), 4304–4310. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2014.01.037>
- Kiliç, N. K., & Dönmez, G. (2008). Environmental conditions affecting exopolysaccharide production by *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus* sp., and *Ochrobactrum* sp. *Journal of Hazardous Materials*, 154(1–3), 1019–1024. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.11.008>

- Krebs, W., Brombacher, C., Bosshard, P. P., Bachofen, R., & Brandl, H. (1997). Microbial recovery of metals from solids. *FEMS Microbiology Reviews*, 20(3–4), 605–617. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1997.tb00341.x>
- Lens, P. N. L., & Kuenen, J. G. (2001). The biological sulfur cycle: Novel opportunities for environmental biotechnology. *Water Science and Technology*, 44(8), 57–66. <https://doi.org/10.2166/wst.2001.0464>
- Li, M., Cheng, X., & Guo, H. (2013). Heavy metal removal by biomineralization of urease producing bacteria isolated from soil. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 76, 81–85. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.06.016>
- Liu, X., Hu, Q., Yang, J., Huang, S., Wei, T., Chen, W., ... Chen, H. (2019). Selective cadmium regulation mediated by a cooperative binding mechanism in CadR. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(41), 20398–20403. <https://doi.org/10.1073/pnas.1908610116>
- Lu, W. Bin, Shi, J. J., Wang, C. H., & Chang, J. S. (2006). Biosorption of lead, copper and cadmium by an indigenous isolate *Enterobacter* sp. J1 possessing high heavy-metal resistance. *Journal of Hazardous Materials*, 134(1–3), 80–86. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.10.036>
- Maddela, N. R., Kakarla, D., García, L. C., Chakraborty, S., Venkateswarlu, K., & Megharaj, M. (2020). Cocoa-laden cadmium threatens human health and cacao economy: A critical view. *Science of the Total Environment*, 720. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137645>
- Marrero-coto, J., & Coto-pérez, A. D. O. (2010). Mecanismos moleculares de resistencia a metales pesados en las bacterias y sus aplicaciones en la biorremediación. *Revista CENIC : Ciencias Biológicas*, 41(1), 67–78.
- Mejía, G. (2006). Aproximación teórica a la biosorción de metales pesados por medio de microorganismos. *Revista CES Medicina Veterinaria Y Zootecnia*, 1(1), 77–99. Retrieved from <https://www.redalyc.org/>

pdf/3214/321428096010.pdf

- Pardo, R., Herguedas, M., Barrado, E., & Vega, M. (2003). Biosorption of cadmium, copper, lead and zinc by inactive biomass of *Pseudomonas Putida*. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 376(1), 26–32. <https://doi.org/10.1007/s00216-003-1843-z>
- Peñafiel-Jaramillo, M. F., Torres-Navarrete, E. D., Barrera-Álvarez, A. E., Prieto-Encalada, H. G., Carriel, J. M., & Canchignia-Martínez, H. F. (2016). Producción de ácido indol-3-acético por *Pseudomonas veronii* R4 y formación de raíces en hojas de vid “Thompson seedless” in vitro. *Ciencia Y Tecnología*, 9(1), 31–36.
- Pócsi, I. (2011). Toxic Metal/Metalloid Tolerance in Fungi—A Biotechnology-Oriented Approach. In *Cellular Effects of Heavy Metals* (pp. 31–58). Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0428-2_2
- Puranik, P. R., Chabukswar, N. S., & Paknikar, K. M. (1995). Cadmium biosorption by *Streptomyces pimprina* waste biomass. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 43(6), 1118–1121. <https://doi.org/10.1007/BF00166935>
- Rajendran, P., Muthukrishnan, J., & Gunasekaran, P. (2003). Microbes in heavy metal remediation. *Indian Journal of Experimental Biology*, 41(9), 935–944.
- Samuelson, P., Wernérus, H., Svedberg, M., & Ståhl, S. (2000). Staphylococcal surface display of metal-binding polyhistidyl peptides. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(3), 1243–1248. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.3.1243-1248.2000>
- Sayyed, R. Z. (2019). Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Sustainable Stress Management Volume 2: Rhizobacteria in Biotic Stress Management. (S. N. Singapore, Ed.) (Vol. 2). Retrieved from <http://www.springer.com/series/14379>

- Selatnia, A., Bakhti, M. Z., Madani, A., Kertous, L., & Mansouri, Y. (2004). Biosorption of Cd^{2+} from aqueous solution by a NaOH-treated bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass. *Hydrometallurgy*, 75(1-4), 11-24. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2004.06.005>
- Sheng, X. F., & Xia, J. J. (2006). Improvement of rape (*Brassica napus*) plant growth and cadmium uptake by cadmium-resistant bacteria. *Chemosphere*, 64(6), 1036-1042. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.01.051>
- Singh, S. N., & Tripathi, R. D. (2015). *Environmental Bioremediation Technologies* (Vol. 3). Retrieved from <http://repositorio.unan.edu.ni/2986/1/5624.pdf>
- Tabak, H. H., Lens, P., Van Hullebusch, E. D., & Dejonghe, W. (2005). Developments in bioremediation of soils and sediments polluted with metals and radionuclides-1. Microbial processes and mechanisms affecting bioremediation of metal contamination and influencing metal toxicity and transport. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 4(3), 115-156. <https://doi.org/10.1007/s11157-005-2169-4>
- Toledo, M. (2016). Manejo de suelos ácidos de las zonas altas de Honduras.
- Umesh Ahuja, Pawan K Vohra, Des R Kashyap, & Rupinder Tewari. (2001). Adsorption of heavy metals (Pb^{2+} and Cd^{2+}) by free and immobilized biomass of *Acinetobacter anitratus*. *Indian Journal Microbiology*, 41, 275-279. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/229181473_Adsorption_of_heavy_metals_Pb2_and_Cd2_by_free_and_immobilized_biomass_of_Acinetobacter_anitratus
- Varjani, S. J., Kumar, A., Gnansounou, A. E., & Gurunathan, B. (2018). *Bioremediation: Applications for Environmental Protection and Management Energy, Environment, and Sustainability*. Retrieved

from <http://www.springer.com/series/15901>

- Vullo, D. L., Ceretti, H. M., Daniel, M. A., Ramírez, S. A. M., & Zalts, A. (2008). Cadmium, zinc and copper biosorption mediated by *Pseudomonas veronii* 2E. *Bioresource Technology*, 99(13), 5574–5581. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.10.060>
- Wu, B., Wang, Z., Zhao, Y., Gu, Y., Wang, Y., Yu, J., & Xu, H. (2019). The performance of biochar-microbe multiple biochemical material on bioremediation and soil micro-ecology in the cadmium aged soil. *Science of the Total Environment*, 686(24), 719–728. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.041>
- Xu, X., Huang, Q., Huang, Q., & Chen, W. (2012). Soil microbial augmentation by an EGFP-tagged *Pseudomonas putida* X4 to reduce phytoavailable cadmium. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 71, 55–60. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.03.006>
- Ziagova, M., Dimitriadis, G., Aslanidou, D., Papaioannou, X., Litopoulou Tzannetaki, E., & Liakopoulou-Kyriakides, M. (2007). Comparative study of Cd(II) and Cr(VI) biosorption on *Staphylococcus xylosus* and *Pseudomonas* sp. in single and binary mixtures. *Bioresource Technology*, 98(15), 2859–2865. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.09.043>



La “colección de guías sobre recomendaciones y buenas prácticas para la prevención y mitigación de la contaminación de cadmio” es el resultado del esfuerzo de diferentes actores que, bajo la coordinación del Ministerio de Agricultura y Ganadería, han rescatado y sistematizado conocimientos y buenas prácticas, generadas por investigadores y técnicos nacionales e internacionales, útiles para prevenir y mitigar la contaminación por cadmio en la cadena del cacao. Las publicaciones que componen esta colección han sido elaboradas, publicadas y difundidas gracias al apoyo de las siguientes instituciones y organizaciones:

www.agricultura.gob.ec



Proyecto
Cadenas de valor
inclusivas y sostenibles



giz
Deutsche Gesellschaft
für Internationale
Zusammenarbeit (GIZ) GmbH



Plataforma Multiagencia
Cacao 2030-2050



Maximizando Oportunidades
en Café y Cacao en las Américas



@AgriculturaEc



AgriculturaEcuador



agricultura.ec



/AgriculturaEcuador

Dirección: Av. Eloy Alfaro N30-350 y Av. Amazonas

Código postal: 170516 / Quito-Ecuador. Teléfono: 593-2 396-0100

ISBN: 978-9942-22-525-2



9789942225252