



FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

**Bacterias Biorremediadoras de Cadmio en Cultivo de Cacao
(*Theobroma Cacao*): Revisión Sistemática**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AMBIENTAL

AUTORES:

Ortega Ramos, Ever Dante (ORCID: 0000-0003-2040-1031)

Yauri Chocce, Edwin (ORCID: 0000-0002-0134-0635)

ASESOR:

Dr. Sernaque Auccahuasi, Fernando Antonio (ORCID: 0000-0003-1485-5854)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Calidad y Gestión de los Recursos Naturales

LIMA – PERÚ

2021

DEDICATORIA

La presente tesis dedico en especial a mis padres y hermanos quien me brindaron su apoyo, sus consejos y seguir adelante en todos los momentos quienes no dejaron de apoyarme para poder culminar el primer objetivo de mi vida profesional. **Ever Dante Ortega Ramos**

La presente tesis está dedicada a mis padres y mis hermanos, quienes me brindaron su apoyo y me motivaron en cada momento de mi preparación a seguir creciendo a nivel personal y profesional.

Edwin Yauri Chocce

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer a dios Por haberme dado la vida, salud, sabiduría las fuerzas mesarías y guiado, por permitir haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional. Por otro lado, agradezco a mis padres Manuela Ramos cadillo y Juan Ortega López por ser el pilar más importante de mi vida, por brindarme su amor y cariño por apoyarme incondicionalmente, por los consejos la motivación quien siempre tendrán mi agradecimiento infinito.

De igual forma quiero agradecer a todos los profesores de la escuela de Ingeniería Ambiental, a mis compañeros amigos en general por el apoyo para poder desarrollar y culminar este proyecto de investigación.

Ever Dante Ortega Ramos

Agradezco a Dios por brindarme la vida, a la universidad cesar vallejo particularmente a los profesores quienes estuvieron siempre apoyándome, mis compañeros que hemos interactuado de la manera más colectiva en esta etapa académica y a las empresas “transportes Lucciano, transportes Abdiel” que fueron mis centros de trabajo en donde me brindaron los horarios más flexibles.

A todos ellos mi agradecimiento infinito.

Edwin Yauri Chocce

ÌNDICE DE CONTENIDO

Caratula.....	i
dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Ìndice De Contenido.....	iv
Ìndice de tablas	v
Ìndice de gràficos	vi
Indice de figuras.....	vi
Resumen	viii
Abstract.....	ix
I. INTRODUCCIÒN	1
II. MARCO TEÒRICO	4
III. METODOLOGÌA	16
3.1 Tipo y diseño de investigaciòn.....	16
3.2. CategorÌa, subcategorÌa y matriz de categorizaciòn.....	16
3.3 Escenario de estudio.....	18
3.4 Participantes.....	18
3.5 Tècnicas e instrumentos de recopilaciòn de datos.....	18
3.6 Procedimiento.....	19
3.7 Rigor cientÌfico.....	20
3.8 Mètodos de anàlisis de informaciòn.....	21
3.9 Aspectos èticos.....	21
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÒN	22
V. CONCLUSIONES	30
VI. RECOMENDACIONES.....	31
REFERENCIAS	32
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°1: Proceso de contaminación del Cd en los cultivos de cacao

Tabla N° 2: Antecedentes de la biorremediación de cadmio en cultivos de cacao

Tabla N°3: Matriz de categorización

Tabla N° 4: Tipos de equipos usados en el muestreo de las bacterias biorremediadoras presentes en el cacao

Tabla N°5: Tipos de bacterias con mayor biorremediación de Cd en cultivos de cacao

Tabla N°6: Efectos que conllevan las altas tasas de Cd presentes en los cultivos de cacao

Tabla N°7: Correlaciones de Pearson entre el cadmio foliar y el crecimiento de la planta crecimiento de la planta

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N°1: Diferentes métodos para la remediación de suelos contaminados

Gráfico N°2: Procedimiento de recolección de datos

INDICE DE FIGURAS

Figura N°1: Proceso de contaminación del Cd en los cultivos de cacao

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

IARC: Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer

PGPB: Bacterias promotoras del crecimiento de las plantas

MINAGRI: Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego

RESUMEN

El presente estudio presentó como objetivo determinar a las bacterias biorremediadoras de cadmio en cultivo de cacao, así como describir los equipos usados en el muestreo de las bacterias biorremediadoras, analizar las bacterias consideradas como mayor biorremediadoras de cadmio y definir los efectos que conllevan las altas tasas de Cd en los cultivos de cacao; para lo cual se realizó el análisis y comparación de 20 literaturas, los cuales pasaron un proceso de selección para cumplir los requisitos establecidos; presentando:

Que los equipos más usados por los investigadores en el muestreo de las bacterias biorremediadoras son estándar de turbidez de mcfarland, recuento de placas, entre otros, siendo la principal finalidad enumerar la cantidad de microorganismos presentes en el suelo. Las bacterias consideradas como mayor biorremediadoras son las bacterias inoculadas (90%) y entre ellas las más utilizadas para biorremediar cultivos de cacao con cadmio son las cepas bacterianas *bacillus* y *pseudomonas*; presentando porcentajes de remoción de un 80 a 100%. Por último, los efectos que conllevan las altas tasas de cd se encuentran principalmente enfocados en los daños a las cosechas de cacao; siendo afectos la altura del cacao, el diámetro del tallo, la disminución del número de hojas, entre otros.

Palabras clave: Bacterias, Bacillum, biorremediación, cadmio, cultivos de cacao, cultivos agrícolas, cepas bacterianas.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the bioremediating bacteria of cadmium in cocoa cultivation, as well as to describe the equipment used in the sampling of bioremediating bacteria, to analyze the bacteria considered to be the greatest bioremediators of cadmium and to define the effects that high rates entail. of Cd in cocoa crops; for which the analysis and comparison of 20 literatures was carried out, which passed a selection process to meet the established requirements; presenting:

That the equipment most used by researchers in the sampling of bioremedial bacteria is the McFarland turbidity standard, plate count, among others, the main purpose being to enumerate the number of microorganisms present in the soil. The bacteria considered as the greatest bioremediators are the inoculated bacteria (90%) and among them the most used to bioremediate cocoa crops with cadmium are the bacterial strains bacillus and pseudomonas; presenting percentages of removal of 80 to 100%. Finally, the effects that high CD rates entail are mainly focused on damage to cocoa crops; being affected the height of the cocoa, the diameter of the stem, the decrease in the number of leaves, among others.

Key words: Bacteria, Bacillum, bioremediation, cadmium, cocoa crops, agricultural crops, bacterial strains.

I. INTRODUCCIÓN

Los metales pesados como el cadmio (Cd) son una preocupación mundial; Investigaciones recientes han concluido que están relacionados con los riesgos para la salud provocados por la ingesta de alimentos contaminados (De los santos Candelario R. et al., 2019, p.2). Aunque se ha investigado el contenido de Cd en los granos de cacao y sus derivados, no se dispone de información sobre la relación de la concentración de Cd con otros metales como el níquel (Ni) y el plomo (Pb) (Romero Estévez D. et al., 2019, p.1).

El cacao (*Theobroma cacao L.*) es una de las pocas especies conocidas del género *Theobroma* que genera beneficios económicos debido a su amplio comercio mundial (Bertoldi Daniela et al., 2016, p.1). Se cultiva principalmente en Asia, América Central, América del Sur y África Occidental (Assa A. et al., 2018, p.3).

La Organización Internacional del Cacao ha estimado en el "Boletín Trimestral de Estadísticas del Cacao, Vol. XLIV - Nº 3 - Año del cacao 2017/2018" que la producción mundial equivale a 4,645 millones de toneladas de cacao en grano (Arguello David et al., 2019, p.1).

Así también Perú es uno de los principales exportadores de granos de cacao orgánico del mundo; sin embargo, la acumulación de metales pesados en los granos de cacao representa un problema para la exportación de cacao en grano y la calidad del chocolate (Seneviratne Mihiri et al., 2017, p.2). Y de acuerdo con Arévalo Gardini Enrique, et al., (2017, p.1) a partir de 2019, la Comunidad Europea comenzará a limitar los niveles de cadmio para el chocolate que afectan la economía cacaotera del Perú.

Varios compuestos naturales que se encuentran en los granos de cacao y sus propiedades han demostrado que el consumo moderado de cacao puede ser beneficioso para la salud humana (Arévalo Gardini Enrique et al., 2016, p.2). Los granos de cacao tienen mayores niveles de antioxidantes que el té verde y el vino tinto (ICCO, 2018, p.1). Además, la alta presencia de antioxidantes en el cacao y el contenido de flavonoides en los granos puede tener efectos anticancerígenos y reducir el número de radicales libres implicados en enfermedades cardiovasculares, hepáticas y autoinmunes (Albarracín Heidi S. et al., 2019, p.4).

Sin embargo, la acumulación de metales pesados como el níquel (Ni), el cadmio (Cd) y el plomo (Pb) en los granos de cacao se ha convertido en un problema para la calidad de los derivados del cacao, incluidos el cacao en grano, la manteca de cacao, el polvo de cacao y productos de chocolate, y por tanto ha empezado a afectar a su exportación (Kruszewski Bartosz et al., 2018, p.1).

Según la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC), el Cd está clasificado como cancerígeno para los seres humanos (Grupo 1), mientras que el Ni y el Pb están clasificados como posiblemente cancerígenos para los seres humanos (Grupo 2B) (IARC, 2019, p.1). El consumo de alimentos con alto contenido de Cd podría producir diversas enfermedades como disfunción tubular renal; cálculos renales alteración del metabolismo del calcio; y esqueléticas, endocrinas, reproductivos y respiratorios (FAO, OMS, 2016, p.2).

Por lo tanto, es muy importante recuperar o descontaminar los suelos potencialmente contaminados con metales tóxicos, y la utilización de microorganismos es una de las tecnologías disponibles (Bhagat Neeta et al., 2016, p.1). Algunas bacterias poseen mecanismos de resistencia que les permiten hacer frente a altas concentraciones de MTPs (Deomedesse Guilherme et al., 2017, p.1). Por lo que pueden utilizarse como agentes absorbentes y adsorbentes agentes para eliminar contaminantes que están codificados por genes cromosómicos (Ojuederie Omena B. et al., 2017, p.4).

La capacidad de los microorganismos para convertir las sustancias tóxicas en compuestos menos tóxicos en compuestos menos nocivos, o para facilitar su eliminación de un lugar base de un proceso conocido como biorremediación (Chandrangsu Pete et al., 2017, p.2). La fitorremediación es una técnica de biorremediación por la que se utilizan plantas para eliminar los PTM del suelo (Kapetanovic Ronan et al., 2016, p.1). Esta técnica, combinada con el uso de bacterias rizosféricas, puede estimular las actividades de crecimiento de las plantas a través de la síntesis de hormonas promotoras del crecimiento (auxinas, particularmente el ácido indol acético, IAA), la solubilización de fosfatos y otros mecanismos directos o indirectos (Korshunov Sergey et al., 2016, p.2).

Debido a ello, la gestión del suelo con fertilizantes puede modificar las propiedades químicas, bioquímicas y biológicas del suelo, incluida la concentración de

oligoelementos como cadmio (Cd), cromo (Cr) y níquel (Ni) (Minari Guilherme D. et al., 2020, p.1).

En base a lo expuesto se plantea el siguiente problema general: ¿Cuáles son las bacterias biorremediadoras de cadmio en cultivo de cacao? Y los siguientes problemas específicos:

- ¿Cuáles son los equipos usados en el muestreo de las bacterias biorremediadoras presentes en los cultivos de cacao?
- ¿Cuáles son las bacterias consideradas como mayor biorremediadoras de cadmio en cultivos de cacao?
- ¿Cuáles son los efectos que conllevan las altas tasas de cadmio (Cd) presentes en los cultivos de cacao?

Además, se expresó como objetivo general de la investigación: Determinar a las bacterias biorremediadoras de cadmio en cultivo de cacao y como objetivos específicos:

- Describir los equipos usados en el muestreo de las bacterias biorremediadoras presentes en los cultivos de cacao.
- Analizar las bacterias consideradas como mayor biorremediadoras de cadmio en cultivos de cacao.
- Definir los efectos que conllevan las altas tasas de cadmio (Cd) presentes en los cultivos de cacao

El cadmio (Cd) es uno de los metales pesados más tóxicos y contaminantes en diversos recursos y debido a ello las plantas se han convertido en una de las fuentes de almacenamiento, llegando a contaminar diversos cultivos, presentando así niveles elevados de cadmio (Cd) en los cultivos de cacao en América Latina.

Por tal motivo, este estudio se justifica teóricamente debido a que pretende conglomerar diversos estudios realizados a nivel nacional e internacional acerca de las bacterias biorremediadoras de cadmio y profundizar en su aplicación en los cultivos de cacao, brindando teóricamente información actualizada para que pueda ser utilizada y aplicada por futuros investigadores en otros campos ampliando el ámbito de las bacterias biorremediadoras.

II. MARCO TEÓRICO

Este cultivo tiene una gran demanda para la fabricación de licor de cacao la manteca de cacao, el chocolate, etc. Y el chocolate se ha atribuido a la consecución de una salud y un desarrollo humanos óptimos debido a su alto contenido de flavonoides que son cruciales para reducir el riesgo o retrasar el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, cáncer y otras enfermedades relacionadas con la edad (Beg Mohd Shavez et al., 2017, p.1). En Perú las plantaciones de cacao han aumentado considerablemente; y la superficie cultivada actualmente ha alcanzado las 107.000 ha con una producción total de cacao en grano de 82.000 tm/año (MINAGRI, 2016, p.1).

Pero el cadmio ha recibido atención en la última década debido a su importancia en la calidad y seguridad de los alimentos y en la salud humana, ya que el consumo de alimentos con alto contenido de Cd podría producir disfunción tubular renal, formación de cálculos renales, alteración del metabolismo del calcio y defectos esqueléticos, endocrinos, reproductivos y respiratorios (Arévalo gardini et al., 2017, p.1).

En general, América Latina posee mayores niveles de metales pesados en los granos de cacao, especialmente Cd y Pb, en comparación con otros productores del mundo como África Occidental (Bertoldi et al., 2016, p.2). La presencia de metales pesados en los granos de cacao supone una amenaza para los productores de cacao, ya que los altos contenidos de metales pesados podrían afectar a la exportación de cacao en grano (Jan Sumira Parray J., 2016, p.1).

La detección de Cd en alimentos a base de cacao en diferentes países/regiones se muestra es una grave situación que se ha intensificada por la detección de Cd en cacao y chocolates, prácticamente en todos los rincones del mundo como se muestra en la Tabla N°1:

Muestra de alimentos	Número de muestras	de	Porcentaje de muestras que contienen Cd	Concentración máxima (mg kg ⁻¹)
cacao	12		17	0.001
cacao	2115		88	2.075
chocolate	3810		63	0.470
cacao	107		94	5.239

cacao	74	59	0.490
cacao	20	5	0.001
cacao	1284	85	1327.0
cacao	NA	NA	1.75
cacao	3505	100	0.0001-1.8
Chocolates con $\geq 50\%$ de sólidos de cacao	104	98-100	0.002-0.86
Chocolates con $\leq 50\%$ y $\geq 30\%$ de sólidos de cacao	205	98-100	0.01-0.58
Chocolates con $\leq 30\%$ de sólidos de cacao	169	98-100	0.00-0.9
Cacao en polvo	82	98-100	0.02-1.26
Chocolates que contienen $\geq 50\%$ de cacao	133	98-100	0.03-1.56
Chocolates a base de cacao	23	NA	0.01-2.730
Chocolates con leche	22	NA	0.1-0.852
Caramelos a base de azúcar	24	NA	0.001-0.027
Chocolates a base de cacao	20	NA	0.353
Chocolates con leche	12	NA	0.123
Chocolates de cuatro marcas diferentes	NA	NA	0.065-0.141
Chocolates oscuros, con leche y con trozos de leche	16	NA	0.26-0.42

Tabla N°1: Proceso de contaminación del Cd en los cultivos de cacao

Fuente: World 2019

Los metales pesados en los granos de cacao se definen como elementos con una densidad superior a 5 g cm^{-3} donde el cobre, el Fe, Mn y Zn en bajas concentraciones son esenciales para los procesos bioquímicos y fisiológicos de las plantas, pero el As, Cd y Pb no tienen ningún papel conocido en las plantas (Maddela Naga et al., 2020, p.3).

Debido a ello, la acumulación de metales pesados en las plantas se ve afectada, además por varios factores como el pH, el contenido de materia orgánica y la textura del suelo, el genotipo de la planta y el contenido de metales pesados en el medio de crecimiento (Arévalo Gardini Enrique et al., 2016, p.1).

Pero, es posible que las plantas no muestren ningún síntoma de toxicidad, sin embargo, pueden acumular Cd en sus partes comestibles por encima de los niveles

permitidos para los humanos (Wang Peng et al., 2019, p.1). Luego, cuando estas plantas ingresan a la cadena alimentaria son altamente peligrosas y pueden causar varios problemas de salud (Hamid Yasir et al., 2019, p.1).

Por ejemplo, se encontró que una baja contaminación con Cd de $1,1 \text{ mg kg}^{-1}$ de suelo no afecta el crecimiento de las plantas y las semillas de las plantas en cinco cultivares diferentes de soja; sin embargo, a una concentración tan baja, las plantas podrían acumular Cd más allá de los niveles máximos permitidos en la soja (Wang Hao Engstrom A., et al., 2017, p.4).

Es también así el caso de las plantaciones de cacao, donde el desarrollo de clones de cacao con una capacidad innata de absorber niveles bajos de Cd de los suelos y la investigación de Cd-cacao en sitios específicos podrían contribuir a limitar la transferencia trófica de Cd (Barraza Fiorella et al., 2017, p.1). Como se observa en la Figura N°1 la transferencia trófica del Cd desde el suelo, acumulación en los granos de cacao, en la cadena alimentaria hasta llegar en los alimentos generados a base de cacao.

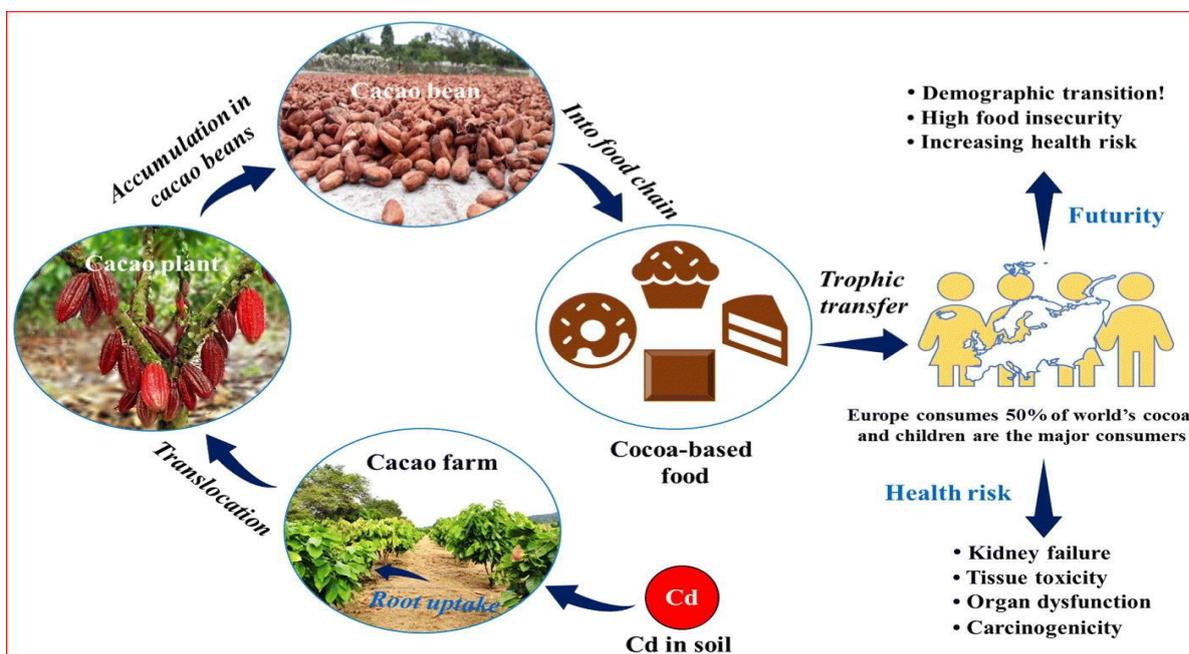


Figura N°1: Proceso de contaminación del Cd en los cultivos de cacao

Fuente: Maddela Naga R. et al., 2020

La acumulación de metales pesados en las plantas varía según los elementos y las especies vegetales (Woldetsadik Desta et al., 2016, p.1). Siendo el cadmio entre los otros metales pesados uno de los elementos más móviles con un factor de

bioconcentración en las plantas mayor que el de algunos nutrientes esenciales, y se acumula principalmente en los brotes, mientras que el Pb se acumula principalmente en raíces (Chavez E. et al., 2016, p.2).

Las interacciones elementales influyen en la acumulación de metales pesados en brotes y frutos, y las plantas con niveles adecuados de nutrientes esenciales suelen contener menos metales pesados como Cd (Zhu Hanhua et al., 2016, p.3). Sin embargo, las interacciones entre estos elementos podrían conducir a una mayor acumulación de metales pesados en las plantas (Zhang H. y Reynold M., 2019, p.1).

Las especies y variedades de plantas y las prácticas agrícolas no pueden ser ignoradas en la movilidad del Cd; por ejemplo, en México, el uso de aguas residuales crudas contaminadas causó niveles elevados de acumulación de Cd (1,9 mg kg⁻¹) en el suelo, y la mayor fracción de este Cd era fito-disponible (Yang Yang et al., 2016). Además, se encontró que los cultivos vegetales expuestos a diferentes fuentes como las aguas residuales municipales y agrícolas contenían niveles más altos de ciertos metales pesados, incluyendo el Cd (Ismael Marwa A. et al., 2019, p.1).

Así también, el uso indiscriminado de fertilizantes, pesticidas, riego de cultivos con aguas residuales no tratadas son las principales fuentes de contribución de Cd a los suelos superficiales en Ecuador y son en parte responsables de la contaminación del cacao en el país (Wang Xiangqin et al., 2019, p.2).

La acumulación progresiva de Cd, con una vida media de 10 a 30 años, en el cuerpo humano, incluso a niveles ultratrazas, puede provocar graves complicaciones de salud (De Araújo Romária P. et al. 2017, p.4). Si el Cd se acumula en la cadena alimentaria a través de los productos del cacao, las consecuencias en los niños, que son los principales consumidores de chocolates, incluyen morbilidad y mortalidad que pueden resultar en una transición demográfica significativa para el año 2050 (Karpagalakshmi S. et al., 2019, p.1).

Según la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) el Cd es el tercer contaminante principal de mayor peligro para el medio ambiente después del mercurio y el plomo y se considera el único metal que presenta riesgos para la salud tanto de los seres humanos como de los animales en concentraciones de tejido vegetal que generalmente no son fitotóxicas (Ismael Marwa A. et al., 2019, p.2).

Los efectos adversos para la salud del cuerpo humano, especialmente los riñones y la acumulación renal de Cd se debe a la capacidad de los riñones para producir metalotioneína, que tiene una alta afinidad para unirse al Cd (Li Xiong et al., 2016, p.2). Además de los riñones, el otro órgano objetivo del Cd es el hígado, donde la acumulación de Cd en estos dos órganos representa del 50 al 70% del Cd total en el cuerpo humano (Vatamaniuk Olena, 2017, p.1).

Dado que la alta concentración de metales pesados en los granos de cacao amenaza la seguridad alimentaria y el desarrollo económico, existe una gran necesidad de información sobre las concentraciones de metales pesados en este cultivo (Zhou Jiangtao et al., 2016, p.3).

Dicho ello, cabe señalar que la biorremediación con microorganismos es una técnica prometedora para remediar suelos contaminados con metales pesados (Peng Weihua et al., 2018, p.1).

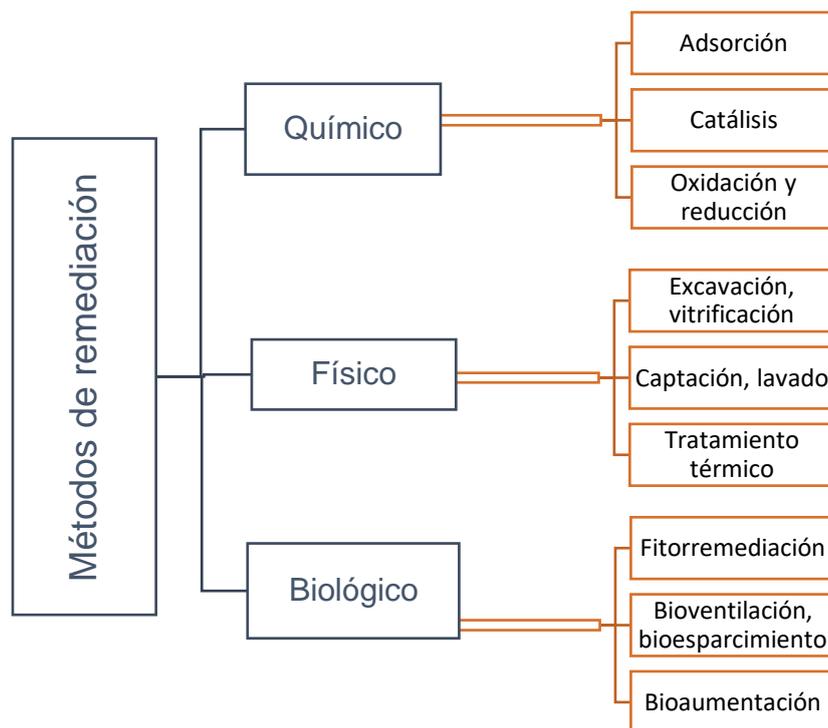


Gráfico N°1: Diferentes métodos para la remediación de suelos contaminados

Fuente: Sanghvi G. et al., 2020

La biorremediación es la capacidad de los microorganismos para convertir las sustancias tóxicas en compuestos menos dañinos, o para facilitar su eliminación de un lugar, constituye la base de un proceso conocido como biorremediación (Jean julie et al., 2018, p.2). Así también, la fitorremediación es una técnica de biorremediación en la que se utilizan plantas para eliminar los PTM (metales potencialmente tóxicos) del suelo (Shen Zhengtao et al., 2018, p.1). Como se observa en el gráfico N°1 el esquema de las técnicas básicas de biorremediación.

En su mayoría, el proceso de biorremediación depende de la eficiencia de degradación de los microbios cultivados/aislados (Ojuederie O. y Babalola O., 2017, p.1). En general, se ha comprobado que los microbios autóctonos tienen una mayor eficiencia de degradación que los microbios cultivados/aislados in vitro o condiciones controladas de laboratorio (Liu Lina et al., 2019, p.4).

Los organismos que han estado expuestos continuamente al contaminante se familiarizan y desarrollan la capacidad de utilizar este contaminante como fuente de energía o tienen una adaptación genética para degradar el contaminante (Sanghvi Gaurav et al., 2020, p.214). Además, el plazo para remediar este contaminante disminuye considerablemente; en realidad, los microorganismos que se encuentran en los lugares contaminados son los degradadores más activos (Rucká Lenka et al., 2017, p.5).

Entre la diversidad de microbios, las bacterias son las especies dominantes que se encuentran en la naturaleza, lo que las convierte en un excelente candidato para ser para la biodegradación/biorremediación (Mehrotra Tihi et al., 2021, p.1). Las pocas características especiales como las vías metabólicas y la presencia de toxinas en algunas especies, ayudan a las bacterias a degradar/descomponer fácilmente el sustrato (contaminante), cuando se les proporcionan condiciones favorables de crecimiento (Mehrotra Tihi et al., 2020, p.2). Además, las bacterias poseen numerosos mecanismos como biosorción, reducción, eflujo o bioacumulación, de forma natural o adquirida para contrarrestar la toxicidad (Xue Jianliang et al., 2020, p.1).

Las bacterias pueden incluso funcionar bien tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas y técnicas de biorremediación como la fitorremdiación combinada con el uso de bacterias rizosféricas, puede estimular las actividades de crecimiento de las plantas a través de la síntesis de hormonas promotoras del crecimiento (auxinas,

particularmente el ácido indol acético, IAA), la solubilización de fosfatos y otros mecanismos directos o indirectos (Kohzadi Shadi et al., 2019, p.3).

De acuerdo a lo expuesto anteriormente se detalla los 16 antecedentes más relevantes con respecto a la aplicación e capas bacterianas y su influencia en la biorremediación de cadmio en cultivo de cacao.

Tabla N° 2: Antecedentes de la biorremediación de cadmio en cultivos de cacao

Autor	Objetivo	Metodología	Resultado
Minari Guilherme D. et al., 2020	Evaluar aislamientos bacterianos de suelos contaminados con Cd, Cr y Ni para determinar algunas características para su uso en la biorremediación.	Los aislamientos (592) se obtuvieron de muestras de suelo (19) de tres áreas utilizadas en tres sistemas de cultivo de maíz: labranza cero y labranza convencional con aplicación de fertilizantes minerales; labranza mínima con aplicación de lodos de depuradora.	Cuatro aislamientos fueron resistentes a Cr 3+ (3,06 mmol dm ⁻³) y Cd 2+ (2,92 mmol dm ⁻³). Un aislado fue resistente a los tres metales a 0,95 mmol dm ⁻³ . Todos los aislamientos se desarrollaron en un medio de Cd 2+ , Cr 3+ y Ni 2+ a 0,5 mmol dm ⁻³ , y eliminaron Cd 2+ (17–33%) y Cr 6+ (60–70%).
Alsutan Wael et al., 2019	Este trabajo se llevó a cabo para aislar, caracterizar y cribar endófitos bacterianos de plantas de cacao para sus actividades de control biológico. También se investigaron sus mecanismos de acción, así como su capacidad para reducir la podredumbre de la mazorca negra.	En total, se obtuvieron 103 aislamientos bacterianos endofíticos de tejidos de cacao sanos (hojas, ramas y frutos) de siete estados de Malasia en 2016 y se analizaron in vitro para determinar su antagonismo contra <i>P. palmivora</i> .Se seleccionaron los dos mejores aislados AS1 y AS2 con más del 80% de inhibición del crecimiento radial (PIRG) para experimentos posteriores.	Los compuestos volátiles bioactivos se identificaron mediante cromatografía de gases y espectrometría de masas (GCMS). Los principales compuestos presentes en el extracto de <i>P. aeruginosa</i> se identificaron como eicosano (9,11%), hexatriacontano (6,87%), tetracontano (5,17%), ácido trans-2-decenoico (17,04%) y ácido 1-fenantrenocarboxílico, 1,2,3, 4,4a, 9,10,10a-octahidro-1,4a-dimetil-7- (1-metiletil) (3,60%). En <i>C. proteolyticum</i> extracto, los compuestos principales se identificaron como Eicosano (11,29%), Tetratetracontano (10,82%), Heneicosano (10,78%), Hexatriacontano (9,04%) y Fenol, 2,4-bis (1,1-dimetiletil) (5,92%). La eficacia de <i>P. aeruginosa</i> y <i>C. proteolyticum</i> en la reducción de la lesión de la mazorca negra se confirmó en las mazorcas de cacao desprendidas con una

			inhibición del 100% para ambos aislamientos.
Peng Weihua et al., 2018	Determinar la biorremediación de <i>Rhodobacter sphaeroides</i> en suelo contaminado con cadmio y zinc	Biorremediar las fases intercambiables de Cd y Zn en el suelo.	Después de la biorremediación, las fases intercambiables de Cd y Zn en el suelo se redujeron hasta en un 30,7% y un 100,0%, respectivamente; los niveles de Cd en la hoja y la raíz del trigo se redujeron hasta en un 62,3% y 47,2%, respectivamente.
Romero Estévez D. et al., 2019	Determinar una posible relación entre las concentraciones de Cd, Ni y Pb en granos de cacao de nueve provincias ecuatorianas.	Se prepararon seis y tres muestras de cada provincia para ser analizadas. Se prepararon tres fortificaciones de cada muestra como control de calidad para cada técnica. Todas las muestras fueron molidas y homogeneizadas.	El Ni fue el más abundante alcanzando concentraciones entre 1.462 y 8.528 mg/kg (promedio 3.930 mg/kg), seguido por Pb entre 0.502 y 1.966 mg kg ⁻¹ (promedio 1.432 mg/kg) y Cd entre 0,267 y 1,715 mg/kg (media 0,753 mg/kg).
Akrofi A. y et al., 2017	Determinar cómo los microorganismos beneficiosos pueden explotarse fácilmente para el control biológico de los patógenos de las mazorcas de cacao, ya que ambos tienen nichos ecológicos similares.	La población de bacterias en las vainas de tres progenies de cacao, SCA 6, T85 / 799 e IFC 5, se determinó utilizando el método de recuento en placa en agar nutritivo, agar selectivo de <i>Pseudomonas</i> y agar de soja tréptico.	Trece de los diecisiete aislamientos inhibieron significativamente ($p < 0,001$) el crecimiento de micelios de <i>P. palmivora</i> en placas. Análisis molecular de secuencias de dos de los aislamientos de <i>Pseudomonas</i> con mejor rendimiento, codificados 96 y 97, y agrupados como <i>Pseudomonas fluorescentesspp.</i> 1, reveló una similitud del 100% con <i>Pseudomonas putida</i> .
Ma Hang et al., 2020	Biorremediar suelos agrícolas de cultivos contaminados con Cd utilizando biocarbón (BC) y bacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPB)	Se aisló una nueva cepa TZ5 de PGPB inmovilizadora de Cd basándose en el potencial de inmovilización de Cd y los rasgos de promoción del crecimiento vegetal (PGP).	El experimento de maceta indicó que el porcentaje de Cd extraíble con ácido acético en los tratamientos con BCM disminuyó significativamente en un 11,34% que el control. Mientras tanto, BCM aumentó significativamente el peso seco del raigrás en un 77,78% y disminuyó la concentración de Cd del raigrás en un 48,49%, en comparación con el control.
Li Weila et al., 2021	Demostrar el potencial de la bacteria <i>Bacillus sp.</i> Como portador	La cepa bacteriana <i>ureolítica Bacillus sp.</i> aislado de un suelo contaminado con	Los análisis integrados a escala de laboratorio enfatizaron las ventajas de BCM por la actividad máxima

	fúngico para la inmovilización de cadmio en suelos agrícolas.	metales adquiridos previamente en Guiyu, China, estaba bien adherido a las superficies del polvo de mazorca de maíz, lo que indica el papel del portador como un refugio duradero para las células bacterianas.	de ureasa del suelo (hasta 3.440 U / mg y aumentada en un 214% en 28 días) y la mayor tasa de inmovilización de Cd (el Cd intercambiable disminuyó en un 68,54%), entre todos los tratamientos.
Anusha P. y Natarajan D., 2020	El objetivo del estudio fue determinar la eficiencia de remediación de cadmio de las bacterias nativas <i>B.cereusen</i> laboratorio y estudio de remediación de campo.	Demostración de concentración mínima inhibitoria de metales, el aislado fue altamente resistente a los iones de plomo seguido de otros metales de prueba y también altamente resistente a múltiples antibióticos. Se determinó el pH óptimo (pH 7) y la temperatura (35 ° C) para el crecimiento bacteriano.	Se encontró que la eficiencia de biorremediación del método de cultivo por lotes por la cepa fue del 91,98% (Cd), 79,9% (Cr), 97,17% (Pb), 77,44% (Zn), 81,6% (Fe), 62,8% (Mn) y 60,92 % (Mg) respectivamente.
Kousa Saman H. et al., 2020	Realizar la caracterización molecular y seguidas de su producción de ácido indol acético (IAA), solubilidad de fosfato, actividad antibiosis de las bacterias PGPR en suelos contaminados con metales pesados.	Se recolectaron 162 muestras de suelo de la rizosfera del cacao para aislar cepas de <i>Bacillus subtilis</i> utilizando medio de agar Mössel con una yema de huevo adicional e identificadas mediante la secuenciación del gen <i>ytCP</i> .	Se aislaron e identificaron cincuenta (50) cepas de <i>B. subtilis</i> utilizando el gen <i>ytCP</i> . El noventa por ciento (90%) de las cepas pudieron formar una biopelícula. Todos los aislamientos produjeron un IAA. Cuarenta (40 (80%)) de <i>B. subtilis</i> se solubilizaron con fosfato con un índice de solubilización de fosfato (PSI) de 0 a 97,33 ± 0,70%. De todas las cepas de <i>B. subtilis</i> , 45 (90%) tienen el gen <i>srFAA</i> , 19 (38%) tienen el gen <i>fenD</i> y 12 (24%) tienen el gen <i>ituC</i> . Las cepas de <i>B. subtilis</i> de la rizosfera del cacao serían beneficiosas para la producción agrícola en niveles elevados con Cd por sus actividades de PGPR.
Alves Júnior Miguel et al., 2021	El objetivo de este trabajo fue caracterizar funcional y morfológicamente bacterias endofíticas aisladas de árboles de cacao (<i>Theobroma</i>	Se obtuvieron un total de 197 aislamientos de bacterias endofíticas de hojas y raíces de plantas de cacao con diferentes sistemas de producción y en diferentes épocas del año. La caracterización de los grupos	La mayor cantidad de bacterias endofíticas se aisló de la raíz (95,9%), en la época seca. Las actividades más expresivas en cuanto al índice enzimático fueron amilolítica (71,9%), proteolítica (70,2%) y fijadora de nitrógeno (38,6%), respectivamente. El análisis de similitud formó dos grupos

	cacao.) y evaluar su potencial antagonista frente a fitopatógenos.	funcionales consistió en actividad proteolítica, amilolítica y celulolítica y capacidad para fijar nitrógeno y solubilizar fosfato. La diversidad morfológica se evaluó principalmente de acuerdo con los siguientes parámetros: forma, color, tamaño y elevación de la colonia. Se utilizaron trece aislamientos de bacterias endofíticas, seleccionados mediante análisis de conglomerados, para evaluar el potencial antagonista en ensayos emparejados contra cuatro especies de hongos fitopatógenos.	con los aislados CS R 2.4 y CS R 2.25 que exhibían una similitud del 100%.
Zhou Xifei et al., 2021	Evaluar el potencial de aplicación de <i>Comamonas testosteroni</i> ZG2 para cultivos en suelos contaminados con níquel y cadmio	Se aisló una cepa bacteriana resistente al níquel-cadmio, que no solo puede producir actividad ureasa para inducir la precipitación de carbonato, sino también ácido indol-3-acético (IAA) y sideróforos, del suelo contaminado con metales pesados.	En los experimentos de tratamiento del suelo, la cepa ZG2 podría aumentar el pH del suelo, reducir el contenido de Ni y Cd disponibles en el suelo y las partes comestibles de pakchoi, aumentar la biomasa de pakchoi, y también promueve el crecimiento y desarrollo del sistema de raíces.
Yu Ying et al., 2022	Una bacteria, <i>Alishewanella</i> sp. WH16-1-MT, se diseñó para expresar metalotioneína en la superficie celular.	En comparación con la cepa parental WH16-1, Cd 2+La eficiencia de adsorción de WH16-1-MT en el medio aumentó de 1,2 a 2,6 mg / kg de peso seco. A continuación, se incubó la cepa WH16-1-MT con arroz en un suelo de arroz moderadamente contaminado con Cd .	La inoculación con WH16-1-MT redujo la biodisponibilidad de Cd en el suelo, con un aumento de la proporción de Cd total en estados oxidables y residuales de 29% a 32%. El análisis del microbioma demostró que la adición de WH16-1-MT no alteró significativamente la abundancia bacteriana original y la estructura de la comunidad en el suelo.
Laslo Vasile et al., 2022	El objetivo principal de nuestro estudio fue desarrollar un diseño experimental novedoso para la	El diseño experimental se desarrolló en dos pasos. En el primer paso se realizó la bio-síntesis, caracterización morfológica y química de nanopartículas de	La eficiencia de la bioabsorción de Cd por LAB estuvo en el rango 43.78% - 50.87%, la relación de 1: 2 bacterias del ácido láctico (LAB) / SeNPs mostró los mejores resultados para

	eliminación de cadmio (Cd) utilizando <i>L. casei</i> o <i>L. fermentum</i> y nanopartículas de selenio exógenas.	selenio (SeNPs) producidas por <i>L. casei</i> . En el siguiente paso, <i>L. casei</i> y <i>L. fermentum</i> se utilizaron para evidenciar su capacidad de unión al Cd, destacando el papel de los SeNP contra la toxicidad inducida por Cd.	ambas bacterias. Se demostró el efecto sinérgico de SeNP biogénicos y LAB contra la toxicidad del Cd.
Zhang Jun et al., 2021	Medir la eficiencia de la cepa bacteriana alcalinizante para la reducción de la disponibilidad y acumulación de cadmio en cultivos.	Se aisló una cepa bacteriana alcalinizante y resistente al Cd XT-4 de un suelo contaminado con Cd y evaluamos su aplicación potencial en la biorremediación de Cd. Con base en sus características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas, junto con el análisis de la secuencia del gen 16S rRNA, la cepa XT-4 fue identificada como miembro del <i>Bacillus</i> género.	La inoculación aumentó el pH de la rizosfera, disminuyó el Cd extraíble con CaCl ₂ en el suelo y disminuyó la concentración de Cd en la parte comestible de Pak choi en un 28–40%.
Lin Xiaoyan et al., 2016	Evaluar la bacterias resistentes al cadmio y su potencial para reducir la acumulación de cadmio en cultivos agrícolas.	Se aislaron y evaluaron tres bacterias resistentes al Cd para su posible aplicación en la biorremediación del Cd. Basándose en sus características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas, junto con los análisis de la secuencia del gen del ADNr 16S, se identificaron las bacterias como <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Delftia tsuruhatensis</i> .	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> mostró una tolerancia muy alta a los metales, especialmente Cd (2200 mg / L), Zn (1800 mg / L) y Pb (1200 mg / L), y se cree que es una bacteria resistente a múltiples metales.
Etminani F. y Harighi B., 2018	Aislar e identificar bacterias endófitas con actividad promotora del crecimiento vegetal y potencial de control	Se recolectaron muestras de hojas y tallos de árboles de pistacho silvestres sanos (<i>Pistacia atlantica</i> L.) de varios lugares de las regiones de Baneh y Marivan,	los aislamientos se identificaron como bacterias pertenecientes a <i>Pseudomonas</i> , <i>Stenotrophomonas</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Pantoea</i> y <i>Serratia</i> . género. Se evaluó la capacidad de estos aislados para la producción de

	<p>biológico de árboles de pistacho silvestres</p>	<p>Irán. En total, se aislaron 61 bacterias endofíticas y se agruparon según propiedades fenotípicas. Diez aislados seleccionados de cada grupo se identificaron adicionalmente mediante secuenciación parcial del gen de ARNr 16S.</p>	<p>fitohormonas como auxina y giberelina, producción de sideróforos, solubilización de fosfatos, fijación de nitrógeno atmosférico, producción de proteasas y cianuro de hidrógeno.</p>
--	--	---	---

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación

El presente estudio tiene como metodología una investigación cualitativa, de tipo aplicada; ya que se va a realizar el estudio de diversas investigaciones para resolver una problemática mediante el enriquecimiento de los conocimientos obtenidos por los estudios realizados de estos investigadores.

De acuerdo con Vargas, (2009, p. 159), la investigación cualitativa se sumerge en el campo y ahonda en los contextos de investigación que no son artificiales, son naturales. Se explica así también por Veland, Siri, et al. (2018, p.7) que la investigación tipo aplicada consiste sobre todo en determinar la eficacia de las soluciones de un problema. Y es empleado por la búsqueda de informar como las bacterias interactúan en la biorremediación de cadmio en cultivos de cacao; esto en base a diversas investigaciones a nivel mundial Valderrama, (2013, p.38).

Además, el diseño planteado es la narrativa de tópico; de acuerdo con Rocha (2015, pp. 265-266), los investigadores utilizan el análisis narrativo para comprender cómo los participantes de la investigación construyen la historia y la narrativa a partir de su propia experiencia personal. Eso significa que hay una doble capa de interpretación en el análisis narrativo; primero, los participantes de la investigación interpretan sus propias vidas a través de la narrativa, luego el investigador interpreta la construcción de esa narrativa. Las narrativas pueden derivarse de revistas, cartas, conversaciones, autobiografías, transcripciones de entrevistas en profundidad, grupos focales u otros tipos de investigación narrativa cualitativa (Facal, 2015 p. 6), y de acuerdo al diseño del presente estudio se toman en cuenta únicamente artículos científicos que traten y se encuentren enfocados en las bacterias biorremediadoras de cadmio en cultivo de cacao.

3.2. Categoría, subcategoría y matriz de categorización

Tabla N°3: Matriz de categorización

Objetivo específico	Problema específico	Categoría	Sub categoría	Criterio 1	Criterio 2
Describir los equipos usados en el muestreo de las bacterias biorremediadoras presentes en los cultivos de cacao.	¿Cuáles son los equipos usados en el muestreo de las bacterias biorremediadoras presentes en los cultivos de cacao?	Tipo de muestreo de las bacterias biorremediadoras presentes en los cultivos de cacao (Karpagalakshmi S. et al., 2019, p.1)	<ul style="list-style-type: none"> • Prueba de tinción de Gram • Caracterización morfológica (De Araújo Romária P. et al. 2017, p.4)	De acuerdo a la diversidad de poblaciones bacterianas	De acuerdo a la caracterización morfofisiológica y genética de bacterias endofíticas aisladas
Analizar las bacterias consideradas como mayor biorremediadoras de cadmio en cultivos de cacao.	¿Cuáles son las bacterias consideradas como mayor biorremediadoras de cadmio en cultivos de cacao?	Tipos de bacterias con mayor biorremediación de cadmio en cultivos de cacao (Zhu Hanhua et al., 2016, p.3)	<ul style="list-style-type: none"> • Bacterias naturales • Bacterias inocuas (Zhang H. y Reynold M., 2019, p.1)	De acuerdo a la cantidad de veces empleado	De acuerdo al porcentaje de inhibición
Definir los efectos que conllevan las altas tasas de Cd presentes en los cultivos de cacao	¿Cuáles son los efectos que conllevan las altas tasas de Cd presentes en los cultivos de cacao?	Efectos de altos niveles de Cd en cultivos de cacao (Maddela Naga R. et al., 2020, p.1)	<ul style="list-style-type: none"> • Amenaza en la salud humana • Amenaza en la economía (Li Xiong et al., 2016, p.2)	De acuerdo al concentración del iones metálico presente	De acuerdo al tiempo presente en el cultivo de cacao

Elaboración propia

3.3. Escenario de estudio

Al ser este estudio una revisión sistemática de diversas literaturas científicas se toma como escenario de estudio a los laboratorios y lugares de campos en los que los investigadores realizaron sus análisis y toma de muestras para el estudio práctica; siendo ellos escenarios encontrados en los artículos científicos extraídos de diversas plataformas y portales web a nivel nacional e internacional.

3.4. Participantes

Los participantes que se encuentran involucrados en el desarrollo del presente estudio son las páginas web institucionales y científicas que nos permitieron extraer las diversas literaturas utilizadas para añadir al estudio; siendo estos participantes páginas indizadas como: SpringerLink, sciencedirect, PubMed.

3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La técnica empleada en este estudio es el análisis documental empleando como instrumento de recolección de datos la ficha de análisis de contenido.

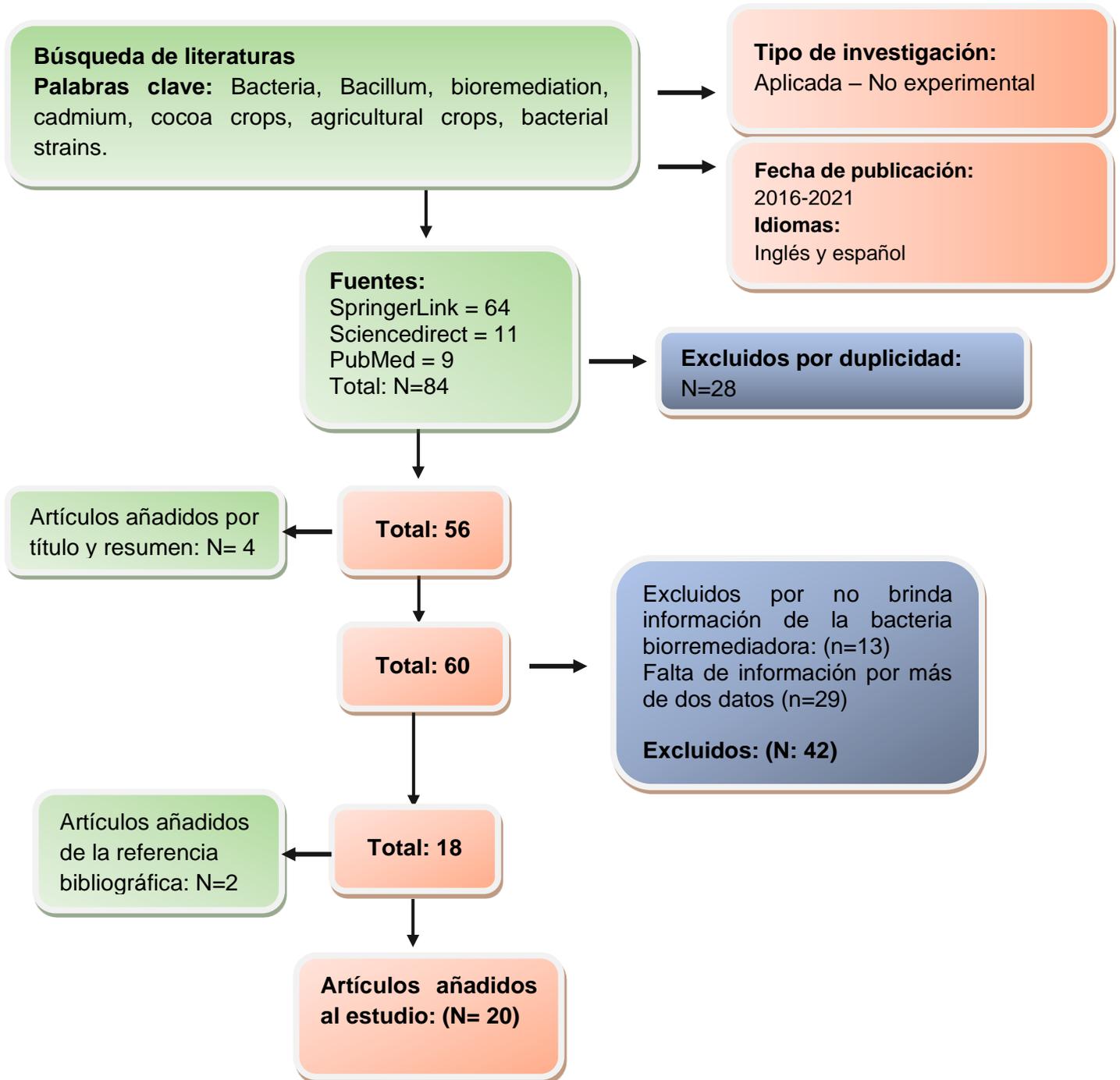
Es así que, el análisis de documentos es una técnica diseñada para revisar documentos empleando un conjunto de estrategias que facilite la representación del documento y su contenido, pero en otro formato y de una manera simplificada para facilitar su posterior recuperación (Hernández et al., 2014, p. 415).

Dicho ello, para abordar tal técnica se propuso la ficha de análisis de contenido de elaboración propia encontrada en el Anexo N°1, Esta ficha elaborada permite plasmar la información esencial, relevante y que resuma el contenido total del documento original; siendo detallados datos como: Nombres de autor (es), año, página, publicación, investigación, objetivos, metodología, Tipos de bacterias con mayor biorremediación de cadmio en cultivos de cacao, tipos de muestreo de las cepas bacterianas biorremediadoras, efectos de la presencia de Cd en los cultivos de cacao, resultados y conclusiones.

De acuerdo con Orellana y Sánchez, (2006, p. 207) la Guía de análisis de contenido define el análisis de contenido como "el análisis sistemático, objetivo y cuantitativo de las características del mensaje".

3.6. Procedimiento

Gráfico N°2: Procedimiento de recolección de datos



3.7. Rigor científico

Credibilidad:

La credibilidad es que tan creíble son para los investigadores los datos que brindan los autores y para ello pueden regresar a verificar los datos obtenidos y si existen dudas o puntos a esclarecer que no son creíbles brindan ejemplos desde su punto de vista apoyándose en resultados generados por otros autores (Noreña, Alcaraz, Rojas y Rebolledo, 2012, p.268). Esto se puede ver en la discusión de los resultados en los que se aplican otros estudios para apoyar o refutar los resultados obtenidos.

Transferibilidad:

Con el criterio de transferibilidad se puede juzgar el rigor metodológico de la investigación cualitativa; ya que se observa que tanto se puede transferir el estudio a otros contextos y que tan bien se pueden ajustar a otros campos (Hernández et al., 2014, p.456). Esto se cumple ya que el presente estudio está realizado como un aporte para futuros investigadores y que puedan continuar con la investigación aplicándolo a otros campos u otras realidades.

Confiabilidad:

Para estimar la confiabilidad, los investigadores construyen varias nociones hipotéticas (por ejemplo, la teoría de la puntuación verdadera) para tratar de eludir un hecho; además hace énfasis la necesidad de que el investigador dé cuenta del contexto en constante cambio dentro del cual ocurre la investigación (Arias y Giraldo, 2011, p.503). Este criterio se observa en el aporte de los resultados obtenidos en la presente revisión sistemática para que futuros investigadores puedan hacer uso de los hallazgos encontrados.

Confirmabilidad:

Hay una serie de estrategias para mejorar la confirmabilidad. El investigador puede documentar los procedimientos para verificar y volver a verificar los datos a lo largo del estudio. Otro investigador puede asumir el papel de "abogado del diablo" con respecto a los resultados, y este proceso puede documentarse. El investigador puede buscar y describir activamente instancias negativas que contradicen observaciones previas. Y, después de estudiar, se puede realizar una auditoría de datos que

examina los procedimientos de recopilación y análisis de datos y emite juicios sobre el potencial de sesgo o distorsión (Arias y Giraldo, 2011, p.503). Dicho ello la confirmabilidad se refiere a si los resultados son corroborados o refutados y esto se observa en los diversos resultados obtenidos por otros investigadores, plasmándolos en la discusión.

3.8. Método de análisis de información

El método de análisis de esta revisión sistemática consta en la aplicación de estrategias de recolección de datos; como es el caso de la matriz apriorística en la cual mediante los objetivos y problemas específicos se planteados 3 categorías:

- Tipo de muestreo de las bacterias biorremediadoras presentes en los cultivos de cacao
- Tipos de bacterias con mayor biorremediación de cadmio en cultivos de cacao
- Efectos de altos niveles de Cd en cultivos de cacao

Cada una de ellas con sus respectivas sub categorías de acuerdo a los criterios propuestos; ello es realizado para obtener resultados ordenados y claros buscando resolver el objetivo general planteado

3.9. Aspectos éticos

Los aspectos éticos con los que cumple este estudio son:

- El cumplimiento de la normativa vigente establecida por la universidad Cesar Vallejo - Resolución rectoral 0089-2019.
- Uso estricto del manual de Referencia estilo ISO 690 y 690-2
- Calidad del presente documento mediante el programa Turnitin demostrando la autenticidad del trabajo presentado.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.2 Tipo de muestreo de las bacterias biorremediadoras presentes en los cultivos de cacao

De acuerdo al primer objetivo se busca describir los equipos usados en el muestreo de las bacterias biorremediadoras presentes en los cultivos de cacao, mostrando la comparación de confiabilidad de algunos métodos de detección y enumeración.

Tabla N° 4: Tipos de equipos usados en el muestreo de las bacterias biorremediadoras presentes en el cacao

MÉTODO DE DETECCIÓN	SENSIBILIDAD	VENTAJAS	LIMITES	REFERENCIAS
ESTÁNDAR DE TURBIDEZ DE MCFARLAND	Bajo	No destructivo, rápido y de bajo costo.	-El tamaño de los microorganismos influye en la concentración bacteriana -No se puede utilizar para la identificación -No es posible distinguir entre células vivas y muertas	Guo Rachel et al., (2017)
RECuento DE PLACAS	Bajo	Enumerar microorganismos	-Consume mucho tiempo y es laborioso -No se puede utilizar para la identificación -Solo para células cultivables -Limitaciones importantes para las bacterias anaeróbicas	Emerson Joanne B. et al., (2017)
NÚMERO MÁS PROBABLE (MPN)	Bajo	Enumerar microorganismos	-Solo para microbios simbióticos -No utilizable para identificación -Mala repetibilidad	Lin Xiaoyan et al., (2016)
MPN-PCR	Meda	-Detección y enumeración específicas -Aplicable a microorganismos no cultivables	-Depende de la especificidad de las sondas	Bonny Sharmin Q. et al., (2018)

RECuento DE CÉLULAS POR MICROSCOPIA	Media	-Enumerar microorganismos	-Consume mucho tiempo y es laborioso -No es posible distinguir entre células vivas y muertas -Equipo y / o consumibles costosos - No siempre es posible la detección	Xie Weidi et al., (2018)
INMUNOTRANSFERENCIA DE COLONIAS	Media	-Detección y enumeración específicas - Método no destructivo y económico	-Solo para células cultivables -Se requieren marcadores identificables	Zhou Xinfei et al., (2021)
MARCADOR DE CICATRICES / PCR CUANTITATIVA EN TIEMPO REAL	Elevado	-Se puede cribar una gran cantidad de muestras a la vez -Buena repetibilidad -Específicas y reproducibles -Detección y cuantificación -Aplicable a microorganismos no cultivables	- Se requiere equipo de laboratorio costoso y sofisticado -Requiere cebadores específicos diseñados a partir de un gen específico -Depende de la especificidad de las sondas	ReddyPriya Pasupuleti et al., (2019)
SISTEMAS DE SECUENCIACIÓN DE GENES DE PRÓXIMA GENERACIÓN	Elevado	-Detecta la presencia de diferentes microorganismos en una muestra	-Caro -Análisis bioinformático requerido	Abbasian Abbasian F. et al., (2018)

Respecto a la tabla N°4 los equipos más usados por los investigadores en el muestreo de las bacterias biorremediadoras presentes en los cultivos de cacao son 8, entre los cuales, la principal finalidad es enumerar la cantidad de microorganismos presentes en el suelo determinando así la eficiencia de las bacterias en la eliminación de cadmio y el aumento de los microorganismos y mejoramiento de los cultivos.

Estos resultados son apoyados por Guo Rachel et al., (2017), señalando que el método estándar de turbidez de McFarland es rápido relativamente económico (alrededor de US \$ 10 por prueba) para la enumeración de bacterias por orden de

magnitud reducirá el tiempo y el costo de las pruebas microbiológicas que requieren información de concentración bruta. Ello es también corroborado con Montero recalde M. et al., (2018, p.3), quien afirma que esta técnica permite mantener la viabilidad bacteriana y puede ser considerada como un procedimiento eficaz y con una aplicación sencilla para la preservación de bacterias.

Lo que es opuesto por Montero Recalde M. et al., (2017, p.4), quien afirma que solo aplicando los estándares de turbidez de McFarland no es suficiente, por lo cual se debe aplicar una combinación de técnicas como criopreservación y la escala de McFarland, y este uso en conjunto de ambas técnicas presentaría ventajas por encima de los métodos de preservación y estimación de poblaciones por cultivos activos, por su confiabilidad, eficiencia y bajo costo.

Así también se encuentra Reddypriya Pasupuleti et al., (2019), señalando que la evaluación de la calidad basada en marcadores de cicatrices / pcr cuantitativa en tiempo real sería una herramienta sensible para monitorear la producción de biofertilizantes, así como su persistencia en la rizosfera del cultivo inoculado.

Esto es también respaldado por Balasubramanian S. et al. (2020, p.287), quien demostró con éxito en su estudio que los marcadores de cicatrices se pueden utilizar como un sistema de detección molecular para rastrear los biofertilizantes a nivel de cepa. La PCR (polymerase chain reaction) multiplex y la PCR en tiempo real dirigida a los marcadores podrían aplicarse al control de calidad de la producción comercial de biofertilizantes, para garantizar la calidad del producto para la satisfacción de los agricultores.

4.2 Tipos de bacterias con mayor biorremediación de cadmio en cultivos de cacao

Tabla N°5: Tipos de bacterias con mayor biorremediación de Cd en cultivos de cacao

Autor	Tipo de bacterias	Bacteria	Resultado
Minari Guilherme D. et al., 2020	Naturales	<i>Bacillus sp.</i>	Porcentaje de eliminaron Cd 2+: 17–33%
Alsutan Wael et al., 2019	Inoculadas	<i>P. aeruginosa</i> y <i>C. proteolyticum</i>	Eliminación de 100% para ambos aislamientos

Peng Weihua et al., 2018	Naturales	<i>Pseudomonas</i>	Se redujeron hasta en un 30,7% y un 100,0%, respectivamente; los niveles de Cd en la hoja y la raíz del trigo se redujeron hasta en un 62,3% y 47,2%, respectivamente.
Romero Estévez D. et al., 2019	Naturales	<i>Pseudomonas</i>	Cd entre 0,267 y 1,715 mg/kg (media 0,753 mg/kg) Porcentaje de eliminación: 87%
Akrofi A. y et al., 2017	Inoculadas	<i>Pseudomonas</i>	Eliminación de cadmio 100%
Ma Hang et al., 2020	Inoculadas	Cepa TZ5 de PGPB inmovilizadora	Mientras tanto, BCM aumentó significativamente el peso seco del raigrás en un 77,78% y disminuyó la concentración de Cd del raigrás en un 48,49%, en comparación con el control.
Li Weila et al., 2021	Naturales	Cepa bacteriana <i>ureolítica Bacillus sp.</i>	el Cd intercambiable disminuyó en un 68,54%
Anusha P. y Natarajan D., 2020	Inoculadas	<i>Pseudomonas</i>	Eliminación de Cd: 91,98%
Kousa Saman H. et al., 2020	Inoculadas	<i>Bacillus subtilis</i>	Eliminación de Cd: 90%
Alves Júnior Miguel et al., 2021	Inoculadas	<i>Bacillus sp.</i>	Eliminación de Cd: 95,9%
Zhou Xinfei et al., 2021	Inoculadas	<i>Bacillus sp.</i>	Eliminación de Cd en un porcentaje >85%
Yu Ying et al., 2022	Inoculadas	<i>Pseudomonas</i>	Eliminación de Cd en un porcentaje 32%
Laslo Vasile et al., 2022	Inoculadas	<i>L. casei</i> y <i>L. fermentumse</i>	La eficiencia de la bioabsorción de Cd estuvo en el rango 43.78% - 50.87%.
Zhang Jun et al., 2021	Inoculadas	<i>Bacillus</i>	Eliminación de Cd en un porcentaje 93%
Lin Xiaoyan et al., 2016	Inoculadas	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Delftia tsuruhatensis</i>	Eliminación de Cd en un porcentaje 97%
Etminani F. y Harighi B., 2018	Inoculadas	<i>Pseudomonas</i> , <i>Stenotrophomonas</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Pantoea</i> y <i>Serratia</i>	Eliminación de Cd en un porcentaje >90%
Saranya K. et al., 2018	Naturales	<i>Cronobacter muytjensii</i>	Porcentaje de remoción de Cd: 44,62%
Choińska-Pulit A. et	Inoculadas	<i>Pseudomonas azotoformans JAW1</i>	Porcentaje de remoción de Cd: 98,57%

al., 2018			
Camacho-Chab J. et al., 2018	Inoculadas	<i>Bacillus sp. MC3B-22</i> y <i>Microbacterium sp. MC3B-10</i>	Eliminación de Cd en un porcentaje: 93%

De acuerdo a los resultados expuestos en la tabla N°5, se tiene que un 90% de los investigadores emplearon las bacterias inoculadas, siendo las más usadas las cepas bacterianas *Bacillus* y *Pseudomonas*.

Esto es corroborado con lo dicho por Kousa Saman H. et al., 2020, quien señala que realizando una inoculación de la bacteria *Bacillus subtilis* en un medio agar Mössel con una yema de huevo adicional e identificadas mediante la secuenciación del gen obtuvo una remoción de Cd en los cultivos de cacao en un un 90 %. Esto también es corroborado por Anusha P. y Natarajan D., 2020 quien afirma que las cepas de *B. subtilis* de la rizosfera del cacao serían beneficiosas para la producción agrícola en niveles elevados con Cd por sus actividades de PGPR.

Así también respalda las afirmaciones anteriores Rizwan M. et al., (2017, p.4); presenta en su estudio que la mayor cantidad de bacterias endofíticas se aisló de la raíz (95,9%), en la época seca y las actividades más expresivas en cuanto al índice enzimático fueron amilolítica (71,9%), proteolítica (70,2%) y fijadora de nitrógeno (38,6%), respectivamente. El análisis de similitud formó dos grupos con los aislados CS R 2.4 y CS R 2.25 que exhibían una similitud del 100%.

Lo que es refutado por Yu Ying et al., (2022), quien señala que la inoculación de bacterias con WH16-1-MT redujo la biodisponibilidad de Cd en el suelo, con un aumento de la proporción de Cd total en estados oxidables y residuales de 29% a 32%. El análisis del microbioma demostró que la adición de WH16-1-MT no alteró significativamente la abundancia bacteriana original y la estructura de la comunidad en el suelo.

Lo dicho por Yu Ying et al., 2022 es refutado por el autor Laslo Vasile et al., 2022 quien afirma en su estudio que la relación de 1: 2 bacterias del ácido láctico (LAB) / SeNPs mostró los mejores resultados para ambas bacterias inoculadas, demostrando el efecto sinérgico de la inoculación de las cepas bacterianas contra la toxicidad del Cd. Así también Zhang Jun et al., 2021 afirma lo dicho, donde indica que la

inoculación aumentó el pH de la rizosfera, disminuyó el Cd extraíble con CaCl₂ en el suelo y disminuyó la concentración de Cd.

4.3 Efectos de altos niveles de Cd en cultivos de cacao

Por otro lado, se determinada los efectos que conllevan las altas tasas de Cd presentes en los cultivos de cacao, para lo que se presenta la tabla 9 y 10.

Tabla N°6: Efectos que conllevan las altas tasas de Cd presentes en los cultivos de cacao

	Efectos	Investigadores
En la cosecha	Sobre el crecimiento -En la altura de la planta de cacao -En el diámetro del tallo -En la disminución del número de hojas -En la longitud de las raíces -En el rendimiento de materia seca -En el genotipo del cacao -En los sustratos	Anusha P. y Natarajan D., 2020, Ma Hang et al., 2020, Li Weila et al., 2021, Alves Júnior Miguel et al., 2021, Laslo Vasile et al., 2022, Alsutan Wael et al., 2019
En la salud	Efecto de las etapas de procesamiento posteriores a la cosecha sobre las concentraciones de Cd en los productos (intermedios) derivados del cacao, considerando una concentración total inicial de Cd en el grano de 0,60 mg Cd kg ⁻¹ . - El riesgo para la salud del Cd en la dieta está relacionado con su forma biodisponible lo que significa que no todo el Cd presente en los alimentos es perjudicial.	Zhou Xinfei et al., 2021, Yu Ying et al., 2022, Zhang Jun et al., 2021, Lin Xiaoyan et al., 2016, Etminani F. y Harighi B., 2018, Minari Guilherme D. et al., 2020, Peng Weihua et al., 2018

Ello es confirmado por lo expuesto en el estudio de Tamtahal G. et al., (2018, p.7), quien señala que el efecto del cadmio en el crecimiento de las plantas es de deletéreo a concentraciones de cadmio en el suelo de 5 µg g⁻¹.

Esto es respaldado por Chavez E. et al., (2016, p.2), quien indica que el efecto deletéreo del Cd sobre las plántulas de cacao está determinado por las características físicas y químicas del suelo, lo cual se evidenció con concentraciones crecientes a partir de 5 µg g⁻¹. Esto es consistente con otros estudios que reportaron toxicidad para la mayoría de las plantas a concentraciones de Cd de 5 a 10 µg g⁻¹.

Así también de acuerdo con Oliva M. et al., (2020, p.3), el crecimiento de la planta y el Cd foliar mostraron una correlación negativa moderada y fueron estadísticamente significativos en todas las variables medidas. Las correlaciones se muestran en la Tabla 7.

Tabla N°7: Correlaciones de Pearson entre el cadmio foliar y el crecimiento de la planta

Parámetro de crecimiento	Cadmio foliar (r²)
Longitud de la raíz	-0,59***
Longitud del tallo	-0,54***
Diámetro del tallo	-0,43***
Área foliar	-0,56***
Biomasa radicular	-0,52***
Biomasa del tallo	-0,46***
Biomasa foliar	-0,52***
Correlaciones significativas (P < 0,001)	

Fuente: Extraído y modificado de Correa Juan E. et al., 2021

De acuerdo a la correlación presentada en la Tabla 7 se corrobora el efecto deletéreo del Cd en las plantas de cacao, en concentraciones entre 5 y 20 µg g⁻¹ en los suelos.

Además, en el estudio de Chen Haiyang et al., 2016, p.1), los suelos con pH superior a 5, alto contenido de materia orgánica, K y P, y mayor saturación de bases, porosidad y retención de humedad presentaron menor Cd relativo disponible, con promedios que oscilan entre 38,3% y 42,7%, así como una menor acumulación en materia seca, con promedios que van desde 7,25 a 8,50 µg g⁻¹ y un menor impacto en el crecimiento vegetal con porcentajes promedio de pérdida de biomasa de entre 40% y 69% a concentraciones de 20 µg g⁻¹.

Así también, en suelos con mayor contenido de arcilla, pH bajo y mayor al intercambiable y densidad real, el Cd relativo disponible fue significativamente mayor con promedios entre 51.9% y 55.9%, y la acumulación fue significativamente mayor con concentraciones promedio entre 10.41 y 12.40 µg g⁻¹ en materia seca (Rodríguez H. et al., 2019, p.5). En el artículo de Lewis C. et al., 2021, p.4), el efecto del crecimiento de las plantas fue estadísticamente significativo, con porcentajes promedio de pérdida de biomasa del 85%, llegando incluso a la muerte de algunas plantas a concentraciones de cadmio de 20 µg g⁻¹.

Además, los Factores como niveles de Fe, Zn, Ca, fitato y fibra en los alimentos sí afectan a la biodisponibilidad (absorción neta) del Cd (Åkesson y Chaney, 2019, p.2).

Según las estimaciones de la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de EE.UU., la exposición media al Cd en niños oscila entre 0,38 y 0,44 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de peso corporal día⁻¹ y son ~4 veces superiores a la referencia toxicológica más baja.

De acuerdo con Vanderschueren R. et al., (2021, p.14), existen procesamiento que pueden reducir potencialmente la concentración de Cd en el producto final: (1) una fermentación adecuada puede causar la migración del Cd del grano de cacao a la cascara, lo que resulta en una reducción del Cd del grano de cacao en un factor de hasta 1,3; (2) las regulaciones actuales permiten que el 2,5% (m/m) de material de testa permanezca en el licor de cacao, una eliminación más eficiente de la testa puede resultar en concentraciones más bajas de Cd debido al alto Cd de la testa (En este caso, la eliminación completa de la testa daría como resultado un licor de cacao con 0,42 mg de Cd kg^{-1}); (3) el Cd está contenido en los sólidos de cacao no grasos y, por tanto, las concentraciones de Cd en el producto final dependen del tipo de producto.

V. CONCLUSIONES

Respecto a la revisión sistemática realizada para determinar a las bacterias biorremediadoras de cadmio en cultivo de cacao, se puede concluir lo siguiente:

- Los equipos más usados por los investigadores en el muestreo de las bacterias biorremediadoras presentes en los cultivos de cacao son estándar de turbidez de mcfarland, recuento de placas, número más probable (mpn), mpn-pcr, recuento de células por microscopía, inmunotransferencia de colonias, marcador de cicatrices / pcr cuantitativa en tiempo real y sistemas de secuenciación de genes de próxima generación, entre los cuales, la principal finalidad es enumerar la cantidad de microorganismos presentes en el suelo determinando así la eficiencia de las bacterias en la eliminación de cadmio y el aumento de los microorganismos y mejoramiento de los cultivos.
- Las bacterias consideradas como mayor biorremediadoras de cadmio en cultivos de cacao son las bacterias inoculadas en un 90% y entre ellas las más utilizadas para biorremediar cultivos de cacao contaminadas con cadmio son las cepas bacterianas bacillus y pseudomonas; presentando porcentajes de remoción de un 80 a 100%.
- Los efectos que conllevan las altas tasas de cd presentes en los cultivos de cacao se encuentran principalmente enfocados en los daños a las cosechas de cacao; siendo afectados la altura del cacao, el diámetro del tallo, la disminución del número de hojas, la longitud de las raíces, el rendimiento de materia seca, el genotipo del cacao y los sustratos. mientras en la salud humana las concentraciones de cd solo sobrepasan si exceden los 0,60 mg cd kg⁻¹, pero existen procesamientos en los productos de cacao que pueden reducir potencialmente la concentración de cd en el producto final.

VI. RECOMENDACIONES

De acuerdo a la investigación realizada, se recomienda a los futuros investigadores:

- Realizar estudios experimentales en las que se describa a detalle las técnicas y la metodología de inoculación para que se pueda permitir la repetición del experimento en otros estudios y comparar resultados.
- A las investigaciones futuras se recomienda centrarse en otros grupos que todavía tienen un repertorio oculto que puede explorarse para desarrollar la biorremediación de calidad; por ejemplo, al asociar estas bacterias con hongos micorrizas arbusculares,
- Realizar mayores enfoques en la biorremediadoras de cadmio en cultivo de cacao centrándose en la cepa *Actinobacterias* ya que son las menos estudiadas por su interés agronómico, pero presentan prometedores resultados de acuerdo a los pocos estudios que lo emplearon, además, estas bacterias merecen una atención especial debido a su capacidad para adaptarse a diversos ecosistemas como suelos desérticos, suelos marinos, depósitos de rocas fosfatadas, etc.

REFERENCIAS

1. ABBASIAN, Firouz; GHAFAR-ZADEH, Ebrahim; MAGIEROWSKI, Sebastian. Microbiological sensing technologies: a review. *Bioengineering*, 2018, vol. 5, no 1, p. 20. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/bioengineering5010020>
2. Åkesson, A., & Chaney, R. L. (2019). Cadmium exposure in the environment: Dietary exposure, bioavailability and renal effects.
3. AKROFI, A. Y., et al. Isolation and characterization of bacteria from different cacao progenies and their antagonistic activity against the black pod disease pathogen, *Phytophthora palmivora*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 2017, vol. 124, no 2, p. 143-152. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s41348-017-0082-z>
4. ALSULTAN, Wael, et al. Isolation, identification and characterization of endophytic bacteria antagonistic to *Phytophthora palmivora* causing black pod of cocoa in Malaysia. *European Journal of Plant Pathology*, 2019, vol. 155, no 4, p. 1077-1091. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01834-8>
5. ALVES-JÚNIOR, Miguel, et al. Functional and morphological analysis of isolates of phylloplane and rhizoplane endophytic bacteria interacting in different cocoa production systems in the Amazon. *Current Research in Microbial Sciences*, 2021, p. 100039. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100039>
6. ALBARRCÍN, Heidy Soledad Rodríguez; CONTRERAS, Aquiles Enrique Darghan; HENAO, Martha Cecilia. Spatial regression modeling of soils with high cadmium content in a cocoa producing area of Central Colombia. *Geoderma Regional*, 2019, vol. 16, p. e00214. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.geodrs.2019.e00214>
7. ANUSHA, Ponniah; NATARAJAN, Devarajan. Bioremediation potency of multi metal tolerant native bacteria *Bacillus cereus* isolated from bauxite mines, kolli hills, Tamilnadu-A lab to land approach. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2020, vol. 25, p. 101581. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101581>

8. ARÉVALO-GARDINI, Enrique, et al. Heavy metal accumulation in leaves and beans of cacao (*Theobroma cacao* L.) in major cacao growing regions in Peru. *Science of the Total Environment*, 2017, vol. 605, p. 792-800. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.122>
9. ARÉVALO-GARDINI, Enrique, et al. Metales pesados en suelos de plantaciones de cacao (*Theobroma cacao* L.) en tres regiones del Perú. *Ecología aplicada*, 2016, vol. 15, no 2, p. 81-89. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.21704/rea.v15i2.747>
10. ARGÜELLO, David, et al. Soil properties and agronomic factors affecting cadmium concentrations in cacao beans: A nationwide survey in Ecuador. *Science of the total Environment*, 2019, vol. 649, p. 120-127. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.292>
11. ARÉVALO-GARDINI, Enrique, et al. Heavy metal accumulation in leaves and beans of cacao (*Theobroma cacao* L.) in major cacao growing regions in Peru. *Science of the Total Environment*, 2017, vol. 605, p. 792-800. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.122>
12. ARÉVALO-GARDINI, Enrique, et al. Metales pesados en suelos de plantaciones de cacao (*Theobroma cacao* L.) en tres regiones del Perú. *Ecología aplicada*, 2016, vol. 15, no 2, p. 81-89. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.21704/rea.v15i2.747>
13. ASSA, A., et al. Heavy metal concentrations in cocoa beans (*Theobroma cacao* L.) originating from East Luwu, South Sulawesi, Indonesia. En *Journal of Physics: Conference Series*. IOP Publishing, 2018. p. 012011. Disponible en: <https://doi.org/10.1088/1742-6596/979/1/012011>
14. BALASUBRAMANIAN, S., et al. Utility of a multiplex real-time polymerase chain reaction for combined detection and serotyping of dengue virus in paediatric patients hospitalised with severe dengue: A report from Chennai. *Indian journal of medical microbiology*, 2020, vol. 38, no 3-4, p. 288-292. Disponible en: https://doi.org/10.4103/ijmm.IJMM_20_249
15. BARRAZA, Fiorella, et al. Cadmium bioaccumulation and gastric bioaccessibility in cacao: A field study in areas impacted by oil activities in

- Ecuador. *Environmental Pollution*, 2017, vol. 229, p. 950-963. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.07.080>
16. BEG, Mohd Shavez, et al. Status, supply chain and processing of cocoa-A review. *Trends in food science & technology*, 2017, vol. 66, p. 108-116. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.06.007>
17. BERTOLDI, Daniela, et al. Multielemental fingerprinting and geographic traceability of Theobroma cacao beans and cocoa products. *Food Control*, 2016, vol. 65, p. 46-53. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.01.013>
18. BHAGAT, Neeta; VERMANI, Maansi; BAJWA, Harpreet Singh. Characterization of heavy metal (cadmium and nickle) tolerant Gram negative enteric bacteria from polluted Yamuna River, Delhi. *African Journal of Microbiology Research*, 2016, vol. 10, no 5, p. 127-137. Disponible en: <https://doi.org/10.5897/AJMR2015.7769>
19. BONNY, Sharmin Quazi, et al. Multiplex MPN-PCR for the enumeration of three major Vibrios in raw fishes in Malaysia. *Food Control*, 2018, vol. 90, p. 459-465. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.02.034>
20. CAMACHO-CHAB, Juan Carlos, et al. Biosorption of cadmium by non-toxic extracellular polymeric substances (EPS) synthesized by bacteria from marine intertidal biofilms. *International journal of environmental research and public health*, 2018, vol. 15, no 2, p. 314. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijerph15020314>
21. CHANDRANGSU, Pete; RENSING, Christopher; HELMANN, John D. Metal homeostasis and resistance in bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 2017, vol. 15, no 6, p. 338-350. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.15>
22. CHAVEZ, E., et al. Evaluation of soil amendments as a remediation alternative for cadmium-contaminated soils under cacao plantations. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, vol. 23, no 17, p. 17571-17580. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6931-7>

23. Chavez, E., He, Z. L., Stoffella, P. J., Mylavarapu, R., Li, Y., & Baligar, V. C. (2016). Evaluation of soil amendments as a remediation alternative for cadmium-contaminated soils under cacao plantations. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(17), 17571-17580. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6931-7>
24. Chen, Haiyang, Yanguo Teng, Sijin Lu, Yeyao Wang, and Jinsheng Wang. "Contamination features and health risk of soil heavy metals in China." *Science of the total environment* 512 (2015): 143-153. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.01.025>
25. CHOIŃSKA-PULIT, Anna; SOBOLCZYK-BEDNAREK, Justyna; ŁABA, Wojciech. Optimization of copper, lead and cadmium biosorption onto newly isolated bacterium using a Box-Behnken design. *Ecotoxicology and environmental safety*, 2018, vol. 149, p. 275-283. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.12.008>
26. CORREA, Juan Esteban, et al. Effect of soil characteristics on cadmium absorption and plant growth of *Theobroma cacao* L. seedlings. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/jsfa.11192>
27. DE LOS SANTOS, Candelario Ramón, et al. Adsorción de cobre (II) y cadmio (II) en suspensiones acuosas de CaCO₃ biogénico nanoestructurado. *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, 2019, vol. 58, no 1, p. 2-13. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bsecv.2018.05.003>
28. DEOMEDESSE, Guilherme, et al. Agricultural management of an Oxisol affects accumulation of heavy metals. *Chemosphere*, 2017. Disponible en: ISSN: 0045-6535
29. DE ARAÚJO, Romária Pereira, et al. Photosynthetic, antioxidative, molecular and ultrastructural responses of young cacao plants to Cd toxicity in the soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2017, vol. 144, p. 148-157. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.06.006>

30. EMERSON, Joanne B., et al. Schrödinger's microbes: tools for distinguishing the living from the dead in microbial ecosystems. *Microbiome*, 2017, vol. 5, no 1, p. 1-23. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0285-3>
31. ETMINANI, Faegheh; HARIGHI, Behrouz. Isolation and identification of endophytic bacteria with plant growth promoting activity and biocontrol potential from wild pistachio trees. *The plant pathology journal*, 2018, vol. 34, no 3, p. 208. Disponible en: <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.07.2017.0158>
32. Facal, T. Guía para elaborar un proyecto de investigación social. Ediciones digitales. [en línea] Madrid 2015, p. 6, 25 cap. 2: Elementos esenciales de un proyecto de investigación. [fecha de consulta: 29 de junio del 2020]. Disponible en:
<https://books.google.com.pe/books?id=LULUBgAAQBAJ&pg=PA2&dq=dise%C3%B1o+cualitativo&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjShdXPIeTpAhV2H7kGHfwQDPQ4HhDoAQgwMAE#v=onepage&q=dise%C3%B1o%20cualitativo&f=false> ISSN: 978-84-283-3546-1
33. FAO/WHO. (2016). Proposed draft maximum levels for cadmium in cocoa and cocoaderived products. The 10th session of the Codex Committee on Contaminants in Foods, Rotterdam, 4-8 April 2016. CX/CF 16/10/9 – Add.1. Agenda Item 8.
34. GUO, Rachel, et al. A rapid and low-cost estimation of bacteria counts in solution using fluorescence spectroscopy. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2017, vol. 409, no 16, p. 3959-3967. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0347-1>
35. HAMID, Yasir, et al. An explanation of soil amendments to reduce cadmium phytoavailability and transfer to food chain. *Science of The Total Environment*, 2019, vol. 660, p. 80-96. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.419>
36. IARC (2019). Agents classified by the IARC monographs. Vols. 1 – 123. Disponible en: https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2019/02/List_of_Classifications.pdf

37. ICCO (2018). Production of cocoa beans. Quarterly Bulletin of cocoa Statistics. Cocoa year 2017/18, XLIV. Disponible en: <https://www.icco.org/about-us/icco-news/398-quarterly-bulletin-of-cocoa-statistics-november-2018.html>
38. ISMAEL, Marwa A., et al. Cadmium in plants: uptake, toxicity, and its interactions with selenium fertilizers. Metallomics, 2019, vol. 11, no 2, p. 255-277. Disponible en: <https://doi.org/10.1039/c8mt00247a>
39. JAN, Sumira; PARRAY, Javid Ahmad. Approaches to heavy metal tolerance in plants. Singapore: Springer, 2016. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1007/978-981-10-1693-6_1
40. JEAN, Julien, et al. Dietary exposure to cadmium and health risk assessment in children—Results of the French infant total diet study. Food and Chemical Toxicology, 2018, vol. 115, p. 358-364. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.03.031>
41. KAPETANOVIC, Ronan, et al. Salmonella employs multiple mechanisms to subvert the TLR-inducible zinc-mediated antimicrobial response of human macrophages. The FASEB Journal, 2016, vol. 30, no 5, p. 1901-1912. Disponible en: <https://doi.org/10.1096/fj.201500061>
42. KARPAGALAKSHMI, S.; MUTHUSAMY, A. A Study on Export Performance of Cocoa Products in India. International Journal for Innovative Research in Multidisciplinary Field, ISSN, 2019, p. 2455-0620. Disponible en: ISSN: 2455-0620
43. KOHZADI, Shadi, et al. Concentration, source, and potential human health risk of heavy metals in the commonly consumed medicinal plants. Biological trace element research, 2019, vol. 187, no 1, p. 41-50. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1357-3>
44. KORSHUNOV, Sergey; IMLAY, Karin RC; IMLAY, James A. The cytochrome bd oxidase of Escherichia coli prevents respiratory inhibition by endogenous and exogenous hydrogen sulfide. Molecular microbiology, 2016, vol. 101, no 1, p. 62-77. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/mmi.13372>

45. KOUA, Saman Herve, et al. *Bacillus subtilis* strains isolated from cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) rhizosphere for their use as potential plant growth promoting rhizobacteria in Cote d'Ivoire. *Current Microbiology*, 2020, vol. 77, p. 2258-2264. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02027-x>
46. KRUSZEWSKI, Bartosz; OBIEDZIŃSKI, Mieczysław Wiesław; KOWALSKA, Jolanta. Nickel, cadmium and lead levels in raw cocoa and processed chocolate mass materials from three different manufacturers. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2018, vol. 66, p. 127-135. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.12.012>
47. LASLO, Vasile, et al. Synergic effect of selenium nanoparticles and lactic acid bacteria in reduction cadmium toxicity. *Journal of Molecular Structure*, 2022, vol. 1247, p. 131325. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.131325>
48. Lewis, C., Lennon, A. M., Eudoxie, G., Sivapatham, P., & Umaharan, P. (2021). Plant metal concentrations in *Theobroma cacao* as affected by soil metal availability in different soil types. *Chemosphere*, 262, 127749. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127749>
49. LI, Weila; YANG, Yifan; ACHAL, Varenayam. Biochemical composite material using corncob powder as a carrier material for ureolytic bacteria in soil cadmium immobilization. *Science of The Total Environment*, 2021, p. 149802. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149802>
50. LI, Xiong, et al. Cadmium accumulation characteristics in turnip landraces from China and assessment of their phytoremediation potential for contaminated soils. *Frontiers in plant science*, 2016, vol. 7, p. 1862. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01862>
51. LIN, Xiaoyan, et al. Characterization of cadmium-resistant bacteria and their potential for reducing accumulation of cadmium in rice grains. *Science of the Total Environment*, 2016, vol. 569, p. 97-104. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.121>
52. LIU, Lina, et al. Mitigation of environmental pollution by genetically engineered bacteria—Current challenges and future perspectives. *Science of The Total*

- Environment, 2019, vol. 667, p. 444-454. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.390>
53. MA, Hang, et al. Bioremediation of cadmium polluted soil using a novel cadmium immobilizing plant growth promotion strain *Bacillus* sp. TZ5 loaded on biochar. *Journal of hazardous materials*, 2020, vol. 388, p. 122065. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122065>
54. MADDELA, Naga Raju, et al. Cocoa-laden cadmium threatens human health and cacao economy: a critical view. *Science of the Total Environment*, 2020, vol. 720, p. 137645. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137645>
55. MEHROTRA, Tithi, et al. Use of Immobilized Bacteria for Environmental Bioremediation: A Review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2021, p. 105920. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105920>
56. MEHROTRA, Tithi, et al. Rapid immobilization of viable *Bacillus pseudomycoloides* in polyvinyl alcohol/glutaraldehyde hydrogel for biological treatment of municipal wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, vol. 27, no 9, p. 9167-9180. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07296-z>
57. MINARI, Guilherme Deomedesse, et al. Bioremediation potential of new cadmium, chromium, and nickel-resistant bacteria isolated from tropical agricultural soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, vol. 204, p. 111038. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111038>
58. MINAGRI, 2016. Sistema Integrado de Estadísticas Agrarias. Series Históricas de Producción Agrícola — Compendio Estadístico (SISCA). <http://frenteweb.minag.gob.pe/sisca/>
59. MONTERO-RECALDE, Mayra, et al. Evaluación de dos métodos para medir la sensibilidad de inhibición de crecimiento de la cepa certificada de *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 2018, vol. 29, no 4, p. 1543-1547. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v29i4.15185>

60. MONTERO-RECALDE, Mayra Andrea, et al. Efecto antimicrobiano del extracto crudo oleoso de *Rosmarinus Officinalis* sobre cepa de *Escherichia coli*. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 2017, vol. 5, no 2, p. 168-175. Disponible en: ISSN 2308-3859
61. OJUEDERIE, Omena Bernard; BABALOLA, Olubukola Oluranti. Microbial and plant-assisted bioremediation of heavy metal polluted environments: a review. *International journal of environmental research and public health*, 2017, vol. 14, no 12, p. 1504. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijerph14121504>
62. Oliva, M., Rubio, K., Epquin, M., Marlo, G., & Leiva, S. (2020). Cadmium uptake in native cacao trees in agricultural lands of Bagua, Peru. *Agronomy*, 10(10), 1551. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/agronomy10101551>
63. REDDYPRIYA, Pasupuleti; SOUMARE, Abdoulaye; BALACHANDAR, Dananjeyan. Multiplex and quantitative PCR targeting SCAR markers for strain-level detection and quantification of biofertilizers. *Journal of basic microbiology*, 2019, vol. 59, no 1, p. 111-119. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/jobm.201800318>
64. PENG, Weihua, et al. Bioremediation of cadmium-and zinc-contaminated soil using *Rhodobacter sphaeroides*. *Chemosphere*, 2018, vol. 197, p. 33-41. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.017>
65. Ramtahal, G., Chang Yen, I., Hamid, A., Bekele, I., Bekele, F., Maharaj, K., & Harrynanan, L. (2018). The effect of liming on the availability of cadmium in soils and its uptake in cacao (*Theobroma cacao* L.) in Trinidad & Tobago. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 49(19), 2456-2464. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/00103624.2018.1510955>
66. Rocha, C. *Metodología de la investigación*. 1er edic. México [en línea] 2015, p. 265. Capítulo 3: La metodología de investigación científica y el método científico. [fecha de consulta: 25 de junio del 2020]. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=DflcDwAAQBAJ&pg=PT39&hl=es&source=gbs_toc_r&cad=4#v=onepage&q&f=false
67. Rodríguez, H. S., Darghan, A. E., & Henao, M. C. (2019). Spatial regression modeling of soils with high cadmium content in a cocoa producing area of

- Central Colombia. Regional Geoderma 16: 214-222. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.geodrs.2019.e00214>
68. ROMERO-ESTÉVEZ, David, et al. Content and the relationship between cadmium, nickel, and lead concentrations in Ecuadorian cocoa beans from nine provinces. Food control, 2019, vol. 106, p. 106750. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106750>
69. RUCKÁ, Lenka; NEŠVERA, Jan; PÁTEK, Miroslav. Biodegradation of phenol and its derivatives by engineered bacteria: current knowledge and perspectives. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2017, vol. 33, no 9, p. 1-8. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2339-x>
70. SANGHVI, Gaurav, et al. Engineered bacteria for bioremediation. En Bioremediation of Pollutants. Elsevier, 2020. p. 359-374. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819025-8.00017-X>
71. SARANYA, Kailasam, et al. Biosorption of multi-heavy metals by coral associated phosphate solubilising bacteria Cronobacter muytjensii KSCAS2. Journal of environmental management, 2018, vol. 222, p. 396-401. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.05.083>
72. SENEVIRATNE, Mihiri, et al. Role of rhizospheric microbes in heavy metal uptake by plants. En Agro-Environmental Sustainability. Springer, Cham, 2017. p. 147-163. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-3-319-49727-3_8
73. SHEN, Zhengtao, et al. Stability of heavy metals in soil washing residue with and without biochar addition under accelerated ageing. Science of The Total Environment, 2018, vol. 619, p. 185-193. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.038>
74. VANDERSCHUEREN, Ruth, et al. Mitigating the level of cadmium in cacao products: reviewing the transfer of cadmium from soil to chocolate bar. Science of The Total Environment, 2021, p. 146779. disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146779>
75. VATAMANIUK, Olena. REGULATION OF NUTRIENT UPTAKE BY PLANTS: A BIOCHEMICAL AND MOLECULAR APPROACH. 2017.

76. Vargas Z., La investigación aplicada: una forma de conocer las realidades con evidencia científica. Redalyc.org, [en línea] 33, 2009, p. 159 [fecha de consulta: 26 de junio del 2020] disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=44015082010> ISSN:0379-7082
77. VELAND, Siri, et al. Narrative matters for sustainability: the transformative role of storytelling in realizing 1.5 C futures. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 2018, vol. 31, p. 41-47. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2017.12.005>
78. WANG, Hao; ENGSTROM, Anna K.; XIA, Zhengui. Cadmium impairs the survival and proliferation of cultured adult subventricular neural stem cells through activation of the JNK and p38 MAP kinases. *Toxicology*, 2017, vol. 380, p. 30-37. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.tox.2017.01.013>
79. WANG, Peng, et al. Cadmium contamination in agricultural soils of China and the impact on food safety. *Environmental pollution*, 2019, vol. 249, p. 1038-1048. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.063>
80. WANG, Xiangqin, et al. Enhanced immobilization of arsenic and cadmium in a paddy soil by combined applications of woody peat and Fe (NO₃)₃: possible mechanisms and environmental implications. *Science of the Total Environment*, 2019, vol. 649, p. 535-543. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.387>
81. WOLDETSADIK, Desta, et al. Effects of biochar and alkaline amendments on cadmium immobilization, selected nutrient and cadmium concentrations of lettuce (*Lactuca sativa*) in two contrasting soils. *SpringerPlus*, 2016, vol. 5, no 1, p. 1-16. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s40064-016-2019-6>
82. World, 2019. *World Population Review: Cocoa Producing Countries 2019*. <http://worldpopulationreview.com/countries/cocoa-producing-countries/>
83. XIE, Weidi; NOBLE, J. Alison; ZISSERMAN, Andrew. Microscopy cell counting and detection with fully convolutional regression networks. *Computer methods in biomechanics and biomedical engineering: Imaging & Visualization*, 2018,

vol. 6, no 3, p. 283-292. Disponible en:
<https://doi.org/10.1080/21681163.2016.1149104>

84. XUE, Jianliang, et al. Study on degradation characteristics and bacterial community structure changes of immobilized cells in straw-alginate beads in marine environment. *Bioresource Technology Reports*, 2020, vol. 10, p. 100402. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2020.100402>
85. YANG, Yang, et al. Regional accumulation characteristics of cadmium in vegetables: influencing factors, transfer model and indication of soil threshold content. *Environmental Pollution*, 2016, vol. 219, p. 1036-1043. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.003>
86. YU, Ying, et al. Reducing cadmium in rice using metallothionein surface-engineered bacteria WH16-1-MT. *Environmental Research*, 2022, vol. 203, p. 111801. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111801>
87. ZHANG, Hao; REYNOLDS, Mindy. Cadmium exposure in living organisms: A short review. *Science of the Total Environment*, 2019, vol. 678, p. 761-767. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.395>
88. ZHANG, Jun, et al. Reducing cadmium bioavailability and accumulation in vegetable by an alkalizing bacterial strain. *Science of The Total Environment*, 2021, vol. 758, p. 143596. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143596>
89. ZHOU, Jiangtao, et al. Net cadmium flux and gene expression in relation to differences in cadmium accumulation and translocation in four apple rootstocks. *Environmental and Experimental Botany*, 2016, vol. 130, p. 95-105. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.05.012>
90. ZHOU, Xinfei, et al. Application potential of *Comamonas testosteroni* ZG2 for vegetable cultivation in nickel and cadmium polluted soil. *Environmental Technology & Innovation*, 2021, vol. 23, p. 101626. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101626>
91. ZHU, Hanhua, et al. Effects of soil acidification and liming on the phytoavailability of cadmium in paddy soils of central subtropical China.

Environmental Pollution, 2016, vol. 219, p. 99-106. Disponible en:
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.10.043>

ANEXOS

ANEXOS N° 1:

 UCV UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO	FICHA DE ANÁLISIS DE CONTENIDO	
TITULO:		
PAGINAS UTILIZADAS	AÑO DE PUBLICACION	LUGAR DE PUBLICACION
TIPO DE INVESTIGACION:		
CÓDIGO:		
PALABRAS CLAVES :		
TIPO DE MUESTREO DE LAS BACTERIAS BIORREMEDIADORAS PRESENTES EN LOS CULTIVOS DE CACAO		
TIPOS DE BACTERIAS CON MAYOR BIORREMEDIACIÓN DE CADMIO EN CULTIVOS DE CACAO	<ul style="list-style-type: none">• Bacterias naturales• Bacterias inocuas	
PORCENTAJE DE REMOCIÓN		
RESULTADOS :		
CONCLUSIONES:		

Elaboración propia

ANEXOS N° 2: Matriz de categorización

Objetivo específico	Problema específico	Categoría	Sub categoría	Criterio 1	Criterio 2
Describir los equipos usados en el muestreo de las bacterias biorremediadoras presentes en los cultivos de cacao.	¿Cuáles son los equipos usados en el muestreo de las bacterias biorremediadoras presentes en los cultivos de cacao?	Tipo de muestreo de las bacterias biorremediadoras presentes en los cultivos de cacao (Karpagalakshmi S. et al., 2019, p.1)	<ul style="list-style-type: none"> • Prueba de tinción de Gram • Caracterización morfológica (De Araújo Romária P. et al. 2017, p.4)	De acuerdo a la diversidad de poblaciones bacterianas	De acuerdo a la caracterización morfofisiológica y genética de bacterias endofíticas aisladas
Analizar las bacterias consideradas como mayor biorremediadoras de cadmio en cultivos de cacao.	¿Cuáles son las bacterias consideradas como mayor biorremediadoras de cadmio en cultivos de cacao?	Tipos de bacterias con mayor biorremediación de cadmio en cultivos de cacao (Zhu Hanhua et al., 2016, p.3)	<ul style="list-style-type: none"> • Bacterias naturales • Bacterias inocuas (Zhang H. y Reynold M., 2019, p.1)	De acuerdo a la cantidad de veces empleado	De acuerdo al porcentaje de inhibición
Definir los efectos que conllevan las altas tasas de Cd presentes en los cultivos de cacao	¿Cuáles son los efectos que conllevan las altas tasas de Cd presentes en los cultivos de cacao?	Efectos de altos niveles de Cd en cultivos de cacao (Maddela Naga R. et al., 2020, p.1)	<ul style="list-style-type: none"> • Amenaza en la salud humana • Amenaza en la economía (Li Xiong et al., 2016, p.2)	De acuerdo al concentración del iones metálico presente	De acuerdo al tiempo presente en el cultivo de cacao

Elaboración propia