



Metodología para el estudio de línea base de niveles de cadmio en arboles de cacao y el suelo

Este documento de metodología ha sido desarrollado para el muestreo de parcelas de cacao en las cuencas de Chiriaco (distrito de Imaza), Cenepa (distrito de El Cenepa) Nieva (distrito de Nieva) y Santiago (distrito de Río Santiago).

1.1. Elecciones de zonas para muestrear

En cada una de las cuencas está previsto visitar un máximo de 50 parcelas de cacao. Las zonas de colecta serían elegidos basado en su importancia en la producción de cacao para la zona, las variedades de cacao presentes, y variabilidad de tipo de suelo o terreno (per ej, aluvial, de colina eta).

1.2. Selección de parcelas para el muestro

En cada zona identificada, y en colaboración con los cooperativos y otras instituciones ligadas al cacao se visitarán las fincas en las cuales los productores estén dispuestos a colaborar con el proyecto. El número de fincas en cada zona no debe ser menor a 5 fincas. Es importante que el productor este presente y dispuesto a responder algunas preguntas sobre su parcela de cacao.

1.3. Selección de árboles dentro de la finca

La selección de árboles se enfocará en muestrear a las variedades nativas (o criollos) que son morfológicamente distintas para tener un rango de genotipos lo más amplio posible. La identificación está basada en la forma de los frutos y en otras características del árbol. Los árboles seleccionados deben tener por lo menos 2 frutas maduras y ser vigorosos. Se debe muestrear 2-4 árboles por finca. En zonas de importancia para la producción en las cuales las parcelas estan enfocados en CCN51, será necesario tomar solamente 2 muestras por parcela. Está previsto un muestreo de 100 un máximo de 200 árboles por cuenca.

1.4. Toma de muestras

Los métodos elegidos para la toma de muestras están basados en el análisis de los estudios científicos más importantes de la región verificados por tres expertos internacionales. La preservación de muestras para el análisis genético exitoso ha sido comprobada por el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) bajo pruebas de laboratorio.

1.4.1. Información colectada sobre la finca, su manejo y el dueño

Previo a la colecta de muestras en la finca, el productor debe entender el alcance del estudio y los beneficios que este tendrá tras la culminación del mismo. Así también, es necesario contar con su autorización, disposición y disponibilidad para colaborar con la entrevista sobre su parcela. La ficha de encuesta se presenta a continuación:

1. UBICACIÓN GEOGRÁFICA E INFORMACIÓN DEL PRODUCTOR

Región	
Provincia	
Distrito	
Sector	
Propietario de la finca (Apellidos y nombres)	
Numero DNI	
Asociación/Organización de productores	
Contacto	
Comentario	

2. INFORMACIÓN DE LA PARCELA

Variedades de cacao	
Edad de la plantación	
Área de la parcela	
Rendimiento de la parcela (kg/año)	
Sistema productiva	
Producción orgánica o convencional	
Otros cultivos dentro de la parcela	
Uso anterior de la parcela	
Comentarios	

Uso de agroquímicos			
Nombre comercial	Dosis (por planta)	Frecuencia de aplicación (veces al año)	comentarios

Uso de fertilizantes y abonos		
Fertilizante	Kg/ha	Frecuencia de aplicación

Riego	
Frecuencia de riego	
Origen de agua de riego (lluvia, ojo de agua, río, subsuelo)	

1.4.2. Información colectada por cada árbol

Cada árbol elegido para muestrear recibirá un código único (A1-A2000), y estará marcado utilizando una medalla de aluminio o plástico colgada por el tronco o rama que no será podada, sin la posibilidad que esta caiga y fuera del alcance de los niños. Los siguientes datos serán anotados:

- Código del árbol (A1, A2....)
- Código de árbol en otros proyectos (si esta ya marcado)
- Latitud y Longitud: tomado por cada árbol usando GPS WGS84 en grados decimales mediante un equipo receptor de GPS
- Altitud (msnm): por GPS
- Variedad: Variedad de árbol según el dueño y confirmado por experto de equipo de colecta
- Diámetro basal (cm)

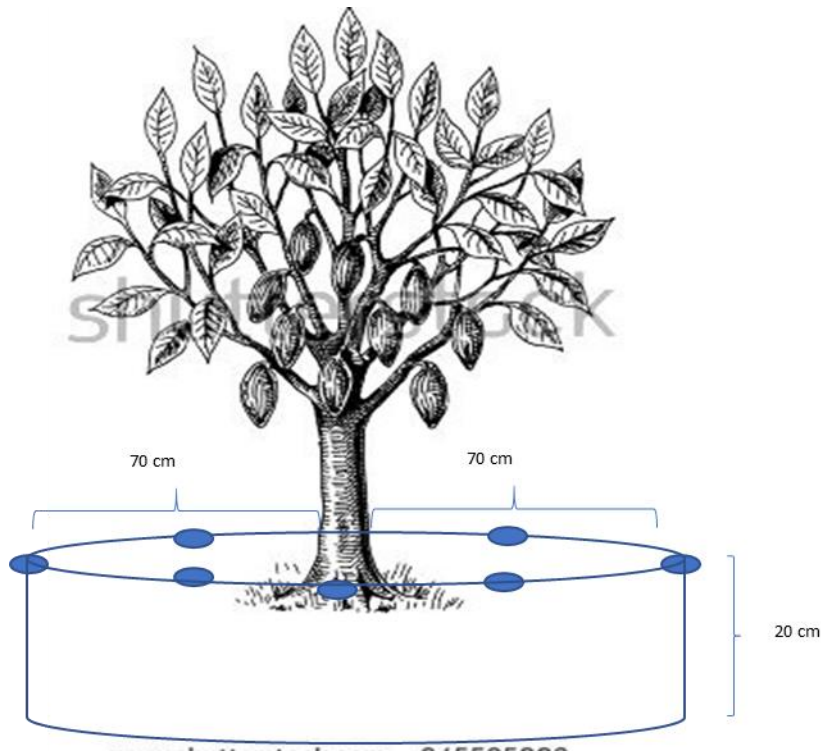
- Altura del árbol (m)
- Pendiente del sitio por donde está creciendo el árbol
- Condición fitosanitaria: enfermedades, plagas y deficiencia nutricional
- Comentario organoléptico del fruto: olor y sabor de la pulpa y color de las semillas (si posible)
- Registro de toma de muestras: suelo, hoja (Cd), hoja (ADN), almendra (Cd), tallo (Cd), tallo (ADN), raíz y agua de riego.

También, por cada árbol se toma 2 fotos:

- Una foto del árbol con una pizarra adelante indicando su código, idealmente con el dueño del árbol.
- Una foto de los frutos cosechados en la misma pizarra antes de abrirlos.



1.4.3. Toma de muestra de suelo (AX S)



- Eliminar la hojarasca alrededor del árbol.

- Utilizar un barreno para tomar 8 submuestras equidistantes alrededor de la planta a 70cm del tronco y a una profundidad de 20cm., como se indica en la figura adjunta.

- Colocar las submuestras en la misma bolsa plástica sellable con el código AX S.

1.4.4. Toma de muestra de raíces (AX M)

- Dentro de la misma zona de muestreo de suelo alrededor del árbol, se buscarán 20 muestras de raíces finas y superficiales.
- Retirar el suelo de la muestra antes de guardarla en una sobre de papel con código AX M.

1.4.5. Toma de muestras de hojas para análisis de Cadmio (AX H Cd)

- Con la meta de coleccionar 20 hojas adultas, sanas y completas, tomar la hoja número 7 y 8 contando desde la última, de 10 ramas.
- Guardar en sobres de papel (5 hojas en cada sobre) con código AX H Cd.

1.4.6. Toma de muestras de hojas para análisis genética (AX H Gen)

- Colectar 2 hojas adultas, sanas y completas. Guardar en una sobre de papel, marcado con código AX H Gen.
- Los sobres con hojas para análisis genético deben ser puestas directamente en una bolsa grande con silica gel para que sequen inmediatamente.

1.4.7. Toma de muestra de almendra (AX F)

- Cosechar de 02 a 04 mazorcas maduras utilizando una tijera de podar. Para retirar, se hace un corte lo más próximo a la mazorca.
- Abrir las mazorcas y realizar un análisis organoléptico (color de granos, olor y sabor).
- Colectar de 30 a 50 almendras o granos en total, hacer lo mismo con cada mazorca.
- Guardar los granos en una bolsa plástica con cierre, con el código AX F.



1.5. Conservación de muestras en el campo

Es importante asegurar que las muestras para análisis genético empiecen a secar lo más rápido posible para evitar contaminación de hongos.

En la tarde después del día de colecta se debe guardar las muestras en la siguiente manera:

- **Muestras de hojas para análisis genético (1.6.6):** Poner los sobres en bolsas transparentes con silica gel, con suficiente espacio para que el agua puede salir de las muestras (puede ser 5-10 sobres en una bolsa). Cerrar las bolsas y cada día monitorear la silica, cambiándola cuando está húmeda.
- **Muestras de raíces (1.6.4):** Retirar lo máximo el suelo de cada muestra y poner los sobres en bolsas transparentes con silica gel, con suficiente espacio para que el agua puede salir de las muestras (puede ser 5-10 sobres en una bolsa). Cerrar las bolsas y cada día monitorear la silica, cambiándola cuando está húmeda.
- **Muestras de hojas para el análisis de Cadmio (1.6.5)** Dejar las muestras afuera de los las cajas plásticas cuando sea posible para que empiecen a secar. En los días siguientes en el campo su puede dejarlos en el sol.

Tipo	Código	Almacenaje y tratamiento de muestras	
	X es el número del árbol	Campo	Conservación en el laboratorio
Suelo	AX S	Submuestras combinadas en campo en una bolsa sellable.	Secar en el aire. Utiliza 50g para medición de pH.
Hojas	AX H Cd	Guardar hasta 5 hojas en una sobre de papel, Dejar secar al aire si es posible	Secado en horno a 70°C por 10 horas. Guardar en recipiente / bolsa sellable
	AX H Gen	Guardar en una sobre de papel puesto en una bolsa plástica con silica gel. Monitorear la silica y cambiar cuando sea necesario	
Almendra	AX F	Guardar en bolsas plásticas autosellables.	Secar las semillas en horno (70°C por 10 horas). Guardar en recipiente / bolsa sellable
Raíces	AX M	Guardar en un sobre de papel puesto en envase plástico con gel de silica. Monitorear la silica y cambiándola cuando sea necesario	

