

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

METALES TRAZA (As, Cr, Cd, Co, Ni, Pb) EN PLANTACIONES BANANERAS DE COSTA RICA Y
EFECTO DEL CROMO EN EL CRECIMIENTO Y LA ABSORCIÓN DE NUTRIMENTOS EN LA
PLANTA DE BANANO (*Musa* AAA)

Tesis sometida a la consideración de la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en
Química para optar al grado y título de Maestría Académica en Química

VEDA OBANDO BUSTOS

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

2021

DEDICATORIA

Con todo cariño dedico este trabajo a mi madre, que ha sido mi apoyo a través de todos estos años, quien siempre me ha dado valor para salir adelante y cumplir mis metas. Y a mi hija Sara, mi compañera de vida, quien llena de ilusión y alegría mis días y por quien trato de ser mejor cada día.

AGRADECIMIENTOS

Mi eterno agradecimiento a mis compañeros de CORBANA, gracias a quienes fue posible que lograra estudiar esta Maestría y pudiera culminar esta investigación. Al Dr. Jorge Sandoval y al Dr. Rafael Segura por apoyarme en este proyecto académico, a mis compañeros Ing. Juan Samuels e Ing. Roddy Ortega, a los compañeros asistentes de agronomía: Romain Mora, Juan Alfaro, Esteban Aguilar, Cristian Rosales, a los trabajadores de campo: Arlin Salas, Cristhian Quesada, Víctor Martínez, Luis Martínez, al personal del Laboratorio Químico: Marco Madrigal, Heiner Henríquez, Juan Carlos Aguilar, Carlos Vargas y José Corrales. Al Ing. José Antonio Guzmán por su colaboración en la preparación de los mapas, al Ing. Fabio Blanco por su ayuda en la estadística del experimento en invernadero y a otras muchas personas de CORBANA que de una u otra forma apoyaron este proyecto. En general al Centro de Investigaciones de CORBANA en La Rita. Mil gracias a todos, de verdad sin su ayuda no hubiera sido posible concluir esta meta.

Esta tesis fue aceptada por la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Química de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado y título de Maestría Académica en Química



MSc| Paola Fuentes Schweizer
Representante del Decano
Sistema de Estudios de Posgrado



Dra. Rosaura Romero Chacón
Profesora guía



Dr. Max Chavarria Vargas
Lector



M. Sc. Rafael Segura Mena
Lector



Dr. Carlos Calderón Castro
Representante del Director del
Programa de Posgrado en Química



Veda María Obando Bustos
Sustentante

TABLA DE CONTENIDOS

CONTENIDO	PÁGINA
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
HOJA DE APROBACIÓN.....	iv
TABLA DE CONTENIDOS.....	v
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
CAPÍTULO 1 Introducción	1
1.1 Los metales traza no esenciales	1
1.1.1 Cadmio	1
1.1.2 Cobalto	2
1.1.3 Cromo	2
1.1.4 Níquel	3
1.1.5 Arsénico	3
1.1.6 Plomo	4
1.2 Los metales traza no esenciales y las plantas	4
1.3 El cultivo de banano	7
1.4 Objetivo general	9

1.5 Objetivos específicos	9
CAPITULO 2 Materiales y métodos	10
2.1 Plan de muestreo	10
2.2 Determinación de metales traza en suelos	13
2.3 Evaluación del contenido de metales traza en la planta de banano	14
2.4 Evaluación del efecto del cromo en la planta de banano	15
2.5 Análisis de datos	16
CAPÍTULO 3 Resultados y Discusión	17
Determinación de concentraciones de metales traza en fincas bananeras de Costa Rica	18
Efecto del cromo en el crecimiento y en la absorción de nutrimentos en plantas de banano (<i>Musa</i> AAA, cv Gran Enano)	50
CAPÍTULO 4 Conclusiones	73
BIBLIOGRAFÍA	77
ANEXOS	83

RESUMEN

Los metales traza son elementos que se encuentran en bajas concentraciones en el ambiente, generalmente menores a mil partes por millón. Algunos de estos elementos son requeridos en el ciclo de vida de diferentes seres vivos, por lo que se les conoce como micronutrientes; otros en cambio, no tienen un rol biológico y son tóxicos. Su determinación es importante como parte de las estrategias para mantener la salud y calidad de los suelos agrícolas. Por esta razón, se realizó un estudio para determinar la concentración de metales traza no esenciales en plantaciones de banano en Costa Rica. El estudio se llevó a cabo en diez plantaciones comerciales, se tomaron muestras de suelo, de tejido foliar y raíces. Para analizar las muestras de suelo se utilizaron dos metodologías: (i) extracción con disolución Mehlich 3 y (ii) digestión ácida, ambas seguidas de análisis ICP/OES. Esta última técnica también fue usada para el análisis del tejido vegetal. Se encontraron niveles bajos de arsénico ($<19 \text{ mg kg}^{-1}$), cadmio ($<1,2 \text{ mg kg}^{-1}$) y plomo ($<0,1 \text{ mg kg}^{-1}$) y niveles más altos de cobalto ($<33 \text{ mg kg}^{-1}$), níquel ($<55 \text{ mg kg}^{-1}$) y cromo ($<88 \text{ mg kg}^{-1}$) en los suelos, comparados con las concentraciones promedio mundiales. Estas concentraciones fueron menores a las reportadas en suelos bananeros de otros países. Este resultado es relevante porque evidencia un menor impacto de estos metales en las plantaciones de banano en suelo costarricense. De acuerdo con la metodología de Mehlich 3, las concentraciones promedio fueron: arsénico $0,06 \text{ mg kg}^{-1}$, cadmio $0,10 \text{ mg kg}^{-1}$, cromo $0,09 \text{ mg kg}^{-1}$, plomo $0,04 \text{ mg kg}^{-1}$, cobalto $0,51 \text{ mg kg}^{-1}$ y níquel $0,43 \text{ mg kg}^{-1}$. Estas concentraciones fueron inferiores a los niveles críticos de toxicidad establecidos para las plantas. Las concentraciones no excedieron los 5 mg kg^{-1} en las hojas y los 10 mg kg^{-1} en las raíces.

Debido a que el cromo fue el metal que presentó los mayores contenidos se evaluó el efecto de Cr (III) y Cr (VI) sobre el crecimiento y la absorción de nutrientes en plantas de banano en invernadero. Las plantas no mostraron síntomas visibles de toxicidad en concentraciones en el suelo hasta 150 mg kg^{-1} de Cr (VI) y hasta 350 mg kg^{-1} de Cr (III). El tratamiento con Cr (III) aumentó el peso de las plantas, mientras que el Cr (VI) disminuyó el peso de las raíces, con respecto al peso de plantas no expuestas al metal. Con el Cr (III) se presentó un posible fenómeno de hormesis, mejorando el crecimiento de la planta de banano. Ambos tipos de cromo se almacenaron en la raíz, como un mecanismo de tolerancia de la planta. El cromo en el suelo provocó cambios significativos en la concentración de nutrientes de las plantas. Mayor contenido de potasio y fósforo, así como menor de hierro y cobre, fue observado en las raíces. En las hojas se observó un aumento del manganeso y una disminución de hierro y zinc.

En esta investigación se encontraron bajos niveles de metales traza en las plantas de banano, tanto en las raíces como en las hojas. No se detectó arsénico ni plomo en ninguna de las muestras y los niveles de cadmio y cobalto se encontraron por debajo del límite de cuantificación del método. Únicamente las concentraciones de cromo y níquel pudieron ser efectivamente cuantificadas en los tejidos evaluados, pero éstas no superaron los 10 mg kg^{-1} . Estos resultados están de acuerdo con las bajas concentraciones de metales traza (menores a 2 mg kg^{-1}) encontradas en la fracción extraíble de los suelos.

ABSTRACT

Trace metals are elements that are found in low concentrations in the environment, generally less than a thousand parts per million. Some of these elements are required in the life cycle of different living beings, which is why they are known as micronutrients; others, on the other hand, do not have a biological role and are toxic. Trace metals determination is important as part of the strategies to maintain the health and quality of agricultural soils. For this reason, a study was carried out to determine the concentration of non-essential trace metals in banana farms in Costa Rica. The study was carried out in ten commercial plantations, samples of soil, leaf tissue and roots were taken. Two methodologies were used to analyze the soil samples: (i) extraction with Mehlich 3 solution and (ii) acid digestion, both followed by ICP/OES analysis. This last technique was also used for the analysis of plant tissue. Low levels of arsenic ($<19 \text{ mg kg}^{-1}$), cadmium ($<1,2 \text{ mg kg}^{-1}$) and lead ($<0,1 \text{ mg kg}^{-1}$) and higher levels of cobalt ($<33 \text{ mg kg}^{-1}$), nickel ($<55 \text{ mg kg}^{-1}$) and chromium ($<88 \text{ mg kg}^{-1}$) were found in soils, compared to global average concentrations. These concentrations were lower than those reported in banana soils of other countries. This result is relevant because it shows a lower impact of these metals in the banana plantations on Costa Rican soil. According to the Mehlich 3 methodology, the average concentration were: arsenic $0,06 \text{ mg kg}^{-1}$, cadmium $0,10 \text{ mg kg}^{-1}$, chromium $0,09 \text{ mg kg}^{-1}$, lead $0,04 \text{ mg kg}^{-1}$, cobalt $0,51 \text{ mg kg}^{-1}$ and nickel $0,43 \text{ mg kg}^{-1}$. These concentrations were lower than the critical levels of toxicity established for plants. Concentrations did not exceed 5 mg kg^{-1} in the leaves and 10 mg kg^{-1} in the roots.

Since chromium was the metal with the highest contents, the effect of Cr (III) and Cr (VI) on the growth and absorption of nutrients in greenhouse banana plants was evaluated. The plants did not show visible symptoms of toxicity in soil concentrations up to 150 mg kg^{-1} of Cr (VI) and up to 350 mg kg^{-1} of Cr (III). The treatment with Cr (III) increased the weight of the plants, while the Cr (VI) decreased the weight of the roots, with respect to the weight of plants not exposed to the metal. With Cr (III) a possible phenomenon of hormesis was presented, improving the growth of the banana plant. Both types of chromium were stored in the root, as a tolerance mechanism of the plant. Chromium in the soil caused significant changes in the concentration of nutrients in plants. Higher potassium and phosphorous content, as well as lower iron and copper content, was observed in the roots. An increase in manganese and a decrease in iron and zinc were observed in the leaves.

In this investigation, low levels of trace metals were found in banana plants, both in the roots and in the leaves. Arsenic and lead were not detected in any of the samples and the levels of cadmium and cobalt were below the limit of quantification of the method. Only chromium and nickel concentrations could be effectively quantified in the evaluated tissues, but these did not exceed 10 mg kg^{-1} . These results are in agreement with the low concentrations of trace metals (less than 2 mg kg^{-1}) found in the extractable fraction of the soils.

LISTA DE FIGURAS

DESCRIPCIÓN	PÁGINA
Figura 1. Mapa de ubicación de las fincas de banano seleccionadas para el estudio.	10
Figura 2. Mapa con la disposición de los puntos de muestreo de una de las plantaciones del estudio, corresponde a imagen satelital (Google Maps, 2017).	11



UNIVERSIDAD DE
COSTA RICA

SEP Sistema de
Estudios de Posgrado

Autorización para digitalización y comunicación pública de Trabajos Finales de Graduación del Sistema de Estudios de Posgrado en el Repositorio Institucional de la Universidad de Costa Rica.

Yo, Veda Obando Bustos, con cédula de identidad 5-0280-0269, en mi condición de autor del TFG titulado Metales traza (As, Cr, Cd, Co, Ni, Pb) en plantaciones bananeras de Costa Rica y efecto del cromo en el crecimiento y la absorción de nutrimentos en la planta de banano (Musa AAA)

Autorizo a la Universidad de Costa Rica para digitalizar y hacer divulgación pública de forma gratuita de dicho TFG a través del Repositorio Institucional u otro medio electrónico, para ser puesto a disposición del público según lo que establezca el Sistema de Estudios de Posgrado. SI ☐ NO ☒

*En caso de la negativa favor indicar el tiempo de restricción: 1 año (s).

Este Trabajo Final de Graduación será publicado en formato PDF, o en el formato que en el momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre, con el fin de permitir la consulta e impresión, pero no su modificación.

Manifiesto que mi Trabajo Final de Graduación fue debidamente subido al sistema digital Kerwá y su contenido corresponde al documento original que sirvió para la obtención de mi título, y que su información no infringe ni violenta ningún derecho a terceros. El TFG además cuenta con el visto bueno de mi Director (a) de Tesis o Tutor (a) y cumplió con lo establecido en la revisión del Formato por parte del Sistema de Estudios de Posgrado.

FIRMA ESTUDIANTE

Nota: El presente documento constituye una declaración jurada, cuyos alcances aseguran a la Universidad, que su contenido sea tomado como cierto. Su importancia radica en que permite abreviar procedimientos administrativos, y al mismo tiempo genera una responsabilidad legal para que quien declare contrario a la verdad de lo que manifiesta, puede como consecuencia, enfrentar un proceso penal por delito de perjurio, tipificado en el artículo 318 de nuestro Código Penal. Lo anterior implica que el estudiante se vea forzado a realizar su mayor esfuerzo para que no sólo incluya información veraz en la Licencia de Publicación, sino que también realice diligentemente la gestión de subir el documento correcto en la plataforma digital Kerwá.

CAPÍTULO 1

Introducción

1.1 Los metales traza no esenciales

Los metales traza son elementos que se encuentran en bajas concentraciones, generalmente menores a mil partes por millón (ppm), en el agua, las rocas o el suelo (con excepción de los depósitos minerales naturales) (Duffus, 2007). También es posible que estén presentes en otras fuentes como plantas y otros organismos, en los que usualmente las concentraciones encontradas son menores a cien partes por millón en materia seca (Alloway, 2013). Algunos de estos elementos son requeridos en el ciclo de vida de diferentes seres vivos, por lo que se les conoce como micronutrientes; otros en cambio, no tienen un rol biológico y son tóxicos. Un nombre popular para éstos últimos, especialmente en el campo ambiental, es el de “metales pesados”, en alusión a su alta densidad. Este término usualmente se ha asociado a los metales más tóxicos, por lo que tiene una connotación peyorativa (Appenroth, 2010; Duffus, 2007).

Los metales traza de interés en el presente estudio, arsénico y plomo, pertenecen al bloque “*p*” y los metales cadmio, cobalto, cromo y níquel al bloque “*d*” de la Tabla Periódica. Los primeros tienden a enlazarse fuertemente con el azufre y ésta es la principal causa de su toxicidad en plantas y animales, mientras que los segundos presentan una mayor gama de reacciones redox, formación de complejos de coordinación y un rol catalítico en la acción enzimática (Duffus, 2007).

1.1.1 Cadmio

El cadmio está ampliamente distribuido en la corteza terrestre, se encuentra usualmente como el catión divalente Cd^{2+} en los suelos, en concentraciones menores a 1 mg kg^{-1} (Alloway, 2013). Tiene propiedades químicas y físicas similares a las del zinc por lo que frecuentemente coexiste con ese metal en la naturaleza, en una relación Cd:Zn de 1:200 (Alloway, 2013). Cerca del 50% del contenido de cadmio presente en el ambiente es posible

que provenga de la aplicación de fertilizantes fosfatados (Gupta et al., 2014; Thomas & Omuetti, 2012; Tirado & Allsopp, 2012). Este elemento no tiene ninguna función biológica en los organismos vivos, es tóxico y compite con los nutrientes minerales absorbidos por las plantas, por lo que provoca deficiencias inducidas (Lin & Aarts, 2012; Nazar et al., 2012). El cadmio es uno de los metales más fitotóxicos porque es muy soluble en agua y fácilmente absorbido por las plantas (Dias et al., 2013; Furini, 2012), su biodisponibilidad aumenta al bajar el pH y el contenido de materia orgánica del suelo, además su absorción es estimulada por la deficiencia de zinc (Benavides, Gallego & Tomaro, 2005; Sigel, Sigel & Sigel, 2013). En una reciente investigación en Egipto, sobre el efecto de los metales pesados en plantas de banano (Grand Nain) *in vitro*, se encontró que el cadmio provoca una disminución en el contenido de clorofila y carotenoides; así como en la mayoría de los parámetros de crecimiento de las plantas (El-Mandy, Abdel-Wahab & Youssef, 2021).

1.1.2 Cobalto

El cobalto no es un elemento abundante en la corteza terrestre y se encuentra de forma natural en los suelos principalmente como Co (II) en niveles de 15 a 25 mg kg⁻¹ (Singh, Jat, & Chaudhari, 2010), en asociación con el manganeso debido a sus propiedades químicas similares (Alloway, 2013). No es un elemento esencial para las plantas pero sí lo es para el ser humano y los animales, ya que forma parte de la vitamina B12 o cianocobalamina (Huwait et al. 2015; Tóth et al. 2016). Si bien el cobalto no es requerido por las plantas, es utilizado por los microorganismos involucrados en el proceso simbiótico de fijación de nitrógeno (Page & Feller, 2015). Niveles de cobalto mayores a 100 mg kg⁻¹ en los suelos provocan acumulación en las plantas y disminución de su biomasa (Jayakumar & Jaleel, 2009).

1.1.3 Cromo

El cromo es el séptimo elemento más abundante de la corteza terrestre, se presenta principalmente como Cr (III) y Cr (VI) (Singh et al. 2013) en las cromitas (FeCr₂O₄) donde es gradualmente expuesto hacia los suelos por desgaste de los materiales parentales (Cheng

et al., 2011). Los suelos contienen por lo general de 0,5 a 250 mg kg⁻¹ de cromo, con valores promedio entre 40 y 70 mg kg⁻¹ (Alloway, 2013), sin embargo, los suelos serpentínicos, originados en rocas ultramáficas, presentan mayores concentraciones tanto de él como de níquel (Cheng et al., 2011). Este elemento es absorbido como sulfato por las plantas y puede producir alteraciones en algunos de sus procesos metabólicos de tal forma que afecta la síntesis de la clorofila, inhibe el crecimiento y genera clorosis (Anjum et al. 2016; Peralta-Videa et al. 2009; Shahid et al., 2017; Singh et al., 2013).

1.1.4 Níquel

El níquel es un elemento que se encuentra en casi todos los suelos, usualmente como Ni (II), (Singh et al., 2010), con un promedio mundial de 22 mg kg⁻¹ (Alloway, 2013). No es considerado un elemento esencial para los seres vivos, sin embargo, las plantas con deficiencia de níquel presentan acumulación tóxica de urea debido a la pérdida de actividad de la ureasa, la cual contiene níquel en su sitio activo (Hänsch & Mendel, 2009). El níquel es fuertemente fitotóxico a altas concentraciones, los síntomas más comunes de su toxicidad son inhibición del crecimiento, la fotosíntesis, la germinación de semillas y el transporte de azúcar, además inducción de clorosis, necrosis y marchitamiento (Bhalerao et al. 2015).

1.1.5 Arsénico

El arsénico es un metaloide ubicuo que se encuentra en casi todas las matrices ambientales, principalmente en minerales sulfurosos (Nordberg, 2012) en el suelo y en el agua subterránea. Los rangos en el suelo usualmente van de 1 a 40 mg kg⁻¹ (Tchounwou et al., 2011), con un promedio mundial de 5-7.5 mg kg⁻¹ (Alloway, 2013). Además de encontrarse naturalmente, el arsénico también está presente debido a su uso en insecticidas agrícolas y conservantes para madera (Nordberg, 2012). No es un elemento esencial para los seres vivos. Las formas arsenito As (III) y arsenato As (V), son las más comunes, siendo la última la más tóxica y la más abundante en los suelos. El As (V) compite con el fosfato que está involucrado en muchas rutas bioquímicas e interfiere por lo tanto en la síntesis de ATP

(Peralta-Videa et al., 2009). El As (III) puede inactivar más de 200 enzimas al unirse a grupos tiol o sulfhidrilo en proteínas (Nordberg, 2012).

1.1.6 Plomo

El plomo está presente en pequeñas cantidades y generalmente como Pb(II) en la corteza terrestre. Sin embargo, las actividades antropogénicas como el uso de combustibles fósiles son las que contribuyen a aumentar su concentración en el ambiente. El contenido promedio mundial de plomo en suelos no contaminados es de 17 mg kg^{-1} , con un rango de 13 a 221 mg kg^{-1} (Alloway, 2013). Algunos fertilizantes fabricados a partir de residuos de la industria metalúrgica pueden contener hasta 18 mg kg^{-1} de plomo, como es el caso de los fertilizantes basados en sulfato de zinc (Atafar et al., 2008). El plomo es un elemento tóxico para los seres vivos, un exceso en el suelo provoca un menor desarrollo del tallo y la raíz (Li et al., 2011). A diferencia de otros metales, el pH del suelo y el contenido de materia orgánica no parecen tener influencia en la biodisponibilidad del plomo en las plantas (Safari, et al., 2015).

Si bien existe mucha información sobre los contenidos de los metales traza esenciales, conocidos como micronutrientes (hierro, cobre, zinc y manganeso), en suelos agrícolas y en diferentes cultivos, es escasa o nula la información referente a los niveles de metales traza no esenciales, como los de interés en el presente estudio, en los diferentes cultivos, especialmente en los países en vías de desarrollo. El estudio de los niveles de estos metales en los suelos agrícolas y su posible efecto en los cultivos es un tema relevante para la agricultura, especialmente para los cultivos de gran importancia económica y social.

1.2 Los metales traza no esenciales y las plantas

Los metales traza pueden ocasionar toxicidad en las plantas mediante diferentes mecanismos. Uno de ellos es la inducción de estrés oxidativo, debido a un aumento en la formación de especies reactivas de oxígeno como H_2O_2 , O_2^- y $\text{OH}^\cdot$ (Nagajyoti, Lee, & Sreekanth, 2010), moléculas altamente reactivas que reaccionan con macromoléculas

como ácidos nucleicos, proteínas, azúcares y lípidos, causando estrés oxidativo en las células vegetales y daño de la membrana celular (Lin & Aarts, 2012). La toxicidad también se puede presentar en el caso de los metales que tienen una alta afinidad por los grupos sulfhidrilo (-SH), tiol y carboxil, dado que se enlazan a las proteínas estructurales y las enzimas que los contienen, lo que evita el plegamiento correcto, interfieren con la actividad catalítica y perturban la regulación redox mediada por enzimas (Hossain et al. 2012). Otro mecanismo de toxicidad es la similitud de algunos metales a grupos bioquímicos funcionales. Tal es el caso del arsenato (AsO_4^{3-}), análogo al micronutriente fosfato (PO_4^{3-}) y que compite con él en muchas funciones celulares. El AsO_4^{3-} desplaza al fosfato en el ATP, que conduce a la formación del complejo inestable ADP-As el cual interfiere con los flujos de energía en la célula. Por último, los iones metálicos en los sitios activos de las enzimas pueden ser desplazados por iones de metales tóxicos dando como resultado la pérdida de actividad (Furini, 2012; Hossain et al., 2012; Peralta-Videa et al., 2009).

Las plantas poseen una variedad de mecanismos celulares involucrados en la desintoxicación de metales tóxicos y, por lo tanto, en la tolerancia al estrés causada por ellos. Exudados extracelulares que forman complejos estables con los metales en la vecindad de las raíces, la quelatación de metales en el citosol por medio de péptidos tales como las fitoquelatinas, la reparación de proteínas dañadas por el estrés y la compartimentación de metales en la vacuola que previene la concentración de metales en el citosol son algunos (Dalvi & Bhalerao, 2013; Hall, 2002). Para resistir tal estrés oxidativo, las células vegetales poseen un sistema antioxidante para la eliminación del exceso de especies reactivas de oxígeno, mediante la acción de varias enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT), la ascorbato peroxidasa (APX) y la glutatión reductasa (GR) (Lin & Aarts, 2012).

Las plantas generalmente no acumulan metales más allá de las necesidades metabólicas a corto plazo, oscilando entre 10 y 15 ppm de la mayoría de los elementos traza. Las excepciones son las plantas llamadas hiperacumuladoras, que pueden absorber iones tóxicos en niveles de miles de ppm, usualmente utilizando el mecanismo de secuestro en

las vacuolas. La absorción de metales tóxicos utilizando plantas para la recuperación de suelos contaminados, mediante la fitorremediación, la cual es una tecnología ambientalmente amigable de intensa investigación (Chibuike & Obiora, 2014; Tangahu et al., 2011).

En las plantas se puede presentar un aumento en las concentraciones de los metales traza, debido a la aplicación continua de agroquímicos, esto es especialmente relevante en los cultivos de alta productividad. Adicionalmente, la fertilización puede producir acidificación del suelo y aumentar de esta manera la solubilidad de los metales presentes, lo que aumenta la biodisponibilidad de los mismos.

Por ejemplo, en dos de los cultivos de mayor relevancia económica, como lo son el trigo y el maíz, se ha documentado la presencia de metales tóxicos como plomo, cromo, arsénico y cadmio, debido a la aplicación de agroquímicos (Wang et al. 2017).

La aplicación de fertilizantes, especialmente los fosfatados, puede provocar acumulación de metales tóxicos en los suelos. El cultivo de banano, por ejemplo, es un fuerte demandante de nutrimentos del suelo y requiere la aplicación de cerca de 2,5 toneladas de fertilizante por hectárea por año (López & Espinosa, 1995). Lo anterior quedó en evidencia en un estudio de suelos de plantaciones de banano en China, este país es el segundo mayor productor mundial de la fruta. En la investigación se encontraron contenidos de níquel ($3,47\text{-}121,86\text{ mg kg}^{-1}$) y cadmio ($0,43\text{-}3,21\text{ mg kg}^{-1}$) mayores a los estándares de calidad de suelo establecidos en dicho país (Lin, Ouyang, Huang, & Huang, 2010). El estudio indica que la fuente de esa acumulación fue posiblemente la aplicación de agroquímicos durante las últimas dos décadas.

Para la mayoría de metales traza las condiciones ácidas favorecen la biodisponibilidad, por lo que pueden ser captados por las plantas provocando efectos nocivos sobre éstas. En un estudio en Costa Rica se encontró que la continua aplicación de fertilizantes nitrogenados produce acidificación del suelo y ésta a su vez provoca una menor cantidad de raíz funcional en las plantas de banano y una caída en la producción. La acidificación también indujo un

alto contenido de aluminio en el tejido radical de las plantas, lo que indica que las condiciones ácidas del suelo aumentaron la biodisponibilidad de este metal tóxico. Por esta razón, la presencia de altas concentraciones de aluminio en las raíces puede ser considerado como un indicador de condiciones de suelo que favorecen la biodisponibilidad de metales tóxicos (Segura et al., 2015).

Tanto la aplicación intensa de fertilizantes como la acidificación asociada a la misma se puede presentar en las plantaciones comerciales de banano a nivel mundial, lo que genera riesgo de acumulación de metales tóxicos tanto en el suelo como en las plantas. A la fecha, sin embargo, existen escasos estudios al respecto.

En el caso de los suelos dedicados al cultivo de banano en Costa Rica no existen estudios referentes al contenido de metales traza no esenciales. Incluso en países de larga trayectoria en el cultivo de banano, como es el caso de India, el mayor productor mundial de esta fruta, no fue sino hasta el año 2010 que se publicó el primer estudio sobre metales pesados en suelos de sus plantaciones bananeras (Sahodaran y Ray, 2018).

1.3 El cultivo de banano

El banano es un cultivo perenne que crece con rapidez y puede cosecharse durante todo el año. Es un cultivo de gran importancia socioeconómica a nivel mundial, la variedad más popular es conocida como Cavendish (*Musa AAA*), y representa cerca del 47% de la producción mundial de la fruta (Sahodaran & Ray, 2018). El banano (incluyendo al plátano) es el cuarto cultivo más importante a nivel global, después del trigo, el arroz y el maíz. El volumen de exportación del banano es muy alto, siendo Estados Unidos y Europa los principales importadores. En muchas partes del mundo el banano y el plátano son fundamentales en la dieta, los principales productores mundiales son India y China (ONUAA, 2004).

El banano no es nativo de América, fue introducido al continente después del periodo de conquista europea. La producción y exportación de banano en Costa Rica comenzó hace

más de 130 años y actualmente el país es uno de los mayores exportadores mundiales. El área cultivada en Costa Rica alcanza las 43.000 hectáreas y en el año 2019 exportó 121 millones de cajas de la fruta. El sector bananero genera cerca de 40.000 empleos directos y 100.000 plazas de manera indirecta en actividades conexas, tales como comercio, fábricas de insumos y transporte. Esto representa cerca del 74% del empleo directo e indirecto en la zona Huetar Caribe del país (CORBANA, 2020).

Los cantones del Caribe costarricense Pococí, Guácimo, Siquirres, Matina, Limón y Talamanca, de la provincia de Limón, además de Sarapiquí perteneciente a Heredia, concentran el 98% del área cultivada en el país. La mayoría del banano de exportación es cultivado en plantaciones bananeras de gran extensión. En dicha zona Caribe existen dos formaciones de suelo, las cuales han conducido a la distinción de dos zonas conocidas como zona Oeste (Caribe noroeste) y zona Este (Caribe sureste). La separación natural de ambas la constituye la cuenca del Río Reventazón. Los suelos de la zona Oeste son de origen volcánico con predominancia de arcilla metahalosita y son considerados de baja fertilidad, mientras que los suelos de la zona Este son de origen aluvial con presencia principalmente de montmorillonita y se consideran de alta fertilidad (Arias et al. 2010).

Tras décadas de aplicación de fertilizantes en las plantaciones bananeras del Caribe de Costa Rica es relevante investigar si se ha producido algún tipo de acumulación de metales tóxicos en los suelos, o bien si la acidificación de los mismos ha provocado que más metales estén disponibles para ser absorbidos por las plantas, lo que, desde el punto de vista del manejo agronómico del cultivo, es un aspecto de relevancia porque puede provocar desbalances nutricionales y fitotoxicidad, afectando de esa forma la productividad de las plantaciones y poniendo en riesgo esta importante actividad económica. Además, desde la perspectiva del manejo integral del recurso suelo, es importante conocer el grado de acumulación y disponibilidad de aquellos metales que no son estudiados de forma rutinaria y de los cuales no se posee información, pero que pueden provocar un impacto en el agroecosistema bananero. Finalmente, debido a que los metales traza de interés en el presente estudio pueden ser tóxicos para el ser humano y el ambiente, su estudio es un

tema de gran relevancia para el sector bananero, el cual debe velar por la calidad e inocuidad de la fruta producida y por implementar prácticas agrícolas que aminoren el impacto sobre el ambiente.

El objetivo de esta investigación fue determinar los niveles de cromo, cobalto, níquel, cadmio, plomo y arsénico en plantaciones de banano en el Caribe de Costa Rica. El cromo fue el metal traza que se encontró en mayor cantidad por lo que posteriormente se evaluó a nivel de invernadero el efecto causado por Cr (III) y Cr (VI) en el crecimiento y la absorción de nutrimentos en plantas de banano *Musa AAA*.

1.4 Objetivo general

Determinar los niveles de metales traza (cromo, cobalto, níquel, cadmio, plomo y arsénico) en suelos dedicados al cultivo de banano en Costa Rica y su papel en el crecimiento de la planta de banano.

1.5 Objetivos específicos

1.5.1 Diseñar un plan de muestreo y cuantificar los niveles de metales traza en suelos bananeros de Costa Rica.

1.5.2 Evaluar el contenido de metales traza en diferentes partes de la planta de banano.

1.5.3 Evaluar el papel de metales traza en el crecimiento de la planta de banano y definir en cuál parte de la planta se acumulan.

CAPÍTULO 2

Materiales y Métodos

2.1 Plan de muestreo

La investigación se realizó en 10 plantaciones de banano en la zona Caribe de Costa Rica, de marzo a julio de 2017. Se tomaron 15 muestras de cada una de las fincas, distribuidas por toda la plantación, para un total de 150 muestras de suelo (Figuras 1 y 2).

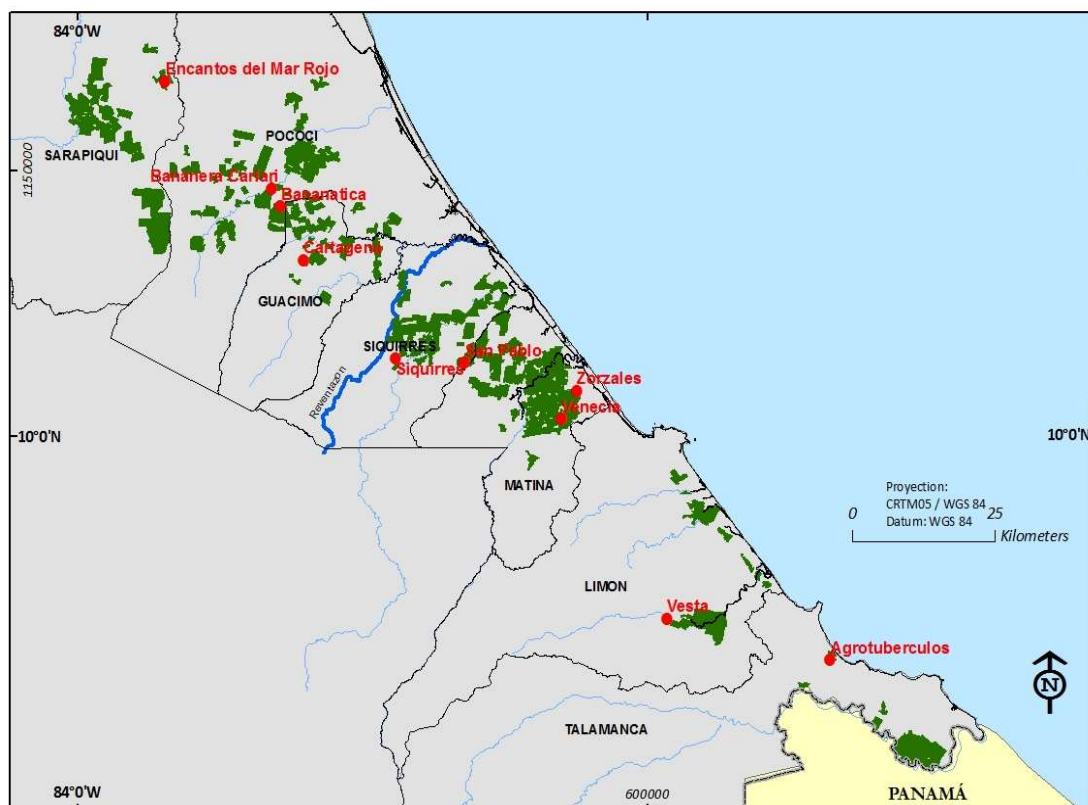


Figura 1. Mapa de ubicación de las fincas de banano seleccionadas para el estudio.

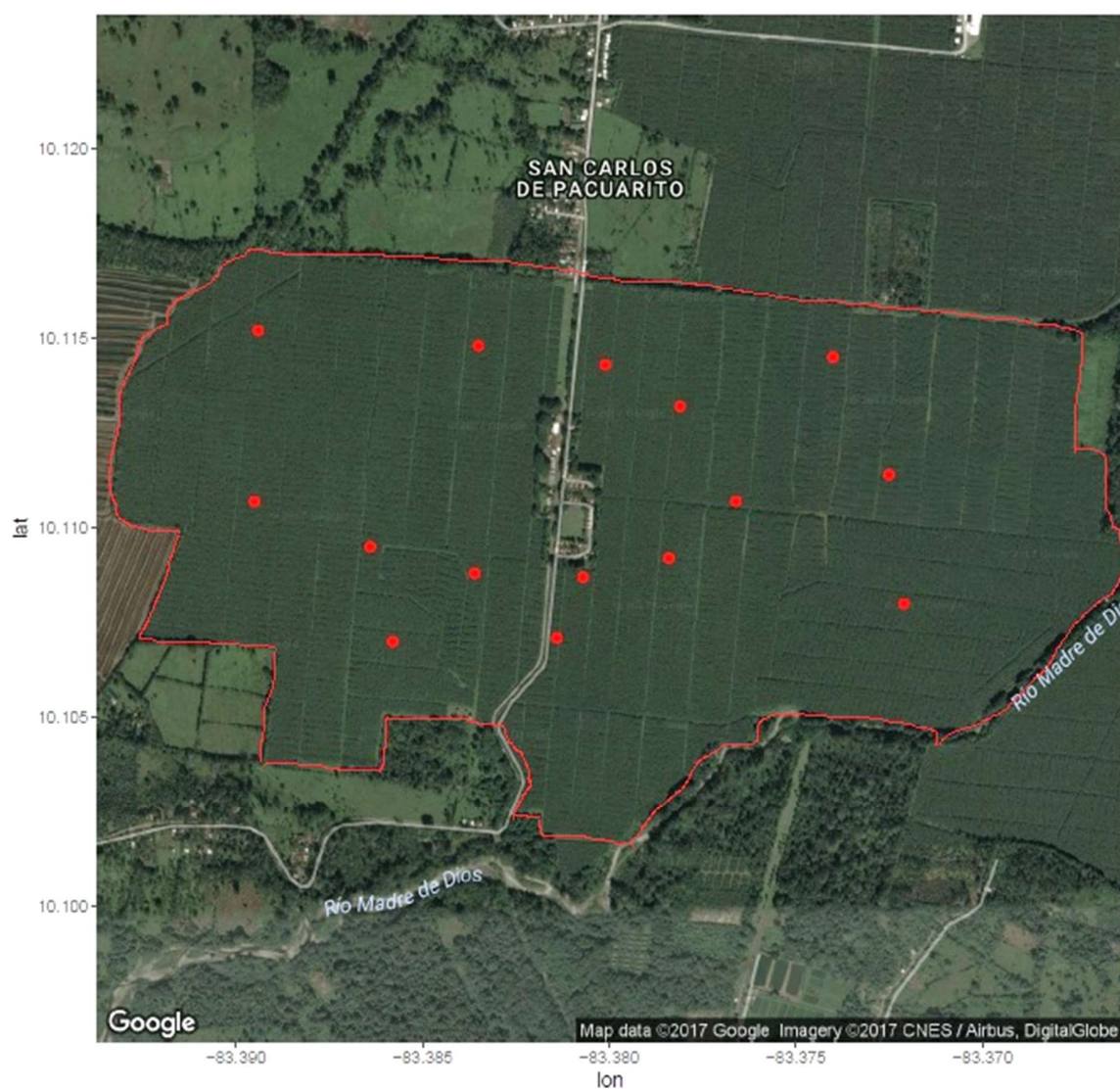


Figura 2. Mapa con la disposición de los puntos de muestreo de una de las plantaciones del estudio, corresponde a imagen satelital (Google Maps, 2017).

Las fincas bananeras dividen el terreno en cables, que son construcciones previstas para el transporte de los racimos hasta la planta empacadora. Estos cables tienen longitudes muy variadas, sin embargo, su utilidad práctica hace que los sectores alrededor de cada cable sean tomados como unidades de referencia para manejo, muestreo y medición de la productividad.

Se tomaron 15 muestras de suelo en cada finca, para ello se seleccionaron de 10 a 15 cables en cada finca, de tal forma que los puntos de muestreo se ubicaran a lo largo de toda la plantación. Se tomó una muestra de suelo a 30 cm en frente del hijo de sucesión de una planta recién florecida, en la banda de fertilización. Se hizo una minicalicata de 40 x 60 cm, con 20 cm de profundidad. Se tomó la muestra de suelo (cerca de 100 gramos) de la superficie hasta los 10 cm de profundidad con una cuchara plástica y se colocó en una bolsa plástica para ser transportada al laboratorio (Anexo 1). En el laboratorio los suelos fueron secados a 40 °C por 72 horas en bolsas de papel, posteriormente fueron molidos en un mortero de ágata.

Se tomaron 15 muestras de tejido foliar de banano y de raíces, en cada una de las fincas, para un total de 150 muestras de cada tipo. El muestreo de las plantas coincidió con el muestreo de suelos indicado anteriormente, es decir, se muestreó la planta recién florecida. Para el muestreo de raíces se sacó un bloque de suelo a 5 cm en frente del hijo de sucesión, con una profundidad de al menos 10 cm y se colocó sobre un plástico, se sacaron las raíces principales y se guardaron en una bolsa plástica. Ver el detalle en el Anexo 1.

En el muestreo del tejido foliar, debido al gran tamaño de las hojas de la planta de banano, se seleccionó una parte de ellas para el análisis. Para el muestreo foliar se utilizó el método internacional de referencia (Martín-Prevel, 1974), en el cual se muestrea la lámina foliar de

la hoja 3 para realizar la interpretación del estado nutricional del cultivo. El muestreo se realiza en las plantas después de la emergencia floral, se toma una faja de 10 cm de ancho a ambos lados de la nervadura central de la hoja (López & Espinosa, 1995). En el presente estudio se tomó la extensión de la faja que va del centro de la lámina al extremo (parte externa), desechando la parte interna de la faja (Ver Anexo 1). Se tomó una muestra de la hoja 3 de la planta frente a la cual se tomó la muestra de suelo, y de cuatro plantas más alrededor de éstas en el mismo cable y también recién florecidas.

En el laboratorio las muestras de raíces y hojas fueron secadas a 70 °C por 72 horas en bolsas de papel, posteriormente fueron molidas en un molino Restch SM100 hasta un tamaño de partícula menor a 0,5 mm.

2.2 Determinación de metales traza en suelos

Se midió el contenido total de metales traza en el suelo por medio de digestión en microondas y posterior análisis ICP/OES (EPA Method 3051A) (EPA, 2007). Además, se midió el contenido extraíble de estos elementos utilizando la disolución extractora Mehlich 3 (Mehlich, 1984). Se leyeron los elementos de interés para el estudio: arsénico, cadmio, cobalto, cromo, níquel y plomo.

Se midieron muestras de suelo de 2,5 g para extracción con 10 mL de solución Mehlich 3, que contenía ácido acético glacial 0,2 mol L⁻¹, nitrato de amonio 0,25 mol L⁻¹, fluoruro de amonio 0,015 mol L⁻¹, ácido nítrico 0,013 mol L⁻¹ y ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 0,001 mol L⁻¹. Se agitaron durante 5 minutos a 200 oscilaciones por minuto en un agitador oscilante, se dejaron reposar durante 5 minutos y se filtraron. El extracto resultante se utilizó para análisis por ICP/OES (Perkin Elmer Optima 7300 DV).

El método de digestión ácida consistió en mezclar 0,5 g de muestra de suelo con una solución de 4,5 mL de ácido nítrico al 67% (Merck Suprapur) y 1,5 mL de ácido clorhídrico al 37% (Merck ACS) en tubos de teflón (Teflon-PFA) en un sistema de digestión por microondas Mars Xpress CEM. Las muestras se calentaron durante 15 minutos hasta

alcanzar los 200 °C y se mantuvieron a esa temperatura durante 20 minutos. Se dejaron enfriar y los extractos resultantes se redisolviaron en 50 mL de agua desionizada (18,2 MΩcm⁻¹), posteriormente se filtraron para su posterior análisis por ICP/OES (Método EPA 3051A).

Las condiciones del equipo ICP/OES fueron las siguientes: cámara de pulverización de microciclón y nebulizador tipo Seaspray, potencia 1500 W, vista axial, caudal de argón 15 Lmin⁻¹, caudal auxiliar 0,2 Lmin⁻¹, caudal nebulizador 0,85 Lmin⁻¹ para extractos Mehlich 3 y 0,65 Lmin⁻¹ para muestras de digestión ácida. Las curvas de calibración ($r^2 > 0,999$) se prepararon en siete concentraciones diferentes, en un rango de 0,1 a 1,0 mgL⁻¹, a partir de un estándar con concentraciones de 1000 mgL⁻¹ de cada elemento (Inorganic Ventures, USA), con la misma matriz ácida de las muestras. Se utilizó una corrección de fondo de ajuste espectral multicomponente (Multicomponent Spectral Fitting, MSF) para eliminar la interferencia del hierro (Webb et al., 2018).

La precisión de las mediciones se evaluó utilizando un material de referencia certificado de International Soil Analytical-Exchange (ISE) de Wageningen Evaluating Programs for Analytical Laboratories (WEPAL). El límite de detección se calculó como la desviación estándar de 10 blancos de reactivos multiplicado por 3. El límite de cuantificación se determinó como 3 veces el límite de detección.

2.3 Evaluación del contenido de metales traza en la planta de banano

Se midió el contenido de metales traza en muestras de tejido foliar y de raíces por medio de digestión en microondas y posterior análisis ICP/OES (Erdogan et al., 2015; Rashid et al., 2016). Se leyeron los elementos de interés para el estudio: arsénico, cadmio, cobalto, cromo, níquel y plomo. El método de digestión por microondas y el análisis posterior por ICP/OES es un método de rutina para la determinación de nutrientes (potasio, fósforo, calcio, magnesio, azufre, hierro, cobre, zinc y manganeso) en muestras de tejido vegetal. Este método también se recomienda para la determinación de metales traza en muestras de plantas (Bakkali et al. 2009; Bressy et al. 2013; Erdogan et al., 2015; Rashid et al., 2016).

Para incluir la determinación de arsénico, cadmio, cobalto, cromo, níquel y plomo, se modificó el método utilizando ácido nítrico Suprapur y una curva de calibración ($r^2 > 0.999$) de siete concentraciones de cada elemento en un rango de 0.0 a 0.10 mgL⁻¹, desde una disolución estándar de ácido nítrico al 6% de 1000 mgL⁻¹ (Inorganic Ventures, EE. UU.). Se pesó una cantidad de 0,5 g de muestra (tejido foliar o raíz) en tubos de teflón (Teflon-PFA) y se procesó con 3 mL de ácido nítrico al 65% (Merck Suprapur) y 3 mL de peróxido de hidrógeno (Merck ACS) en un digestor de microondas Mars Xpress CEM. Las muestras se calentaron durante 10 minutos para alcanzar 210 °C y se mantuvieron a esa temperatura durante 10 minutos. Se dejaron enfriar; los extractos resultantes se redisolviéron en 50 mL de agua desionizada (18,2 MΩcm⁻¹) para su análisis subsecuente por ICP/OES (Perkin Elmer Optima 7300 DV). Las condiciones de ICP/OES fueron las mismas que las utilizadas en el método de suelo con digestión ácida. La precisión de las mediciones se evaluó utilizando un material de referencia certificado de International Plant Analytical-Exchange (IPE) de Wageningen Evaluating Programs for Analytical Laboratories (WEPAL). El límite de detección se calculó como la desviación estándar de 10 blancos de reactivos multiplicada por 3. El límite de cuantificación se determinó como 3 veces el límite de detección. La concentración de nitrógeno se determinó por el método de combustión con un analizador Elemental Rapid N (Elementar Analysensysteme GmbH., 2011).

2.4 Evaluación del efecto del cromo en la planta de banano

Debido a que el cromo fue el elemento que se encontró en mayor concentración en los suelos muestreados y en las plantas, fue el elemento seleccionado para evaluar su efecto en la planta de banano y definir en cuál parte de la planta se acumula. Para ello, se realizó un estudio en invernadero en la finca experimental de la Corporación Bananera Nacional S.A. (CORBANA), entre los meses de julio y octubre del 2018. La unidad experimental fue una planta de banano del cultivar Grande Naine. Se aplicaron tres dosis de Cr (III), tres dosis de Cr (VI) y un testigo absoluto. Las concentraciones de cromo en el suelo fueron 75, 150 y 375 mg kg⁻¹. Las plantas se cosecharon a los 90 días y se evaluaron variables de crecimiento: peso fresco de cormo, pseudotallo y hojas, peso fresco de raíz, número de hojas, altura del

pseudotallo y diámetro del pseudotallo. Se determinó el contenido de cromo y nutrimentos en las raíces y hojas por medio de digestión en microondas y posterior análisis ICP/OES. Se leyeron los elementos: cromo, potasio, fósforo, hierro, cobre, zinc y manganeso (Erdogan et al., 2015). Además, se determinó el contenido de nitrógeno total por el método de combustión seca (Elementar Analysensysteme GmbH., 2011). El detalle de la metodología se encuentra en el Capítulo IV, el cual corresponde a artículo aceptado para publicación en la revista CORBANA y en proceso de diagramación.

2.5 Análisis de datos

Los datos se analizaron mediante el programa R (R Development Core Team, 2012). Se calcularon medias, cuantiles y coeficientes de correlación de Pearson para determinar las relaciones entre las concentraciones de metales encontradas en los suelos. Se utilizó interpolación espacial con la versión 3.6 del programa QGIS para representar las distribuciones espaciales de las concentraciones de metales traza en los suelos.

Para el estudio en invernadero los datos fueron analizados mediante ANDEVA con el paquete estadístico SAS® (SAS, 2004) como un diseño factorial 2 x 3, donde el primer factor estuvo constituido por los tipos de cromo y el segundo por las dosis. Adicionalmente, cuando fue necesario, se efectuó una prueba (DMS) de separación de medias y se realizó un análisis de contrastes entre el testigo y los dos tipos de cromo.

CAPÍTULO 3

En esta sección se incluye el análisis de los resultados producidos en la investigación anteriormente descrita. La información se presenta con el formato de dos artículos científicos debido a que la investigación será sometida a revisión para ser expuesta en la revista Agronomy Journal (artículo **“Trace metals concentrations in Costa Rican banana plantations”**) y en la revista de CORBANA, artículo **“EFECTO DEL CROMO EN EL CRECIMIENTO Y EN LA ABSORCIÓN DE NUTRIMENTOS EN PLANTAS DE BANANO (*Musa* AAA, cv Gran Enano)”**.

Determinación de concentraciones de metales traza en fincas bananeras de Costa Rica

Resumen

Se encontraron niveles bajos de arsénico ($<19 \text{ mg kg}^{-1}$), cadmio ($<1,2 \text{ mg kg}^{-1}$) y plomo ($<0,1 \text{ mg kg}^{-1}$) en los suelos bananeros de Costa Rica. Se encontraron niveles más altos de cobalto ($<33 \text{ mg kg}^{-1}$), níquel ($<55 \text{ mg kg}^{-1}$) y cromo ($<88 \text{ mg kg}^{-1}$), estas concentraciones fueron menores a las reportadas en suelos de banano de otros países. Una correlación de 0,839 entre las concentraciones de cromo y níquel sugiere un origen común de ambos metales, probablemente debido al desgaste del material parental. Se encontraron bajas concentraciones de metales traza en las plantas de banano muestreadas, tanto en las raíces como en las hojas. No se detectó arsénico ni plomo y los niveles de cadmio y cobalto estaban por debajo del límite de cuantificación. Los niveles de cromo fueron los más altos, pero no superaron los $9,5 \text{ mg kg}^{-1}$ en raíces y los $4,9 \text{ mg kg}^{-1}$ en hojas. El estudio se realizó en diez plantaciones comerciales de banano de Costa Rica, se tomaron quince puntos de muestreo de cada una de las plantaciones. Se tomaron muestras de suelo, tejido foliar (hoja número 3) y raíces de cada una de las 10 fincas, para un total de 150 muestras de cada tipo. Se utilizaron dos metodologías para analizar las muestras de suelo, extracción con disolución Mehlich 3 y digestión ácida por microondas (método EPA 3051A), ambas seguidas de análisis ICP/OES. Las muestras de tejido vegetal se procesaron con una mezcla de ácido nítrico y peróxido de hidrógeno en un sistema de digestión por microondas para su posterior análisis por ICP/OES. Los suelos estudiados presentaron bajos niveles extraíbles de metales traza, los cuales fueron inferiores a los niveles críticos de toxicidad establecidos para las plantas. Según la metodología de extracción Mehlich 3, la concentración media de los metales fue: arsénico $0,06 \text{ mg kg}^{-1}$ de $3,6 \text{ mg kg}^{-1}$, cadmio $0,10 \text{ mg kg}^{-1}$ de $0,25 \text{ mg kg}^{-1}$, cromo $0,09 \text{ mg kg}^{-1}$ de $47,5 \text{ mg kg}^{-1}$, plomo $0,04 \text{ mg kg}^{-1}$ de $<0,1 \text{ mg kg}^{-1}$, cobalto $0,51 \text{ mg kg}^{-1}$ de $20,7 \text{ mg kg}^{-1}$ y níquel $0,43 \text{ mg kg}^{-1}$ de $30,3 \text{ mg kg}^{-1}$, donde la concentración total de los metales se obtuvo por digestión ácida. Este es el primer

estudio sobre la presencia de metales traza no esenciales en plantaciones comerciales de banano en Costa Rica. La metodología de muestreo y análisis de estos metales se estableció con el objetivo de que se pueda implementar en las plantaciones para su seguimiento a largo plazo.

Trace metals concentrations in Costa Rican banana plantations

Veda Obando¹, Rosaura Romero², Rafael Segura¹, Jorge Sandoval¹

1/ Research Division, CORBANA S.A., Guápiles, Costa Rica

2/ Chemistry School, University of Costa Rica, San José, Costa Rica

E-mail address: vobando@corbana.co.cr.

Abstract

Low levels of arsenic ($<19 \text{ mg kg}^{-1}$), cadmium ($<1,2 \text{ mg kg}^{-1}$) and lead ($<0,1 \text{ mg kg}^{-1}$) were found in Costa Rican banana farming soils. Higher levels of cobalt ($<33 \text{ mg kg}^{-1}$), nickel ($<55 \text{ mg kg}^{-1}$) and chromium ($<88 \text{ mg kg}^{-1}$) were found, these concentrations were lower than those reported in banana soils from other countries. A correlation of 0,839 between chromium and nickel concentrations suggests a common origin of both metals, probably due to wearing of the parent material. Low concentrations of trace metals were found in the sampled banana plants, both in the roots and in the leaves. No arsenic or lead was detected, and the levels of cadmium and cobalt were below the limit of quantification. Chromium levels were the highest, but they did not exceed $9,5 \text{ mg kg}^{-1}$ in roots and $4,9 \text{ mg kg}^{-1}$ in leaves. The study was carried out in ten commercial banana plantations, fifteen sampling points were taken from each of the plantations. Soil, leaf tissue (leaf number 3) and root samples were taken from each of the 10 farms, for a total of 150 samples of each type. Two methodologies were used to analyze the soil samples, extraction with Mehlich 3 solution and microwave acid digestion (EPA 3051A method), both followed by ICP/OES analysis. The plant tissue samples were processed with a mixture of nitric acid and hydrogen peroxide in a microwave digestion system for subsequent analysis by ICP/OES. The soils studied presented low extractable levels of trace metals, which were lower than the critical levels of toxicity established for plants. According to the Mehlich 3 extraction methodology, the average concentrations of metals were: arsenic $0,06 \text{ mg kg}^{-1}$ of $3,6 \text{ mg kg}^{-1}$, cadmium $0,10 \text{ mg kg}^{-1}$ of $0,25 \text{ mg kg}^{-1}$, chromium $0,09 \text{ mg kg}^{-1}$ of $47,5 \text{ mg kg}^{-1}$, lead

0,04 mg kg⁻¹ of <0,1 mg kg⁻¹, cobalt 0,51 mg kg⁻¹ of 20,7 mg kg⁻¹ and nickel 0,43 mg kg⁻¹ of 30,3 mg kg⁻¹, where the total concentration of the metals was obtained by acid digestion. This is the first study on the presence of non-essential trace metals in commercial banana plantations in Costa Rica. Methodology for sampling and analysis of these metals was established with the objective that it can be implemented in the plantations for their long-term monitoring.

Introduction

The presence of trace metals such as cadmium, chromium, cobalt, nickel, arsenic and lead is a relevant issue in agriculture, these metals can accumulate in soils due to the application of agrochemicals or they can be present in them naturally. Continuous application of nitrogen fertilizers can rapidly acidify soils and promote the bioavailability of these metals to plants. These two aspects make the study of these non-essential metals for plants, in agricultural systems, to acquire relevance, especially in intensive crop farming, with high impact on soils.

Transition metals like cadmium, chromium, cobalt and nickel show a wide range of redox reactions and complex formation, these properties underlie their catalytic role in enzyme action (Duffus, 2007). Cadmium is widely distributed in the earth's crust, but usually at concentrations 0.1-1 mg kg⁻¹ (Alloway, 2013). In western countries, 54-58% of the cadmium found in the environment comes from the application of phosphate fertilizers to agricultural soils (Gupta et al. 2014; Tirado & Allsopp, 2012). Cadmium concentrations of 10,42 mg kg⁻¹ have been found in composite fertilizer (Atafar et al., 2008; Thomas & Omueti, 2012). Cadmium is a toxic element that competes with the mineral nutrient taken up by plants, which causes induced deficiencies (Lin et al., 2010; Nazar et al., 2012). It is one of the most phytotoxic metals because it is highly soluble in water and is easily taken up by plants (Furini, 2012).

Chromium occurs naturally as chromite (FeCr₂O₄) in ultramafic and serpentine rocks, its main source in natural soils is the weathering of their parent materials (Alloway, 2013;

Cheng et al., 2011). It occurs mainly as Cr (VI) and Cr (III). Cr (VI) is categorized as carcinogen according to the International Agency for Research on Cancer (IARC), it is toxic to both plants and animals. On the other hand, Cr (III) is essential for humans and animals (Gardea-Torresdey et al., 2005; Shekhawat, Chatterjee, & Joshi, 2015). Majority of soils contain chromium levels in the range of 0.5 to 250 mg kg⁻¹, with average values varying between 40 and 70 mg kg⁻¹ (Alloway, 2013). Chromium restricts some metabolic processes of plants that result in growth inhibition, chlorosis, abridged photosynthesis, and stunted root growth (Anjum et al. 2016; Peralta-Videa et al. 2009; Shanker et al. 2005).

Cobalt is not an abundant element on the earth, its concentration ranges between 15 and 25 mg kg⁻¹ in soils. Cobalt is found mainly as Co (II) and Co (III) (Singh, Jat & Chaudhari, 2010). It is not essential for plant growth but is required by humans and animals, cobalt is a core element of vitamin B₁₂ (Huwait et al., 2015). Cobalt is not required by the higher plants itself, but is necessary for the microorganisms involved in symbiotic nitrogen fixation (Page & Feller, 2015).

Nickel is an element found at low concentrations in most natural soils (Singh et al., 2010) and ultrabasic rocks, with a calculated world mean in soil of 22 mg kg⁻¹ (Alloway, 2013). Generally, it is not considered an essential element for living beings. However, a deficiency symptom in plants is the accumulation of toxic urea due to the complete loss of urease activity within the cell. Plant urease, which contains nickel in its active site, hydrolyzes its substrate to carbon dioxide and ammonia (Hänsch & Mendel, 2009).

Among the trace metals are elements such as arsenic and lead, which have a more limited redox chemistry than the transition metals, but tend to bind strongly to sulfur and this is the main cause of their toxicity in plants and animals (Duffus, 2007). Arsenic is a ubiquitous metalloid found in almost all environmental matrices, like soil and groundwater. Arsenic natural levels in soil usually range from 1 to 40 mg kg⁻¹ (Tchounwou et al. 2012), with a global average concentration in the range of about of 5-7,5 mg kg⁻¹ (Alloway, 2013). In addition to its natural origin, arsenic is also released into the environment from agricultural

practices, fabrication and consumption of wood preservatives. It is found mainly as arsenite (As (III)) or as arsenate (As (V)). The latter is more toxic and the most common and stable form found in aerobic soils and is therefore more available for plant uptake. Arsenate competes with phosphate for root uptake and interferes with metabolic processes such as ATP synthesis and oxidative phosphorylation (Peralta-Videa et al., 2009).

Lead is present in small amounts in the earth's crust, in soils lead exists predominantly as Pb (II). The average global concentration of lead in uncontaminated soils has been estimated to be 17 mg kg⁻¹ (Alloway, 2013). Mining activity and applications of fertilizers for agriculture have contributed to a continuous accumulation of lead in soils. Concentrations of 18,16 mg kg⁻¹ of lead and 3,2 mg kg of arsenic have been detected in zinc sulphate fertilizer (Atafar et al., 2008). Lead is toxic to plants, it inhibits root elongation, decrease photosynthesis rate, and reduces the yield and quality of crops. According to Li (Li et al., 2011)) a treatment with 800 mg kg⁻¹ of lead decreased both the shoot and root weight of banana seedlings.

The majority of plants are not sufficiently prepared to cope with an excess of those metals in soil (Viehweger, 2014). The excess of them induces accumulation of reactive oxygen species, which have a negative effect on the growth and development of the plant, suppress photosynthesis and damages nucleic acids and proteins (Furini, 2012).

Bananas and plantains are very important crops worldwide. Trace metals are a relevant issue in these crops, for example, in a study in China, nickel (3,47-121,86 mg kg⁻¹) and cadmium (0,43-3,21 mg kg⁻¹) concentrations, greater than the Chinese Soil Quality Standards, were found in banana farming soils treated with chemical fertilizers during two decades (Lin, et al. 2010).

The banana cultivation is a heavy consumer of soil nutrient and it requires the application of about 2,5 tons of fertilizer per hectare per year (López & Espinosa, 1995). The continuous fertilizer application produces rapid decline in pH soil, lower amounts of functional roots and drop in crop production. In addition, acidification increases bioavailability of toxic metals. High aluminum concentration in root system of poor development banana plants

can be related to lower productivity of these plants and it could be considered as an indicator of soil conditions that favor bioavailability of toxic metals (Segura et al., 2015).

Banana is a perennial crop that grows rapidly and can be harvested throughout the year. The subgroup Cavendish (*Musa* AAA), it represents about 47% of the world banana production, the two larger world producers are India and China (Sahodaran & Ray, 2018). Costa Rica is one of the larger banana exporters in the world, it has a cultivated area of 43.000 hectares, in the year 2019 it exported 121 million banana boxes. This country has been characterized by ensuring the environment through the preservation and proper use of natural resources (CORBANA, 2020).

Trace metals are a relevant issue in agriculture and agricultural products quality. However, to date there is no information about non-essential trace metals concentrations in Costa Rican banana plantations or their effect on banana plants. The objective of this study was to determine the chromium, cobalt, nickel, cadmium, lead and arsenic concentrations in commercial banana plantations of Costa Rica.

Materials and methods

Study site

Soil sampling took place in ten commercial banana plantations in the Atlantic Zone of Costa Rica, located between 83° 33' and 84°0' Western longitude, and between 9°28' and 10°40' Northern latitude. The area has a tropical humid climate, with an average height of 50 meters above sea level and an average monthly rainfall of 241 mm in the study period, the mean temperature ranged between 22 and 32°C (CORBANA, 2017). The alluvial soils of this region are divided in two different sub-regions, to the West and East of the Reventazon River. Soils in the West are from quaternary volcanic origin, with predominance of metahalosite clay and moderate cation exchange capacity. Soils in the East are from sedimentary origin (Mesozoic-Cenozoic), with montmorillonite clay, high bases concentration and without volcanic influence (Arias et al. 2010).

Sampling procedure

Fifteen samples were taken from each of the ten plantations, distributed throughout the farm area. The soil samples were taken in the fertilization zone, of a recently flowered plant, from the first 10 cm of soil depth, using plastic utensils. Each sampling point was georeferenced. In addition to the soil samples, 15 banana leaf tissue samples (leaf number 3) and roots were taken from each of the farms, for a total of 150 samples of each type. For root sampling, a block of soil was removed 5 cm in front of the following sucker, with a depth of at least 10 cm, the main roots were removed and placed in a plastic bag.

The soil was placed in plastic bags to be transported to the laboratory, where it was dried at 40 °C for 72 hours in a paper bag and then ground in an agate mortar. The plant samples placed in plastic bags they were transported to the laboratory, where they were dried at 70 °C for 72 hours in a paper bag and then ground in a Restch X100 mill free of heavy metals, to pass through a 0,5 mm sieve.

Determination of trace metals concentrations in soils

The metals in the soil samples were extracted using two methodologies: the Mehlich 3 extracting solution and the microwave digestion with a mixture of nitric and hydrochloric acid. The resulting solutions were analyzed by ICP/OES (Perkin Elmer Optima 7300 DV).

Soil samples of 2,5 g were measured for extraction with 10 mL Mehlich 3 solution containing 0,2 M glacial acetic acid, 0,25 M ammonium nitrate, 0,015 M ammonium fluoride, 0,013 M nitric acid, and 0,001 M ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA). They were stirred during 5 minutes at 200 rpm on an oscillating shaker, leaved it for 5 minutes standing and filtered it. The resulting extract was used for subsequence analysis by ICP/OES.

The acid digestion method consisted of mixing 0,5 g of soil sample with a solution of 4,5 mL 67% nitric acid (Merck Suprapur) and 1,5 mL 37% hydrochloric acid (Merck ACS) in Teflon tubes (Teflon-PFA) in a Mars Xpress CEM microwave digestion system. Samples were

heated for 15 minutes until reaching 200°C and hold at that temperature for 20 minutes. They were allowed to cool and the resulting extracts were redissolved in 50 mL of deionized water ($18.2 \text{ M}\Omega\text{cm}^{-1}$) for subsequence analysis by ICP/OES Perkin Elmer Optima 7300DV (EPA Method 3051A).

The plasma equipment conditions were the following: microcyclone spray chamber and Seaspray type nebulizer, power 1500 W, axial view, argon flow rate 15 L/min, auxiliary flow rate 0,2 L/min, nebulizer flow rate 0,85 L/min for Mehlich 3 extracts and 0,65 L/min for acid digestion samples. The calibration curves ($r^2 > 0.999$) were prepared in seven different concentrations, in a range of 0,0 to 1,0 mg/L, from a standard with concentrations of 1000 mg/L of each element (Inorganic Ventures, USA), with the same acid matrix as the samples. The Multicomponent Spectral Fitting (MSF) background correction was made to eliminate iron interference (Webb et al., 2018).

The accuracy of the measurements was assessed using a certified reference material from International Soil Analytical-Exchange (ISE) of Wageningen Evaluating Programs for Analytical Laboratories (WEPAL). The limit of detection was calculated as the standard deviation of 10 reagent blanks multiplied by 3. The limit of quantification was determined as 3 times the limit of detection.

Determination of trace metals concentrations in banana plants

The microwave digestion method and subsequent analysis by ICP/OES is a routine method for nutrient determination (potassium, phosphorus, calcium, magnesium, sulfur, iron, copper, zinc and manganese) in plant tissue samples. This method is also recommended for the trace metals determination in plant samples (Bakkali et al. 2009; Bressy et al. 2013; Erdogan et al., 2015; Rashid et al., 2016). To include arsenic, cadmium, cobalt, chromium, nickel and lead determination, the method was modified using Suprapur nitric acid and a calibration curve ($r^2 > 0.999$) of seven concentrations of each element in a range of 0,0 to 0,10 mg/L, from a 1000 mg kg^{-1} , 6% nitric acid standard solution (Inorganic Ventures, USA). An amount of 0,5 g of sample (leaf tissue or root) was weighed in Teflon tubes (Teflon-PFA)

and processed with 3 mL of 65% nitric acid (Merck Suprapur) and 3 mL of hydrogen peroxide (Merck ACS) in a Mars Xpress CEM microwave digester. The samples were heated for 10 minutes to reach 210 °C and hold at that temperature for 10 minutes. They were allowed to cool; the resulting extracts were redissolved in 50 mL of deionized water ($18,2 \text{ M}\Omega\text{cm}^{-1}$) for subsequence analysis by ICP/OES (Perkin Elmer Optima 7300 DV). The ICP/OES conditions were the same as those used in the soil method. The accuracy of the measurements was assessed using a certified reference material from International Plant Analytical-Exchange (IPE) of Wageningen Evaluating Programs for Analytical Laboratories (WEPAL). The limit of detection was calculated as the standard deviation of 10 reagent blanks multiplied by 3. The limit of quantification was determined as 3 times the detection limit. The nitrogen concentration was determined by the combustion method with an Elemental Rapid N analyzer (Elementar Analysensysteme GmbH., 2011).

Data analysis

Data were analyzed to determine means and quantiles using the R program (R Development Core Team, 2012). In addition, Pearson correlation coefficients were calculated to determine relationships between metals concentrations. Spatial interpolation was used with the version 3.6 QGIS program to represent the spatial distributions of trace metals concentrations in soils.

Results

Total trace metals concentrations in soils

The trace metals concentration in the reference materials and merit figures of the method are shown in Table 1. Arsenic, cadmium, cobalt, chromium, nickel and lead concentrations found in Costa Rican banana plantations soils are shown in Table 2, the spatial distribution of the concentrations is found in Figures 1 to 5. With this method lead was not detected in any of the samples (limit of detection was $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$), a correlation of 0,839 was found between chromium and nickel total concentrations (Table 3).

Table 1. Determination of trace metals in certified reference material ISE 884 and the analytical figures of merit for the acid digestion method.

Parameter	As	Cd	Co	Cr	Ni	Pb
Total concentration ISE 884						
(mg kg ⁻¹)	15±1	0,28±0,04	9±1	104±9	44±3	23±2
Pseudototal conc. ISE 884 (mg kg ⁻¹)	14±1	0,27±0,06	7,8±0,6	65±7	39±4	18±2
Found value (mg kg ⁻¹)	14±1	0,25±0,01	8,3±0,1	83±1	42±1	18±1
Recovery (%) (relative to total conc.)	93	90	92	80	95	80
Lineal range (mg kg ⁻¹)	0-100	0-100	0-100	0-100	0-100	0-100
Limit of detection (mg kg ⁻¹)	0,2	0,04	0,04	0,04	0,1	0,1
Limit of quantification (mg kg ⁻¹)	0,5	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2

Table 2. Statistical data of trace metals (As, Cd, Co, Cr and Ni) in Costa Rican banana farming soils and threshold values in different countries (mg kg⁻¹).

Parameter	As	Cd	Co	Cr	Ni	Pb
Mean	3,6	0,25	20,7	47,5	30,3	nd
Standard deviation	3,2	0,18	4,1	11,6	8,5	na
Minimum	nd	0,10	10	25	10	nd
5 ^o . Percentil	nd	0,10	14	29	13	nd
25 ^o . Percentil	0,9	0,10	19	39	26	nd
75 ^o . Percentil	5,2	0,30	23	55	35	nd
95 ^o . Percentil	8,6	0,60	27	68	43	nd
Maximum	19	1,2	33	88	55	nd
Costa Rica ^a	35	3	35	40	70	180
EPA Eco-SSLs ^b	18	32	12	26	38	120
The Netherlands ^c	20	0,60	15	55	35	50
World average ^d	1-40	0,1-1	15-25	15-100	22	17

nd: no detected, na: non applied ^a (Ministry of Health, 2013), Regulation on guide values in soils for decontamination of sites affected by environmental emergencies and spills ; ^b (EPA, 2005), ^c (Brus, Lamé, & Nieuwenhuis, 2009), ^d (Alloway, 2013).

Table 3. Pearson correlation coefficients between trace metal concentrations (As, Cd, Co, Cr and Ni) found in Costa Rican banana farming soils using acid digestion.

	As	Cd	Co	Cr	Ni
As	1,000	-0,038	-0,057	-0,379	-0,412
Cd	-0,038	1,000	0,025	0,220	0,086
Co	-0,056	0,025	1,000	0,126	0,246
Cr	-0,379	0,220	0,127	1,000	0,839
Ni	-0,412	0,086	0,246	0,839	1,000

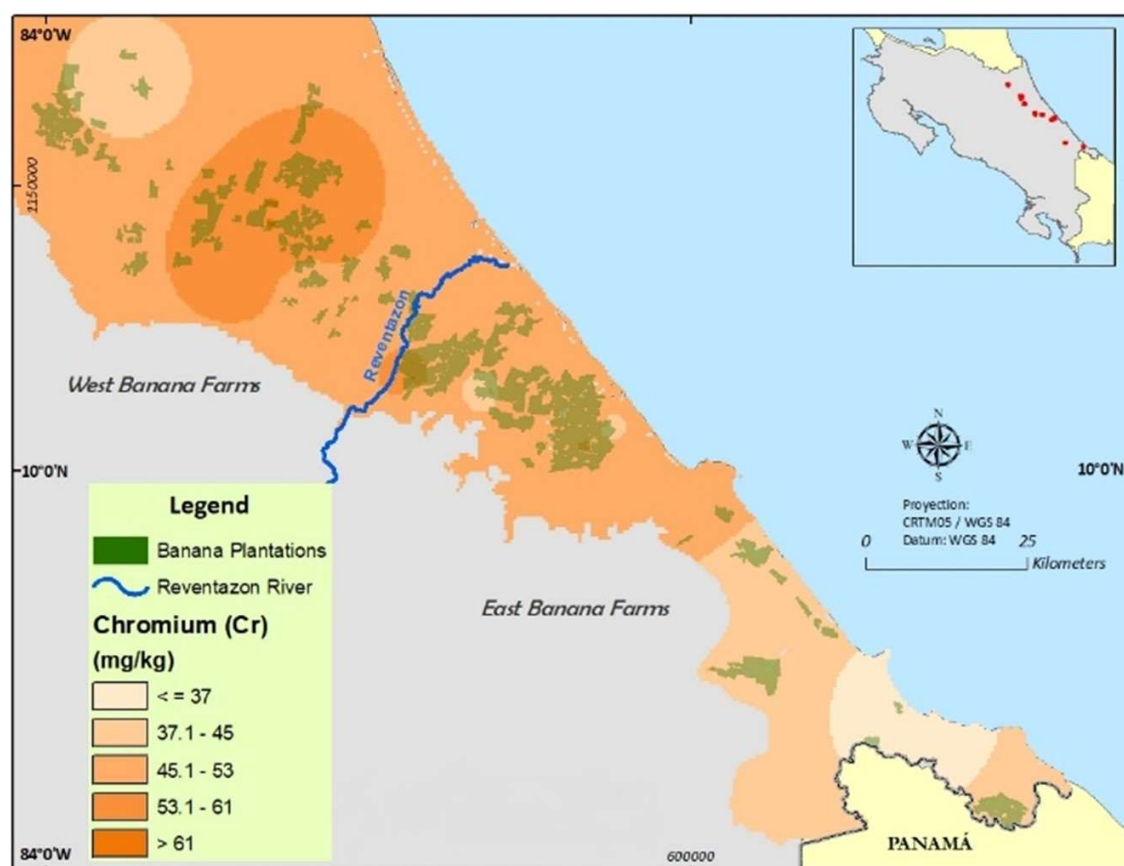


Figure 1. Location of banana plantations at the Atlantic zone of Costa Rica. The map shows spatial distribution of chromium concentrations (mg kg^{-1}) in the Costa Rican banana farming soils.

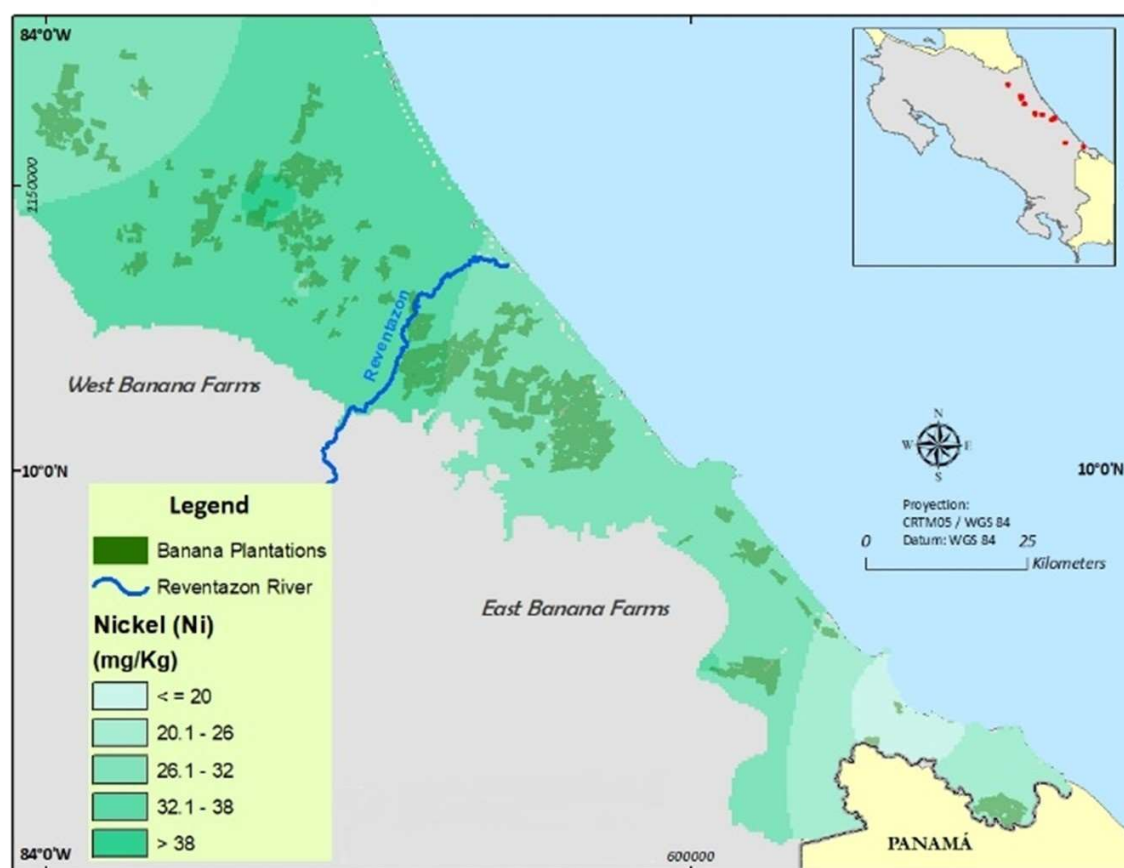


Figure 2. Spatial representations of nickel concentrations (mg kg^{-1}) in the Costa Rican banana farming soils.

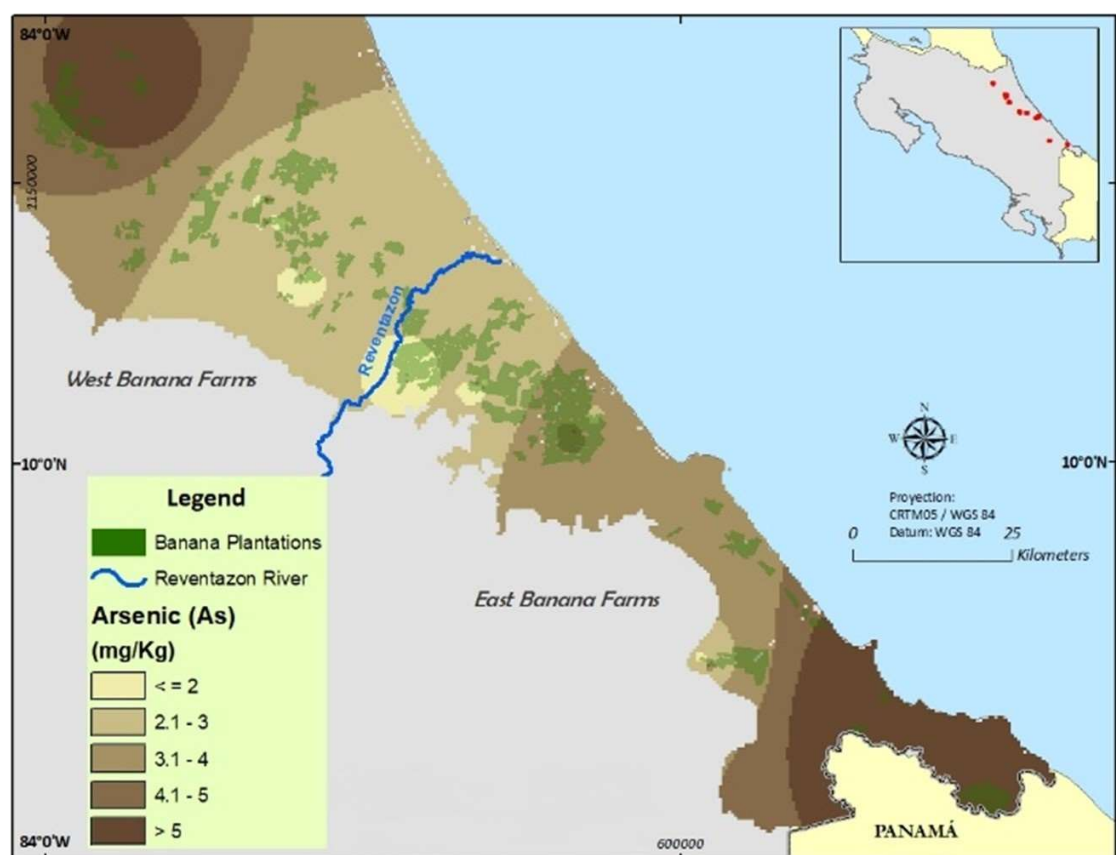


Figure 3. Spatial distribution of arsenic concentrations (mg kg^{-1}) in the Costa Rican banana farming soils.

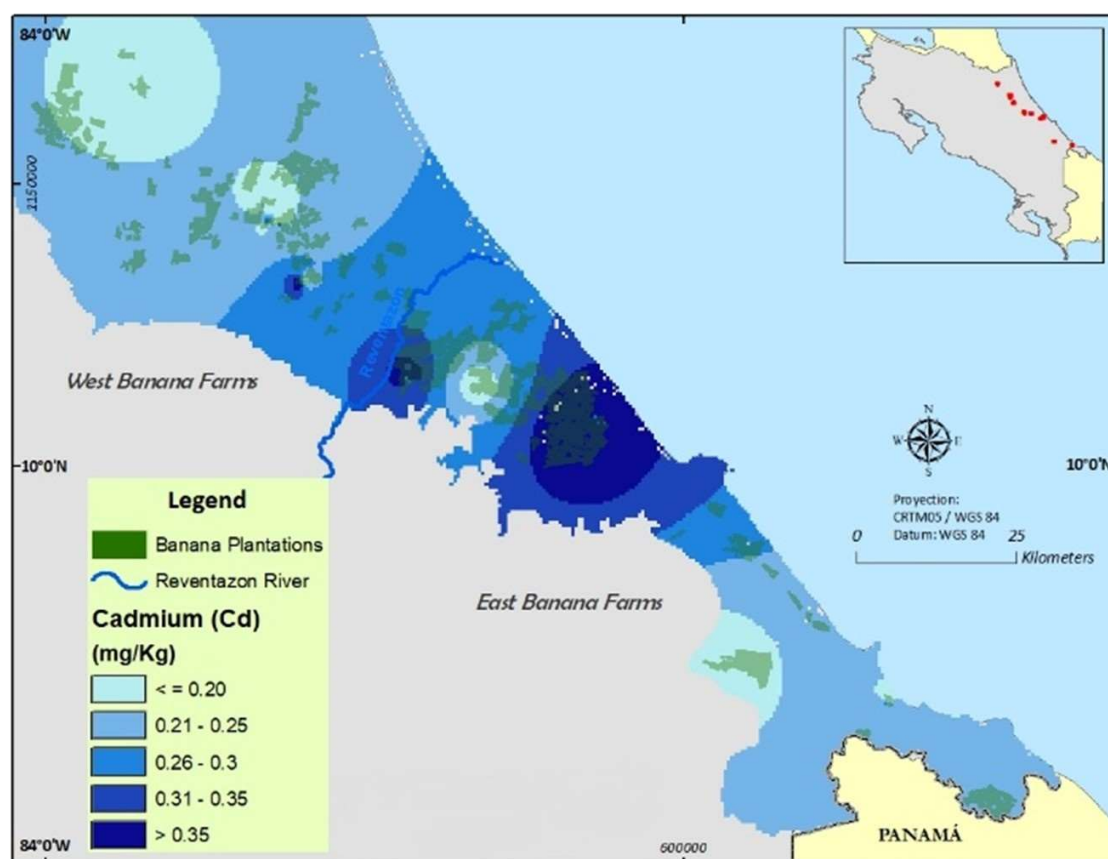


Figure 4. Spatial distribution of cadmium concentrations (mg kg^{-1}) in the Costa Rican banana farming soils.

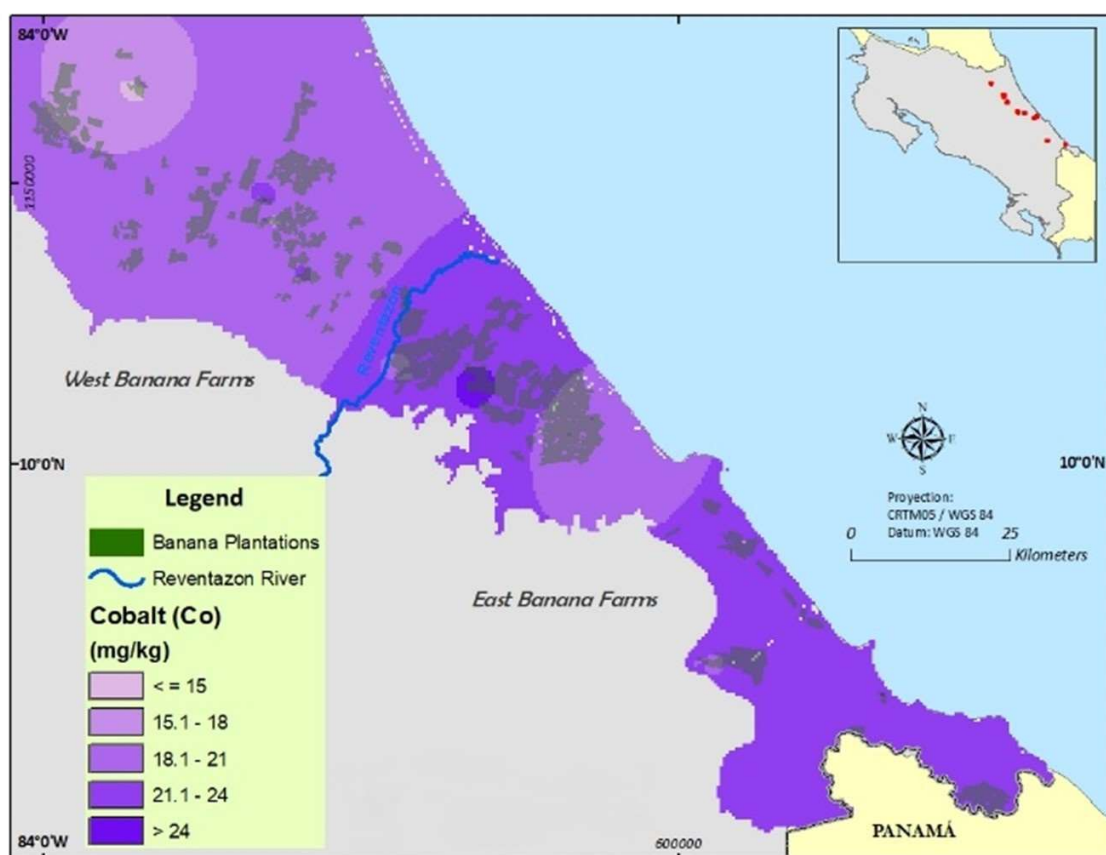


Figure 5. Spatial distribution of cobalt concentrations (mg kg^{-1}) in the Costa Rican banana farming soils.

Extractable trace metals concentrations in soils

The trace metals concentration in the reference materials and merit figures of the Mehlich III method are shown in Tables 4. The percentage of recovery for cobalt and nickel could not be determined because the reference sample did not define those values. Arsenic, cadmium, cobalt, chromium, nickel and lead concentrations found in Costa Rican banana plantations soils are shown in Table 5 for Mehlich 3 extraction. The lead and arsenic means are below the limit of quantification, therefore the reported values are only indicative. No significant correlations were found among the extractable elements (Table 6).

Table 4. Determination of trace metals in certified reference material ISE 848 and method analytical figures of merit for the Mehlich 3 extracting method.

Parameter	As	Cd	Co	Cr	Ni	Pb
Mehlich 3 conc. ISE 848 (mg kg ⁻¹)	0,95	0,28	na	0,42	na	10,0
Found value (mg kg ⁻¹)	0,68	0,36	0,93	0,46	2,74	12,5
Recovery (%)	71	128	na	109	na	125
Lineal range (mg kg ⁻¹)	0-100	0-100	0-100	0-100	0-100	0-100
Limit of detection (mg kg ⁻¹)	0,09	0,01	0,01	0,01	0,01	0,04
Limit of quantification (mg kg ⁻¹)	0,30	0,03	0,05	0,02	0,05	0,13

na: non applied

Table 5. Statistical data of trace metals (As, Cd, Co, Cr, Ni and Pb) in Costa Rican banana farming soils using Mehlich 3 extracting solution (mg kg^{-1}).

Parameter	As	Cd	Co	Cr	Ni	Pb
Mean	0,06	0,10	0,51	0,09	0,43	0,04
Standard deviation	0,05	0,08	0,26	0,04	0,29	0,09
Minimum	nd	0,01	0,08	nd	0,03	nd
Maximum	0,19	0,44	1,17	0,23	1,93	0,59

Table 6. Pearson correlation coefficients between trace metal concentrations (As, Cd, Co, Cr and Ni) found in Costa Rican banana farming soils using Mehlich 3 extracting solution.

	As	Cd	Co	Cr	Ni
As	1,0000	-0,0013	0,1004	0,0175	0,2603
Cd	-0,0013	1,0000	0,1329	0,0216	0,3961
Co	0,1004	0,1329	1,0000	0,0996	0,3710
Cr	0,0175	0,0216	0,0996	1,0000	0,0431
Ni	0,2603	0,3961	0,3710	0,0431	1,0000

Trace metals concentrations in banana plants

Trace metal concentration in the reference material of International Plant Analytical-Exchange and merit figures of the method are shown in Table 7. Table 8 shows the concentrations of trace metals in the root samples and the results for the foliar tissue are shown in Table 9. The elements arsenic and lead were not detected in any of the samples from the banana plants nor in the reference sample.

Table 7. Determination of trace metals in certified reference material IPE 124 and figures of merit for the analytical method.

Parameter	Cd	Co	Cr	Ni
Total concentration IPE 124 (mg kg ⁻¹)	0,05±0,01	0,25±0,05	0,8±0,2	1,0±0,2
Found value (mg kg ⁻¹)	0,04±0,02	0,30±0,02	0,88±0,02	1,04±0,02
Recovery (%)	64	126	115	103
Lineal range (mg kg ⁻¹)	0-100	0-100	0-100	0-100
Limit of detection (mg kg ⁻¹)	0,04	0,04	0,04	0,1
Limit of quantification (mg kg ⁻¹)	0,10	0,10	0,10	0,20
Relative standard deviation	2,6	2,4	2,4	3,0

Table 8. Statistical data of trace metals (Cd, Co, Cr and Ni) in banana roots of Costa Rican banana farms.

Parameter	Cd	Co	Cr	Ni
Average (mg kg ⁻¹)	0,2	1,1	1,8	2,0
Standard deviation	0,4	1,0	1,4	1,1
Minimum (mg kg ⁻¹)	nd	0,04	nd	nd
Maximum (mg kg ⁻¹)	3,0	9,0	9,5	7,0

Table 9. Statistical data of trace metals (Cd, Co, Cr and Ni) in banana leaf tissue (leaf number 3) of Costa Rican banana farms.

Parameter	Cd	Co	Cr	Ni
Average (mg kg ⁻¹)	0,01	0,05	0,44	0,45
Standard deviation	0,01	0,03	0,41	0,33
Minimum (mg kg ⁻¹)	nd	nd	0,22	0,11
Maximum (mg kg ⁻¹)	0,04	0,19	4,9	3,2

Discussion

Trace metals concentrations in soils

Microwave digestion and subsequent analysis by ICP/OES proved to be a fast and accurate method for determining the total concentration of trace metals in soils, as indicated by Shirisha (Shirisha et al., 2014) and Toth (Tóth et al., 2016). A mixture of hydrochloric and

nitric acid dissolves almost all elements that could become “environmental available”. Besides, the methodology allows to determine the maximum amounts of metals that could hypothetically be mobilized and transported into the environment (Alloway, 2013).

The arsenic, cadmium and lead concentrations found in the Costa Rican banana farming soils are lower than the guide values in soils for decontamination of sites affected by environmental emergencies and spills (Costa Rican Ministry of Health, 2013). The average concentrations were compared with average values found in farming soils of the main banana producers, as India, China, Ecuador and Colombia. The average of cadmium concentrations ($0,25 \text{ mg kg}^{-1}$) is similar to the reported in Ecuador ($0,38 \text{ mg kg}^{-1}$) (Felix et al., 2008) and China ($0,43\text{-}3,21 \text{ mg kg}^{-1}$) (Lin et al., 2010). Lead levels (less than $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$) are lower than those reported in banana farming soils of China ($15,95\text{-}58,42 \text{ mg kg}^{-1}$) (Lin, et al., 2010), India ($0,86\text{-}72,59 \text{ mg kg}^{-1}$) (Sahodaran & Ray, 2018), Colombia (average of $16,7 \text{ mg kg}^{-1}$) (Mahecha-Pulido, Trujillo-González & Torres-Mora, 2015) and Ecuador ($0,55\text{-}5,36 \text{ mg kg}^{-1}$) (Félix et al. 2008). These results evidence less accumulation of arsenic, cadmium and lead on the Costa Rican banana farming soils compared to another countries banana soils. The average cobalt, chromium and nickel concentrations are lower than those reported in banana soils for other countries: $3,47\text{-}121,86 \text{ mg kg}^{-1}$ of Ni in China (Lin et al., 2010), $31,54 \text{ mg kg}^{-1}$ of Co, $173,33 \text{ mg kg}^{-1}$ of Cr and $41,1 \text{ mg kg}^{-1}$ of Ni in India (Sahodaran-Ray, 2018), but above the EPA (EPA 2005), the Netherlands (Brus et al., 2009), China and India (Rueda et al., 2011) reference levels.

When analyzing the correlations of the total concentrations, a correlation of 0,839 was found between chromium and nickel. This value is important because it can be indicative of a common origin between both elements, due to the weathering of parent material such as chromite (Lilli et al. 2014). The high correlation between chromium and nickel as well as by the similarities in their spatial representations (Figures 1, 2), suggest that both metals have a common origin, according to the soil genesis. Chromium and nickel were too highly correlated with a correlation coefficient of 0,93, in a banana farming system in Cameroon (Nkengafac, Kratz, & Schnug, 2019).

The alluvial soils of this region are divided in two different sub-regions, to the West and East of the Reventazon River. Soils in the West are from quaternary volcanic origin; soils in the East are from sedimentary origin (Mesozoic-Cenozoic), without volcanic influence (Arias et al. 2010). In the present study, no significant differences in trace metals concentrations were found between two zones of soil origin. Further studies are required to be able to confirm the geologic origin of chromium concentrations found.

Mehlich 3 extraction

The soil analysis using the Mehlich 3 extracting solution is used worldwide mainly for the determination of macronutrients (phosphorous, calcium, magnesium and potassium) and micronutrients (copper, zinc, manganese and iron). The Mehlich 3 method involves a weak acid soil extraction procedure that is also capable of measuring concentrations of trace metals such as cadmium and nickel (Melo, Silva & Alleoni, 2014; Pinto & Alleoni, 2018; Vidal-Vázquez et al. 2005; Walton & Alle, 2004), arsenic (Fayiga & Ma, 2005) and lead (Silva et al., 2020). Besides, it is efficient for the determination of the availability of trace metals. For example, quantity of Cd, Pb, Cu, Zn, and Ni in bean leaves were highly correlated with their recovering from soils using Mehlich 3 extraction. The same was observed for cadmium and nickel in lettuce shoots (Fontes et al., 2008). In other study, the test was used to determine extractable lead, and the results strongly correlated with the total metal and its bioavailability. Because of this results, researchers considered the test a very useful screening tool (Minca & Basta, 2013).

The recoveries of cadmium, chromium and lead with the Mehlich 3 extracting method were above 100% (see Table 4). Taking into account that the analysis corresponds to a trace analysis these results are appropriate. However, the recovery for arsenic was low, so the reading conditions of the ICP/OES equipment should be reviewed and adjusted as well as the possible iron interference to improve the reading of this element (Webb et al., 2018). Better recoveries were obtained using the acid digestion method. With Mehlich 3 all the obtained concentrations were less than 2 mg kg⁻¹, the limits of detection and quantification

were better with Mehlich 3 extraction methodology when comparing with acid digestion method. The extraction process is simpler too, but the analysis by ICP/OES requires additional care due to low intensity signals, and the recoveries, specially of arsenic, must be improved.

Low levels of arsenic ($<0,19 \text{ mg kg}^{-1}$), cadmium ($<0,44 \text{ mg kg}^{-1}$), chromium ($<0,23 \text{ mg kg}^{-1}$) and lead ($<0,59 \text{ mg kg}^{-1}$) and slightly higher levels of cobalt ($<1,17 \text{ mg kg}^{-1}$) and nickel ($<1,93 \text{ mg kg}^{-1}$) were found in the Costa Rican banana farming soils using the Mehlich 3 extracting solution. Most of concentrations by Mehlich 3 were several orders of magnitude different compared to the total concentrations obtained by acid digestion. The major difference was presented by chromium, which had an average extractable concentration ($0,09 \text{ mg kg}^{-1}$) 527 times lower than the corresponding total average concentration ($47,5 \text{ mg kg}^{-1}$). On the other hand, the average extractable concentration of cadmium was only 2,5 times lower than the average total concentration found for this metal. Cadmium is highly soluble in water and is easily taken up by plants (Furini, 2012). This feature was observed in its highest extraction rate with the Mehlich 3 solution. This differs from the order of availability $\text{Cr} > \text{Ni} > \text{Cd}$ found in a study in soils from Pakistan (Khan, Nafees & Bashir, 2016). In that study, the average extractable concentration of chromium ($7,62 \text{ mg kg}^{-1}$) was only 7 times lower than the average total concentration found for that metal ($56,9 \text{ mg kg}^{-1}$), which means that a large part of the metal would be available to plants.

Toxicity critical levels for plants in general were established for Mehlich 3 metals at different pH ranges (Monterroso, Alvarez & Fernández, 1999). The average pH of soils in Costa Rica is 5,77 (Castillo-Munoz, 2019), at this pH the toxicity limit according to Monterroso for nickel is 4 mg kg^{-1} , $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$ for cadmium and 11 mg kg^{-1} for lead. The average Mehlich 3 concentrations found in the soils of the present study were below these limits.

Trace metals concentrations in banana plants

Low levels of trace metals were found in the roots of banana plants, where a maximum of 3 mg kg⁻¹ of cadmium, 9 mg kg⁻¹ of cobalt, 7 mg kg⁻¹ of nickel and 9,5 mg kg⁻¹ of chromium were found. As in soils, chromium was the trace metal with the highest concentration. The foliar tissue presented higher concentrations than the roots of the plants, with a maximum of 0,04 mg kg⁻¹ of cadmium, 0,19 mg kg⁻¹ of cobalt, 3,2 mg kg⁻¹ of nickel and 4,9 mg kg⁻¹ of chromium were found. The lower concentrations at the foliar level can be produced by a tolerance mechanism of the banana plant, by means of which it sequesters toxic metals in the roots, possibly due to the formation of insoluble compounds in the vacuoles of the cells (Singh *et al.* 2013). Chromium was the element with the highest concentration, both in the roots and in the leaves, this result differs from that found by extraction with Mehlich 3, in which chromium presented low extractability. More studies are required to determine with greater certainty the bioavailability of chromium in the studied soils.

Conclusion

Low levels of arsenic, cadmium and lead were found in Costa Rican banana farming soils. Higher levels of cobalt, nickel and chromium were found, these concentrations were lower than those reported in banana soils from other countries. A correlation of 0,839 between chromium and nickel concentrations suggests a common origin of both metals, probably due to wearing of the parent material. The soils studied presented low extractable levels of these trace metals, which were lower than the critical levels of toxicity established for plants. Low concentrations of trace metals were found in the sampled plants, both in the roots and in the leaves. No arsenic or lead was detected, and the levels of cadmium and cobalt were below the limit of quantification. Chromium levels were the highest, but they did not exceed 9,5 mg kg⁻¹ in roots and 4,9 mg kg⁻¹ in leaves. With this study, the methodology for sampling and determination of non-essential trace metal in soils and plant tissues was established, with the objective that it can be implemented in commercial

banana plantations for long-term monitoring and thus help protect these agrosystems from the accumulation of toxic metals.

References

Alloway, B. J. (2013). *Heavy Metals in Soils*. Springer International Publishing.

Arias, F., Mata, R., Alvarado, A., Serrano, E., & Laguna, J. (2010). CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE. *Agronomía Costarricense*, 34(2), 177–195.

Atafar, Z., Homaei, M., Mahvi, A. H., Mesdaghinia, A., Ahmadimoghaddam, M., Yunesian, M., & Nouri, J. (2008). Effect of fertilizer application on soil heavy metal concentration. *Environmental Monitoring and Assessment*, 160(1–4), 83–89.

Bakkali, K., Martos, N. R., Souhail, B., & Ballesteros, E. (2009). Characterization of trace metals in vegetables by graphite furnace atomic absorption spectrometry after closed vessel microwave digestion. *Food Chemistry*, 116(2), 590–594.

Bressy, F. C., Brito, G. B., Barbosa, I. S., Teixeira, L. S. G., & Korn, M. G. A. (2013). Determination of trace element concentrations in tomato samples at different stages of maturation by ICP OES and ICP-MS following microwave-assisted digestion. *Microchemical Journal*, 109, 145–149.

Brus, D. J., Lamé, F. P. J., & Nieuwenhuis, R. H. (2009). National baseline survey of soil quality in the Netherlands. *Environmental Pollution*, 157(7), 2043–2052.

Corporación Bananera Nacional S.A. (CORBANA) (2017) Boletín Banaclima, No. 39-43.

Corporación Bananera Nacional S.A (CORBANA) (2020) Recovered from <https://www.corbana.co.cr/banano-de-costa-rica/#estadistica> on 19/12/2020.

Duffus, J. H. (2007). “Heavy metals” a meaningless term? (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 74(5), 793–807.

- Elementar Analysensysteme GmbH. (2011). Vario Macro Cube Elemental Analyzer Condensed Manual. Elementar Analysensysteme GmbH, Germany.
- Environmental Pollution Agency (EPA) (2005). Method 3051A. Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils.
- Erdogan, S., Aydin, I., Duz, M. Z., Aydin, F., Celik, K. S., Akba, O., & Hamamci, C. (2015). Simultaneous multielement determination of Al, As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Sn, and Zn in bulgur wheat by ICP-OES. *Atomic Spectroscopy*, 36(5), 210–215.
- Fayiga, A. O., & Ma, L. Q. (2005). Arsenic uptake by two hyperaccumulator ferns from four arsenic contaminated soils. *Water, Air, and Soil Pollution*.
- Félix, I., Mite, F., Carrillo, M., pino, M. (2008) Avances de investigación del proyecto determinación de metales contaminantes en cultivos de exportación y su repercusión sobre la calidad de los mismos. *In VIII Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo*, Ecuador.
- Fontes, R. L. F., Pereira, J. M. N., Neves, J. C. L., & Fontes, M. P. F. (2008). Cadmium, lead, copper, zinc, and nickel in lettuce and dry beans as related to Mehlich-3 extraction in three Brazilian latossols. *Journal of Plant Nutrition*.
- Furini, A. (Ed.). (2012). *Plants and Heavy Metals*. Springer.
- Gupta, D. K., Chatterjee, S., Datta, S., Veer, V., & Walther, C. (2014). Role of phosphate fertilizers in heavy metal uptake and detoxification of toxic metals. *Chemosphere*, 108, 134–144. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.030>
- Hänsch, R., & Mendel, R. R. (2009). Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current Opinion in Plant Biology*, 12(3), 259–266.
- Huwait, E. A., Kumosani, T. A., Moselhy, S. S., Mosaoa, R. M., & Yaghamoor, S. S. (2015). Relationship between soil cobalt and vitamin B12 levels in the liver of livestock in Saudi

- Arabia: Role of competing elements in soils. *African Health Sciences*, 15(3), 993–1008.
- Juan D. Mahecha-Pulido, Juan M. Trujillo-González, & Marco A. Torres-Mora. (2015). Contenido de metales pesados en suelos agrícolas de la región del Ariari, Departamento del Meta. *Orinoquia*, 19(1), 118–122.
- Khan, N. H., Nafees, M., & Bashir, A. (2016). Study of Heavy Metals in Soil and Wheat Crop and their Transfer to Food Chain. *Sarhad Journal of Agriculture*, 32(2), 70–79.
- Li, L., Zheng, C., Fu, Y., Wu, D., Yang, X., & Shen, H. (2011). Silicate-Mediated Alleviation of Pb Toxicity in Banana Grown in Pb-Contaminated Soil. *Biological Trace Element Research*, 145(1), 101–108.
- Lilli, M. A., Moraetis, D., Nikolaidis, N. P., Karatzas, G. P., & Kalogerakis, N. (2014). Characterization and mobility of geogenic chromium in soils and river bed sediments of Asopos basin. *Journal of Hazardous Materials*.
- Lin, D., Ouyang, Y., Huang, C. H., & Huang, D. Y. (2010). Characterization of heavy metals from banana farming soils. *Clean - Soil, Air, Water*, 38(5–6), 430–436.
- López, J., & Espinosa, J. (1995). *Manual de nutrición y fertilización del banano*. Ipni (Vol. 1).
- Melo, L. C. A., Silva, E. B. da, & Alleoni, L. R. F. (2014). Transfer of cadmium and barium from soil to crops grown in tropical soils. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*.
- Minca, K. K., & Basta, N. T. (2013). Comparison of plant nutrient and environmental soil tests to predict Pb in urban soils. *Science of the Total Environment*, 445–446, 57–63.
- Ministry of Health of Costa Rica (2013) Executive Order 37757 Regulation on guide values in soils for decontamination of sites affected by environmental emergencies and spills.
- Monterroso, C., Alvarez, E., & Fernández Marcos, M. L. (1999). Evaluation of Mehlich 3

reagent as a multielement extractant in mine soils. *Land Degradation and Development*, 10(1), 35–47.

Nazar, R., Iqbal, N., Massod, A., Iqbal, M., Khan, R., Syeed, S., & Khan, N. (2012). Cadmium Toxicity in Plants and Role of Mineral Nutrients in Its Alleviation. *American Journal of Plant Sciences*, 03(10), 1476–1489.

Nkengafac, N. J., Kratz, S., & Schnug, E. (2019). International journal of environment. *International Journal of Environment*, 9(1), 1–13.

Page, V., & Feller, U. (2015). Heavy Metals in Crop Plants: Transport and Redistribution Processes on the Whole Plant Level. *Agronomy*, 5(3), 447–463.

Peralta-Videa, J. R., Lopez, M. L., Narayan, M., Saupe, G., & Gardea-Torresdey, J. (2009). The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: Implications for the food chain. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 41(8–9), 1665–1677.

Pinto, F. A., & Ferracciú Alleoni, L. R. (2018). Extractors for barium, cadmium, copper, nickel, and zinc in tropical soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*.

Rashid, M. H., Moniruzzaman, M., Alam, M. K., Chowdhury, M. A. Z., Gan, S. H., Bari, M. L., & Fardous, Z. (2016). Determination of heavy metals in the soils of tea plantations and in fresh and processed tea leaves: an evaluation of six digestion methods. *Chemistry Central Journal*, 10(1), 1–13.

Rueda, G., Rodríguez, J. A., & Madriñan, R. (2011). Metodologías para establecer valores de referencia de metales pesados en suelos agrícolas: Perspectivas para Colombia. *Acta agronómica*, 60(3), 203–218.

Sahodaran, N. K., & Ray, J. G. (2018). Heavy metal contamination in “chemicalized” green revolution banana fields in southern India. *Environmental Science and Pollution*

Research, 25(27), 26874–26886.

Segura, R. A., Serrano, E., Pocasangre, L., Acuña, O., Bertsch, F., Stoorvogel, J. J., & Sandoval, J. A. (2015). Chemical and microbiological interactions between soils and roots in commercial banana plantations (Musa AAA, cv. Cavendish). *Scientia Horticulturae*, 197, 66–71.

Shirisha, K., Sahrawat, K. L., Devi, B. P., & Wani, S. P. (2014). Simple and Accurate Method for Routine Analysis of Heavy Metals in Soil, Plant, and Fertilizer. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 45(16), 2201–2206.

Silva, E. B., Alves, I. S., Alleoni, L. R. F., Graziotti, P. H., Farnezi, M. M. M., Santos, L. L., ... Fontan, I. C. I. (2020). Availability and Toxic Level of Cadmium, Lead and Nickel in Contaminated Soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*.

Singh, A., Jat, R., & Chaudhari, V. (2010). Toxicities and tolerance of mineral elements boron, cobalt, molybdenum and nickel in crop plants. *Plant nutrition and ...*, 2010.

Singh, H. P., Mahajan, P., Kaur, S., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (2013). Chromium toxicity and tolerance in plants. *Environmental Chemistry Letters*, 11(3), 229–254.

Tchounwou, Paul B., Yedjou, Clement G., Patlolla, Anita K., Sutton, D. J. (2012). Molecular, Clinical and Environmental Toxicology. *National Institutes of Health Public Access*, 101(August), 133–164.

Thomas, E., & Omueti, J. (2012). The effect of phosphate fertilizer on heavy metal in soils and *Amaranthus caudatus*. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 3(4), 145–149.

Tirado, R., & Allsopp, M. (2012). *Phosphorus in agriculture Problems and solutions. Greenpeace Research Laboratories Technical Report*.

Tóth, G., Hermann, T., Da Silva, M. R., & Montanarella, L. (2016). Heavy metals in

agricultural soils of the European Union with implications for food safety. *Environment International*, 88, 299–309.

Vidal-Vázquez, E., Caridad-Cancela, R., Taboada-Castro, M. M., Paz-González, A., & Aparecida De Abreu, C. (2005). Trace elements extracted by DTPA and Mehlich-3 from agricultural soils with and without compost additions. En *Communications in Soil Science and Plant Analysis*.

Viehweger, K. (2014). How plants cope with heavy metals. *Botanical Studies*.

Walton, K., & Alle, D. (2004). Mehlich number 3 soil test - the Western Australian experience. *SuperSoil 2004: 3rd Australian New Zealand Soils Conference*.

Webb, S. F. (2018). Simultaneous Determination of Arsenic, Cadmium, Calcium, Chromium, Cobalt, Copper, Iron, Lead, Magnesium, Manganese, Molybdenum, Nickel, Selenium, and Zinc in Fertilizers by Microwave Acid Digestion and Argon Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Sp. *Journal of AOAC International*, 101(2), 383–384.

EFECTO DEL CROMO EN EL CRECIMIENTO Y EN LA ABSORCIÓN DE NUTRIMENTOS EN PLANTAS DE BANANO (*Musa* AAA, cv Gran Enano)

Veda Obando¹, Rosaura Romero²

1/ Dirección de investigaciones, CORBANA S.A. Apdo. 32-7210, Guápiles, Costa Rica.

2/ Escuela de Química, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

ABSTRACT

In banana cultivation, very little information exists regarding the presence of heavy metals in the soil and their effect on the plant. The presence of high concentrations of aluminum in the roots of banana plants has been related to soil conditions that favor the bioavailability of other metals. For this reason, it is important to carry out studies in which the effect of metals such as chromium is determined, since it is naturally present in soils and has chemical properties similar to aluminum. Chromium is mainly found as Cr (III) and Cr (VI), the first is essential for humans and animals, but Cr (VI) is classified as a carcinogen and is toxic to both plants and animals. This study evaluated the effect of Cr (III) and Cr (VI) on the growth and nutrient uptake of *Musa* AAA banana plants in a greenhouse experiment. The plants did not show visible symptoms of toxicity at concentrations in the soil up to 150 mg kg⁻¹ of Cr (VI) and up to 350 mg kg⁻¹ of Cr (III). The treatment with Cr (III) increased the weight of the corm, pseudostem and leaves, while the Cr (VI) decreased the weight of the roots. With Cr (III) a hormesis phenomenon (dose response, characterized by stimulation at low doses and inhibition at high doses) improved plant growth. With the highest dose of Cr (VI), root necrosis and severe oxidation occurred. Both types of chromium were stored (compartmentalization) in the root to prevent transfer to other organs, as a plant tolerance mechanism. The presence of chromium in the soil caused significant changes in the concentration of nutrients both in the roots and in the leaves. Higher content of potassium and phosphorus, as well as a lower concentration of iron and copper, was observed in the roots. An increase in manganese concentration and a decrease in iron and zinc concentrations were observed in the leaves. This study makes a contribution to the knowledge of the effect of one of the most common metals in soils, but little studied, such as chromium, in a relevant crop in world food security and in which there is little information in this regard.

Key words: Cavendish subgroup, heavy metals, phytotoxicity, soil fertility.

RESUMEN

En el cultivo de banano muy poca información existe con relación a la presencia de metales pesados en el suelo y su efecto sobre la planta. La presencia de altas concentraciones de aluminio en las raíces de plantas de banano ha sido relacionada con condiciones de suelo que favorecen la biodisponibilidad de otros metales. Por esta razón, es importante realizar estudios en los que se determine el efecto de metales como el cromo, debido a que está presente de forma natural en los suelos y posee propiedades químicas similares al aluminio. El cromo se encuentra principalmente como Cr (III) y Cr (VI). El Cr (III) es esencial para los seres humanos y los animales, pero el Cr (VI) está clasificado como carcinógeno y es tóxico tanto para las plantas como para los animales. Este estudio evaluó el efecto de Cr (III) y Cr (VI) sobre el crecimiento y la absorción de nutrientes de plantas de banano *Musa* AAA en invernadero. Las plantas no mostraron síntomas visibles de toxicidad en concentraciones en el suelo hasta 150 mg kg⁻¹ de Cr (VI) y hasta 350 mg kg⁻¹ de Cr (III). El tratamiento con Cr (III) aumentó el peso del cormo, pseudotallo y hojas, mientras que el Cr (VI) disminuyó el peso de las raíces. Con el Cr (III) un fenómeno de hormesis (respuesta a dosis, caracterizado por una estimulación en dosis bajas y una inhibición en dosis altas) mejoró el crecimiento de las plantas. Con la dosis

más alta de Cr (VI) se produjo necrosis en las raíces y oxidación severa. Ambos tipos de cromo se almacenaron (compartimentalización) en la raíz para evitar la transferencia a otros órganos, como un mecanismo de tolerancia de la planta. La presencia de cromo en el suelo provocó cambios significativos en la concentración de nutrimentos tanto en las raíces como en las hojas. Mayor contenido de potasio y fósforo, así como menor concentración de hierro y cobre, fue observado en las raíces. En las hojas se observó un aumento de la concentración de manganeso y una disminución en las concentraciones de hierro y zinc. Este estudio realiza un aporte al conocimiento del efecto de uno de los metales más comunes en los suelos, pero poco estudiado, como lo es el cromo, en un cultivo relevante en la seguridad alimentaria mundial y en el cual existe escasa información al respecto.

Palabras clave: fertilidad del suelo, fitotoxicidad, metales pesados, subgrupo Cavendish.

INTRODUCCIÓN

El cromo (Cr) es el elemento número 17 en abundancia en la corteza terrestre, es un metal pesado que se concentra principalmente en los depósitos minerales conocidos como cromitas (de fórmula FeCr_2O_4) (Kumar *et al.* 2016) y es gradualmente expuesto por el desgaste de los materiales parentales hacia los suelos; los cuales, por lo general, contienen de 0,5 a 250 mg kg^{-1} de este elemento, con las concentraciones más bajas en suelos formados en materiales arenosos y mayores valores en suelos originados en rocas volcánicas (Alloway 2013). No obstante, los niveles máximos permitidos en suelos agrícolas se encuentran en un rango que va desde 64 mg kg^{-1} en Canadá a 200 mg kg^{-1} en República Checa (Shahid *et al.* 2017).

Sus principales estados de oxidación (tipos) son Cr (VI) o Cr^{6+} y Cr (III) o Cr^{3+} , los cuales difieren en sus propiedades químicas y toxicológicas (Alloway 2013). El Cr (VI), está catalogado como cancerígeno por la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC), por sus siglas en inglés, debido a que es tóxico por inhalación y se ha relacionado con la formación de tumores en los pulmones (Shekhawat *et al.* 2015). Además, presenta un alto potencial de oxidación, alta solubilidad y gran movilidad a través de las membranas celulares, por lo que es tóxico tanto para las plantas como para los animales (Kumar *et al.* 2016). El Cr (III) es relativamente insoluble en agua y presenta baja movilidad, es esencial para los seres humanos y los animales, su deficiencia ha sido vinculada con problemas en el metabolismo de la glucosa y los lípidos (Shekhawat *et al.* 2015).

El Cr (III) por su capacidad para formar óxidos hidratados semejantes a los que forman el aluminio (Al^{3+}) o el hierro trivalente (Fe^{3+}) hace que en la forma de óxidos, hidróxidos y sulfatos su toxicidad disminuya debido a su relativa insolubilidad en el agua, a su baja movilidad y a su fuerte enlace con la materia orgánica del suelo (Chen *et al.* 2011). Sin embargo, en suelos con alta concentración de oxígeno o de óxidos de manganeso, el Cr (III) puede ser llevado a ser oxidado a Cr (VI), lo cual representa una problemática (Reijonen y Hartikainen 2016).

La solubilidad del Cr (III) se da únicamente a un pH menor a 5,5; mientras que para el Cr (VI) ocurre a cualquier pH (Shahid *et al.* 2017). Por esta razón, el pH ejerce un control sobre la disponibilidad de este metal, de modo que la captación de Cr (VI) por parte de las plantas es de 10 a 20 veces mayor que la de Cr (III) (Gardea-Torresdey *et al.* 2005). Así mismo, la materia orgánica y la microbiología del suelo tienen un papel importante en la disponibilidad de este elemento, debido a su capacidad de reducir el Cr (VI) a Cr (III), logrando así su inmovilización (Shahid *et al.* 2017). Según Reijonen y Hartikainen (2016), el riesgo de una mayor biodisponibilidad del cromo en suelos agrícolas, debido a la oxidación de Cr (III) a Cr (VI), disminuye al aumentar el contenido de materia orgánica de estos suelos.

De manera general, el cromo es uno de los metales menos móviles en la planta, donde la concentración en las raíces es generalmente 100 veces mayor que en los tallos, debido posiblemente a la reducción del Cr (VI) a Cr (III) ocasionado por las enzimas Fe (III) reductasas y la posterior formación de compuestos insolubles en las vacuolas de las células de la raíz (Singh *et al.* 2013). En las plantas, la captación de Cr (III) se da por medio de un mecanismo pasivo, mientras que en el Cr (VI) esto ocurre por un mecanismo activo, generalmente llevado a cabo por medio de transportadores celulares de sulfato, hierro y fosfato (Kumar *et al.* 2016). De modo que cuando se lleva a cabo el traslado del Cr (VI) al tallo, éste involucra canales como los de hierro y sulfato (Shahid *et al.* 2017).

La toxicidad en las plantas, tanto del Cr (III) como del Cr (VI), induce una reducción en factores esenciales para el buen funcionamiento fisiológico de las mismas, afectando el

contenido total de clorofila, la fotosíntesis, la tasa de transpiración, el CO₂ intercelular, la conductancia estomática, el uso eficiente del agua, la absorción de nutrimentos, el crecimiento de la raíz y del tallo, el número y tamaño de las hojas, el área foliar y el peso seco de las plantas (Ahmad *et al.* 2011, Amjun *et al.* 2016, Kumar *et al.* 2016 y Nagarajan y Sankar Ganesh 2014). También, ambos tipos de cromo en altas concentraciones generan en las plantas un exceso de especies reactivas de oxígeno (ROS), por sus siglas en inglés; las cuales provocan daño en el ADN y ARN, así como inhibición de enzimas, peroxidación de lípidos y oxidación de proteínas (Panda y Choudhury 2005). El Cr (VI) provoca además necrosis, marchitez, sequedad y caída de las hojas más viejas de las plantas (Singh *et al.* 2013).

Para lograr producciones adecuadas en los cultivos de importancia económica se requiere el control integral de plagas y enfermedades y una adecuada fertilización. La presencia de deficiencias nutricionales y/o toxicidades causadas por ciertos elementos son aspectos adicionales por considerar, desde el punto de vista de su nutrición y fisiología. Los niveles de los diferentes metales, esenciales y no esenciales como el cromo, no son la excepción y constituyen un tema relevante de investigación.

El banano es un cultivo con una gran importancia económica a nivel mundial, con el subgrupo Cavendish (*Musa* AAA) como el mayor representante de producción, con cerca del 47 por ciento de la producción mundial de exportación (FAO 2004). En este cultivo existe muy poca información sobre la presencia de metales pesados en el suelo y su efecto sobre la planta. En un estudio de suelos en plantaciones de banano en China (Lin *et al.* 2010) se encontró que el pH y el contenido de materia orgánica fue menor en comparación con los suelos naturales, lo que propició una mayor disponibilidad de los metales pesados para las plantas. En otro estudio, también en ese país, pero a nivel de invernadero (Li *et al.* 2012), se encontró una reducción en la biomasa del pseudotallo (58,8%) y de las raíces (56,1%) en comparación con un testigo, en plantas de banano tratadas con una dosis de 800 mg kg⁻¹ de plomo en el suelo. Por otra parte, en el primer reporte sobre concentraciones de metales pesados en plantaciones comerciales de banano en India, el

principal productor mundial de banano (27,8% de la producción mundial), se determinó cromo en todas las muestras de suelo analizadas, con un promedio general de 173,33 mg kg⁻¹ (Sahodaran y Ray 2018).

El banano es el principal producto agrícola de exportación de Costa Rica. En Costa Rica existen alrededor de 43 500 hectáreas sembradas, en el año 2018 se exportaron 125 millones de cajas de banano que representaron un 8,8% del total de exportaciones del país (CORBANA 2019). La aplicación de fertilizantes a base de fuentes de amonio en las plantaciones de banano puede provocar la acidificación de los suelos, la cual, a su vez, puede aumentar la disponibilidad de los metales para las plantas. En Costa Rica se ha documentado una mayor concentración de aluminio en el sistema radical de plantas de banano conforme disminuye el pH del suelo y esta disminución se ha relacionado con una menor productividad (Segura *et al.* 2015). La presencia de altas concentraciones de aluminio en raíces de plantas de banano evidencia condiciones de suelo de la plantación que pueden favorecer la disponibilidad de metales pesados.

Por esta razón, es importante realizar estudios en los que se determine el efecto de metales pesados como el cromo sobre el cultivo de banano; su presencia de forma natural en los suelos y su similitud química con el aluminio lo sugieren como un metal con potencial para ser captado por las plantas en suelos acidificados por la fertilización, con efectos desconocidos sobre la producción.

El objetivo de esta investigación consistió en evaluar el efecto del cromo, en sus dos principales estados de oxidación, Cr (III) y Cr (VI), sobre el crecimiento y la absorción de nutrimentos, en plantas de banano del subgrupo Cavendish (*Musa* AAA, Gran Enano) en condiciones de invernadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el invernadero del Centro de Investigaciones de la Corporación Bananera Nacional S.A. (CORBANA, S.A.), ubicado en la provincia de Limón, cantón de Pococí, latitud 10°16.078' N y longitud -83° 46.574' W, a una altura de 50 msnm y en una zona de clima tropical húmedo. Se utilizó un diseño irrestricto al azar con 15 repeticiones por tratamiento. Las unidades experimentales fueron plantas de banano (*Musa* AAA) del cultivar Gran Enano, las cuales fueron obtenidas de cultivo *in vitro* en fase IV y sembradas en pots plásticos de 1,8 L, con suelo sin esterilizar. El suelo utilizado fue de tipo franco-arenoso, recolectado en la finca experimental La Rita, de CORBANA, S.A., el cual se obtuvo a una profundidad de 10-30 cm, se realizó el proceso de secado a temperatura ambiente, tamizado a través de una malla de 2 mm, mezclado y finalmente, caracterizado (Cuadro 1).

Cuadro 1. Características químicas del suelo utilizado durante la experimentación.

%		cmol(+)			mg L ⁻¹				
M.O.	pH	Ca	Mg	K	P	Fe	Cu	Zn	Mn
3,6	6,5	25,9	8,1	1,6	127	323	7	26	46

Métodos de análisis: materia orgánica (M.O.) por combustión (Elementar Vario Macro); pH por medición en agua (1:2,5); macro y micronutrientes mediante extracción con Mehlich 3 y lectura en ICP/OES (Perkin Elmer 7300 DV).

Se aplicaron siete tratamientos distribuidos de la siguiente manera: testigo absoluto (dosis 0), tres dosis (75, 150 y 375 mg kg⁻¹) de Cr (III) y tres dosis (75, 150 y 375 mg kg⁻¹) de Cr (VI). Se prepararon disoluciones de 6.000 mg L⁻¹ de Cr (III) (cloruro de cromo III) y de Cr (VI) (dicromato de potasio), las cuales fueron agregadas al suelo por una única vez el día de la siembra. Volúmenes de 10 mL, 33 mL y 100 mL (60, 198 y 600 mg de Cr (III) y de Cr (IV)), medidos con probeta, se adicionaron directamente al suelo de los pots, alrededor de la planta recién sembrada, evitando el contacto directo de la disolución con la planta. Las

concentraciones de cromo resultantes en el suelo de los pots se calcularon tomando en cuenta una concentración original de cromo en el suelo de 42 mg kg^{-1} .

El mantenimiento hídrico de las plantas se efectuó mediante irrigación manual con agua potable (100 mL por pote), medidos con probeta y aplicados una vez a la semana. El combate de enfermedades se realizó vía foliar con Dithane® 60 SC al 10%, a los 20 y 60 DDS (días después de la siembra) utilizando un aspersor manual. Dicho producto es un fungicida formulado a base de mancozeb, el cual contiene manganeso, su aplicación foliar no se relaciona con el incremento en el manganeso ya que fue aplicado a todos los tratamientos incluyendo el testigo. No se aplicó ningún tipo de fertilización en los tres meses que duró el experimento, debido a que los niveles de nutrimentos se consideraron adecuados (Cuadro 1).

Las plantas se cosecharon a los 90 DDS (Figura 1) y se evaluaron las siguientes variables de crecimiento: peso fresco (g), número de hojas, altura del pseudotallo (cm) (medida desde la superficie del suelo hasta la división de las primeras hojas) y diámetro del pseudotallo (mm) (medido con un calibrador a 5 cm de altura desde la superficie del suelo). Las raíces y las hojas se separaron con un cuchillo plástico, fueron lavadas con agua potable y posteriormente con agua desionizada. Las raíces y las hojas se ubicaron por separado en bolsas de papel, las cuales se colocaron en un horno a 70°C para el proceso de secado por un tiempo de 72 horas. Una vez que las muestras estuvieron secas, se molieron en un molino Restch®X100 equipado con cuchillas de acero al carbono, hasta conseguir un tamaño de partícula menor a 0,5 mm. No se usaron utensilios de acero inoxidable para evitar exponer las muestras a contaminación debido a que el cromo está presente en este material.

El contenido de cromo y de nutrimentos en las plantas se determinó mediante el pesaje de 0,5 g de muestra en tubos de teflón, a los cuales se agregó 3 mL de ácido nítrico (Trace Metal Merck®) al 65% y 3 mL de peróxido de hidrógeno ACS y se colocaron en un digestor de microondas CEM Mars Xpress®. Las muestras se calentaron por 10 minutos hasta

alcanzar una temperatura de 210 °C y se mantuvieron durante 10 minutos adicionales. Posteriormente, se dejaron enfriar, se trasvasaron y se diluyeron a 50 mL con agua desionizada. El líquido resultante fue analizado en un equipo ICP/OES Perkin Elmer Optima 7300 DV® para la determinación de los siguientes elementos (Erdogan *et al.* 2015): cromo, potasio, fósforo, hierro, cobre, zinc y manganeso. Adicionalmente, se midió el contenido de nitrógeno por el método de combustión en un analizador Elementar Rapid N® (Elementar Analysensysteme GmbH., 2011).

La concentración de cromo en el suelo de los pots se determinó mediante muestras que se colocaron en bolsas de papel en un horno a 40°C para el proceso de secado por un tiempo de 72 horas. Una vez que las muestras estuvieron secas, se molieron en un mortero de ágata. Para llevar a cabo el análisis se pesaron 0,5 g de muestra y se siguió el mismo procedimiento para el análisis de las plantas, excepto que se utilizó una mezcla de 4,5 mL de ácido nítrico (Trace Metal Merck®) al 65% y 1,5 mL de ácido clorhídrico ACS.

Los datos fueron analizados mediante ANDEVA con el paquete estadístico SAS® (SAS, 2004) como un diseño factorial 2 x 3, donde el primer factor estuvo constituido por los tipos de cromo y el segundo por las dosis. Adicionalmente, cuando fue necesario, se efectuó una prueba (DMS) de separación de medias. Se realizó un análisis de contrastes entre el testigo y los dos tipos de cromo.



Figura 1. Plantas de banana (*Musa* AAA, cv Grande Naine), obtenidas de cultivo *in vitro*, recién sembradas (arriba) y 90 DDS (abajo).

RESULTADOS

SÍNTOMAS VISUALES

No se observó ningún cambio en las plantas tratadas con diferentes dosis de Cr (III), ni en las plantas sometidas a la dosis más baja de Cr (VI). Con la dosis de 375 mg kg^{-1} de Cr (VI), a partir de la segunda semana, un 16% de las plantas presentó necrosis en las raíces y partes del tallo, así como rayas oscuras finas a lo largo de la hoja. Una vez pasado el estrés inicial, las plantas que presentaron anomalías crecieron normalmente. Con la dosis de 150 mg kg^{-1} de Cr (VI) se observaron, un mes después de la aplicación, coloraciones amarillentas en el 13% de las plantas, así como enroscamiento de las hojas. Posteriormente estas plantas también crecieron sin mostrar más síntomas (Figura 2).



Figura 2. Planta correspondiente a la dosis de 375 mg kg^{-1} de Cr (VI), una semana después de la aplicación (arriba). Planta correspondiente a la dosis de 150 mg kg^{-1} de Cr (VI), un mes después de la aplicación (abajo).

VARIABLES DE CRECIMIENTO

La comparación con el tratamiento testigo indicó que éste difirió ($P=0,0477$) del Cr (III) para el peso conjunto del cormo, pseudotallo y hojas (91,6 vs. 100,1 g), mientras que del Cr (VI) sólo varió ($P=0,0013$; 37,1 vs. 32,0 g) en el peso de la raíz (Cuadro 2). La interacción Cromo x Dosis sólo fue significativa ($P=0,0007$) para el diámetro del pseudotallo, con un aumento conforme a la dosis para el Cr (III) y una disminución para el Cr (VI) de la segunda a la tercera dosis. Tomando en cuenta lo anterior, se observó que, independientemente de las dosis, hubo diferencias ($P\leq 0,0128$) entre Cr (III) y Cr (VI) en el número de hojas (5,0 vs. 5,3), el peso de la raíz (37,2 vs. 32,0 g) y el peso conjunto del cormo, pseudotallo y hojas (100,1 vs. 91,3 g). Independientemente del tipo de cromo, no hubo diferencias ($P\geq 0,2332$) en las variables de crecimiento entre las diferentes dosis aplicadas.

CROMO EN RAÍCES Y HOJAS

La concentración de cromo en las raíces aumentó con el nivel de cromo agregado al suelo, excepto en la dosis de 375 mg kg⁻¹ de Cr (VI), con la cual se presentó una menor concentración en las raíces que con la dosis intermedia (150 mg kg⁻¹). En las hojas el cromo se detectó únicamente en las plantas con la dosis más alta, los valores promedio encontrados fueron 0,2 mg kg⁻¹ para el Cr (III) y 0,4 mg kg⁻¹ para el Cr (VI). Los resultados se presentan en el Cuadro 3.

Cuadro 2. Variables de crecimiento (medias $\pm$ error estándar) de plantas de banano (*Musa* AAA cv Gran Enano) a los 90 DDS, en suelos aplicados con Cr (III) y Cr (VI).

Tratamientos	Dosis (mg kg ⁻¹)	Variables de crecimiento				
		Pseudotallo Altura (cm)	Diámetro (mm)	Número de hojas	Peso (g) de raíz	Peso (g) de cormo, pseudotallo y hojas
Testigo	0	24,7	18,1	5,2	37,1	91,6
	Error estándar	0,7	0,3	0,2	1	3
Cr (III)	75	24,9	18,3	5,1	38,5	98,4
	150	24,6	18,5	5,1	34,8	98,1
	375	26,1	19,6	4,8	38,2	103,7
	Error estándar	0,7	0,3	0,2	1	3
Cr (VI)	75	24,2	17,9	5,2	30,7	89,6
	150	25,6	18,8	5,5	33,0	98,1
	375	24,0	17,4	5,3	32,2	86,1
	Error estándar	0,7	0,3	0,2	1	3
CONTRASTES		Probabilidades				
Cr (III) vs. Testigo		0,5741	0,0629	0,3008	0,9365	0,0477
Cr (VI) vs. Testigo		0,8823	0,9367	0,5144	0,0013	0,9382
ANDEVA		Probabilidades				
Cromo x Dosis ¹		0,1028	0,0007	0,3448	0,0807	0,0622
Cr (III) vs. Cr (VI)		0,3212	0,0057	0,0218	0,0001	0,0044
Entre Dosis ¹		0,7037	0,2332	0,5017	0,6270	0,5311

1/ No incluye el tratamiento testigo (dosis 0).

Cuadro 3. Concentraciones (medias $\pm$ desviación estándar) de cromo en las raíces y hojas de plantas de banano (*Musa* AAA cv Gran Enano) en suelos aplicados con Cr (III) y Cr (VI).

Tratamiento	Dosis (mg kg ⁻¹)	Cromo en raíces (mg kg ⁻¹) ¹⁾	Cromo en hojas (mg kg ⁻¹)
Testigo	0	7 $\pm$ 4	nd
Cr (III)	75	26 $\pm$ 2	nd
	150	58 $\pm$ 13	nd
	375	95 $\pm$ 21	0,2 $\pm$ 0,1
Cr (VI)	75	24 $\pm$ 3	nd
	150	143 $\pm$ 38	nd
	375	108 $\pm$ 21	0,4 $\pm$ 0,1

nd = no detectado.

NUTRIMENTOS EN RAÍCES

El tratamiento testigo difirió con el Cr (III) en los contenidos de potasio ($P= 0,0024$; 4,9 vs. 6,4%), hierro ($P= 0,0358$; 9.599 vs. 4.400 mg kg⁻¹) y cobre ($P= 0,0052$; 43 vs. 29 mg kg⁻¹); mientras que las diferencias con el Cr (VI) se expresaron en todos los macronutrientes ($P\leq 0,0208$; N: 1,54 vs. 1, 79%; P: 0,21 vs. 0,27%; K: 4,9 vs. 6,2%) y, en la concentración del micronutriente cobre ($P= 0,0299$; 43 vs 32 mg kg⁻¹) (Cuadro 4). La interacción Cromo x Dosis sólo fue significativa para el contenido de fósforo ($P= 0,0037$) y de hierro ($P= 0,0359$), donde ambos, para el Cr (III), dichos contenidos disminuyen conforme a la dosis, mientras que para el Cr (VI) aumentan. Independientemente de las dosis hubo diferencias ($P\leq 0,0032$) en la concentración de nitrógeno (1,53 vs. 1,79%) y fósforo (0,23 vs. 0,27%) entre Cr (III) y Cr (VI), sin diferir entre ambos en los contenidos de potasio ($P= 0,2677$) ni de micronutrientes ($P\geq 0,0945$). Independientemente del tipo de cromo, no se presentaron diferencias en la concentración de nutrientes ($P\geq 0,1607$) entre las diferentes dosis aplicadas.

Cuadro 4. Concentraciones de nutrimentos (medias $\pm$ error estándar) en las raíces de plantas de banano (*Musa* AAA cv Gran Enano) a los 90 DDS, en suelos aplicados con Cr (III) y Cr (VI).

Tratamientos	Dosis (mg kg ⁻¹)	Concentraciones de nutrimentos en raíces						
		(%)		(mg kg ⁻¹)				
		N	P	K	Fe	Cu	Zn	Mn
Testigo	0	1,54	0,21	4,9	9.599	43	155	292
	Error estándar	0,1	0,01	0,3	1.938	4	14	49
Cr (III)	75	1,66	0,23	5,9	5.836	30	134	224
	150	1,56	0,24	6,3	4.401	29	130	184
	375	1,36	0,21	6,9	2.964	27	129	149
	Error estándar	0,1	0,01	0,3	1.938	4	14	49
Cr (VI)	75	1,85	0,25	6,2	3.568	31	129	153
	150	1,71	0,26	6,2	6.908	28	106	215
	375	1,80	0,29	6,1	7.804	38	131	233
	Error estándar	0,1	0,01	0,3	1.938	4	14	49
CONTRASTES					Probabilidades			
Cr (III) vs. Testigo		0,8609	0,0889	0,0024	0,0358	0,0052	0,1607	0,0796
Cr (VI) vs. Testigo		0,0208	0,0001	0,0069	0,1397	0,0299	0,0640	0,1255
ANDEVA					Probabilidades			
Cromo x Dosis ¹		0,2332	0,0037	0,1021	0,0359	0,1196	0,4430	0,0707
Cr (III) vs Cr (VI)		0,0032	0,0003	0,2677	0,1136	0,0945	0,3290	0,5677
Entre Dosis ¹		0,1607	0,4477	0,1906	0,7280	0,3838	0,3720	0,9308

NUTRIMENTOS EN LAS HOJAS

El tratamiento testigo difirió ($P \leq 0,0271$) del Cr (III), con excepción del cobre, para todos los macronutrientes (N: 3,03 vs. 2,81%; P: 0,30 vs. 0,25%; K: 5,6 vs. 4,7%) y micronutrientes (Fe: 126 vs. 94 mg kg⁻¹; Zn: 44 vs. 35 mg kg⁻¹; Mn: 216 vs. 298 mg kg⁻¹), mientras que con el Cr (VI) hubo diferencias con el fósforo ($P = 0,0062$; 0,30 vs. 0,26%) y con los micronutrientes ($P \leq 0,0005$) hierro (126 vs. 94 mg kg⁻¹), zinc (44,0 vs. 36,3 mg kg⁻¹) y manganeso (216 vs. 297 mg kg⁻¹). Los resultados se presentan en el Cuadro 5. La interacción Cromo x Dosis sólo fue significativa para el contenido de manganeso ($P = 0,0011$) y zinc ($P = 0,0407$). En el primer caso, para el Cr (III) la mayor dosis (375 mg kg⁻¹) indujo la mayor concentración foliar ($P \leq 0,05$); mientras que para el Cr (VI) las dosis no provocaron un efecto foliar diferencial. La interacción Cr x Dosis que se determinó para el zinc indicó que con el Cr (III) los contenidos foliares aumentaron conforme aumentó la dosis del elemento, mientras que con el Cr (VI) disminuyeron. Independientemente de las dosis, las concentraciones de nitrógeno (2,81 vs. 3,06%) y potasio (4,7 vs. 5,3%) presentaron diferencias estadísticas ($P \leq 0,0019$) entre Cr (III) y Cr (VI), sin diferir en los contenidos de fósforo ($P = 0,3644$) ni de micronutrientes ($P \geq 0,1296$). Independientemente del tipo de cromo, hubo diferencias entre dosis en las concentraciones de hierro y manganeso ($P \leq 0,0211$). En el primer caso no hubo interacción Cr x Dosis, la mayor dosis de cromo (375 mg kg⁻¹) indujo el mayor contenido foliar ($P \leq 0,05$) de dicho elemento. Para el manganeso hubo interacción Cr x Dosis por lo que los datos de ambos tipos de cromo se consideraron de manera separada. Para el Cr (III) la mayor dosis (375 mg kg⁻¹) indujo la mayor concentración foliar ($P \leq 0,05$) de este elemento; mientras que para el Cr (VI) las dosis no provocaron un efecto foliar diferencial.

Cuadro 5. Concentraciones de nutrimentos (medias $\pm$ error estándar) en las hojas de plantas de banano (*Musa* AAA cv Gran Enano) a los 90 DDS, en suelos aplicados con Cr (III) y Cr (VI).

Tratamientos	Dosis (mg kg ⁻¹)	Concentraciones de nutrimentos en las hojas						
		N	P	K	Fe	Cu	Zn	Mn
Testigo	0	3,03	0,30	5,6	126	8	44	216
	Error estándar	0,1	0,01	0,2	2	0,2	1	16
Cr (III)	75	2,85	0,27	4,8	92	8	36	244b
	150	2,80	0,26	4,8	92	8	36	239b
	375	2,79	0,23	4,6	97	8	37	381a
	Error estándar	0,1	0,01	0,2	2	0,2	1	16
Cr (VI)	75	3,01	0,27	5,2	95	8	38	294a
	150	2,99	0,26	5,1	88	8	33	305a
	375	3,19	0,26	5,5	99	8	33	294a
	Error estándar	0,1	0,01	0,2	2	0,2	1	16
CONTRASTES					Probabilidades			
Cr (III) vs. Testigo		0,0271	0,0071	0,0008	<0,0001	0,4976	<0,0001	0,0015
Cr (VI) vs. Testigo		0,6597	0,0262	0,1249	<0,0001	0,6701	<0,0001	0,0005
ANDEVA					Probabilidades			
Cromo x Dosis ¹		0,2666	0,2966	0,1083	0,2801	0,8819	0,0407	0,0011
Cr (III) vs. Cr (VI)		0,0019	0,3644	0,0016	0,8590	0,7379	0,1296	0,5011
Entre Dosis ¹		0,5121	0,1090	0,8266	0,0211	0,2447	0,1626	0,0021

Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$). 1/ No incluye el tratamiento testigo (dosis 0).

DISCUSION

Únicamente las dosis más altas de Cr (VI), 150 mg kg⁻¹ y 375 mg kg⁻¹, provocaron síntomas visibles en hojas y tallos, así como daño en los tejidos de las raíces y disminución de la biomasa radical. Sin embargo, las plantas que presentaron síntomas de toxicidad en las primeras semanas lograron crecer con normalidad una vez superado el estrés inicial, lo que parece indicar que las plantas de banano poseen mecanismos de tolerancia para hacer frente a los efectos tóxicos del cromo. No se presentaron efectos negativos como disminución de la altura y del número de hojas, efectos que sí se han documentado en

cultivos como maíz (Amjun *et al.* 2016) y trigo (Kumar *et al.* 2016). Síntomas semejantes a los observados en las plantas de *Musa* AAA bajo efecto de Cr(VI) también se han observado en otras especies de plantas, tales como, *Zea mays*, *Lolium perenne*, *Datura innoxia* o *Triticum aestivum* (Sing *et al.* 2013). La disminución en el peso de las raíces a causa del Cr (VI) también fue reportado en plantas de *Oriza sativa* L (Ahmad *et al.* 2011) y de *Arabidopsis thaliana*, en este último caso acompañada de muerte celular, producción de peróxido de hidrógeno y aumento en la actividad de peroxidasa, como señales de estrés oxidativo (Eleftheriou *et al.* 2015). El contacto directo de las raíces con el Cr (VI) causa un colapso y posterior inhabilitación de las raíces para absorber agua y nutrimentos del medio.

A diferencia del Cr (VI), que provocó una disminución en la biomasa de las raíces, la aplicación de Cr (III) tuvo un efecto positivo en la biomasa del cormo, pseudotallo y hojas. También se pudo observar un incremento en el diámetro del pseudotallo al aumentar la dosis de Cr (III). Lo anterior puede deberse a un fenómeno conocido como hormesis, en el cual a dosis bajas de un elemento tóxico se da una estimulación de los procesos biológicos, pero a dosis altas se produce una inhibición. Este fenómeno se ha documentado anteriormente en el caso del cromo y las dosis en las cuales se produce varían dependiendo del tipo de planta (Gardea-Torresdey *et al.* 2005, González *et al.* 2015; Shahid *et al.* 2017). Por ejemplo, en un estudio con plantas de cacao, se encontró un aumento en la actividad fotosintética en las plantas expuestas a una concentración de 100 mg kg^{-1} de Cr (III) en el suelo. Sin embargo, en concentraciones mayores a 400 mg kg^{-1} se observó un fuerte aumento en la actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD), evidenciando el mecanismo de defensa de la planta frente al estrés oxidativo causado por el exceso de Cr (III) (do Nascimento *et al.* 2018).

La concentración de cromo a nivel radical fue más de 120 veces mayores que en las hojas, mostrándose así el mecanismo de tolerancia de la planta de banano de almacenar el cromo en las raíces, posiblemente por medio de la formación de compuestos insolubles en las vacuolas de las células (Singh *et al.* 2013) para evitar la traslocación a órganos superiores y minimizar así los efectos tóxicos. Para el Cr (III), la concentración de cromo en la raíz

aumentó conforme se incrementó la dosis aplicada, sugiriendo una absorción de forma pasiva, por medio del movimiento del agua hacia la raíz (Kumar *et al.* 2016). Este comportamiento no se observó de la misma manera con el Cr (VI), con el cual, en la dosis más alta se produjo una fuerte oxidación de las raíces, lo que afectó su funcionamiento e impidió una mayor absorción del elemento.

La captación de cromo por las raíces provocó cambios significativos en la concentración de diferentes elementos, evidenciando el fuerte impacto de este metal en los mecanismos de absorción de nutrimentos. La competencia del cromo por los transportadores de los nutrimentos esenciales, así como su efecto en la disminución de la actividad de la H⁺ATPasa de la membrana plasmática, pueden explicar la disminución en la absorción de algunos nutrimentos esenciales (Shanker *et al.* 2005). Además, la interacción antagónica, o sinérgica en algunos casos, entre el cromo y los nutrimentos puede deberse a sus interferencias tanto dentro del suelo como dentro de los tejidos vegetales (Shahid *et al.* 2007).

Las menores concentraciones de hierro a nivel radical, observadas especialmente con la mayor dosis de Cr (III), podrían ser explicadas por la similitud química del cromo con el hierro, debido a lo cual se pudo haber llevado a cabo una interferencia en la absorción del hierro debido al exceso de cromo (Shahid *et al.* 2017). Este efecto no se observó con el Cr (VI), donde a diferencia de lo ocurrido con el Cr (III), la concentración de hierro fue mayor al aumentar la dosis de Cr (VI). El comportamiento observado en esta investigación difiere de lo indicado por Kabir *et al.* 2016, quienes indican que algunas plantas reducen la absorción de hierro para disminuir también la absorción de Cr (VI), como un mecanismo de tolerancia. También se encontró una mayor concentración de macronutrimentos en las raíces con la mayor dosis de Cr (VI); en el caso del fósforo, esta acumulación podría deberse a una interferencia directa del cromo en el metabolismo de este elemento en las plantas (Dube *et al.* 2003).

A nivel foliar las concentraciones de nutrimentos mostraron una tendencia decreciente en la mayoría de los tratamientos, lo cual concuerda con hallazgos similares en el cultivo de arroz (Ahmad *et al.* 2011), así como en soya y frijol (Kumar *et al.* 2016). Una excepción fue el aumento en la concentración foliar del manganeso con las dosis de cromo. Según Dube *et al.* 2003, en plantas de *Citrullus vulgaris* se observó el mismo comportamiento, de manera que hubo un incremento en la concentración de manganeso, al estar sometidas las plantas a tratamientos con Cr (VI), con lo cual también concuerdan Vernay, Gauthier-Moussard y Hitmi (2007), según sus hallazgos en hojas de *Lolium perenne* L.; sin embargo, aún se requieren más estudios para determinar la relación entre ambos elementos.

El mecanismo de tolerancia que se evidenció en las plantas de banano, en el cual se produce el almacenamiento del cromo en las raíces, para evitar la traslocación a órganos superiores, es particularmente beneficioso en los suelos ácidos comúnmente encontrados en plantaciones bananeras comerciales. De modo que aún en condiciones de suelo en las que el cromo pueda estar disponible para las plantas, su efecto sobre éstas sería reducido en comparación con otros cultivos más sensibles a este elemento. Un caso particular que amerita más estudios se dio con el Cr (III), con el cual parece presentarse el fenómeno de hormesis, mejorando el crecimiento de la planta de banano. Este hallazgo abre la posibilidad de estudio de otros elementos del suelo que puedan tener un efecto semejante y puedan ser aliados en la búsqueda de incrementar la productividad de este cultivo.

La presencia de cromo en el suelo propició cambios significativos en las concentraciones de macro y micronutrimentos en las plantas del estudio, a pesar de que los contenidos de cromo a nivel foliar fueron menores a 0.4 mg kg^{-1} y la mayoría de las plantas no mostraron síntomas visibles. Esto indica que, aun encontrándose en bajas concentraciones a nivel foliar, un elemento tóxico acumulado en el suelo puede estar afectando fuertemente el crecimiento de la planta y su captación de nutrimentos. Bajo este contexto, ciertos problemas nutricionales, o indicios de síntomas relacionados con posibles toxicidades, podrían deberse a elementos que no son determinados regularmente en los laboratorios de suelos, como es el caso del cromo y otros metales pesados.

Con esta investigación se realiza un aporte al conocimiento del efecto de uno de los metales más comunes en los suelos, pero poco estudiado, como lo es el cromo, en un cultivo que juega un papel relevante en la seguridad alimentaria mundial y en el cual existe escasa información al respecto.

REFERENCIAS

- Ahmad, M., Wahid, A., Sheikh, S. A., Butt, Z. A., & Tariq, M. (2011). Ecophysiological responses of rice (*Oryza sativa* L.) to hexavalent chromium. *Pakistan Journal of Botany*, 43(6), 2853–2859.
- Alloway, B. J. (2013). *Heavy Metals in Soils*. Springer International Publishing.
- Anjum, S. A., Ashraf, U., Khan, I., Saleem, M. F., & Wang, L. C. (2016). Chromium toxicity induced alterations in growth, photosynthesis, gas exchange attributes and yield formation in maize. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 53(4), 751–757.
- Corporación Bananera Nacional S.A (CORBANA) (2020) Recovered from <https://www.corbana.co.cr/banano-de-costa-rica/#estadistica> on 19/12/2020.
- do Nascimento, J. L., de Almeida, A. A. F., Barroso, J. P., Mangabeira, P. A. O., Ahnert, D., Sousa, A. G. R., ... Baligar, V. C. (2018). Physiological, ultrastructural, biochemical and molecular responses of young cocoa plants to the toxicity of Cr (III) in soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 159(April), 272–283.
- Dube, B. K., Tewari, K., Chatterjee, J., & Chatterjee, C. (2003). Excess chromium alters uptake and translocation of certain nutrients in citrullus. *Chemosphere*, 53(9), 1147–1153.
- Eleftheriou, E. P., Adamakis, I. D. S., Panteris, E., & Fatsiou, M. (2015). Chromium-induced ultrastructural changes and oxidative stress in roots of *Arabidopsis thaliana*. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(7), 15852–15871.

- Elementar Analysensysteme GmbH. (2011). Vario Macro Cube Elemental Analyzer Condensed Manual. Elementar Analysensysteme GmbH, Germany.
- Erdogan, S., Aydin, I., Duz, M. Z., Aydin, F., Celik, K. S., Akba, O., & Hamamci, C. (2015). Simultaneous multielement determination of Al, As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Sn, and Zn in bulgur wheat by ICP-OES. *Atomic Spectroscopy*, 36(5), 210–215.
- Gardea-Torresdey, J. L., De La Rosa, G., Peralta-Videa, J. R., Montes, M., Cruz-Jimenez, G., & Cano-Aguilera, I. (2005). Differential uptake and transport of trivalent and hexavalent chromium by tumbleweed (*Salsola kali*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 48(2), 225–232.
- González, C. I., Maine, M. A., Cazenave, J., Sanchez, G. C., & Benavides, M. P. (2015). Physiological and biochemical responses of *Eichhornia crassipes* exposed to Cr (III). *Environmental Science and Pollution Research*, 22(5), 3739–3747.
- Kabir, A. H. (2016). Biochemical and molecular changes in rice seedlings (*Oryza sativa* L.) to cope with chromium stress. *Plant biology (Stuttgart, Germany)*, 18(4), 710–719.
- Kumar R., Biswas S. K., K. V. y L. K. (2016). Effect of chromium toxicity on plants: a review. *Agiways*, 4(1), 107–120.
- Li, L., Zheng, C., Fu, Y., Wu, D., Yang, X., & Shen, H. (2011). Silicate-Mediated Alleviation of Pb Toxicity in Banana Grown in Pb-Contaminated Soil. *Biological Trace Element Research*, 145(1), 101–108.
- Lin, D., Ouyang, Y., Huang, C. H., & Huang, D. Y. (2010). Characterization of heavy metals from banana farming soils. *Clean - Soil, Air, Water*, 38(5–6), 430–436.
- Niu, L., Cao, R., Kang, J., Zhang, X., & Lv, J. (2018). Ascorbate-glutathione cycle and ultrastructural analyses of two kenaf cultivars (*Hibiscus cannabinus* L.) under chromium stress. *International Journal of Environmental Research and Public Health*,

15(7), 1–14.

Panda, S. K., & Choudhury, S. (2005). Chromium stress in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1), 95–102.

Sahodaran, N. K., & Ray, J. G. (2018). Heavy metal contamination in “chemicalized” green revolution banana fields in southern India. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(27), 26874–26886.

SAS (Statistical Analysis Software). (2004). Institute Inc, SAS/STAT® User's Guide, Version 9.1, v.1-7. SAS Institute Inc., Cary, NC. 220 p.

Segura, R. A., Serrano, E., Pocasangre, L., Acuña, O., Bertsch, F., Stoorvogel, J. J., & Sandoval, J. A. (2015). Chemical and microbiological interactions between soils and roots in commercial banana plantations (Musa AAA, cv. Cavendish). *Scientia Horticulturae*, 197, 66–71.

Shahid, M., Shamshad, S., Rafiq, M., Khalid, S., Bibi, I., Niazi, N. K., ... Rashid, M. I. (2017). Chromium speciation, bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system: A review. *Chemosphere*, 178(July), 513–533.

Shanker, A. K., Cervantes, C., Loza-Tavera, H., & Avudainayagam, S. (2005). Chromium toxicity in plants. *Environment International*, 31(5), 739–753.

Shekhawat, K., Chatterjee, S., & Joshi, B. (2015). Chromium Toxicity and its Health Hazards. *International Journal of Advanced Research*, Volume 3(June), 167–172.

Singh, H. P., Mahajan, P., Kaur, S., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (2013). Chromium toxicity and tolerance in plants. *Environmental Chemistry Letters*, 11(3), 229–254.

Vernay, P., Gauthier-Moussard, C., & Hitmi, A. (2007). Interaction of bioaccumulation of heavy metal chromium with water relation, mineral nutrition and photosynthesis in developed leaves of *Lolium perenne* L. *Chemosphere*, 68(8), 1563–1575.

CAPÍTULO 4

Conclusiones

El objetivo fundamental de esta tesis fue determinar los niveles de metales traza (arsénico, cadmio, cromo, cobalto, níquel y plomo) en los suelos dedicados al cultivo de banano en Costa Rica. La aplicación de fertilizantes puede provocar la acidificación de los suelos, lo que puede ocasionar un aumento de la disponibilidad de los metales. Se ha documentado una mayor concentración de aluminio en el sistema radical de plantas de banano conforme disminuye el pH del suelo y esta disminución a su vez se relaciona con una menor productividad. La presencia de altas concentraciones de aluminio en las raíces de plantas de banano se puede relacionar con condiciones de suelo que favorecen la disponibilidad de metales, por lo que determinar las concentraciones de los principales metales traza en los suelos bananeros es un tema de importancia para la producción bananera nacional.

En esta tesis se logró establecer una metodología de muestreo de suelos en conjunto con el muestreo de raíces que permite relacionar directamente las concentraciones de metales traza en el suelo con las encontradas en las raíces de las plantas. En este trabajo se implementó la determinación de metales traza en suelos por medio de digestión ácida en microondas y posterior lectura en ICP/OES por medio de un método rápido y confiable basado en el método EPA 3051A y modificado con ajustes en las condiciones de digestión y de lectura según el método AOAC 2006.03. Una aportación importante de este trabajo es que esta metodología de análisis puede ser implementada con facilidad por los laboratorios dedicados al análisis de suelos, en los cuales es frecuente el uso de la tecnología de plasma. El principal cuidado que se debe tener con esta técnica es la interferencia del hierro, el cual se encuentra en altas concentraciones en los suelos.

Además del método de digestión ácida se implementó la extracción de metales traza con la disolución extractora Mehlich 3, cuya ventaja es su mayor rapidez y menor costo, además de ser una técnica de uso generalizado en los laboratorios de suelos. Sin embargo, las concentraciones obtenidas por este método fueron menores en varios órdenes de magnitud en comparación con las concentraciones obtenidas por el método de digestión ácida. Esto generó una limitación debido a que las concentraciones encontradas en los suelos fueron menores o cercanas a los límites de detección del método, especialmente en el caso del arsénico. A pesar de lo anterior la extracción con Mehlich 3 podría usarse como un indicador de la presencia de metales tóxicos y proporcionar información sobre la biodisponibilidad de los metales.

En esta tesis se demostró que los suelos dedicados al cultivo del banano en Costa Rica tienen bajos niveles extraíbles de arsénico, cadmio, cobalto, cromo, níquel y plomo. Así mismo, las concentraciones totales promedio de estos metales obtenidas por digestión ácida (arsénico 4 mg kg^{-1} , cadmio $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$ y plomo $<0,1 \text{ mg kg}^{-1}$) fueron menores a las reportadas en suelos bananeros de otros países y menores a los promedios mundiales. Este resultado es relevante porque evidencia un menor impacto de estos metales en las plantaciones de banano en suelo costarricense. Las concentraciones promedio de cobalto (21 mg kg^{-1}), cromo (48 mg kg^{-1}) y níquel (30 mg kg^{-1}) fueron mayores, la alta correlación encontrada entre las concentraciones de cromo y níquel sugiere un origen natural de ambos elementos, debido posiblemente al desgaste de material parental del cual proceden los suelos.

Otro objetivo de la investigación fue evaluar el contenido de metales traza en diferentes partes de la planta de banano. Tomando en cuenta lo indicado en la literatura respecto a los órganos de acumulación de metales en las plantas, se tomaron muestras de las raíces y de las hojas. En el caso del muestreo foliar se utilizó el método internacional de referencia, el cual tiene la ventaja de ser conocido por el personal técnico de las plantaciones y puede ser llevado a cabo con mayor facilidad. También este método de muestreo permitiría la comparación de resultados con estudios en otros países. En el presente trabajo se

comprobó que la planta de banano acumula la mayor cantidad de los metales estudiados en las raíces, posiblemente como un mecanismo de tolerancia, la traslocación a órganos superiores fue escasa.

En esta investigación se concluye que existen bajas concentraciones de metales traza en las plantas de banano, tanto en las raíces como en las hojas. No se detectó arsénico ni plomo en ninguna de las muestras y los niveles de cadmio y cobalto estaban por debajo del límite de cuantificación del método. Únicamente las concentraciones de cromo y níquel pudieron ser efectivamente cuantificadas en los tejidos evaluados, pero éstas no superaron los $9,5 \text{ mg kg}^{-1}$. Estos resultados están de acuerdo con las bajas concentraciones de metales traza (menores a 2 mg kg^{-1}) en la fracción extraíble de los suelos.

El mayor reto del proyecto fue evaluar el papel de los metales traza en la producción de la planta de banano. En uno de los objetivos enunciábamos que se evaluaría el papel de los metales traza en el crecimiento de la planta de banano. Sin embargo, a medida que se avanzaba en la investigación se decidió evaluar únicamente uno de los metales estudiados, el que se encontró en mayor concentración tanto en los suelos como en las plantas y dejar los demás elementos para ser evaluados en futuras investigaciones.

La evaluación del efecto del elemento seleccionado sobre el crecimiento de la planta se sugiere como una manera de estudiar su posible impacto en la producción. Es importante indicar que los factores que afectan la producción de la planta de banano son variados, entre ellos el clima, el tipo de suelo, el manejo, la variedad, entre otros. Por lo que los resultados obtenidos bajo condiciones controladas no pueden necesariamente ser extrapolados a las condiciones de campo y la productividad de una plantación. A pesar de ello, la información obtenida conforma una buena base para comprender el impacto sobre el cultivo que pueden tener ciertos elementos escasamente estudiados.

En esta tesis se concluye que la planta de banano (*Musa AAA*) no muestra síntomas visibles de toxicidad ni efecto sobre las variables de crecimiento en concentraciones de hasta 100 mg kg^{-1} de Cr (VI) y 300 mg kg^{-1} de Cr (III) en el suelo. En el trabajo se demostró que ambos

tipos de cromo se almacenan en la raíz, posiblemente como mecanismo de tolerancia de la planta para evitar la transferencia a otros órganos. Un aspecto muy relevante de la presente investigación es el hallazgo de un fenómeno de hormesis que se presentó con el Cr (III), mejorando el crecimiento de la planta.

La presencia de cromo en el suelo provocó una disminución significativa del contenido de hierro y zinc en las hojas, así como un aumento del contenido de manganeso. Esto a pesar de que la concentración de cromo en las hojas de las plantas tratadas no superó los 0,4 mg kg⁻¹. Esto indica que aún cuando hay bajas concentraciones de un elemento tóxico a nivel foliar, el crecimiento de la planta y la absorción de nutrimentos pueden estar siendo fuertemente afectados.

En esta tesis se evidencia que existe un papel de los metales traza en el crecimiento de la planta de banano, el cual no necesariamente es negativo. El hallazgo de un posible fenómeno de hormesis con el Cr (III) en la planta de banano abre la posibilidad de estudio de otros elementos, ya sea naturales del suelo o agregados al mismo, que puedan tener un efecto semejante y puedan ser aliados en la búsqueda de incrementar la productividad de las plantaciones.

Finalmente, como líneas futuras de investigación se recomienda continuar el estudio del efecto de los metales traza sobre el crecimiento de la planta de banano, con especial énfasis en el cadmio, el cual es el elemento con la mayor biodisponibilidad. Así mismo, se recomienda el muestreo de raíces para la determinación de metales traza siendo que es el órgano de acumulación de la planta y cuyo muestreo puede coordinarse con otros que se realicen en las plantaciones, de esta forma se podría llevar a cabo un monitoreo a largo plazo. Si bien es cierto, no existe evidencia de riesgo de acumulación en la fruta, adicionalmente, se recomienda también su monitoreo, para asegurar su calidad e inocuidad, como parte de la responsabilidad con el consumidor.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alloway, B. J. (2013). *Heavy Metals in Soils*. Springer International Publishing.
2. Anjum, S. A., Ashraf, U., Khan, I., Saleem, M. F., & Wang, L. C. (2016). Chromium toxicity induced alterations in growth, photosynthesis, gas exchange attributes and yield formation in maize. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 53(4), 751–757.
3. Appenroth, K.-J. (2010). Soil Heavy Metals. *Crossroads*.
4. Arias, F., Mata, R., Alvarado, A., Serrano, E., & Laguna, J. (2010). CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE. *Agronomía Costarricense*, 34(2), 177–195.
5. Atafar, Z., Homaee, M., Mahvi, A. H., Mesdaghinia, A., Ahmadimoghaddam, M., Yunesian, M., & Nouri, J. (2008). Effect of fertilizer application on soil heavy metal concentration. *Environmental Monitoring and Assessment*, 160(1–4), 83–89.
6. Benavides, M. P., Gallego, S. M., & Tomaro, M. L. (2005). Cadmium toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1), 21–34.
7. Bhalerao, S. A., Sharma, A. S., & Poojari, A. C. (2015). Toxicity of Nickel in Plants. *International Journal of Pure and Applied Bioscience*, 3(2), 345–355.
8. Cheng, C.-H., Jien, S.-H., Iizuka, Y., Tsai, H., Chang, Y.-H., & Hseu, Z.-Y. (2011). Pedogenic Chromium and Nickel Partitioning in Serpentine Soils along a Toposequence. *Soil Science Society of America Journal*, 75(2), 659–668.
9. Chibuike, G. U., & Obiora, S. C. (2014). Heavy metal polluted soils: Effect on plants and bioremediation methods. *Applied and Environmental Soil Science*.
10. Corporación Bananera Nacional (CORBANA), Estadísticas, recopilado de <http://www.corbana.co.cr/banano-de-costa-rica/#industria>, el 18 de diciembre de 2020.

11. Dalvi, A. A., & Bhalerao, S. A. (2013). Response of Plants towards Heavy Metal Toxicity : An overview of Avoidance , Tolerance and Uptake Mechanism. *Annal of Plant Sciences*, 2(9), 362–368.
12. Dias, M. C., Monteiro, C., Moutinho-Pereira, J., Correia, C., Goncalves, B., & Santos, C. (2013). Cadmium toxicity affects photosynthesis and plant growth at different levels. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35, 1281–1289.
13. Duffus, J. H. (2007). “Heavy metals” a meaningless term? (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 74(5), 793–807.
14. Elementar Analysensysteme GmbH. (2011). Vario Macro Cube Elemental Analyzer Condensed Manual. Elementar Analysensysteme GmbH, Germany.
15. El-Mahdy, M.T., Abdel-Wahab, D.A. & Youssef, M. (2021). In vitro morpho-physiological performance and DNA stability of banana under cadmium and drought stresses. *In Vitro Cell.Dev.Biol.-Plant*.
16. Environmental Pollution Agency (EPA) (2007). Method 3051A. Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils.
17. Erdogan, S., Aydin, I., Duz, M. Z., Aydin, F., Celik, K. S., Akba, O., & Hamamci, C. (2015). Simultaneous multielement determination of Al, As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Sn, and Zn in bulgur wheat by ICP-OES. *Atomic Spectroscopy*, 36(5), 210–215.
18. Furini, A. (Ed.). (2012). *Plants and Heavy Metals*. Springer.
19. Gardea-Torresdey, J. L., De La Rosa, G., Peralta-Videa, J. R., Montes, M., Cruz-Jimenez, G., & Cano-Aguilera, I. (2005). Differential uptake and transport of trivalent and hexavalent chromium by tumbleweed (*Salsola kali*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 48(2), 225–232.
20. Gupta, D. K., Chatterjee, S., Datta, S., Veer, V., & Walther, C. (2014). Role of phosphate

fertilizers in heavy metal uptake and detoxification of toxic metals. *Chemosphere*, 108, 134–144.

21. Hall, J. L. (2002). Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 53(366), 1–11.

22. Hänsch, R., & Mendel, R. R. (2009). Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current Opinion in Plant Biology*, 12(3), 259–266.

23. Hossain, M. A., Piyatida, P., da Silva, J. A. T., & Fujita, M. (2012). Molecular Mechanism of Heavy Metal Toxicity and Tolerance in Plants: Central Role of Glutathione in Detoxification of Reactive Oxygen Species and Methylglyoxal and in Heavy Metal Chelation. *Journal of Botany*, 2012(Cd), 1–37.

24. Huwait, E. A., Kumosani, T. A., Moselhy, S. S., Mosaoa, R. M., & Yaghmoor, S. S. (2015). Relationship between soil cobalt and vitamin B12 levels in the liver of livestock in Saudi Arabia: Role of competing elements in soils. *African Health Sciences*, 15(3), 993–1008.

25. Jayakumar, K., & Jaleel, C. A. (2009). Uptake and Accumulation of Cobalt in Plants : a Study Based on Exogenous Cobalt in Soybean. *Botany Research International*, 2(4), 310–314.

26. Li, L., Zheng, C., Fu, Y., Wu, D., Yang, X., & Shen, H. (2011). Silicate-Mediated Alleviation of Pb Toxicity in Banana Grown in Pb-Contaminated Soil. *Biological Trace Element Research*, 145(1), 101–108.

27. Lin, D., Ouyang, Y., Huang, C. H., & Huang, D. Y. (2010). Characterization of heavy metals from banana farming soils. *Clean - Soil, Air, Water*, 38(5–6), 430–436.

28. Lin, Y. F., & Aarts, M. G. M. (2012). The molecular mechanism of zinc and cadmium stress response in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 69(19), 3187–3206.

29. López, J., & Espinosa, J. (1995). *Manual de nutrición y fertilización del banano*. Ipni (Vol. 1).

30. Martín-prevel, P. (1974). Les methodes déchantillonnage pour l'analyse foliaire du bananier: resultats d'une enquete internationale et propositions en vue d'une reference commune. *Fruits*. 29:583-588.
31. Mehlich, A. (1984). Mehlich 3 Soil Test Extractant: A Modification of Mehlich 2 Extractant. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*.
32. Nagajyoti, P. C., Lee, K. D., & Sreekanth, T. V. M. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: A review. *Environmental Chemistry Letters*.
33. Nazar, R., Iqbal, N., Massod, A., Iqbal, M., Khan, R., Syeed, S., & Khan, N. (2012). Cadmium Toxicity in Plants and Role of Mineral Nutrients in Its Alleviation. *American Journal of Plant Sciences*, 03(10), 1476–1489.
34. Nordberg, G. (2012). Metales: Propiedades Quimicas Y Toxicidad Productos Quimicos. *Enciclopedia De Salud Y Seguridad En El Trabajo*.
35. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (ONUAA) (2004). La economía mundial del banano 1985-2002. Recuperado de <http://www.fao.org/docrep/007/y5102s/y5102s04.htm> el 01/12/2020.
36. Page, V., & Feller, U. (2015). Heavy Metals in Crop Plants: Transport and Redistribution Processes on the Whole Plant Level. *Agronomy*, 5(3), 447–463.
37. Peralta-Videa, J. R., Lopez, M. L., Narayan, M., Saupe, G., & Gardea-Torresdey, J. (2009). The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: Implications for the food chain. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 41(8–9), 1665–1677.
38. Rashid, M. H., Moniruzzaman, M., Alam, M. K., Chowdhury, M. A. Z., Gan, S. H., Bari, M. L., & Fardous, Z. (2016). Determination of heavy metals in the soils of tea plantations and in fresh and processed tea leaves: an evaluation of six digestion methods. *Chemistry Central Journal*, 10(1), 1–13.
40. Safari, Y., Delavar, M. A., Zhang, C., Esfandiarpour-Boroujeni, I., & Owliaie, H. R. (2015).

The influences of selected soil properties on Pb availability and its transfer to wheat (*Triticum aestivum* L.) in a polluted calcareous soil. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187(12), 1–10.

41. Sahodaran, N. K., & Ray, J. G. (2018). Heavy metal contamination in “chemicalized” green revolution banana fields in southern India. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(27), 26874–26886.

42. Segura, R. A., Serrano, E., Pocasangre, L., Acuña, O., Bertsch, F., Stoorvogel, J. J., & Sandoval, J. A. (2015). Chemical and microbiological interactions between soils and roots in commercial banana plantations (*Musa* AAA, cv. Cavendish). *Scientia Horticulturae*, 197, 66–71.

43. Shahid, M., Shamshad, S., Rafiq, M., Khalid, S., Bibi, I., Niazi, N. K., ... Rashid, M. I. (2017). Chromium speciation, bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system: A review. *Chemosphere*, 178(July), 513–533.

44. Shekhawat, K., Chatterjee, S., & Joshi, B. (2015). Chromium Toxicity and its Health Hazards. *International Journal of Advanced Research*, Volume 3(June), 167–172.

45. Sigel, A., Sigel, H., & Sigel, R. K. O. (Eds.). (2013). Cadmium : From Toxicity to Essentiality. *Metal Ions in Life Sciences*, 11.

46. Singh, A., Jat, R., & Chaudhari, V. (2010). Toxicities and tolerance of mineral elements boron, cobalt, molybdenum and nickel in crop plants. *Plant nutrition and ...*, 2010.

48. Singh, H. P., Mahajan, P., Kaur, S., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (2013). Chromium toxicity and tolerance in plants. *Environmental Chemistry Letters*, 11(3), 229–254.

49. Tangahu, B. V., Sheikh Abdullah, S. R., Basri, H., Idris, M., Anuar, N., & Mukhlisin, M. (2011). A review on heavy metals (As, Pb, and Hg) uptake by plants through phytoremediation. *International Journal of Chemical Engineering*.

50. Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., & Sutton, D. J. (2011). A “missing” family

of classical orthogonal polynomials. *Journal of Physics A: Mathematical and Theoretical*, 44(8), 133–164.

51. Thomas, E., & Omueti, J. (2012). The effect of phosphate fertilizer on heavy metal in soils and *Amaranthus caudatus*. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 3(4), 145–149.

52. Tirado, R., & Allsopp, M. (2012). *Phosphorus in agriculture Problems and solutions. Greenpeace Research Laboratories Technical Report.*

53. Tóth, G., Hermann, T., Da Silva, M. R., & Montanarella, L. (2016). Heavy metals in agricultural soils of the European Union with implications for food safety. *Environment International*, 88, 299–309.

54. Wang, S., Wu, W., Liu, F. *et al.* Accumulation of heavy metals in soil-crop systems: a review for wheat and corn. *Environ Sci Pollut Res* 24, 15209–15225 (2017).

ANEXO 1

Procedimiento de muestreo de suelo para determinación de metales traza

Se tomó la muestra a 30 cm en frente del hijo de sucesión de una planta recién florecida, en la banda de fertilización (Figura 1). Se hizo una minicalicata de 40 x 60 cm, con 20 cm de profundidad (Figura 2).



Figura 1. Dimensiones de la minicalicata para el muestreo de suelos.

Se tomó la muestra de suelo (cerca de 100 gramos) de la superficie hasta los 10 cm de profundidad y se colocó en una bolsa plástica (Figura 2).



Figura 2. Toma de muestra de suelo para determinación de metales traza.

Procedimiento de muestreo de raíces

El muestreo de raíces se realizó en conjunto con el muestreo de suelo. Se sacó con una pala un bloque de suelo a 5 cm en frente del hijo de sucesión, con una profundidad de al menos 10 cm (Figura 3) y se colocó sobre un plástico, se sacaron las raíces principales y se guardaron en una bolsa plástica (Figura 4).



Figura 3. Ubicación del sector para el muestreo de raíces.



Figura 4. Toma de muestra de raíces en el bloque de suelo.

Procedimiento de muestreo foliar

Se utilizó el método internacional de referencia en el cual se muestrea la lámina foliar de la hoja 3. El muestreo se realiza en las plantas después de la emergencia floral, se tomó una faja de 10 cm de ancho a ambos lados de la nervadura central de la hoja. En el presente estudio se tomó la extensión de la faja que va del centro de la lámina al extremo (parte externa), desechando la parte interna de la faja. Se tomó una muestra de la hoja 3 de la planta frente a la cual se tomó la muestra de suelo, y de cuatro plantas más alrededor de éstas en el mismo cable y también recién florecidas.

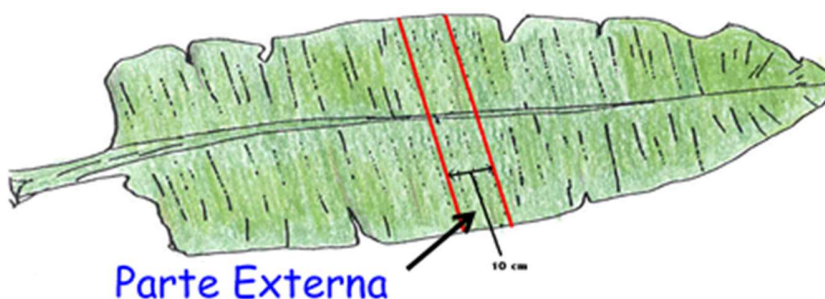


Figura 5. Descripción del muestreo del tejido foliar de banano.



Figura 6. Muestra de raíces (izquierda) y de tejido foliar (derecha) de una planta de banano (*Musa AAA*)

ANEXO 2

Fincas seleccionadas para el estudio de metales traza

Nombre	Area (has)	Cantón	Zona	Cables muestreados	Fecha de muestreo
Encantos del Mar Rojo	298	Sarapiquí	Este	33, 30, 23, 51, 47, 43, 55, 59, 39, 11S, 11N, 16N, 16S, 21N, 21S	30/05/2017
Bananatica	280	Pococí	Este	3, 5, 9 (2), 11 (2), 13 (2), 20 (2), 36, 34, 25, 28 (2)	02/06/2017
Bananera Cariari	193	Pococí	Este	2, 5, 11, 7, 15 (2), 14, 26 (2), 28(2) 31N, 31S, 12, 5	23/04/2017
Cartagena	110	Guácimo	Este	42, 37, 32, 26, 20, 19, 9, 15, 12, 4, 41, 29, 23, 2, 7	05/05/2017
San Pablo	267	Siquirres	Oeste	4N, 4S, 7S, 9N, 9S, 7r2, 20S, 25, 18N, 16S, 15S, 15N, 1Ss, 11S, 12N	25/04/2017
Bananera Siquirres	371	Siquirres	Oeste	52, 51, 3, 6, 11, 17, 23, 27, 31, 35, 38, 32, 26, 20, 12	27/04/2017
Venecia	361	Matina	Oeste	13, 9, 5, 8, 12 (2), 18 (2), 28, 34, 38, 44, 25, 21, 17	06/06/2017
Zorzales	187	Matina	Oeste	1730, 1740, 1660, 1360, 1440, 1510, 1210, 1230, 1050, 1010, 620, 640, 440, 420, 310	13/06/2017
Vesta	108	Limón	Oeste	4r2, 5, 7, 11, 14, 8A, 8B, 9, 13, 12A, 12B, 2, 3,1, 4r4	20/06/2017
Agrotuberculos	102	Talamanca	Oeste	C2,C4, C6, B1, B3, B5, B9, C10, Barra, A14, A13, A11, A8, A5, A2	20/06/2017

Ubicación de los puntos de muestreo en las fincas seleccionadas

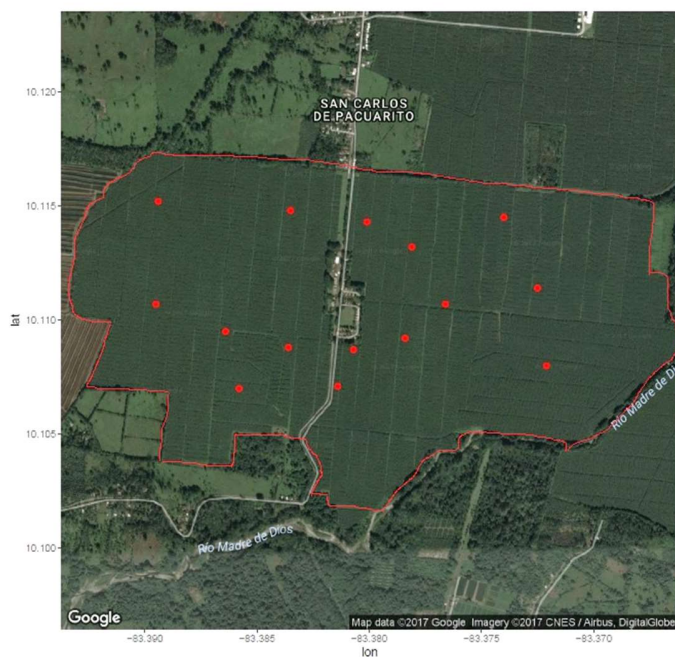


Figura 1. Ubicación de los puntos de muestreo en finca San Pablo.

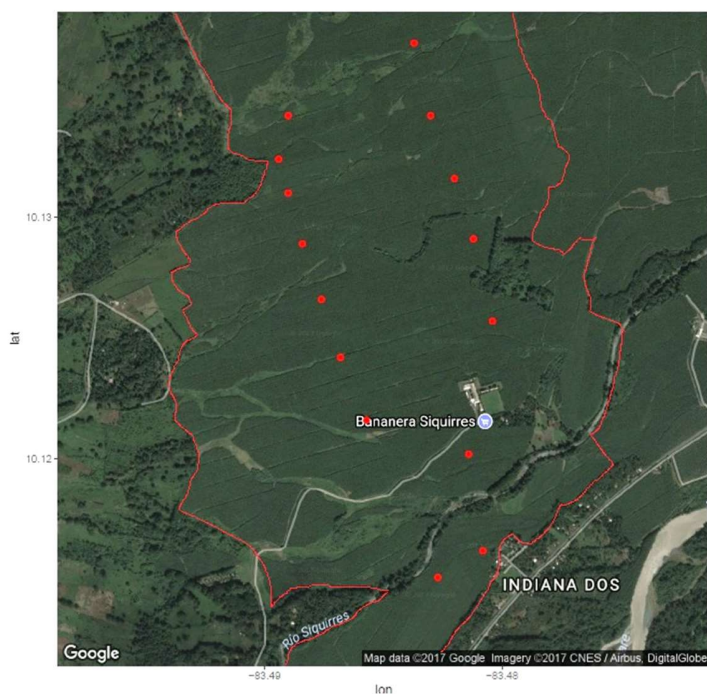


Figura 2. Ubicación de los puntos de muestreo en Bananera Siquirres.



Figura 3. Ubicación de los puntos de muestreo en finca Venecia.

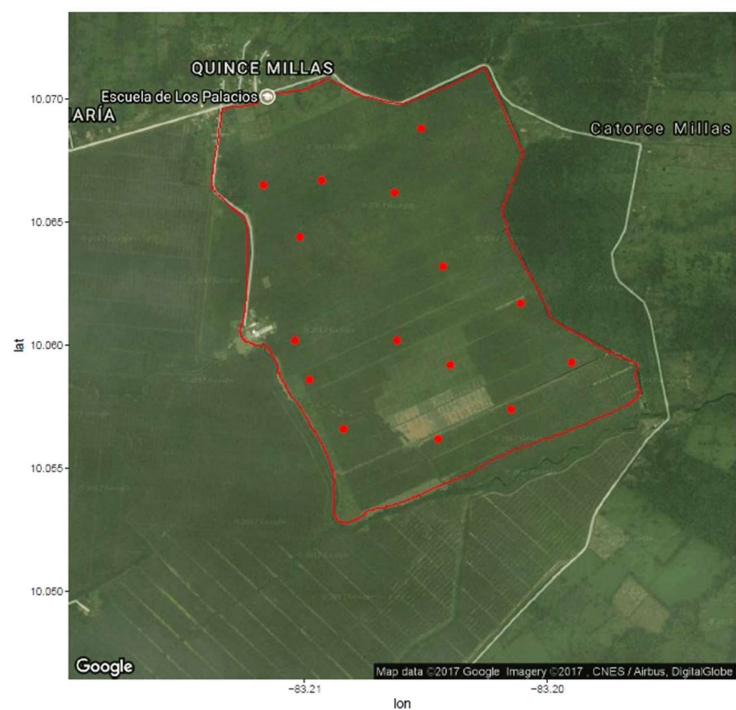


Figura 4. Ubicación de los puntos de muestro en finca Zorzales.

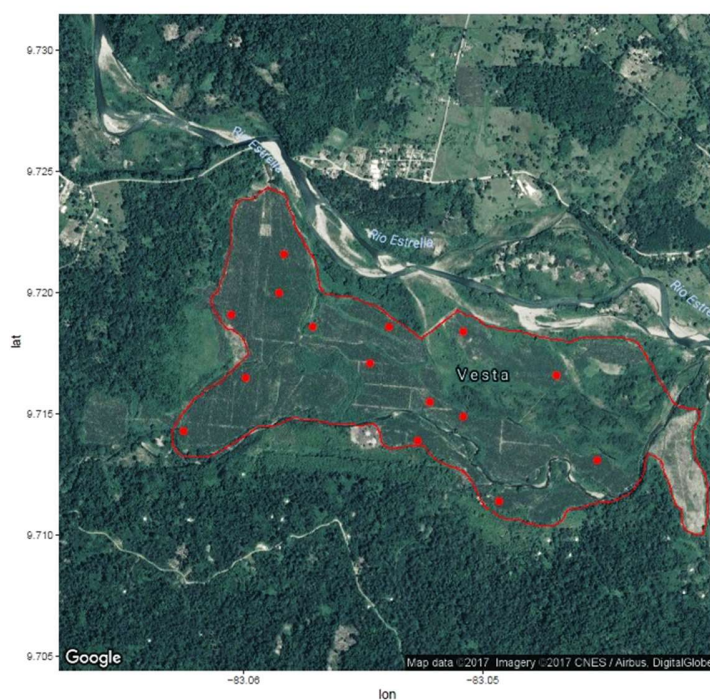


Figura 5. Ubicación de puntos de muestreo en finca Vesta.

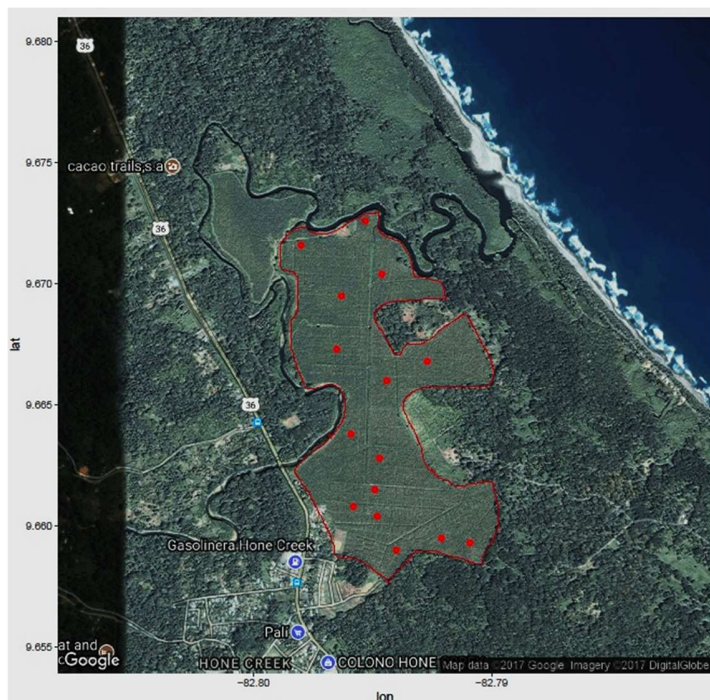


Figura 6. Ubicación de puntos de muestreo en finca Agrotubérculos.

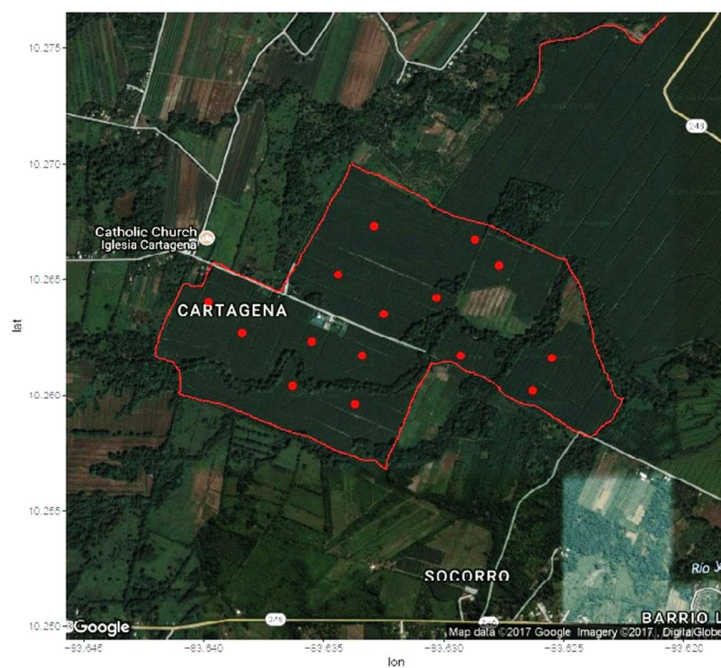


Figura 7. Ubicación de puntos de muestreo en finca Cartagena.

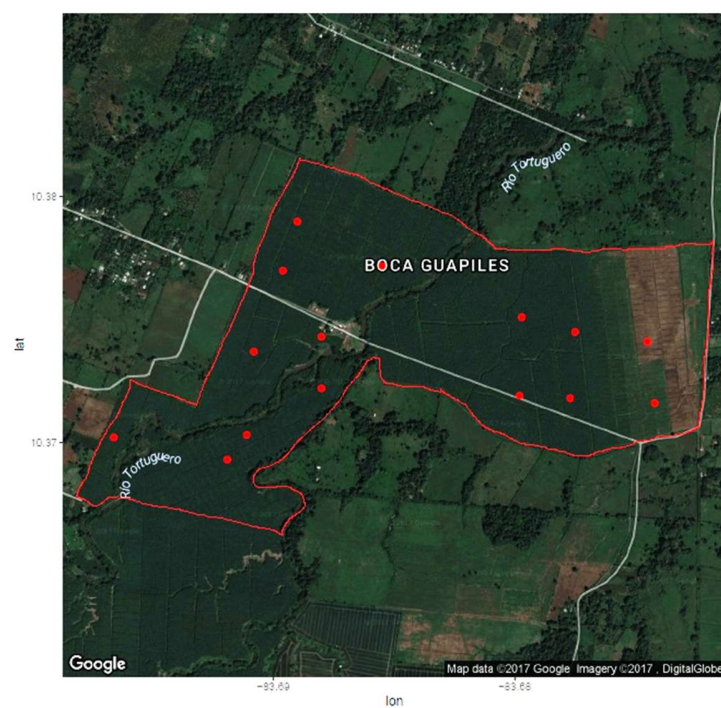


Figura 8. Ubicación de puntos de muestreo en Bananera Cariari.

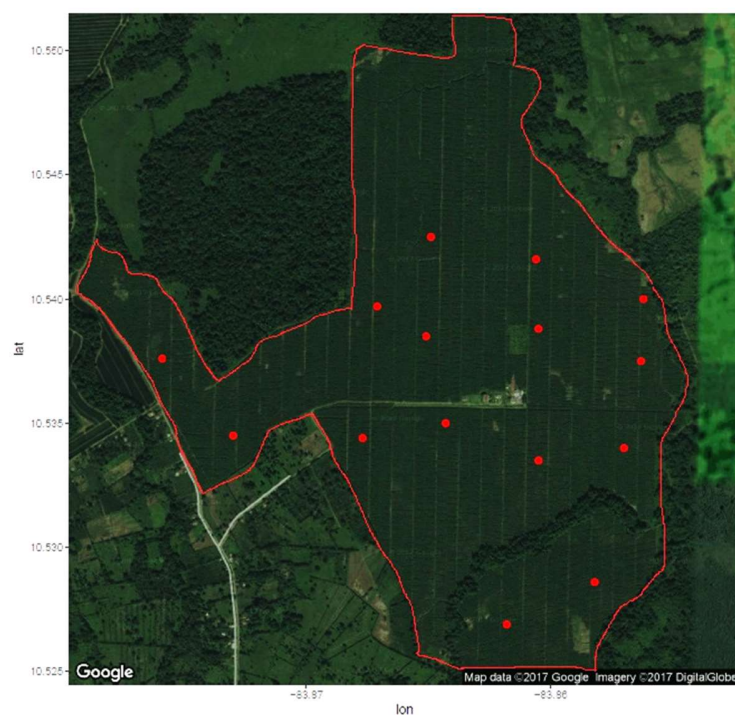


Figura 9. Ubicación de puntos de muestreo en finca Encantos del Mar Rojo.

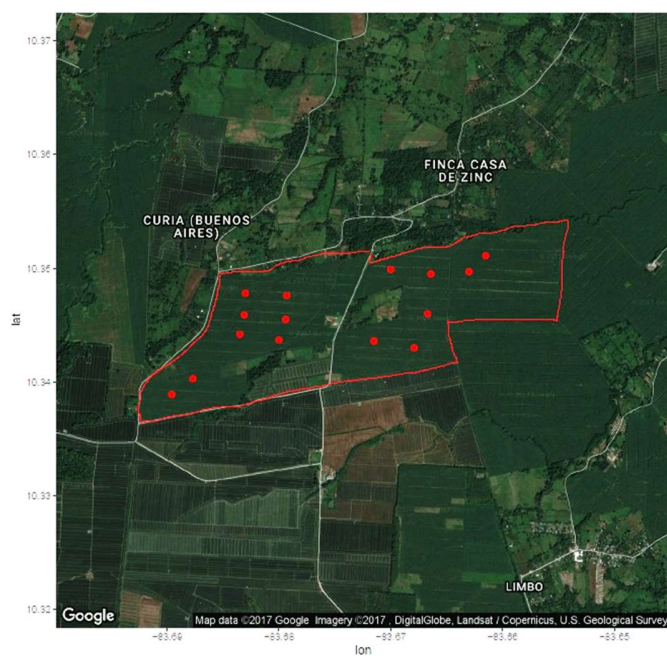


Figura 10. Ubicación de puntos de muestreo en Bananatica.