

# Doctorat de l'Université de Toulouse

préparé à l'Université Toulouse III - Paul Sabatier

---

Effet des intrants biologiques sur les rendements et le transfert  
du cadmium dans le système sol-plante lors de la production  
de cacao biologique en Équateur et Côte d'Ivoire

---

Thèse présentée et soutenue, le 27 juin 2024 par  
**Laudine MARCHIVE**

**École doctorale**

SDU2E - Sciences de l'Univers, de l'Environnement et de l'Espace

**Spécialité**

Surfaces et interfaces continentales, Hydrologie

**Unité de recherche**

GET - Geosciences Environnement Toulouse

**Thèse dirigée par**

Laurence MAURICE et Eva SCHRECK

**Composition du jury**

M. Jean RIOTTE, Président, IRD Occitanie

M. Jean-Yves CORNU, Rapporteur, INRAE Nouvelle-Aquitaine-Bordeaux

M. Christian CILAS, Rapporteur, CIRAD Montpellier

Mme Camille DUMAT, Examinateuse, Toulouse INP

M. Eduardo CHAVEZ NAVARRETE, Examinateur, Escuela Superior Politécnica del Litoral

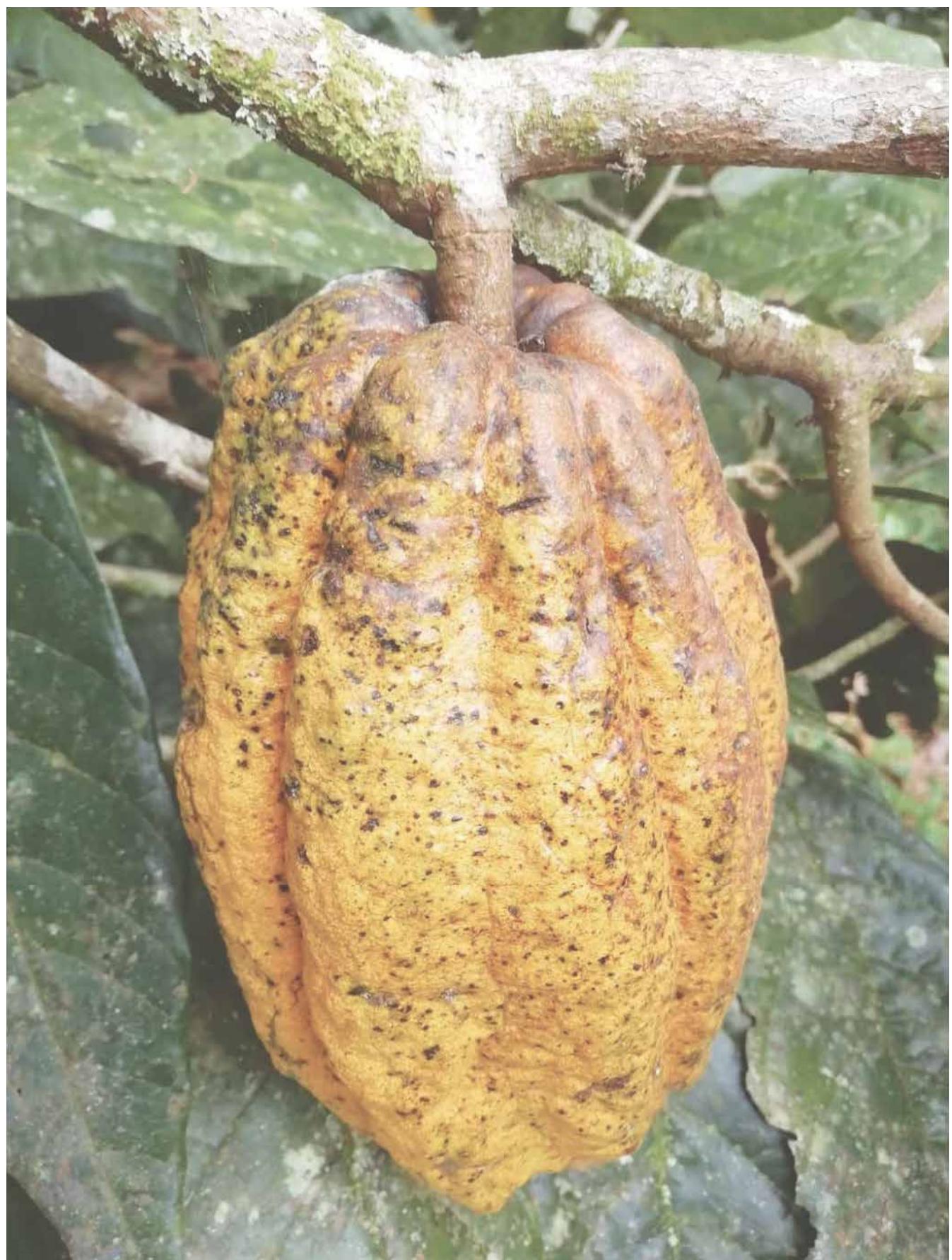
Mme Rachel ATKINSON, Examinateuse, Alliance Bioversity International

Mme Laurence MAURICE, Directrice de thèse, IRD Occitanie

Mme Eva SCHRECK, Co-directrice de thèse, Université Toulouse III - Paul Sabatier

**Membres invités**

M. Nicolas Eberhart, SCOP ETHIQUABLE



# Remerciements

Trois ans et demi après une pandémie, huit séjours à l'étranger et des kilos de fèves de cacao dégustées dans les plantations, je suis heureuse de remercier l'ensemble des personnes qui m'ont accompagnée tout au long de cette aventure doctorale.

Tout d'abord, je souhaite remercier très chaleureusement mes directrices de thèse **Eva et Laurence** qui m'ont accordé leur confiance pour la réalisation de ce projet. Merci pour votre bienveillance, vos conseils et votre soutien grâce auxquels je me suis toujours sentie capable de le mener jusqu'à son terme. Grâce à vos connaissances, votre appui et votre amabilité j'ai pu conduire mes travaux, les réorienter si besoin, les présenter et, plus largement, m'épanouir tout au long de ma formation doctorale.

Je porte également une attention particulière à mes deux encadrants ETHIQUABLE® **Nicolas Eberhart et Stéphane Senan** qui ont eu confiance en notre équipe de recherche et accueilli, pour la première fois, une doctorante au sein de leur entreprise. Vous avez également été un soutien très important lors des différentes missions de terrain, dans des lieux que vous connaissiez déjà et dans lesquels j'ai été reçue de façon extraordinaire par nos partenaires, en Équateur comme en Côte d'Ivoire.

Un grand merci aux **producteurs** qui, dans un contexte sensible de pandémie, ont quand même pris l'initiative de collaborer avec nous dans ce projet de recherche. Vous avez été patients, engagés et assidus dans la conduite des travaux, sans quoi ce travail de doctorat n'aurait pas pu aboutir. Je pense particulièrement à **Monica et Manuel Bueno et leur famille** qui m'ont accueillie à plusieurs reprises dans leur chaleureux foyer et avec qui j'ai passé des moments inoubliables. Merci également aux autres producteurs pour leur gentillesse, leur curiosité et leurs délicieux petits plats qui nous ont donné plein d'énergie pour creuser des trous et cueillir des fruits. Je souhaite remercier les techniciens et en particulier **Yessenia Cuaspa, Luis Lojan, Carlos Ramon, Georges N'Guessan et Mickaël G'Niamien** qui m'ont grandement aidée dans les travaux d'échantillonnage et de collecte

des données. Merci pour votre engagement, votre gentillesse, votre écoute et les précieuses connaissances que vous m'avez transmises, sur le cacao bien sûr mais aussi plus généralement sur la vie. Je n'oublie pas non plus mes collègues de chaque pays qui ont été d'une grande aide au niveau logistique et académique, notamment **Eduardo, Nathy, Byron, Aristide, Sena, Giulia** et l'ensemble des personnes qui, de près ou de loin, ont collaboré au bon déroulement de mes déplacements et des travaux de terrain.

Les innombrables analyses physico-chimiques n'auraient pas été possibles sans l'aide du **service chimie, de salle blanche et du service ICP-MS du laboratoire GET et le l'OMP**, auquel, pour une raison inconnue, je portais la poisse à chaque session. Merci aux filles et à Manu qui m'ont orientée et qui se sont occupés des lectures spectrométriques. Merci aux collègues du GET qui m'ont donné des conseils avisés et de précieuses pistes de réflexion.

Le laboratoire n'aurait pas été un lieu de travail aussi chaleureux et agréable sans **mes amis docteurs, doctorants, post-docs et stagiaires**. Je pense particulièrement à Malissa, Neïl, Chloé, les Louises, Marie, Anne, Matthieu, Noé, Mickaël, Cali, Rémi, Paul, Kévin, Félix, Loren, David, Ada, Gwen, les Hugos, Isalyne, Mathilde et Théo. Merci pour votre bonne humeur quotidienne, votre soutien dans les moments moins drôles, les pauses café et les moments plus sérieux de conseils.

Comment remercier **mes parents** qui, depuis le début de mes études, ont toujours eu confiance en moi et ont su m'accueillir de la meilleure des manières à chaque mission en Équateur. Merci maman d'avoir pensé à m'acheter des mangues avant chaque arrivée. Merci papa pour tes relectures exhaustives. Merci à vous deux d'avoir accepté, à la fin de chaque mission, que je transforme votre bureau ou salle de yoga en forêt vierge en y répandant toutes mes feuilles et sols de cacao. Merci pour votre soutien inconditionnel ! Merci à **Paul**, mon frère, pour sa présence, même depuis l'Indonésie. Tu as toujours été là lorsque j'en ai eu besoin, surtout pour m'envoyer des photos magnifiques des îles que tu explorais lors des mois les plus déprimants de l'hiver ! Enfin, je dédie également cette thèse

à mon grand-père Jean et à ma grand-mère Suzanne, qui, si la vie leur avait prêté plus de temps, auraient été très heureux et fiers de partager cet aboutissement avec moi.

Aunque no necesite decírselo, gracias **Juan, David, Julio, Irene, Esther, Christian, Manon, Bladi, Eze, Mateo y Agathe** por los increíbles momentos que pasamos juntos, las comidas, las risas, las posadas, el mercado, las pláticas interminables, los viajes. Los quiero y estimo mucho, amigos, y les agradezco por haberme apoyado siempre, en las malas, pero sobre todo en las buenas.

Por fin, y, sobre todo, mis mayores agradecimientos a **Alonso**, mi pareja y mejor amigo. Aunque te lo diga diario, quiero por medio de estas líneas, agradecerte por todo tu apoyo incondicional desde que nos conocimos al inicio de mi tesis. Gracias por haberme esperado siempre, aunque hayan sido largos viajes, gracias por haberte interesado a mi estudio y siempre haberme hecho sentir una persona muy capaz. Eres un apoyo cotidiano muy fuerte y junto con el Maxou, hacen de nuestro hogar un sitio caluroso en el que me siento bien día al día. Esta tesis también te pertenece de cierto modo, por siempre juntos.

Merci encore, à toutes et à tous, de près ou de loin,

Laudine

# Résumé

La production mondiale de cacao repose aujourd’hui sur 5 millions d’agriculteurs dont la plupart sont des petits producteurs vivant dans des situations socioéconomiques précaires. Ces derniers font face à plusieurs enjeux qui limitent la commercialisation de leur production : en Amérique latine, la dernière régulation européenne sur les teneurs en cadmium (Cd) dans les produits chocolatés affecte une grande partie des fèves de cacao des pays andins, et en Afrique de l’Ouest, la faible productivité à l’hectare limite les revenus des producteurs. Pour répondre à cette double problématique, l’utilisation d’intrants organiques et biologiques couplée à de bonnes pratiques agricoles apparaissent comme des leviers nécessaires pour améliorer la fertilité des sols, immobiliser les éléments toxiques et réduire leur translocation vers les organes aériens mais aussi contrôler les maladies et les ravageurs du cacao.

C'est dans cette démarche agroécologique que nous avons conduit une recherche participative de terrain en Équateur et en Côte d'Ivoire, en collaboration avec la SCOP ETHIQUABLE® pour tester les effets du biochar, du bokashi (type de compost), de biofertilisants et de solutions de microorganismes pour améliorer la santé des cacaoyères. Pour cela, nous avons établi des essais agronomiques chez 25 producteurs répartis entre les deux pays, où nous avons régulièrement effectué des analyses physico-chimiques de sols, des fèves, des feuilles et de litière.

Au terme d'un an et demi en Côte d'Ivoire et deux ans et demi en Équateur, nous avons constaté que les intrants testés, dans le temps imparti, n'ont pas pu répondre à tous les objectifs. En Équateur, les concentrations en Cd dans les différentes matrices agronomiques sont extrêmement variables spatialement et les processus physiologiques de cette espèce cauliflore, qui jouent un rôle clé dans la mobilité du Cd au sein de l'arbre n'ont pas été modifiés par l'applications d'intrants organiques et biologiques. Ceci peut être partiellement expliqué par le fait que les paramètres physicochimiques des sols (CEC, C<sub>org</sub>, pH, nutriments, etc.), qui sont supposés gouverner la biodisponibilité du Cd, ont

naturellement varié dans le temps mais n'ont pas été influencés par les traitements. Cependant, nous avons tout de même observé une tendance à l'amélioration des rendements (jusqu'à 900 kg ha<sup>-1</sup> de plus que les parcelles témoins) en Côte d'Ivoire et en Équateur suite à l'application de bokashi ou de biochar avec un biofertilisant liquide et aux doses les plus faibles, ainsi qu'à la réduction des maladies. Il s'avère également que l'utilisation de bokashi et de biofertilisants est rentable pour les producteurs lors des meilleurs scenarios de prix et de rendements. Par cette étude, nous avons réussi à susciter un intérêt fort de la part des producteurs vis-à-vis de l'utilisation d'intrants organiques dans les cacaoyères, leur apportant plus d'autonomie financière ce qui est prometteur dans le contexte actuel de transition agroécologique de la culture du cacao.

# Abstract

Worldwide cacao production today relies on 5 million farmers, most of whom are small-scale producers living in precarious socio-economic conditions. In Latin America, the latest European regulation on cadmium (Cd) levels in chocolate products affects a large proportion of cacao beans from Andean countries, while in West Africa, the low productivity per hectare limits producers' income. In response to this double problem, the use of organic and biological microbiological inputs coupled with good agricultural practices appear to be the necessary levers for improving soil fertility, immobilizing toxic elements and reducing their translocation to aerial organs, as well as controlling cacao diseases and pests.

With this agroecological approach in mind, we conducted a participatory field research in Ecuador and Côte d'Ivoire, in collaboration with the SCOP ETHIQUABLE®, to test the effects of biochar, bokashi (a type of compost), biofertilizers and microorganism solutions to improve the health of cacao plantations. To do this, we set up agronomic trials with 25 growers in the two countries, where we carried out regular physicochemical analyses of soil, beans, leaves and litter.

After 1.5 years of survey in Côte d'Ivoire and 2.5 years in Ecuador, we found that, within the time available, the inputs tested were unable to meet all the objectives. In Ecuador, Cd concentrations in the various agronomic matrices are extremely variable spatially, and the physiological processes of this cauliflorous species play a key role in Cd mobility within the tree, which were not altered by the application of organic and biological inputs. This can be partly explained by the fact that soil physicochemical parameters (CEC, C<sub>organic</sub>, pH, nutrients, etc.), which are supposed to drive Cd bioavailability, naturally varied through time and were not affected by the treatments. However, we did observe a trend towards improved yields (up to 900 kg ha<sup>-1</sup> more than the control treatment) in Côte d'Ivoire and Ecuador following the application of bokashi or biochar with a liquid biofertilizer and at the lowest doses, as well as a reduced incidence of diseases. It also turns out that the use of bokashi and biofertilizers was profitable for growers in the best price and yield scenarios.

Through this study, we have succeeded in arousing strong interest among growers in the use of artisanal organic inputs in cacao farms, bringing them greater financial autonomy, which is promising in the actual context of agroecological transition in cacao growing.

# Resumen

La producción mundial de cacao recae actualmente en el esfuerzo de 5 millones de agricultores la mayoría de los cuales vive en situaciones socioeconómicas precarias. Estos tienen que enfrentar distintos retos que limitan la comercialización de su producción: en América latina, el ultimo reglamento europeo sobre las concentraciones de cadmio (Cd) en los productos de chocolate afecta una gran parte de los granos de cacao en los países andinos, y en África del Oeste, la baja productividad por hectárea reduce los ingresos de los productores. Para atender esta doble problemática, el uso de insumos orgánicos y biológicos unido a buenas prácticas agrícolas, son unas palancas necesarias para mejorar la fertilidad de los suelos, inmovilizar los elementos tóxicos y reducir su translocación hacia los órganos aéreos, así como controlar las plagas y enfermedades del cacao.

En este enfoque agroecológico, implementamos un estudio participativo de campo en Ecuador y Costa de Marfil, en colaboración con la SCOP ETHIQUABLE® para probar los efectos del biochar, del bokashi (tipo de compost), de biofertilizantes y de soluciones de microorganismos para mejorar la salud de los cacaotales. Para ello, establecimos ensayos agronómicos en 25 granjas repartidas entre los dos países, donde realizamos periódicamente análisis físico químicos de suelos, granos, hojas y hojarascas.

Al cabo de un año y medio en Costa de Marfil y dos años y medio en Ecuador, constatamos que los insumos ensayados, en el tiempo asignado, no pudieron responder a todos los objetivos. En Ecuador, las concentraciones de Cd en las distintas matrices agronómicas presentan una heterogeneidad espacial muy alta y los procesos fisiológicos de esta especie caulifloria juegan un papel clave en la movilidad del Cd dentro del árbol, por lo cual el contenido de Cd no fue modificado tras la aplicación de insumos orgánicos y biológicos. Otra explicación también puede ser el hecho de que los parámetros físico químicos de los suelos (CIC, C<sub>orgánico</sub>, pH, nutrientes, etc.), los cuales se supone que gobiernan la biodisponibilidad del Cd, variaron naturalmente durante el estudio y no fueron afectados por los tratamientos. Sin embargo, observamos una tendencia de aumento de los

rendimientos (hasta más de 900 kg ha<sup>-1</sup> que las parcelas testigo) y de reducción de las enfermedades mediante la aplicación de bokashi o de biochar con un biofertilizante líquido y a las dosis las más bajas. También resultó que el uso de bokashi y biofertilizantes es rentable para los productores bajo los mejores escenarios de precios y de rendimientos. En virtud de este estudio, también logramos suscitar un fuerte interés de los productores por el uso de insumos orgánicos en los cacaotales, aportándoles una mayor autonomía financiera, lo que es prometedor en el contexto actual de transición agroecológica del cultivo de cacao.

# Sommaire

<b>1. Introduction générale .....</b>	<b>1</b>
<b>2. Historique de l'étude .....</b>	<b>16</b>
<b>3. État de l'art : intérêt des intrants organiques et biologiques en culture de cacao ...</b>	<b>20</b>
<b>3.2. Les systèmes de production de cacao en Côte d'Ivoire et en Équateur .....</b>	<b>20</b>
3.1.1. Typologie des exploitations cacaoyères .....	20
3.1.2. Caractéristiques partagées entre producteurs ivoiriens et équatoriens.....	21
3.1.3. Des systèmes productifs néanmoins différents .....	22
<b>3.2. Freins et leviers pour l'amélioration de la santé des cacaoyères .....</b>	<b>23</b>
3.2.1. Contraintes à l'amélioration quantitative de la production de cacao.....	23
3.2.2. L'agroforesterie et les intrants organiques et biologiques comme leviers pour l'amélioration de la production de cacao.....	27
<b>3.3. Connaissances actuelles sur l'accumulation du Cd dans les cacaoyers et risques sanitaires induits .....</b>	<b>31</b>
3.3.1. Le Cd dans l'environnement et sa toxicité pour les organismes vivants .....	31
3.3.2. Absorption du Cd depuis le sol et translocation vers les fèves de cacao .....	37
3.3.3. Potentiel des intrants organiques et biologiques pour remédier aux fortes concentrations en Cd dans les fèves de cacao.....	42
<b>3.4. L'utilisation des intrants organiques pour la souveraineté des producteurs de cacao..</b>	<b>46</b>
<b>4. Matériel et méthodes .....</b>	<b>48</b>
<b>4.1. Typologie des fermes pilotes, plans d'expérience et échantillonnage par site d'étude</b>	<b>48</b>
4.1.1. Équateur .....	48
4.1.2. Côte d'Ivoire .....	65
<b>4.2. Analyses en laboratoire et mesures in-situ .....</b>	<b>76</b>
4.2.1. Traitement préalable des échantillons .....	76
4.2.2. Analyses physicochimiques des échantillons de sol et des amendements organiques solides (biochar, bokashi) .....	77
4.2.3. Mesures in-situ du rendement de cacao et de l'incidence des maladies et ravageurs.....	81
<b>4.3. Traitement statistique .....</b>	<b>83</b>
<b>5. Distribution des ETM dans les sols et fèves de cacao en Équateur : disponibilité des metalloïdes et leur transfert du sol vers les fèves de cacao .....</b>	<b>84</b>
<b>5.1. Préambule.....</b>	<b>84</b>

<b>5.2. Publication scientifique « Trace element contamination in Ecuadorian soils and cacao beans: Focus on cadmium availability and soil-to-bean transfer". Article soumis le 14/11/23 et actuellement en révision. ....</b>	<b>87</b>
5.2.1. Introduction.....	88
5.2.2. Materials and methods .....	90
5.2.3. Results .....	96
5.2.4. Discussion .....	101
5.2.5. Conclusion .....	113
<b>5.3. Complément d'information sur la composition élémentaire initiale des feuilles et de la litière en lien avec les paramètres physico-chimiques des sols.....</b>	<b>132</b>
5.3.1. Teneurs en ETM dans les feuilles de cacao .....	132
5.3.2. Lien entre concentrations élémentaires dans les feuilles et le sol.....	133
<b>6. Effets des intrants biologiques sur la santé des cacaoyères en Équateur et en Côte d'Ivoire .....</b>	<b>134</b>
6.1. Préambule.....	134
6.2. Les intrants organiques pour la remédiolation du Cd dans les fèves de cacao équatoriennes. Article scientifique à soumettre .....	137
6.2.1. Introduction.....	139
6.2.2. Material and methods.....	143
6.2.3. Results .....	156
6.2.4. Discussion .....	168
6.2.5. Conclusion .....	176
6.3. Effets des intrants organiques pour l'amélioration de la santé de cacaoyères en Côte d'Ivoire .....	196
6.3.1. Rappel du contexte de l'étude et des objectifs sous-jacents .....	196
6.3.2. Rappel de la méthodologie.....	198
6.3.3. Effets des amendements organiques et biofertilisants sur les propriétés physicochimiques des sols	199
6.3.4. Bilan.....	215
<b>7. Enjeux, limites et recommandations dans la mise en place de pratiques agricoles durables par le biais de la recherche participative.....</b>	<b>216</b>
7.1. Préambule.....	216
7.2. La recherche participative en agronomie .....	217
7.3. Les réussites de cette recherche participative agronomique .....	220
7.4. Freins et limites à l'efficacité d'une telle étude.....	224
7.5. Bilan .....	228
<b>8. Conclusion générale et perspectives .....</b>	<b>230</b>
<b>9. Annexes.....</b>	<b>234</b>

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Production (rouge) et consommation (marron) de cacao en 2019 et 2018, respectivement en millions de tonnes. Source : Fountain et Huetz-Adams (2020). .....	4
<b>Figure 2:</b> Évolution de la surface forestière en Côte d'Ivoire entre 1990 et 2015. Source : Cabrera (2018) adapté de Mightyearth (2018) .....	5
<b>Figure 3:</b> Diagramme de l'historique de l'étude. Bleu : financement de l'Agence Nationale de la Recherche – Orange : financement de l'Union Européenne – Vert : financement de l'Agence Française de Développement – Gris : financement ETHIQUABLE® (certaines dépenses, notamment en Équateur, ont également été couvertes par ETHIQUABLE® comme les formations, l'achat des ingrédients pour les intrants organiques et le paiement des techniciens et des journaliers).....	16
<b>Figure 4:</b> Les 6 piliers de la variabilité des rendements en cacao dans les fermes (spatiale et temporelle). Source : <a href="https://www.icco.org/wp-content/uploads/B27407-Cacao-Grower-Guide-French-CFW-v7-interactive.pdf">https://www.icco.org/wp-content/uploads/B27407-Cacao-Grower-Guide-French-CFW-v7-interactive.pdf</a> .....	27
<b>Figure 5:</b> Sources naturelles et anthropiques de cadmium (Cd) dans l'environnement. Sources : Chavez et al. (2015), Barraza et al. (2017), Khan et al. (2017), Defarge et al. (2018), Argüello et al. (2019) .....	32
<b>Figure 6:</b> Distribution du cadmium pseudo-total dans les sols européens (Birke et al., 2017). ....	33
<b>Figure 7:</b> Carte des concentrations en cadmium (moyenne – minimum – maximum, en mg kg <sup>-1</sup> ) dans les fèves provenant des provinces productrices de cacao d'Équateur. Source : Argüello et al. (2019). .....	34
<b>Figure 8:</b> Régulation européenne sur les teneurs maximales en cadmium dans les produits dérivés du cacao. Source : Maddela et al. (2020). .....	36
<b>Figure 9:</b> Biodisponibilité du cadmium dans le sol en fonction de son réservoir (Meter et al., 2019). .....	38
<b>Figure 10:</b> Différentes formes et localisations des éléments traces dans les sols. Adapté de Baize et al. 2007 .....	38
<b>Figure 11:</b> Mécanismes d'immobilisations des éléments traces métalliques par les intrants organiques (Hamid et al., 2020). .....	44
<b>Figure 12:</b> Localisation des 3 coopératives agricoles partenaires (FONMSOEAM, UNOCACE et UROCAL) en Équateur.....	49
<b>Figure 13:</b> Exploitation de Agustina Loor (Manabí, Équateur) où le cacao est mélangé à des bananiers et des arbres à bois. L. Marchive® .....	52
<b>Figure 14 :</b> Schéma de l'expérimentation mise en place dans chacune des 15 fermes pilotes en Équateur.....	53

<b>Figure 15:</b> Parcelle expérimentale dans la ferme de Mario Arce (Esmeraldas, Équateur, Novembre 2020). L. Marchive <sup>©</sup> .....	53
<b>Figure 16:</b> A – Dispositif de fabrication du biochar à Guayas, Équateur ; B – Tank de BioMg dans la biofabrique de Guayas, Équateur ; C – Piles de sacs de bokashi en fermentation dans la biofabrique d’Esmeraldas, Équateur ; D – Dispositif de fabrication du biochar à Manabí, Équateur. L. Marchive <sup>©</sup> .....	56
<b>Figure 17:</b> Processus de fabrication des microorganismes solides à partir de LIFOFER puis de la solution de microorganismes efficaces (SME). ....	57
<b>Figure 18:</b> Processus de fabrication du Bokashi. ....	58
<b>Figure 19:</b> Processus de fabrication des biofertilisants spécifiques et complexes. ....	59
<b>Figure 20:</b> Calendrier des activités de terrain (taille et application des traitements) et des échantillonnages effectués chaque année dans les 15 exploitations équatoriennes. ....	60
<b>Figure 21:</b> Échantillonnage de sol chez Mario Arce (à gauche) et chez Angel Remache (à droite) dans les provinces de Esmeraldas et Guayas, respectivement. Équateur, novembre 2020. Y. Cuaspa <sup>©</sup> (technicienne ETHIQUABLE <sup>©</sup> ) et L. Marchive <sup>©</sup> .....	62
<b>Figure 22:</b> Extraction des graines des cabosses de cacao et épluchage manuel de la graine à l'aide d'un couteau en céramique pour ne garder que la fève. L. Marchive <sup>©</sup> .....	63
<b>Figure 23:</b> Cabosses de cacao identifiées avant extraction des fèves (à gauche) et prélevement des feuilles de la litière (à droite) par José Cedeño (technicien à Manabí). L. Marchive <sup>©</sup> .....	64
<b>Figure 24:</b> Localisation des coopératives partenaires CAMAYE et SCEB en Côte d'Ivoire. ....	65
<b>Figure 25:</b> Schéma du plan expérimental mise en place chez chaque producteur en Côte d'Ivoire. ....	67
<b>Figure 26:</b> Calendrier des activités de terrain (taille et application des traitements) et des échantillonnages effectués chaque année dans les 10 exploitations ivoiriennes. ....	68
<b>Figure 27:</b> Processus de fabrication de la LIFOFER (litière forestière fermentée) à gauche et la solution de microorganismes efficaces, à droite. ....	71
<b>Figure 28 :</b> Processus de fabrication du bokashi en Côte d'Ivoire. ....	72
<b>Figure 29:</b> Processus de fabrication des biofertilisants liquides complexes à partir des biofertilisant spécifiques. ....	73
<b>Figure 30:</b> Schéma de la méthode d'échantillonnage des sols en Côte d'Ivoire, méthode en X (ISO, 1993).....	74
<b>Figure 31:</b> Échantillonnage des sols avec l'aide des techniciens de la coopérative CAMAYE (Février 2021), Abengourou, Côte d'Ivoire. S. Senan <sup>©</sup> (ex-agronome de la SCOP ETHIQUABLE <sup>©</sup> ). ....	75
<b>Figure 32:</b> Broyage des feuilles de cacao (A), des fèves de cacao (B) et des sols (C). L. Marchive <sup>©</sup> .	76
<b>Figure 33:</b> A – Mesure du pH d'échantillons de sol ; B – Analyseur élémentaire servant à doser le carbone et l'azote par combustion sèche des échantillons ; C – Cuves de solutions de cobalthexamine pour déterminer la capacité d'échange cationique des échantillons ; D – Solutions Mehlich 3 après dissolution des sols dans la solution d'extraction et E – Granulomètre laser par voie humide pour la détermination de la texture des échantillons. ....	80
<b>Figure 34:</b> Ecabossage et pesée des fèves de cacao (à gauche) et comptage des cabosses saines et malades (à droite) à Abengourou, Côte d'Ivoire. A. Goné <sup>©</sup> (coordinateur du projet Equité II) et D. Fulgence <sup>©</sup> (stagiaire INADES formation). ....	82

<b>Figure 35:</b> Schéma synthétique des principaux résultats obtenus et présentés dans l'article « Distribution of trace-elements in Ecuadorian soils and cacao beans: metal(lloid) availability and transfer from soil to beans » (Marchive et al. 2024, soumis à <i>International Journal of Environmental Science and Technology</i> ). ....	86
<b>Figure 36:</b> Map of the Ecuadorian cacao production (2021), adapted from the Ecuadorian government, with the location of the studied farms in Esmeraldas (A), Manabí (B) and Guayas (C). <a href="http://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/cacao">http://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/cacao</a> .....	91
<b>Figure 37:</b> Detail of an experimental design implemented in each farm. ....	92
<b>Figure 38:</b> Boxplots of total trace element concentrations (As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, V, Zn) in mg kg <sup>-1</sup> in composite topsoil samples (0-20 cm), collected in the provinces of Esmeraldas, Guayas and Manabí. The quality criteria settled by the Ecuadorian environmental legislation for agricultural soils (TULSMA, 2015) are also plotted with red lines. For Cr and Mo, the quality criteria are not represented in the boxplots as the maximum value of y axis is under this value of the quality criteria (54 and 5 mg kg <sup>-1</sup> for Cr and Mo, respectively) and there is no threshold for Mn. RStudio® .....	97
<b>Figure 39:</b> Boxplot of available trace element concentrations (As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Zn) in mg kg <sup>-1</sup> in composite topsoil samples (0-20 cm), collected in the Ecuadorian provinces of Esmeraldas, Guayas, and Manabí. The quality criteria settled by the Ecuadorian environmental legislation for total TEs in agricultural soils (TULSMA, 2015) are also plotted with red lines. For As, Co, Cr, Cu, Mo, Ni, Pb and Zn, the quality criteria is not represented in the boxplots as this maximum value of y axis is under the value of the quality criteria. Ba concentrations in Guayas were not determined. RStudio® .....	98
<b>Figure 40:</b> Boxplot of total trace element concentrations (Ba, Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Se and Zn) in mg kg <sup>-1</sup> in composite cacao bean samples collected in the Ecuadorian provinces of Esmeraldas, Guayas and Manabi. The red line for Cd values corresponds to the 0.8 mg Cd kg <sup>-1</sup> threshold settled by the European commission (2014) for cacao by-products. RStudio® .....	100
<b>Figure 41:</b> Picture (left) of a liquid bio-input tank from the Guayas' bio-factory and (right) of cacao plot from Roger Vera's farm in Esmeraldas, Ecuador.....	139
<b>Figure 42:</b> Localization of the three cacao cooperatives where the experiments were settled (left) and scheme of the experimental set-up established in each farm in the provinces of Esmeraldas, Manabí and Guayas (right). .....	145
<b>Figure 43:</b> Evolution of total organic carbon (TOC), total N, pH and cation exchange capacity (CEC) through sampling times for all the farmers (n=13). Red dots and error bars represent adjusted mean with 95% confidence limits per treatments. Means followed by a common letter are not significantly different according to the Tukey-test.....	157
<b>Figure 44:</b> Effects of treatments on soil pseudo-total and reactive Cd, leaves and beans' Cd through sampling times (Month). Red dots and error bars represent adjusted mean with 95% confidence limits per treatments. Means followed by a common letter are not significantly different according to the Tukey-test .....	159
<b>Figure 45:</b> Monthly cumulated dry cacao production (in kg ha <sup>-1</sup> ) per treatment (T1 to CK) and averaged for the 5 farmers from the Guayas province, Ecuador. Error bars correspond to the standard deviation of the cacao production (kg ha <sup>-1</sup> ) among farmers for each month. ....	164

<b>Figure 46:</b> Comparison between treatments of the proportion of cumulated ill over total harvested pods (per tree) at 36 months averaged for the 5 farms of the Guayas province. The errors bars correspond to the standard deviation of the mean. ....	165
<b>Figure 47:</b> Distribution spatiale des concentrations élémentaires <b>TOTALES</b> entre les 5 fermes de chaque coopérative (SCEB et CAMAYE) au moins 0 (février 2021). Les lignes en rouge représentent le seuil de la norme canadienne (2007) sur la santé des sols. Pour le Ni, Cu, Pb, Zn et Ba, les lignes n'ont pas été représentées car leurs concentrations sont largement en dessous des seuils respectifs de 50, 63, 1.4, 70, 200 et 750 mg kg <sup>-1</sup> . L'étoile pour chaque élément indique une différence significative entre les concentrations des 2 coopératives.....	203
<b>Figure 48:</b> Distribution spatiale des concentrations élémentaires <b>DISPONIBLES</b> entre les coopératives SCEB et CAMAYE. Le Cr et Zn n'ont pas été inclus car leur concentration est en dessous de la limite de détection. Les valeurs seuils (concentration totale) de la norme canadienne (2007) sur la santé des sols n'ont pas été incluses car les concentrations <b>DISPONIBLES</b> sont largement inférieures aux valeurs permisibles. Pour l'arsenic (As), 23 sols sur les 30 de la coopérative SCEB possèdent des valeurs trop basses pour être exploitées. L'étoile à côté des éléments correspond à une différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les concentrations des deux coopératives. ....	204
<b>Figure 49:</b> Représentation des concentrations totales élémentaires (sauf pour le carbone) dans le bokashi élaboré par la coopérative CAMAYE, Côte d'Ivoire. Les éléments représentant < 0.3 % du bokashi ne sont pas détaillés.....	206
<b>Figure 50:</b> Représentation des concentrations totales élémentaires (sauf pour le carbone) dans le bokashi élaboré dans la coopérative SCEB, Côte d'Ivoire. Les éléments représentant < 1 % du bokashi ne sont pas détaillés.....	206
Figure 51: Évolution du Cd échangeable (Cd exch.) par traitement, dans les sols de la coopérative CAMAYE, entre les mois 0, 6 et 18 de l'étude .....	209
<b>Figure 52:</b> Incidence moyenne cumulée des maladies sur l'ensemble de l'étude pour la coopérative CAMAYE, Côte d'Ivoire. ....	213
<b>Figure 53:</b> Incidence moyenne cumulée des maladies sur l'ensemble de l'étude pour la coopérative SCEB, Côte d'Ivoire .....	214
<b>Figure 54:</b> Engagement des différents acteurs dans la présente recherche participative .....	218
<b>Figure SI - 1:</b> Calendar of the field activities performed per year. ....	180
<b>Figure SI - 2:</b> Evolution of reactive P, Fe, Al and Zn through sampling times for all farmers (n=13). Red dots and error bars represent adjusted mean with 95 % confidence limits per treatments. Means followed by a common letter are not significantly different according to Tukey-test. * Reactive Zn pool was only presented for the Guayas provinces as the values of the other provinces were < LOQ. ....	183
<b>Figure SI - 3:</b> Evolution of reactive K, Ca, Mg and Mn through sampling times for all farmers (n=13). Red dots and error bars represent adjusted mean with 95 % confidence limits per treatments. Means followed by a common letter are not significantly different according to Tukey-test. *	

Reactive Zn pool was only presented for the Guayas provinces as the values of the other provinces were < LOQ.....	184
---	-----

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Caractéristiques générales des 15 fermes pilotes équatoriennes. <sup>1</sup> Selon la classification mondiale « Harmonized soil database V2 ». ..	50
<b>Tableau 2:</b> Détail des traitements appliqués dans le 15 fermes pilotes en Équateur. Les doses correspondent à une application.....	54
<b>Tableau 3:</b> Caractéristiques des 10 fermes pilotes en Côte d'Ivoire. <sup>1</sup> Selon la classification mondiale « Harmonized soil database V2 ». ..	66
<b>Tableau 4:</b> Détail des traitements appliqués dans les 10 fermes pilotes en Côte d'Ivoire. Les doses correspondent à une seule application. ....	69
<b>Table 5:</b> Mean ( $\pm$ SD) of soil pH, C <sub>org</sub> , CEC and C/N of composite (C) and single (S) samples (3 depths: 0-20, 20-40 and 40-60 cm) from the provinces of Guayas, Esmeraldas and Manabí (Ecuador). SD of pH values are calculated with the triplicates of each measurement. ND = not determined.....	96
<b>Table 6:</b> Results of the linear effect mixed model testing the effect of OAs treatment on biological soil health indicators performed on soil samples collected in Guayas province in July 2022. Numbers reported represent estimated means from the model and in brackets confidence Interval at 95%. Investigated treatments are biochar + biofertilizer (T1), bokashi + biofertilizer (T2), bokashi + liquid microorganisms (T3), biochar + biofertilizer + liquid microorganisms (T4), biochar + biofertilizer + bokashi (T5), and control (CK). The F-values and the p-values of ANOVA are reported and significant effects ( $p \leq 0.05$ ) are indicated in bold.....	162
<b>Table 7:</b> Yearly cost (USD) and necessary yield increases for breaking even per treatment .....	166
<b>Table 8:</b> Maximum yield increases and expected profits/losses from treatment applications.....	167
<b>Tableau 9:</b> Moyenne $\pm$ SD, par ferme (n=6 parcelles), des paramètres physicochimiques de sols au mois 0 (février 2021) pour chaque coopérative en Côte d'Ivoire.....	200
Tableau 10: Évolution du pH, carbone organique (CO %), N total, P, K et Ca disponibles entre le mois 0 et 18 de l'étude, par parcelle expérimentale (n=10). .....	208
<b>Tableau 11:</b> Comparaison des rendements cumulés des traitements par rapport aux parcelles témoins (en %), sur l'ensemble de la période de l'étude. Le producteur Roger Adou n'est pas représenté car les applications de l'année 2 n'ont pas été effectuées. Les valeurs en marron indiquent, pour chaque traitement, le % d'augmentation le plus fort parmi les différentes fermes.	212

**Table SI - 1:** Mean (min-max) total and available concentrations (mg kg<sup>-1</sup>) of trace elements in top-soil samples (0-20 cm) from the provinces of Esmeraldas, Guayas and Manabí (Ecuador). The

quality criteria (QC) and the maximal permissible value (MPV) of the Ecuadorian environmental legislation (TULSMA, 2015) have also been included. The values in orange correspond to the average concentrations above the QC while the red values indicate that the mean concentrations exceed the MPV.....	126
<b>Table SI - 2:</b> Mean ( $\pm$ SD) total concentrations ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) of trace elements in soil single samples (for 3 depths: 0-20, 20-40 and 40-60 cm) from the provinces of Esmeraldas, Guayas and Manabí (Ecuador) .....	127
<b>Table SI - 3:</b> Spearman correlation coefficients between the transfer factor of Cd (TF_Cd) from soil to cacao beans and from beans with the other soil elements. The calculation have been done with the whole dataset ("All data") and for each province separately. Only the significant correlations are shown. The coefficient with a * , ** or *** corresponds respectively to a p-value $0.01 < \text{p-value} < 0.05$ , $< 0.01$ or $<< 0.01$ .....	127
<b>Table SI - 4:</b> Spearman correlation coefficients between soil Cd available concentration and the other soil elements of the Ecuadorian provinces of Manabí, Esmeraldas, Guayas and the three provinces combined. X_tot corresponds to the total element and X_av to the available fraction. The degree of significance is represented with ***, **** or ***** corresponding respectively to $0.01 < \text{p-value} < 0.5$ , $\text{p-value} < 0.01$ or $\text{p-value} << 0.01$ .....	130
<b>Table SI - 5:</b> Spearman correlation coefficients between trace-metal elements and Cd in cacao beans samples from the Ecuadorian provinces of Esmeraldas, Guayas and Manabí. The * corresponds to $\text{p} < 0.01$ and ** to $\text{p} << 0.01$ . Only significant correlations are shown.....	131
Table SI - 6: Chemical parameters of the biochar and bokashi of each province. The reactive pools ( $X_{\text{reac.}}$ ) of elements were extracted according to Mehlich 3 protocol and presented in $\text{mg kg}^{-1}$ . The line “-“indicates that the corresponding analyses was not performed.....	181
Table SI - 7 : Recoveries (in %) of the soil, leaves and beans digestions. The line “ - “means that the corresponding element is not certified by the CRM.....	182
<b>Table SI - 8:</b> Average yield increases and expected profits/losses from treatment applications... ..	185

## Liste des annexes

<b>Annexe 1:</b> Fiche synthétique du protocole du projet recherche-action en Côte d'Ivoire, délivrée aux producteurs pilotes et aux coopératives CAMAYE et SCEB.....	234
<b>Annexe 2:</b> Coefficients de variation (en %) inter et intra-ferme des paramètres physico-chimiques des sols pour les coopératives CAMAYE et SCEB .....	237
Annexe 3: Concentrations en cadmium (en $\text{mg kg}^{-1} \pm \text{SD}$ ) aux mois 0, 12 et 30 dans les sols (fractions réactive et pseudo-totale), fèves de cacao, feuilles et litière, pour chaque traitement. Les valeurs correspondent aux moyennes des producteurs pour chaque provinces (n=5 à Manabí et Guayas, n=3 à Esmeraldas). L'étoile « * » indique que la valeur excède la norme européenne pour le chocolat > 50 % de cacao, fixée à $0.8 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ (CELEX, 2014) ou pour les sols agricoles à $0.5 \text{ mg kg}^{-1}$ (TULSMA, 2015). Le tiret “-“ indique que le mois correspondant n'a pas été échantillonné ou analysé.....	241

# Liste des sigles et abréviations

**AB** : Agriculture Biologique

**AFD** : Agence Française de Développement

**ALC** : Amérique Latine et les Caraïbes

**ANRT** : Agence Nationale de la Recherche et de la Technologie

**AO**: Amendements Organiques

**ATSDR**: Agency for Toxic Substances and Disease Registry

**AVSF** : Agronomes et Vétérinaires Sans Frontière

**BF** : Biofertilisants

**C** : Carbone

**CAMAYE** : Coopérative Agricole Mawoubé de Yéré Yéré

**CBI**: Center for the Promotion of Imports

**Cd** : Cadmium

**CEC** : Capacité d'Échange Cationique

**CESA** : Central Ecuatoriana de Servicios Agrícolas

**CIAT**: Centro de Investigacion de Agricultura Tropical

**CIRAD** : Centre de coopération Internationale de Recherche Agronomique pour le Développement

**CNRS** : Centre National de la Recherche Scientifique

**CV**: Coefficient de Variation

**DRI**: Daily Recommended Intake

**EFSA**: European Food Safety Authority

**ESPOL**: Escuela Superior Politécnica del Litoral

**ETM** : Élément Trace Métallique

**FONMSOEAM**: Unión de Organizaciones Negras y Mestizas del Sur Occidente de Esmeraldas – Atacames y Muisne

**GET** : Laboratoire Géosciences Environnement Toulouse

**Ha** : Hectare

**IARC**: International Agency for Research on Cancer

**ICP-MS:** Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry

**IO :** Intrants organiques

**IRD :** Institut de Recherche pour le Développement

**LIFOFER :** Litière Forestière Fermentée

**MAGAP :** Ministerio de Agricultura y Ganaderia

**MO :** Matière Organiques

**OMS :** Organisation Mondiale pour la Santé

**ONG :** Organisation Non Gouvernementale

**POXC :** Permanganate Oxidizable Carbon

**SAF :** Système Agro Forestier

**SCEB :** Société Coopérative Équitable du Bandama

**SCOP :** Société Coopérative

**SME :** Solution de Microorganismes Efficaces

**SPP:** Symbole des Petits Producteurs

**TDI:** Tolerably Daily Intake

**TF:** Transfer Factor

**TOC:** Total Organic Carbon

**UNOCACE:** Unión Nacional de Organizaciones Campesinas Cacaoteras

**UROCAL:** Unión Regional de Organizaciones Campesinas del Litoral

**USDA:** United States Department of Agriculture

**USFQ:** Universidad San Francisco de Quito

# 1. Introduction générale

---

La préservation de la biodiversité, le changement climatique, la durabilité, la résilience écologique, la sécurité alimentaire et la santé humaine sont au cœur de nos préoccupations actuelles et font l'objet de nombreux débats : politiques, économiques, sociaux et scientifiques. Le secteur agricole est intrinsèquement lié à ces sujets actuels et, selon les modèles adoptés, il peut être considéré comme un levier ou, au contraire, comme un frein aux réponses à apporter à ces grands défis de notre époque (Hainzelin et al., 2017). Les réflexions autour de l'impact environnemental et sanitaire de l'agriculture découlent d'un grand nombre de crises à la fois alimentaires, sanitaires et politiques. Celles-ci ont conduit à remettre en cause les modèles agricoles les plus répandus, tant à des niveaux régionaux qu'à l'échelle planétaire, et ont fait émerger des pistes ouvrant des perspectives de changement ou d'amélioration des pratiques existantes. Les modèles intensifs et standardisés, qui prévoient la maximisation de la productivité des exploitations agricoles en dépit de l'impact négatif qu'elle peut avoir sur les sols, les écosystèmes, la santé des consommateurs et les conditions de vie des producteurs, sont remis en cause par de multiples disciplines scientifiques, que ce soit l'écologie, l'économie, l'anthropologie ou encore la médecine. En effet, malgré une augmentation rapide de la production primaire au cours du XXème siècle, ces systèmes s'essoufflent et montrent une production qui stagne depuis quelques décennies (Galliano et al., 2017) et des agriculteurs qui peinent à obtenir des revenus décents. Il s'agit désormais d'adapter l'agriculture à son contexte économique, social et environnemental plutôt que d'adapter les sociétés à un modèle agricole uniforme. Dès lors, plusieurs mouvements ont été redécouverts tels que l'agroforesterie, l'agriculture biologique, l'agriculture paysanne, la biodynamie qui toutes visent à diversifier les modèles agricoles en les adaptant à la diversité des réalités rurales existant sur le globe. Par ailleurs, afin de soutenir l'effort des agriculteurs et de contribuer à l'essor de modèles agricoles durables, certaines entreprises ont opté pour la certification des produits issus de

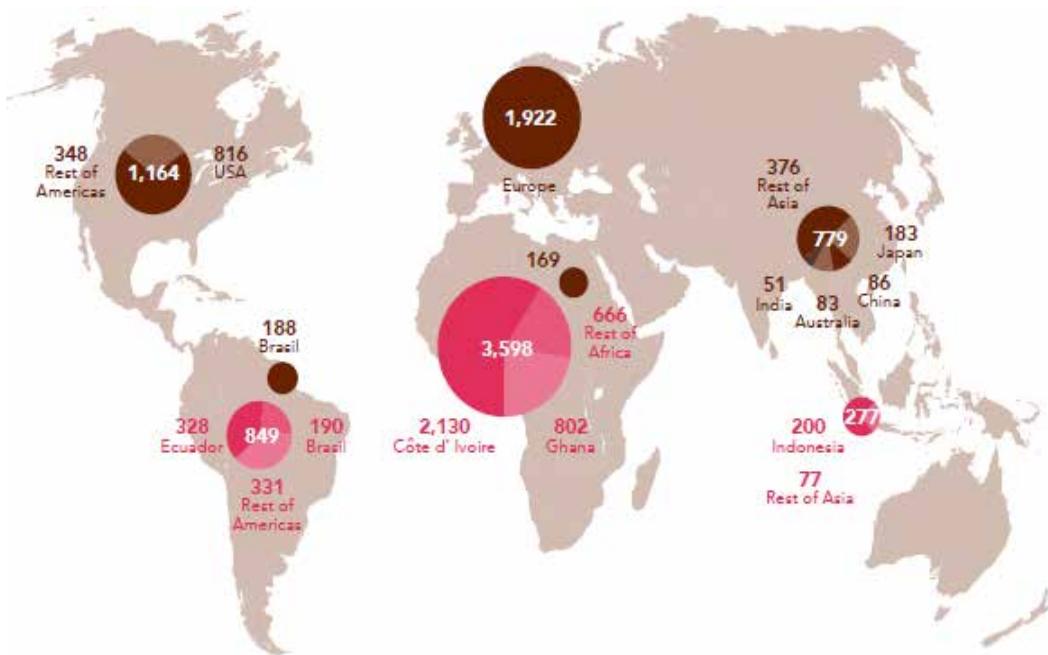
l'agriculture afin de garantir au consommateur un produit de qualité et au producteur un revenu qui valorise mieux son travail. Parmi eux, les labels SPP®, AB®, Fairtrade® par exemple, tentent de promouvoir une meilleure agriculture au sens écologique, économique et social.

Parmi les pratiques agricoles portées par les agricultures dites alternatives, l'utilisation d'intrants biologiques est l'un des leviers pour lutter contre la dégradation des agrosystèmes, garantir des produits sains pour les consommateurs et limiter les externalités négatives de la production agricole. En effet, Tamburini et al. (2020) ont montré dans leur révision de littérature que l'utilisation d'intrants organiques favorise la fertilité du sol, la capture de carbone (C) et la rétention hydrique par l'apport simultané de matière organique, de microorganismes et de nutriments. La diversification des cultures (rotations culturales ou association de cultures) est également une pratique de plus en plus répandue chez les agriculteurs pour les avantages agronomiques que certaines espèces peuvent apporter à la culture principale en place, en particulier la réduction du besoin en intrants, tout en maintenant de bons rendements. Certaines espèces comme les légumineuses sont capables de fixer l'azote dans le sol tandis que d'autres peuvent favoriser le contrôle des maladies et des ravageurs ou permettent de retenir l'eau dans le sol grâce aux racines et de créer un microclimat au sein de l'agrosystème.

La culture de cacao, *Theobroma cacao* L., n'échappe aucunement aux problématiques environnementales et sociales évoquées précédemment. On constate en effet que les modèles conventionnels de cacaoculture se voient affectés par des rendements stagneants, voire en diminution, et s'accompagnent de conditions de travail souvent indécentes (le travail des enfants dans les cacaoyères d'Afrique de l'Ouest a récemment été dénoncé, *International Labour Organization*, 2021). Ils présentent par ailleurs une vulnérabilité accrue au changement climatique (Cilas et Bastide, 2020) et à la baisse tendancielle des prix du marché (jusqu'à 2023). Ils font enfin l'objet de réglementations sanitaires toujours plus contraignantes visant à garantir la santé des consommateurs. Rappelons que le cacao est massivement transformé sous forme de chocolat dont la consommation mondiale est estimée à 0,9 kg de par personne. Mais dans

certains pays, notamment sur le continent européen, la consommation peut atteindre 11 kg par personne et par an comme en Allemagne par exemple (<https://www.cbi.eu/market-information/cacao>, 2021). La production de fèves a atteint en 2019 les 5,6 millions de tonnes, ce qui en fait l'une des principales cultures pérennes au monde (FAOSTAT). L'Afrique de l'Ouest représente 74 % de la production mondiale avec la Côte d'Ivoire en tant que premier producteur, l'Amérique latine occupant le deuxième rang avec une production annuelle de 220 000 tonnes. Cependant, le cacao provenant de ces différentes zones de production n'est pas commercialisé sur les mêmes marchés. Le cacao africain est destiné à la production de masse tandis qu'en Amérique latine le cacao est plutôt destiné à un marché de niche pour l'élaboration de chocolat fin de meilleure qualité organoleptique. Cette différence est principalement due au profil aromatique des fèves d'Amérique latine qui permettent de produire un chocolat à fort pourcentage de cacao. Les variétés produisant ce type de cacao sont regroupées sous le nom de « *cacao fino de aroma* » qui signifie « cacao d'arôme fin » (Arvelo et al. 2016). L'Équateur est le premier producteur mondial de ce type de cacao avec 591 557 ha cultivés et une production de 337 149 tonnes en 2022 (<https://www.ecuadorencifras.gob.ec>, 2022) dont 87 % sont destinés à l'export vers l'Europe et les Etats-Unis (Barraza et al., 2017). Toutefois, malgré les différences quantitatives et qualitatives entre l'Afrique et l'Amérique latine, les systèmes de production présentent des caractéristiques similaires dans la mesure où ils rassemblent près de 5 millions de petits producteurs à faibles moyens et ressources économiques (<https://www.iisd.org/publications/report/global-market-report-cacao>, 2019). Ceux-ci sont donc vulnérables aux variations des prix, aux régulations sanitaires sur les produits alimentaires ainsi qu'aux facteurs climatiques ayant un impact direct sur la production (inondations, sécheresses). Afin de satisfaire la demande croissante (Beg et al., 2017) en chocolat et donc en cacao tout en s'assurant des revenus décents, les petits producteurs doivent aujourd'hui relever le défi que leur imposent certaines contraintes pesant sur la production et le marché du cacao. Parmi elles, la faible productivité des cacaoyères en Afrique et, en Amérique latine, la dernière règlementation européenne visant les concentrations de cadmium (Cd)

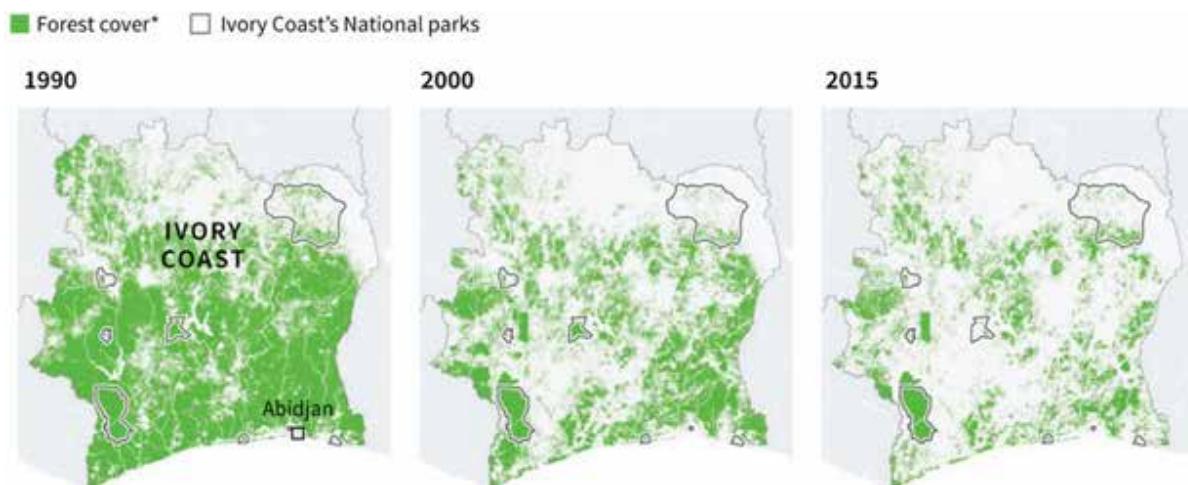
dans les produits alimentaires, dont le chocolat, et qui affecte aujourd’hui l’exportation des fèves.



**Figure 1:** Production (rouge) et consommation (marron) de cacao en 2019 et 2018, respectivement en millions de tonnes. Source : Fountain et Huetz-Adams (2020).

En Afrique de l’Ouest, la production de cacao a plus que doublé au cours des trente dernières années en passant de 1,37 à 3,47 millions de tonnes d’après Fountain et Huetz-Adams (<https://voicenetwork.cc/wp-content/uploads/2021/03/2020-Cacao-Barometer-EN.pdf>, 2020). Ces mêmes auteurs ont estimé que près de 80 % de l’approvisionnement mondial en cacao de masse dépend de cette région, ce qui lui donne tout son poids dans le marché mondial. Cependant, ce progrès productif se solde par de multiples dégâts d’ordre social, économique et environnemental. En Côte d’Ivoire, premier producteur mondial (40 % de la production mondiale), le modèle productif est caractérisé par des systèmes de monoculture en plein soleil où les cacaoyers puisent dans les ressources hydriques et nutritives du sol (Tondoh et al., 2015) lesquelles ne sont pas totalement réapprovisionnées en raison des fertilisants souvent trop onéreux pour les producteurs (Vaast et Somarriba, 2014). De la

même façon, la lutte contre les maladies et les ravageurs comme les mirides est peu pratiquée du fait des prix élevés des insecticides et de la nocivité de ces produits sur l'environnement et la santé des producteurs et des consommateurs (Wessel et Wessel, 2015). Selon Cilas (2020), le Ghana était en 1911 le premier producteur mondial de cacao jusqu'à l'arrivée du virus *Swollen Shoot* qui a considérablement affecté la production nationale, cédant la première place à la Côte d'Ivoire. L'épuisement des sols et l'incidence des maladies et des ravageurs mènent donc à une diminution progressive de la productivité des cacaoyères avec des pertes pouvant aller jusqu'à 40 % de la production pour certaines maladies (Wessel et Wessel, 2015 ; Vaast et Somarriba, 2014). Pour faire face à cette diminution de la productivité, les producteurs se sont orientés vers une stratégie d'augmentation des surfaces cultivées au détriment des écosystèmes naturels tels que les forêts primaires (Figure 2). Selon Gockowski et Sonwa (2011), l'accroissement des surfaces cultivées en cacao a mené à la déforestation d'environ 2,3 millions d'ha de forêts humides entre 1991 et 2011. Il est donc primordial de déployer des solutions agronomiques durables pour permettre aux producteurs d'augmenter la productivité de leurs cacaoyères ainsi que leur résilience face au changement climatique qui modifie la pluviométrie et les températures.



\*Any surface sized 1 hectare or more with a tree canopy density of at least 30 percent.  
Source: MapHubs Forest.

**Figure 2:** Évolution de la surface forestière en Côte d'Ivoire entre 1990 et 2015. Source : Cabrera (2018) adapté de Mightyearth (2018)

Concernant l'Amérique du Sud, au-delà de rendements plutôt faibles également, les enjeux sanitaires sont prioritaires à l'heure actuelle. En 2014, certains aliments ont fait l'objet d'une réglementation établie par la Commission Européenne (n°488/2014) portant sur leur concentration en cadmium (Cd) mais qui a pris effet postérieurement en 2019. Parmi ces aliments figure le chocolat qui fait partie de la quasi-totalité des régimes alimentaires à travers le monde. Le Cd est un élément métallique toxique et classé cancérogène du groupe I par l'IARC car il peut provoquer à long terme des problèmes rénaux et osseux à la suite de son ingestion chronique et/ou massive. Par ailleurs, des analyses de bioaccessibilité gastrique (Barraza et al., 2017) ont montré que le système digestif humain est capable d'absorber plus de 90 % du Cd contenu dans le chocolat, ce qui expose le consommateur à des risques sanitaires d'autant plus élevés que le chocolat est souvent consommé dès le plus jeune âge. Cependant, malgré le délai entre la création de cette régulation européenne en 2014 et sa mise en vigueur cinq ans après, le manque de dynamique dans la recherche et la mise en place d'actions et de politiques publiques visant à la diminution des concentrations de Cd dans les fèves de cacao, place aujourd'hui les petits producteurs d'Amérique latine dans une situation critique qui met en péril la commercialisation de leur production. Cette situation concerne particulièrement l'Amérique centrale et du Sud dans la mesure où les plus fortes concentrations de Cd dans les fèves ont été identifiées dans des échantillons de cette provenance (Bertoldi et al., 2016 ; Abt et al., 2018). Il est donc urgent d'approfondir les connaissances au sujet de la dynamique du Cd dans le système sol-plante lors de la production de cacao en Amérique latine et, dans le cas de la présente étude, plus particulièrement en Équateur. Il est primordial aussi de multiplier les essais agronomiques de remédiation du Cd dans les sols et de diminution de son transfert vers les organes du cacao afin de proposer aux producteurs des solutions non seulement efficaces mais aussi durables sur le plan économique, social et environnemental.

Pour faire face aux enjeux sanitaires et commerciaux de l'innocuité des fèves de cacao latino-américaines et remédier à la faible productivité des cacaoyères africaines, diverses solutions peuvent être envisagées comme l'amélioration génétique des arbres, la

phytoremédiation, ou encore certaines techniques en post-récolte tel que le mélange de fèves de plusieurs terroirs pour lisser les concentrations en métaux lourds et commercialiser les fèves dans le respect de la réglementation Européenne. Cependant, depuis plusieurs années, l'essor de l'agriculture biologique a fait émerger de nouvelles pistes de recherche agronomiques portant sur la fertilisation et l'amendement des sols et des feuilles au moyen de biofertilisants ou d'amendements organiques, lesquels auraient de multiples effets positifs sur les cultures : protection des plantes face aux bioagresseurs, amélioration de la fertilité des sols ou encore la capture des éléments-traces métalliques dans les sols. Ramtahal et al. (2019) ont testé le biochar, qui est du charbon obtenu par la combustion de matières organiques issues de plantes ou de déjections animales dans des conditions anoxiques, ainsi que des agents alcalins dans le but de réduire l'absorption de Cd. Les résultats en conditions de terrain montrent que le biochar et la chaux ont permis de réduire la concentration de Cd dans les feuilles de cacao, donc son absorption par la plante, de 31 et 37% respectivement bien que ces résultats dépendent de la dose appliquée et que l'efficacité des intrants puisse diminuer dans le temps. De la même façon, Lopez et al. (2022) ont pu réduire la biodisponibilité du Cd dans le sol en conditions contrôlées, et dans les feuilles de plantules de cacao grâce à l'utilisation de biochar. Par ailleurs, Junior et al. (2022) ont testé les effets antagoniques de certaines souches de levures face au champignon *Moniliophthora roreri* (communément appelé *Monilia* en Équateur ou *Frosty Pod* en anglais). Ils ont pu ainsi isoler plusieurs souches prometteuses qui ont permis de réduire la propagation du champignon. Toutefois, si la lutte biologique est l'une des solutions pouvant être envisagée pour l'amélioration de la santé des cacaoyères, rares sont les études qui proposent des solutions testées sur plusieurs années et réalisées en conditions de terrain.

Parmi les solutions pouvant être mises en œuvre afin de renforcer la résilience des cacaoyères, l'agroforesterie s'avère également prometteuse (Wessel & Wessel, 2015). L'agroforesterie est un système de production où l'on associe diverses espèces végétales d'intérêt à une culture principale pour créer un écosystème proche des forêts naturelles. Le but est de produire des synergies entre les espèces permettant d'utiliser moins d'engrais ou de biocides, de conserver l'humidité et de préserver la qualité du sol. Au-delà de l'intérêt

proprement écologique de l’agroforesterie, une étude récente menée en Bolivie (Armengot et al., 2016) montre que le bénéfice économique d’un système en agroforesterie et agriculture biologique peut être identique voire supérieur à un système en plein-soleil de monoculture cacaoyère en gestion conventionnelle incluant l’application d’engrais synthétiques. Ce bénéfice est dû au moindre coût de la production en agroforesterie, à la prime d’agriculture biologique versée lors de la commercialisation des fèves de cacao et à la vente des produits vivriers issus des espèces associées aux cacaoyers comme la banane par exemple. Enfin, une étude menée au Ghana (Andres et al., 2018) montre que, par rapport à des cultures en plein soleil, les cacaoyères incluant des arbres d’ombrage présentent en moyenne 56 % de moins d’incidence du virus *Swollen Shoot* qui affecte fortement cette culture sur le continent africain.

C'est dans ce contexte que l'IRD (Institut de Recherche pour le Développement) et la SCOP ETHIQUABLE® ont réuni leurs efforts pour lancer un double projet de recherche-action-formation pour faire face aux problématiques africaines (faibles rendements et incidence des maladies) et latinoaméricaines (présence de Cd dans les fèves de cacao et santé des cacaoyères). Ce double projet est l'objet du présent travail de doctorat. L'approche vise à tester cinq combinaisons de biofertilisants et amendements organiques à différentes doses fabriqués localement par les producteurs et d'étudier leurs effets sur la productivité des arbres, l'incidence des maladies ainsi que l'absorption de Cd par les arbres dans le cas de l'Équateur. Les expérimentations ont été menées en plein champ chez des producteurs de cacao appartenant à des coopératives agricoles partenaires commerciales de la SCOP ETHIQUABLE®.

# Introducción general

La preservación de la biodiversidad, el cambio climático, la sostenibilidad, la resiliencia ecológica, la seguridad alimenticia y la salud humana se posicionan en el centro de nuestras preocupaciones actuales y generan numerosos debates: políticos, económicos, sociales y científicos. El sector agrícola está intrínsecamente relacionado con esos temas y, dependiendo de los modelos adoptados, puede ser considerado como un apalancamiento o, al contrario, como un freno a las respuestas que quedan por aportar a estos grandes desafíos de nuestra época (Hainzelin et al., 2017). Las reflexiones acerca del impacto ambiental y sanitario de la agricultura decaen de múltiples crisis a la vez alimenticias, sanitarias y políticas. Estas condujeron a cuestionar los modelos agrícolas más difundidos tanto a nivel regional que a la escala mundial y dieron lugar a nuevas perspectivas de cambios o de mejoramiento de las prácticas preexistentes. Los modelos intensivos y estandarizados que prevén la maximización de la productividad de las granjas a costa del impacto negativo que pueden tener sobre los suelos, los ecosistemas, la salud de los productores y las condiciones de vida de los productores, son cuestionados por diversas disciplinas científicas tanto por la ecología como la economía, la antropología o la medicina. En efecto, a pesar de un rápido aumento de la producción primaria durante el siglo XX, estos sistemas pierden en eficiencia y presentan una producción estancada desde hace décadas (Galliano et al., 2017) y agricultores con dificultades para obtener ingresos decentes. Se trata entonces de adaptar la agricultura a un contexto económico, social y medioambiental en vez de amoldar la sociedad a un modelo agrícola uniforme. En este sentido, varios movimientos se volvieron a descubrir como la agroforestería, la agricultura orgánica, campesina, biodinámica que todos buscan diversificar los modelos agrícolas adaptándolos a la multiplicidad de los contextos rurales que existen en el mundo. Además, con el fin de apoyar el esfuerzo de los agricultores y contribuir a la prosperidad de los modelos agrícolas sostenibles, ciertas empresas optaron por la certificación de los productos provenientes de la agricultura para garantizarle al consumidor un producto de calidad y al productor, un ingreso que recompensa su trabajo. Entre ellos, los sellos SPP®, AB® o Fairtrade® por

ejemplo, tratan de promover una mejor agricultura en el sentido ecológico, económico y social.

Dentro de las prácticas promovidas por las agriculturas alternativas, el uso de insumos biológicos es una de las soluciones para luchar contra la degradación de los ecosistemas, garantizar productos sanos para los consumidores y limitar las externalidades negativas de la producción agrícola. En este sentido, Tamburini et al. (2020) indican en su revisión de literatura que el uso de insumos orgánicos mejora la fertilidad de los suelos, la captura de carbono (C) y la retención hídrica gracias al aporte simultáneo de materia orgánica, microorganismos y nutrientes. La diversificación de los cultivos (rotaciones o asociaciones de cultivos) es también una práctica cada vez más empleada por los agricultores por las ventajas agronómicas que ciertas especies pueden proporcionar al cultivo principal, y en especial la reducción del uso de insumos agrícolas manteniendo una buena productividad. Ciertas especies como las leguminosas tienen la capacidad de fijar el nitrógeno (N) en el suelo; otras pueden favorecer el control de plagas y enfermedades o incluso conservar la humedad del suelo gracias a sus raíces y crear un microclima dentro del ecosistema.

El cultivo de cacao, *Theobroma cacao* L., no es ajeno a las problemáticas medioambientales y sociales mencionadas anteriormente. Cabe destacar que los modelos convencionales de cacao se ven afectados por rendimientos estancados, o en disminución, junto con condiciones de trabajo frecuentemente indecentes (el trabajo de los niños en cacaotales de África del Oeste recientemente denunciado, *International Labour Organization*, 2021). Además, presentan una alta vulnerabilidad al cambio climático (Cilas y Bastide, 2020), a la volatilidad de los precios del mercado y también son objeto de reglamentaciones cada vez más restrictivas con el fin de garantizar la salud de los consumidores. Debemos recordar que el cacao se consume de forma masiva a través del chocolate cuyo consumo mundial se estima a 0.9 kg por persona. Sin embargo, en ciertos países y en especial europeos, este consumo puede elevarse a 11 kg por persona y por año como lo es en Alemania (<https://www.cbi.eu/market-information/cacao>, 2021). La producción de grano alcanzó 5.6 millones de toneladas en 2019, lo que hace que este cultivo sea uno

de los principales cultivos perennes en el mundo (FAOSTAT). África del Oeste representa 74 % de la producción mundial, Costa de Marfil siendo el líder y América Latina es el segundo productor a nivel global con una producción anual de 220 000 toneladas de cacao seco. No obstante, el cacao proveniente de ambas zonas de producción no se comercializa en los mismos mercados. El cacao africano es destinado a la producción de masa mientras que el cacao latinoamericano está reservado a un mercado de nicho para la elaboración de cacao fino, de mejor calidad organoléptica. Esta diferencia se debe principalmente al perfil aromático de los granos de Latinoamérica que permiten producir un chocolate con alto porcentaje de cacao. Las variedades a raíz de este cacao se agrupan bajo el nombre de cacao “fino de aroma” o “cacao ARRIBA” (Arvelo et al., 2016). Ecuador es el primer productor mundial de este cacao con 591 557 ha cultivados y una producción de 337 149 toneladas en 2022 (<https://www.ecuadorencifras.gob.ec>, 2022) de las cuales el 87 % se exportan hacia Europa y Estados Unidos (Barraza et al., 2017). A pesar de las diferencias cuantitativas y cualitativas entre África y América Latina, los sistemas productivos presentan características similares puesto que agrupan a 5 millones de productores de bajos y medianos recursos económicos (<https://www.iisd.org/publications/report/global-market-report-cacao>, 2019). Estos son vulnerables a las variaciones de precios, regulaciones sanitarias sobre los productos alimenticios, y a los factores climáticos que impactan directamente la etapa de producción (sequías, inundaciones, ...). Con el objetivo de satisfacer la demanda creciente de chocolate (Beg et al., 2017) manteniendo ingresos decentes, los pequeños productores tienen que enfrentar los desafíos impuestos por varias limitaciones que hoy pesan sobre la producción y el mercado del cacao. Entre estas limitaciones se encuentra la baja productividad de los cacaotales en África y, en Latinoamérica, la última reglamentación europea acerca de las concentraciones de cadmio (Cd) en varios alimentos, entre los cuales figura el chocolate y que afecta la comercialización y exportación de los granos de cacao.

En África del Oeste, los treinta últimos años fueron marcados por un aumento de más del doble de la producción de cacao, incrementando de 1.4 a 3.5 millones de toneladas de acuerdo con Fountain y Huetz-Adams (<https://voicenetwork.cc/wp-content/uploads/2021/03/2020-Cacao-Barometer-EN.pdf>, 2020). Estos autores también

estiman que cerca del 80 % del abastecimiento mundial de cacao depende de esta región del globo, lo que le otorga todo su peso en el mercado mundial. Sin embargo, este progreso productivo tuvo como consecuencia múltiples daños sociales, económicos y medioambientales. En Costa de Marfil, primer productor mundial (40 % de la producción global), el modelo productivo se caracteriza por monocultivos en pleno sol donde los árboles de cacao extraen los recursos hídricos y nutritivos del suelo (Tondoh et al., 2015) sin ser totalmente reabastecidos dado que los fertilizantes tienden a ser muy costosos para los productores (Vaast y Somarriba, 2015). De igual manera, el control de plagas y enfermedades como *Sahlbergella singaluris*, es poco adoptado en consecuencia de los precios elevados de los insecticidas y de la nocividad de tales productos para el medioambiente y la salud de los productores y consumidores (Wessel y Wessel, 2015). Según Cilas (2020), Ghana era el primer productor mundial de cacao en 1911 hasta la llegada del virus *Swollen Shoot* que redujo considerablemente la producción nacional dejando el primer lugar a Costa de Marfil. De este modo, el agotamiento de los suelos y la incidencia de plagas y enfermedades entrenó una disminución progresiva de los rendimientos con pérdidas que pueden alcanzar un 40 % dependiendo de la enfermedad (Vaast y Somarriba, 2014; Wessel et Wessel, 2015). Para compensar esta pérdida, los productores se orientaron hacia una estrategia de aumento de la superficie cultivada a costa de los ecosistemas naturales como lo son los bosques primarios (Figura 2). De acuerdo con Gockowski y Sonwa (2011), el incremento de la superficie cultivada con cacao llevó a la deforestación de casi 2.3 millones de hectáreas de selvas húmedas entre 1991 y 2011. En este sentido, es fundamental difundir soluciones agronómicas sostenibles para que los productores puedan aumentar la productividad de sus cacaotales, así como su resiliencia frente al cambio climático y sus efectos sobre las precipitaciones y las temperaturas.

Con respecto a América del Sur y más allá de los bajos rendimientos, las cuestiones sanitarias son prioritarias en la actualidad. En 2014, varios alimentos fueron objeto de una reglamentación proveniente de la Comisión Europea (n°488/2014) acerca de sus concentraciones en Cd pero fue implementada posteriormente en enero del 2019. Entre estos alimentos, se encuentra el chocolate que forma parte de la casi totalidad de los

regímenes alimenticios a través del mundo. El Cd es un elemento metálico y tóxico perteneciente al grupo I de cancerígenos (IARC) ya que puede provocar problemas renales y óseos tras su ingestión crónica y/o masiva a lo largo de la vida. Por otra parte, análisis de bioaccesibilidad gástrica (Barraza et al., 2017) mostraron que el sistema digestivo humano puede absorber más del 90 % del Cd contenido en el chocolate, lo que expone el consumidor a riesgos sanitarios tanto más elevados que el chocolate es frecuentemente consumido desde tempranas edades. No obstante, a pesar del lapso entre la creación de la regulación europea en 2014 y su implementación cinco años después, la falta de dinamismo de la investigación, de ejecución de acciones y de políticas públicas para disminuir las concentraciones de Cd en los granos de cacao posiciona actualmente los pequeños productores en una situación crítica que fragiliza la comercialización de su producción de cacao. Esta situación incumbe especialmente América central y del Sur puesto que las más elevadas concentraciones de Cd en los granos han sido identificadas en muestras de aquellas proveniencias (Bertoldi et al., 2016; Abt et al., 2018). Por lo tanto, es urgente profundizar los conocimientos sobre la dinámica del Cd en el sistema suelo-planta durante la etapa de producción de cacao en América latina, y en el caso del presente estudio, en Ecuador. También es indispensable multiplicar los ensayos agronómicos para la remediación de Cd en los suelos y la disminución de su translocación hacia los órganos del cacao con el objetivo de proponer a los productores soluciones no solamente eficientes, sino que también sostenibles desde el punto económico, social y ambiental.

Para afrontar esta problemática de la inocuidad de los granos de cacao latinoamericanos y la baja productividad de los cacaotales africanos, distintas soluciones pueden ser contempladas como el mejoramiento genético de los árboles, la fitorremediación, así como varias técnicas post-cosecha como la mezcla de granos de distintos orígenes para promediar las concentraciones en metales pesados como el Cd y poder comercializarlas respetando las normativas europeas. Sin embargo, desde hace varios años, el auge de la agricultura orgánica hizo surgir nuevas pistas de investigación en agronomía enfocadas en la fertilización y la enmienda de los suelos y hojas con el uso de biofertilizantes o enmiendas orgánicas que tendrían múltiples efectos positivos sobre los

cultivos: protección de las plantas contra las plagas y enfermedades, mejora de la fertilidad de los suelos e incluso la inmovilización de metales pesados en suelos. Por ejemplo, Ramtahal et al. (2019) investigaron el biochar que es un carbón vegetal obtenido tras la combustión de materias orgánicas procedentes de plantas o excrementos animales en condiciones anóxicas, así como agentes alcalinos con el fin de reducir la absorción del Cd por los árboles de cacao. Los resultados en condiciones de campo demostraron que el biochar y la cal permitieron reducir la concentración de Cd en las hojas de cacao, es decir su absorción por la planta, de 31 y 37 %, respectivamente, aunque estos resultados dependen de la dosis que se aplique y que la eficiencia de los insumos puede disminuir a lo largo del tiempo. De igual manera, López et al. (2022) pudieron reducir la biodisponibilidad del Cd en suelos en condiciones controladas y en hojas de plántulas de cacao gracias al uso de biochar. Además, Junior et al. (2022) probaron los efectos antagónicos de ciertas cepas de levaduras al hongo *Moniliophthora roreri* (comúnmente llamado “Monilia” en Latinoamérica o “Frosty Pod” en inglés). De esta manera lograron identificar varias cepas prometedoras que lograron disminuir la propagación de aquel hongo. No obstante, aunque el control biológico es una de las soluciones que pueden ser contempladas para mejorar la salud de los cacaotales, pocos son los estudios que prueban tales soluciones durante varios años y en condiciones reales de campo.

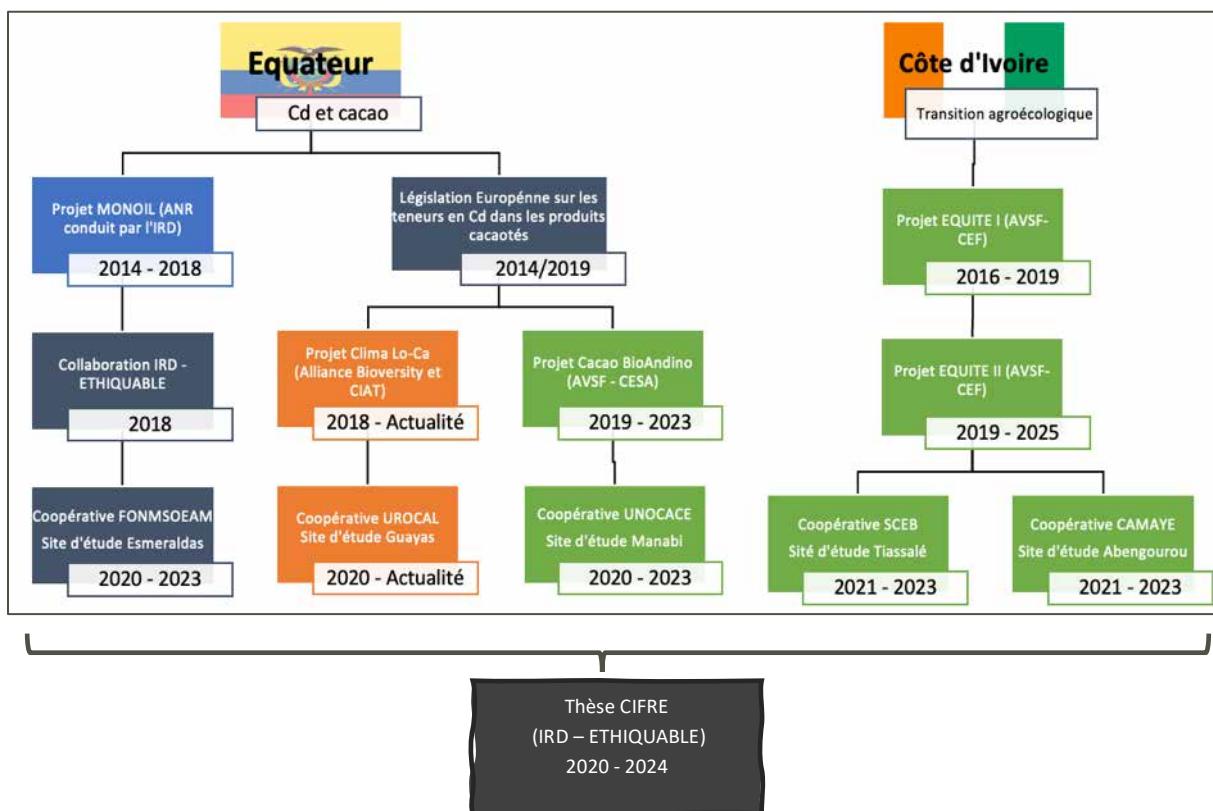
Entre las soluciones que pueden ser implementadas para reforzar la resiliencia de los cacaotales, la agroforestería también es prometedora (Wessel y Wessel, 2015). Se trata de un sistema de producción donde se asocian distintas especies vegetales interesantes con el cultivo principal para crear un ecosistema cercano al de los bosques naturales. El objetivo es de producir sinergias entre las especies permitiendo usar menos fertilizantes o biocidas, conservar la humedad y preservar la calidad de los suelos. Mas allá del interés ecológico de la agroforestería, un estudio conducido en Bolivia (Armengot et al., 2016) demuestra que el beneficio económico de un sistema agroforestal o uno orgánico puede ser igual o hasta superior al de un monocultivo en pleno sol convencional que incluye la aplicación de fertilizantes sintéticos. Este resultado recae en el costo inferior del sistema agroforestal, a la bonificación orgánica pagada durante la venta de los granos y a la venta de los productos

secundarios provenientes de las especies asociadas al cacao tales como el banano, por ejemplo. Finalmente, un estudio conducido en Ghana (Andrés et al., 2018) nos enseña que, comparado con un monocultivo de pleno sol, los cacaotales que incluyen árboles de sombra presentan en promedio 56 % menos de incidencia del virus *Swollen Shoot* que afecta fuertemente el cacao sobre el continente africano.

Dentro de este marco de estudio, el IRD (Instituto de Investigación para el Desarrollo) y la empresa cooperativa ETHIQUABLE® reunieron sus esfuerzos para implementar un doble proyecto de investigación-acción-formación y aportar soluciones a las problemáticas africanas (baja productividad y plagas y enfermedades) y latinoamericanas (presencia de Cd en los granos de cacao y salud de los cacaotales). Este doble proyecto es el propósito del presente trabajo de doctorado. El enfoque tiene como objetivo probar cinco combinaciones de biofertilizantes y enmiendas orgánicas bajo distintas dosis y fabricados localmente por los productores, para estudiar sus efectos sobre la productividad de los árboles, la incidencia de plagas y enfermedades, así como la absorción de Cd por los cacaos en el caso específico del Ecuador. Los experimentos se condujeron en campo dentro de las fincas de los productores de cacao pertenecientes a distintas cooperativas agrícolas también socias comerciales de la empresa ETHIQUABLE®.

## 2. Historique de l'étude

Cette section a pour objectif de permettre au lecteur de mieux comprendre l'origine de ce travail de doctorat financé par une bourse CIFRE, la SCOP ETHIQUABLE® et l'AFD dans le cadre de deux projets coordonnés par l'ONG AVSF en Équateur et en Côte d'Ivoire et réalisés par la SCOP ETHIQUABLE® et l'IRD au laboratoire GET (Toulouse). Mon travail de thèse s'insère donc dans deux programmes de recherche participative. La pluralité des sites d'études et des acteurs impliqués peut rendre plus difficile la lecture de ce travail, d'où la nécessité de dresser d'abord son historique (Figure 3).



**Figure 3:** Diagramme de l'historique de l'étude. Bleu : financement de l'Agence Nationale de la Recherche – Orange : financement de l'Union Européenne – Vert : financement de l'Agence Française de Développement – Gris : financement ETHIQUABLE® (certaines dépenses, notamment en Équateur, ont également été couvertes par ETHIQUABLE® comme les formations, l'achat des ingrédients pour les intrants organiques et le paiement des techniciens et des journaliers).

Initialement, l'IRD conduisait avec le CNRS un projet (ANR MONOIL, Monitoring environnemental Santé Société et Pétrole en Équateur) visant à évaluer l'impact des industries pétrolières situées en Amazonie équatorienne sur la santé humaine, les dynamiques sociales et la qualité des écosystèmes environnants, notamment celui des petites fermes de cacao proches de ces sites pétrolifères. Au cours de ce projet, plusieurs échantillons de fèves de cacao et de sols associés ont révélé des concentrations élevées en Cd, ce qui a attiré l'attention des chercheurs mais également d'autres acteurs de la filière agronomique de production de cacao, comme la SCOP ETHIQUABLE® dont la principale activité commerciale repose sur la vente de chocolat. Au moment où le projet était mené, la problématique du Cd dans les fèves de cacao en Amérique latine et les Caraïbes était déjà connue, mais la dernière réglementation européenne entrée en vigueur en 2019 qui a inclus les aliments chocolatés dans la liste des produits régulés en termes de teneurs maximales en Cd, a dynamisé le secteur de la recherche en ce sens. En effet, Vandeschueren et al. (2021) indiquent dans leur révision bibliographique qu'il existait 29 articles scientifiques en 2014 portant sur la problématique du Cd dans le cacao et qu'en 2020, ce chiffre a crû exponentiellement à plus de 100 et continue toujours d'augmenter actuellement. Dans ce contexte, une coopération entre les chercheurs du laboratoire GET-IRD et ETHIQUABLE® a été mise en place afin de mutualiser les connaissances et travailler sur cette problématique. Il est important de souligner l'engagement de l'entreprise ETHIQUABLE® en faveur des petits producteurs en agriculture biologique qui se traduit, entre autres, par un appui financier (rémunération commerce équitable bien supérieure au prix du marché) et un accompagnement fort des organisations de producteurs autant sur le plan administratif ou logistique que sur le plan productif sur le terrain. Afin de garantir l'achat des fèves de cacao aux petits producteurs, la problématique du Cd a fortement intéressé cette SCOP qui a souhaité collaborer avec une équipe de recherche pour tenter d'y apporter des solutions. Cet intérêt a également été partagé par l'association AVSF implantée en Équateur ainsi que leur partenaire local CESA déjà porteur d'un projet de développement *Cacao BioAndino* visant, parmi d'autres objectifs, à soutenir les petits producteurs en agriculture biologique des pays andins et renforcer ce secteur encore fragile. Ce projet a permis de mettre en place

nos expérimentations dans la province de Manabí. En parallèle, le projet « Clima Lo-Ca » porté par l'alliance Bioversity-CIAT et financé par la Commission Européenne a émergé en 2018 avec pour objectif principal de développer et soutenir les innovations agronomiques dans le secteur du cacao pour réduire les concentrations en Cd tout en améliorant la résilience des petits producteurs face au changement climatique et aux aléas économiques. Ce projet, implanté en Colombie, Pérou et Équateur, a pour stratégie principale de mener des études sur le terrain en conditions paysannes visant à tester plusieurs solutions agronomiques pertinentes permettant de répondre à l'objectif principal. C'est dans ce contexte que nous avons mis en place nos expérimentations au sein de l'association *Costa Azul* (Guayas, Équateur), membre de la coopérative agricole UROCAL (siège social situé dans la province de *El Oro*) partenaire commercial historique d'ETHIQUABLE®. Finalement, afin de tester les bio-intrants dans un troisième site pour avoir des contextes pédoclimatiques contrastés, la SCOP ETHIQUABLE® a également intégré la province d'Esmeraldas où la coopérative FONMSOEAM est apparue comme un bon candidat pour mener un travail de recherche-action. C'est ainsi que nous avons pu mettre en place le protocole de recherche en Équateur, dans trois sites différents et sous la coordination de plusieurs grands projets.

En parallèle, ETHIQUABLE® réalisait des études sur la filière de production du cacao en Côte d'Ivoire, notamment dans le cadre de la deuxième phase du programme « Equité » (2019-2025) financé par l'AFD et le FFEM. L'objectif de cette nouvelle phase du projet « Equité » était de contribuer au développement économique durable de cinq pays à bas revenus par le soutien apporté aux filières équitables. Parmi les projets portés par ce programme, la coopérative SCEB souhaitait consolider les pratiques agroécologiques en son sein tout en renforçant les capacités des biofabriques. Les biofabriques sont de petites ou grandes unités de fabrication et de stockage d'intrants biologiques tels que les « biols », le bokashi et autres intrants (détaillés dans les chapitres 3 et 4, respectivement, « État de l'art » et « Matériels et méthodes »). La coopérative CAMAYE, quant à elle, a porté un projet principalement orienté vers le développement de systèmes agroforestiers innovants, mais aussi sur l'expérimentation d'utilisation d'intrants biologiques. Dans ce contexte, la SCOP ETHIQUABLE® en coopération avec INADES Formation Côte d'Ivoire et l'IRD, a inclus

mon travail de doctorat (financement CIFRE via l'ANRT) au sein du programme Equité afin de tester, comme en Équateur, l'effet des intrants biologiques sur la santé des cacaoyères en conditions réelles de terrain.

Qu'il s'agisse de l'Équateur ou de la Côte d'Ivoire, en dehors de l'aspect scientifique des recherches menées, nous souhaitions favoriser l'autonomie des producteurs vis-à-vis de la fertilisation biologique de leurs champs tout en préservant leur santé, celle du consommateur et des écosystèmes environnants. A cela s'ajoute la volonté de trouver des solutions rémunératrices à travers l'utilisation d'intrants locaux et des recettes faciles à mettre en œuvre que les producteurs et/ou coopératives pourraient s'approprier aisément pour augmenter leur production et en réduire le coût.

En amont de la mise en place des expériences dans les différents sites d'étude, l'expert Rémi Thinard de Symbiotik Agroécologie® et consultant pour la SCOP ETHIQUABLE® a délivré plusieurs formations auprès des coopératives et des agriculteurs choisis pour conduire les expérimentations. Le but était de construire des biofabriques dans chaque site, d'expliquer aux producteurs les recettes et l'intérêt agroécologique de chaque produit ainsi que de les accompagner dans leur fabrication. A Tiassalé et Abengourou en Côte d'Ivoire et à Manabí et Esmeraldas en Équateur, les biofabriques ont été établies au sein du siège des coopératives correspondantes tandis qu'à Guayas, étant donné l'éloignement des fermes par rapport au siège de la coopérative UROCAL, la biofabrique a été installée dans la propriété d'une des familles de producteurs faisant partie de l'étude.

C'est donc dans ce contexte général pluri acteurs et multi sites que cette étude a été menée afin de développer des pratiques agroécologiques répondant aux besoins spécifiques des producteurs en fonction de leur contexte géographique, social et économique.

### 3. État de l'art : intérêt des intrants organiques et biologiques en culture de cacao

---

#### 3.2. Les systèmes de production de cacao en Côte d'Ivoire et en Équateur

##### 3.1.1. Typologie des exploitations cacaoyères

Près de 70 % du cacao est produit en Afrique occidentale, au sein des pays constituant la « ceinture de cacao », soit d'Est en Ouest, du Cameroun à la Sierra Leone, les conditions pédoclimatiques y étant particulièrement favorables (Schroth et al., 2016). De l'autre côté de l'Atlantique, sur le continent américain, le cacao est produit du Sud du Mexique jusqu'au Sud du Brésil (<https://www.fontagro.org>, 2019). Bien que répartis géographiquement entre 0 et  $\pm 10^{\circ}$  de latitude, les systèmes productifs partagent certaines caractéristiques mais diffèrent également en plusieurs aspects.

### 3.1.2. Caractéristiques partagées entre producteurs ivoiriens et équatoriens

Que l'on s'intéresse au continent africain ou latinoaméricain, la grande majorité des cacaoculteurs peuvent être qualifiés de « **petits producteurs** » (Salazar et al., 2023). Ce terme repose sur plusieurs critères comme la surface des exploitations, la capacité financière des producteurs, ou encore la technicité des exploitations.

En ce qui concerne la superficie des cacaoyères, les fermes de Côte d'Ivoire s'étendent en moyenne sur **3 à 4 ha** (Wessel et Wessel, 2015 ; Kouassi et al., 2021 ; Suh et Molua, 2022), caractéristique que l'on retrouve également en Équateur où 90 % des fermes ont une surface inférieure à 10 ha (*European Forest Institute*, 2021 ; Tenndhart et al., 2022 ; Beg et al., 2017) et où la **main d'œuvre est essentiellement familiale** (Thanm-Agyekum et al., 2023 ; Caicedo-Vargas et al., 2023).

Le statut économique d'une grande partie des producteurs de cacao à travers le monde reste encore critique. En effet, Ollo et al. (2021) indiquent que près de la moitié des producteurs de cacao ivoiriens (localement appelés « planteurs ») et ghanéens se situent en dessous du seuil d'extrême pauvreté défini par la Banque Mondiale. D'après Rusman et al. (2018) les producteurs de cacao en Côte d'Ivoire gagneraient, en moyenne, 2707 dollars par an, tandis que le seuil de pauvreté est estimé par la Banque Mondiale à 3713 dollars. Les auteurs précisent également que leurs **faibles revenus** sont reliés au prix du cacao lui-même assez bas, aux faibles rendements, à la structure familiale et aux faibles surfaces cultivées. En effet, malgré l'augmentation des prix du cacao, les producteurs n'en tirent pas forcément les bénéfices. Beg et al. (2017) estiment que les exploitants reçoivent à peine entre 3,5 et 6,4 % du prix du produit final fabriqué à partir de leur cacao.

### 3.1.3. Des systèmes productifs néanmoins différents

En parallèle aux similitudes présentées ci-dessus, les pays étudiés présentent des différences dans leurs systèmes productifs respectifs.

**En Côte d'Ivoire, le cacao est cultivé majoritairement en « plein soleil »** comme l'indiquent Tondoh et al. (2015) et Teage (2022). Il s'agit d'un modèle adopté massivement en 1960 en conséquence du déclin des rendements des systèmes traditionnels où les producteurs éclaircissaient les forêts primaires pour y établir des plantations de cacao sous l'ombrage des arbres endémiques (Wessel et Wessel, 2015). Lorsque la productivité est devenue insuffisante pour obtenir des revenus convenables, les planteurs ont migré vers le Sud du pays (Kouassi et al., 2021) pour y installer de nouvelles plantations sous ce nouveau modèle en plein soleil. Aujourd'hui, ces systèmes intègrent encore quelques essences associées au cacao, choisies pour leur intérêt économique (arbres fruitiers par exemple), mais elles restent peu nombreuses pour que la radiation solaire soit majoritairement captée par les cacaoyers. En ce qui concerne le matériel végétal utilisé, il s'agit de semences tout venant issues de familles de plein frères et propagés sexuellement. Puisque ces semences ne sont pas sélectionnées, et leur origine est peu contrôlée, il existe une variabilité génétique importante au sein des cacaoyères ivoiriennes (Paulin et al., 1995).

Actuellement, la moitié de la production de cacao en Équateur concerne le cacao fin dénommé *Cacao Nacional* et l'autre moitié correspond à un cacao à fort potentiel productif (variété CCN-51) (Diaz-Montenegro et Gil, 2018). **Le système productif associé au cacao Nacional ici étudié est l'agroforesterie** (Somarriba et al., 2013 ; Useche et Blair, 2013). Ce système, adopté plus généralement en Amérique latine, est nettement plus diversifié qu'en Côte d'Ivoire (Cerda et al., 2014). Il s'agit d'un système traditionnel très peu technicisé au sein duquel les producteurs plantent différentes espèces d'arbres ou pratiquent différentes cultures au sein de leurs cacaoyères, pour les bénéfices agronomiques apportés à la culture principale et pour les revenus financiers qu'ils peuvent en tirer (Solorzano, 2007). Mais les

rendements restent faibles ( $600 \text{ kg ha}^{-1}$  par an) en raison de pratiques agricoles encore trop peu fréquentes telles que la taille des arbres ou la récolte des cabosses malades dans les parcelles pour éviter la propagation des maladies par exemple. A cela s'ajoute une capacité d'investissement insuffisante des exploitations conduisant à des systèmes peu optimaux en termes de gestion des bioagresseurs (Quiroz et Amores, 2002, <https://repositorio.catie.ac.cr/handle/11554/6771>). En Équateur, et plus largement en Amérique latine, le cacao est issu principalement de clones multipliés greffage et d'hybrides distribués par des stations expérimentales (Thomas et al., 2024).

## 3.2. Freins et leviers pour l'amélioration de la santé des cacaoyères

### 3.2.1. Contraintes à l'amélioration quantitative de la production de cacao

Le terme « santé des cacaoyères » regroupe plusieurs concepts et nous nous concentrerons ici sur l'aspect **fertilité du sol, productivité du cacao** et sur la **résistance aux maladies et ravageurs**.

D'après Reardin et al. (1991), le premier frein, essentiel à prendre en compte pour viser l'augmentation des rendements de cacao, est la **faible fertilité des sols** en conséquence de leur altération physico-chimique dans le temps (Figure 4). D'après la FAO, la fertilité d'un sol est sa « capacité à maintenir le développement des plantes au travers de l'apport de nutriments et de propriétés physicochimiques et biologiques favorables ». Dans le cas des sols tropicaux, comme ceux ici étudiés, le lessivage des éléments, la surexploitation agricole, les mauvaises pratiques culturales, les pluies particulièrement intenses et la minéralisation rapide de la matière organique par les microorganismes, sont des facteurs qui contribuent à l'altération des sols et réduisent sa fertilité (Wang et al., 2024 ; Bauters et al., 2021 ; Islam

et al., 2000 ; Ewel et al., 1991). Lorsqu'un système agricole est établi au sein d'un écosystème, une partie des nutriments est exportée suite à l'extraction des produits de culture notamment. Dans cette perspective, si le stock nutritif n'est pas restitué, celui-ci se verra progressivement dégradé, ce qui se traduit souvent par une baisse de la productivité agricole (Van Vliet et Giller, 2016). Hartemink et al. (2005) indiquent qu'en général, en l'absence de fertilisation du sol, le bilan du potassium est négatif en contexte agricole. La minéralisation rapide de la matière organique du sol en contexte tropical induit également l'augmentation de l'acidité des sols, un faible stock de bases cationiques, et d'autres processus exacerbés par l'exploitation agricole comme l'expliquent Basak et al. (2022).

Si la fertilisation apparaît comme une solution évidente à cette problématique, certains freins majeurs limitent l'utilisation de fertilisants par les producteurs et particulièrement dans le secteur du cacao. Avant de discuter de l'accès aux fertilisants, il est important de souligner que tous les sols ne sont pas égaux en termes de réponse à la fertilisation. Par exemple, l'utilisation de fertilisants inorganiques peut s'avérer inefficace dans des sols tropicaux acides à faible capacité d'échange cationique (CEC), puisqu'il n'y a que très peu d'adsorption sur les complexes argilo-humiques, comme expliqué par Baligar et Bennet (1986). En conséquence, il est indispensable de connaître les paramètres physico-chimiques des sols avant d'y appliquer des intrants qui pourraient ne pas être efficaces, voire contreproductifs ou même nocifs. À cette limite naturelle s'ajoute un frein économique, particulièrement puissant dans le secteur du cacao, qui empêche les producteurs de fertiliser adéquatement leurs terres et d'atteindre le rendement potentiel de leurs plantes (Parra-Paintan et al., 2023 ; Suh et Molua, 2022). Plusieurs études africaines ou latinoaméricaines mettent en lumière l'utilisation restreinte des fertilisants par les producteurs de cacao. En Côte d'Ivoire, Kouassi et al. (2023) montrent qu'au Sud-Est du pays, sur 323 producteurs interviewés, seuls 27 % avaient recours à l'utilisation de fertilisants. De même, dans la province de Manabí en Équateur, Barrera et al. (2019) indiquent que 29 % des producteurs sur 386 utilisaient des fertilisants, et parmi eux, seul 1 % adaptait son plan de fertilisation aux résultats de l'analyse des sols. Ces chiffres sont l'expression de plusieurs facteurs entrelacés. Premièrement, le prix des fertilisants dans ces

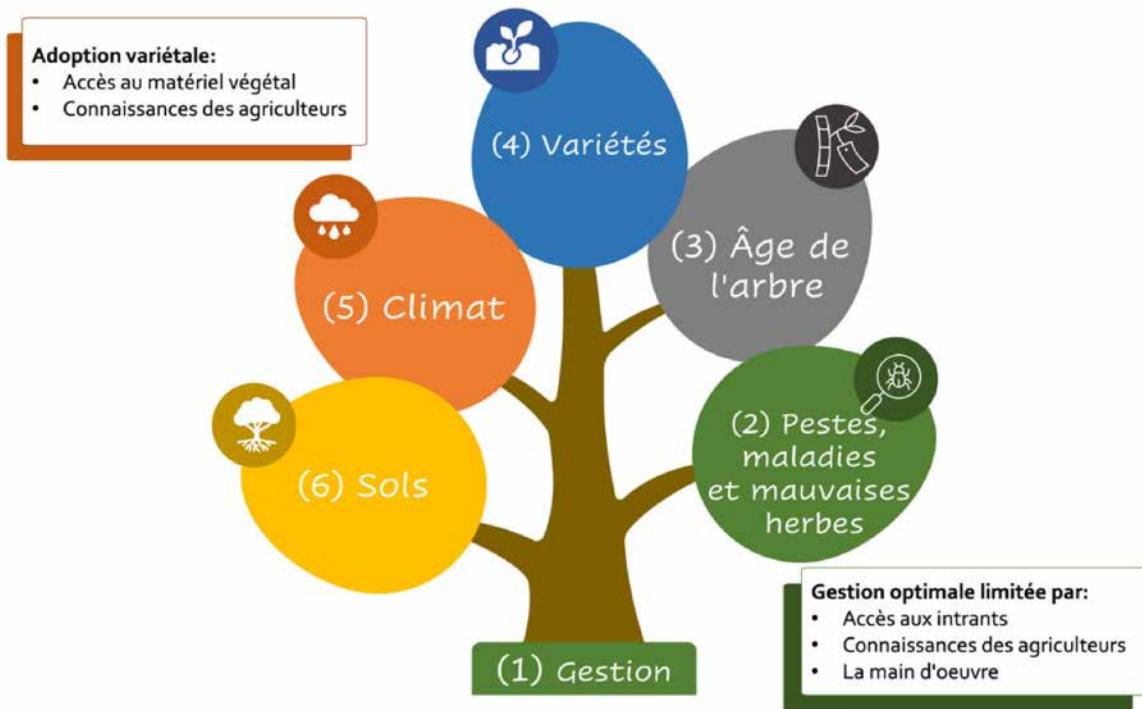
régions du monde peut être plus élevé qu'en Europe ou en Amérique du Nord (où ils sont fabriqués), empêchant les producteurs les plus modestes d'y avoir accès (Cardoso et Kuyper, 2006). D'autre part, le niveau d'éducation apparaît assez faible chez les producteurs (Hernandez Gomez et al., 2015), ce qui explique que certains n'aient pas de connaissances précises sur leurs sols, la physiologie des plantes ou encore le cycle des maladies du cacao. A cela s'ajoute le manque d'accès ou de recours aux services de conseil et de formation, que ce soit en Amérique latine ou en Afrique (Barrera et al., 2019 ; Tenndhart et al., 2022).

Un deuxième facteur primordial qui freine la productivité du cacao, comme pour beaucoup d'autres cultures, est **l'incidence des maladies et/ou des ravageurs** qui peuvent causer d'importantes pertes productives chaque année (Figure 4). Les maladies du cacao peuvent être distinguées géographiquement. En Côte d'Ivoire, le *Swollen Shoot*, les mirides, les foreurs de tiges, la pourriture brune (*Phytophtora palmivora*) ou encore les termites sont les principaux agents responsables des pertes de cacao (Ollo et al., 2022 ; Kongor et al., 2018). En Équateur et en Amérique latine plus généralement, la Moniliose (*Moniliophthora roreri*), *Moniliophthora perniciosa* (appelée localement, « balais de sorcière ») et la pourriture brune sont les principales maladies rencontrées dans les cacaoyères (INIAP, 2021). Il est important de souligner qu'au-delà de la présence de maladie dans les vergers, un facteur aggravant leur incidence réside dans les carences nutritionnelles des cacaoyers, les rendant plus susceptibles aux infestations (INIAP, 2012). Dans la province de Manabí en Équateur, 45 % de la perte de la production sont attribuées aux maladies dont 79 % dues à la seule Moniliose, pouvant provoquer jusqu'à 100 % de pertes d'après Barrera et al. (2019). Cependant, le recours aux pesticides (chimiques ou naturels), aux génotypes résistants (Philips-Mora et al., 2005) ou à des pratiques agricoles adéquates n'est pas systématique (Tondoh et al., 2015), encore une fois par manque d'accès au conseil agricole et parfois à des formations peu adaptées (Amon-Armah et al., 2021).

Par ailleurs, l'utilisation de **génotypes de cacao peu productifs** (Figure 4) constitue également un frein à l'augmentation des rendements (Pérez et al., 2022). En Côte d'Ivoire, la grande majorité des producteurs cultivent des variétés traditionnelles dont le rendement moyen est d'à peine  $380 \text{ kg ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$  (Kouassi et al., 2023). De façon similaire en Équateur,

le cacao *Nacional*, bien que reconnu pour ses qualités organoleptiques très recherchées, présente des rendements assez bas ; 330 kg ha<sup>-1</sup> an<sup>-1</sup> selon les rapports du *Ministerio de Agricultura y Ganadería* (MAGAP, 2018). En parallèle, certains producteurs ont des densités faibles de cacao par ha et des plantations assez anciennes, ce que l'on peut appeler un système traditionnel extensif (FONTAGRO, 2018). En Équateur, il existe un compromis entre la plantation de la variété CCN-51 et le cacao *Nacional*, la première étant plus productive et résistante aux maladies mais moins qualitative que le *Nacional* en ce qui concerne la saveur de ses fèves (Barrera et al., 2019).

Les **conditions climatiques** (Figure 4) affectent aussi les rendements des cultures et en particulier celle du cacao. Il s'agit d'une espèce particulièrement sensible au stress hydrique ou aux températures extrêmes (Mensah et al., 2022 et 2023 ; Asante et al., 2021). De fortes températures conduisent à une évapotranspiration accrue et si les précipitations sont insuffisantes pour compenser les pertes en eau, les processus physiologiques tels que la floraison et la fructification se verront perturbés (Cilas et al., 2020). Le développement des bourgeons floraux dépend en partie des conditions climatiques et est favorisé lors de journées pluvieuses couplées à des températures proches de 27°C (Claus et al., 2018). Indirectement, les conditions climatiques peuvent également affecter la productivité en jouant sur les populations de polliniseurs. Les principaux polliniseurs du cacao sont des mouches d'1 à 4 mm, appartenant à la famille des *Cératopogonidés*, qui se développent préférentiellement au sein de substrats organiques en milieu sombre et humide (Claus et al., 2018). Les sécheresses peuvent donc freiner l'activité des polliniseurs et ainsi réduire la pollinisation des fleurs puis le développement de fruits. D'après plusieurs interviews de producteurs de plusieurs régions du monde, il s'avère que nombre d'entre eux perçoivent les effets du changement climatique (Than-Agyehum et al., 2023 ; Suh et Molua, 2022).



**Figure 4:** Les 6 piliers de la variabilité des rendements en cacao dans les fermes (spatiale et temporelle). Source : <https://www.icco.org/wp-content/uploads/B27407-Cacao-Grower-Guide-French-CFW-v7-interactive.pdf>

### 3.2.2. L'agroforesterie et les intrants organiques et biologiques comme leviers pour l'amélioration de la production de cacao

Pour remédier aux différents freins développés ci-dessus, plusieurs leviers peuvent être actionnés pour augmenter la productivité des cacaoyères.

Une des solutions systémiques est la **mise en place de systèmes agroforestiers (SAF)** qui présentent de multiples atouts (Utomo et al., 2016). Dans leur essai agronomique au Ghana, Mensah et al. (2023) montrent, en comparaison avec le système plein soleil, qu'un taux d'ombrage entre 34 et 58 % favorise le développement des cherelles (1<sup>ère</sup> étape de

développement des cabosses de cacao) et accroît également le nombre de cabosses, ce qui se traduit par un rendement significativement supérieur. Un système diversifié permet aussi de produire davantage de substrats organiques tels que la litière ou les tiges et troncs des autres espèces, ce qui augmente l'abondance de pollinisateurs du cacao (Toledo-Hernandez et al., 2017 ; Vandromme et al., 2023). En outre, l'intégration de différentes cultures ou essences d'arbres au sein des cacaoyères permettrait d'abriter des communautés de macro et micro faune d'antagonistes des pathogènes du cacao, réduisant ainsi la dépendance des producteurs vis-à-vis des pesticides (Bentley et al., 2004). Par ailleurs, la présence d'arbres à racines profondes permet de puiser des nutriments des horizons profonds et de les remettre à disposition des cultures suite à la décomposition de leurs feuilles ou de leurs branches (Cardoso et Kuypper, 2006). Par ailleurs, si l'on considère la quantité globale d'aliments produits par un SAF, il s'avère que le rendement total est nettement supérieur à celui d'un système de cacao en monoculture, ce qui paraît indispensable dans l'objectif d'améliorer la sécurité alimentaire (Pérez-Neira et al., 2023). Néanmoins, il est primordial de concevoir correctement un SAF puisque, au-delà de ses atouts, il présente également le risque de compétitions inter ou intraspécifiques réduisant le potentiel agronomique de la plantation (Asitoakor et al., 2022 ; Saputra et al., 2024). Saj et al. (2023) indiquent que l'effet des arbres d'ombrage sur la productivité du cacao est susceptible de varier en fonction de leur distance à celui-ci. Dans le contexte actuel de changement climatique, Sousa et al. (2019) suggèrent également qu'il est indispensable d'opter pour des essences qui seront adaptées au climat futur lors de la conception d'un SAF.

Dans un contexte d'agriculture durable apparaît un deuxième mode d'action pouvant répondre à plusieurs problématiques à la fois : il s'agit de **l'utilisation d'intrants organiques (IO) et/ou de biofertilisants (BF) au sein des cultures**. Les intrants organiques présentent un double intérêt agronomique : amender les sols et les fertiliser conjointement. Les intrants organiques sont obtenus après recyclage de résidus d'origine animale ou végétale et peuvent être utilisés directement ou bien suite à leur fermentation, sous forme de compost. En ce qui concerne les biofertilisants, nous retiendrons la définition suivante : « un

produit contenant des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont appliqués [...] à la surface d'une plante ou au sol, colonisent le rhizosphère ou l'intérieur de la plante et qui favorisent sa croissance par l'augmentation de la quantité ou de la disponibilité des nutriments pour la plante cible » (traduit de Vessey, 2003).

Parmi les intrants organiques, le bokashi (Restrepo, 2008) se présente comme un composé de « lifofer » (litière de forêt fermentée) source de microorganismes, de sucres (sucre, jus de fruits, mélasse, etc.) favorisant l'activité biologique, de nutriments (farine de roche, argiles, ...), d'eau et d'agents texturaux (cosses de riz par exemple). L'avantage principal de ce fertilisant organique très complet est d'être facilement élaboré et constitué d'ingrédients pouvant être trouvés localement et à bas prix. Même si la préparation peut être longue, les producteurs protègent leur santé et leur terre (Ansah et al., 2003 ; Boateng et al., 2023). **Le biochar** est également un IO et est obtenu après pyrolyse de matière organique (bois, déjections animales, résidus de culture, ...). Le degré d'efficacité du biochar lors de son application au sol dépendra de ses conditions de fabrication comme la source de matière organique, la température de pyrolyse ou encore l'oxygénéation du milieu. Ces deux produits sont ceux qui ont été testés dans le cadre de la présente étude en combinaison avec des biostimulants foliaires.

D'après le recensement effectué auprès de producteurs de cacao au Nord-Est de l'Équateur, Tennhardt et al., (2022) indiquent que seuls 14 % des 190 interrogés utilisent des intrants organiques dans leur ferme. Au Ghana, 87 % des producteurs interviewés par Quaye et al. (2021) fertilisent leur sol mais seulement 13 % d'entre eux avec des fertilisants organiques. Pourtant ces produits présentent de nombreux atouts pour une plantation, à commencer par l'amélioration de la disponibilité des nutriments dans les sols. Les macronutriments comme le phosphore (P), potassium (K) et l'azote (N) sont indispensables en grande quantité pour la majorité des cultures. Ainsi, il est important de réapprovisionner le sol (Snoeck et al., 2016) puisque les plantes absorbent et métabolisent ces nutriments et ne les rétribuent pas entièrement puisqu'on exporte leurs organes par la récolte (fruits, tiges, feuilles, etc.). D'après Marrocos et al. (2020) le N et P sont particulièrement importants pour les cacaoyers lors de la fructification. Muda et al. (2020) ont montré que la

fertilisation organique des cacaoyers a permis d'atteindre les mêmes effets que la fertilisation inorganique dans des plantations de plus de 8 ans, déjà productives. L'application de fientes de poules, de fumier bovin, de fibres végétales ou encore de cabosses de cacao a apporté autant de P et K au sol que les fertilisants inorganiques et a engendré des rendements comparables. Les amendements organiques peuvent donc constituer une alternative plus écologique et accessible pour des petits producteurs pouvant réutiliser leurs résidus de culture ou des ressources locales comme fertilisants. Les propriétés physicochimiques des sols sont directement en lien avec la nutrition des plantes puisque certains paramètres comme le pH, la teneur en matière organique (MO), la texture ou encore la CEC, gouvernent la disponibilité des nutriments pour les plantes. Les essais menés par Agegnehu et al. (2015) en Australie ont conduit à une augmentation de la CEC, des concentrations de N et P ainsi que de carbone organique ( $C_{org}$ ) dans des champs de maïs grâce à l'utilisation de biochar et/ou compost. Le biochar permet effectivement de corriger le pH des sols acides grâce à son alcalinité, d'améliorer la rétention en eau du fait de sa porosité, de réduire la densité du sol et donc favoriser son aération (Kamali et al., 2022). Il est possible d'utiliser une multiplicité d'ingrédients pour fabriquer les intrants organiques mais Quiroz et Céspedes (2018) indiquent que la quantité d'azote dans le produit final serait proportionnelle à celle de sa matière première.

Par ailleurs, de nombreux intrants organiques et biofertilisants présentent une richesse (micro)biologique importante puisqu'ils sont fabriqués à partir de matière première vivante. Mis à part le biochar dont la matière est carbonisée et donc pauvre, voire dépourvue d'activité biologique, les IO comme les composts peuvent abriter une grande diversité de bactéries, virus, champignons ou levures pouvant être bénéfiques pour la santé du sol. Les interactions entre ces règnes peuvent toutefois se voir affectées positivement ou négativement par l'utilisation d'IO comme le suggèrent Luo et al. (2022). En effet, le bokashi favoriserait les interactions positives intra règne même si les interactions interrègnes peuvent se voir dégradées d'après les mêmes auteurs. L'application de biochar au sol peut aussi indirectement favoriser l'activité microbiologique. Par exemple, Kamali et al. (2022) indiquent que l'apport de N, de C et l'augmentation du pH peuvent affecter les

communautés microbiologiques en favorisant leur croissance et leur développement. De plus, la structure physique du biochar, particulièrement poreuse, constitue un abri pour certains organismes. A l'échelle macroscopique, l'apport de substrats organiques comme des tiges de bananes (Adjaloo et al., 2012) favorisait également le développement et la survie des polliniseurs du cacao en maximisant la production de fruits. Enfin, **le contrôle biologique** reste une stratégie prometteuse pour l'augmentation des rendements (Delgado-Ospina et al., 2021). Au Pérou, l'utilisation de mycoparasites comme *Clonostachys rosea* ou *Trichoderma* spp a présenté des résultats intéressants en termes de réduction des maladies fongiques comme la Moniliose (Krauss et Soberanis, 2001). Nous avons également voulu tester cela au sein de notre étude grâce à l'application d'une solution de microorganismes et de sulfates pour à la fois fertiliser et inoculer les plantes en microorganismes endémiques.

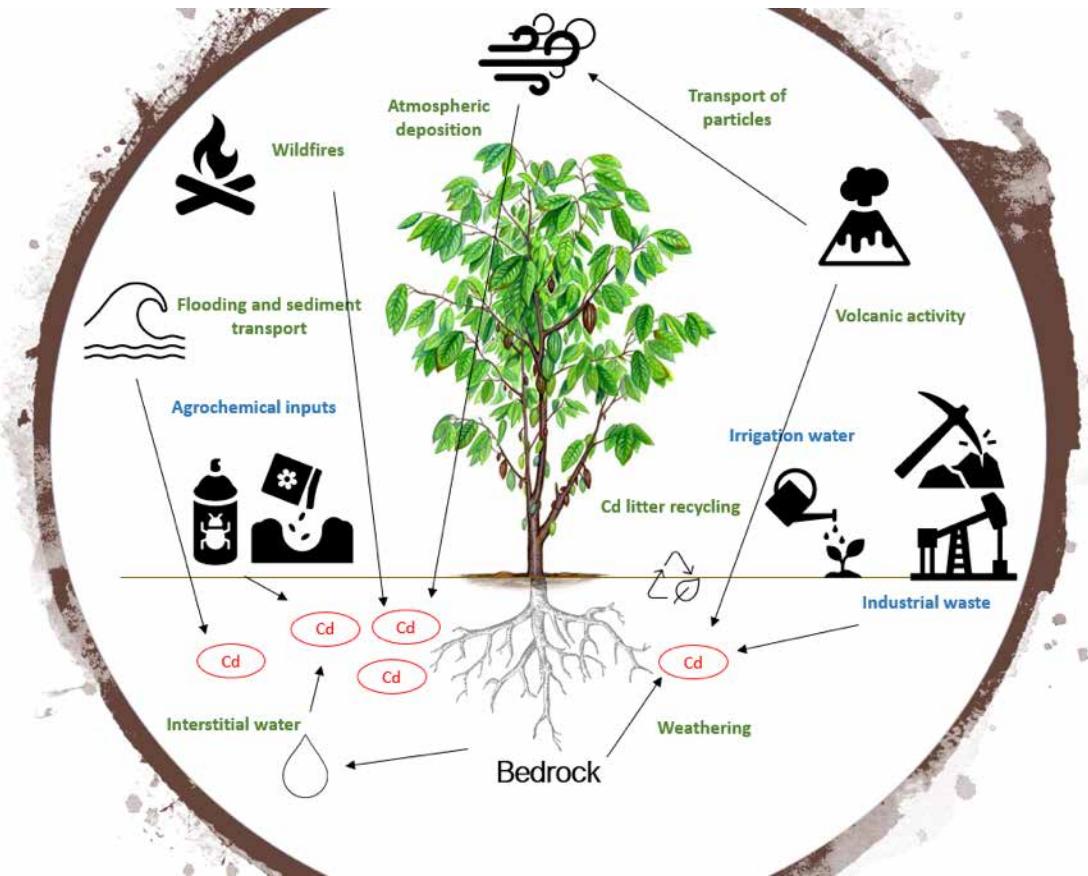
### 3.3. Connaissances actuelles sur l'accumulation du Cd dans les cacaoyers et risques sanitaires induits

#### 3.3.1. Le Cd dans l'environnement et sa toxicité pour les organismes vivants

Le cadmium est un élément-trace métallique (ETM) appartenant au groupe 12 et à la période 5 du tableau de Mendeleïev. De ce fait, cet élément présente un comportement chimique proche de celui du zinc (Zn) et dans une moindre mesure, du plomb (Pb).

Dans les sols non pollués, la concentration en Cd total est généralement comprise entre 0,1 et 2,0 mg kg<sup>-1</sup> et dans la solution du sol, l'espèce chimique prévalente est Cd<sup>2+</sup> (McLaughlin et al., 1999). Cependant, plusieurs sources naturelles ou anthropogéniques peuvent être à l'origine de ce métal dans l'environnement et engendrer de fortes

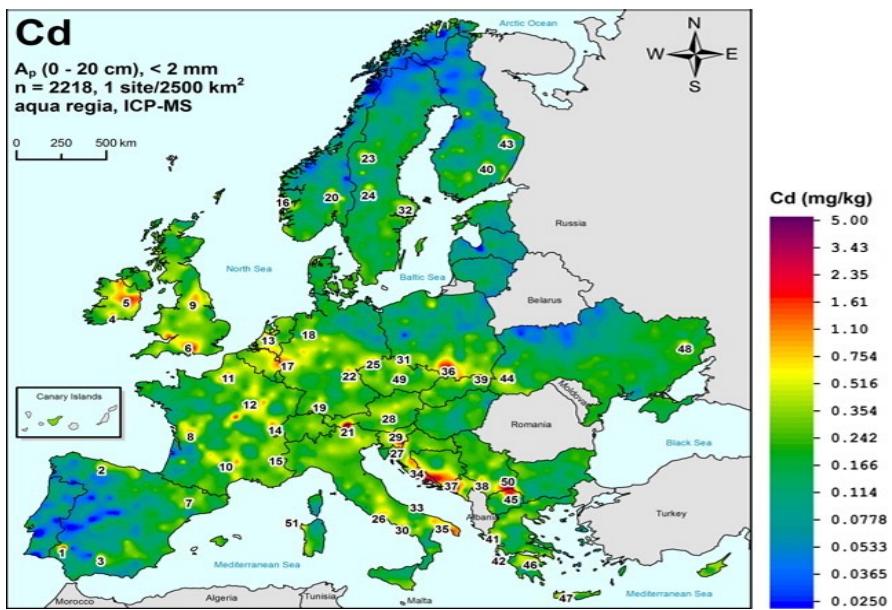
concentrations dans les sols (World Health Organization, 2019), comme le présente la Figure 5.



**Figure 5:** Sources naturelles et anthropiques de cadmium (Cd) dans l'environnement. Sources : Chavez et al. (2015), Barraza et al. (2017), Khan et al. (2017), Defarge et al. (2018), Argüello et al. (2019)

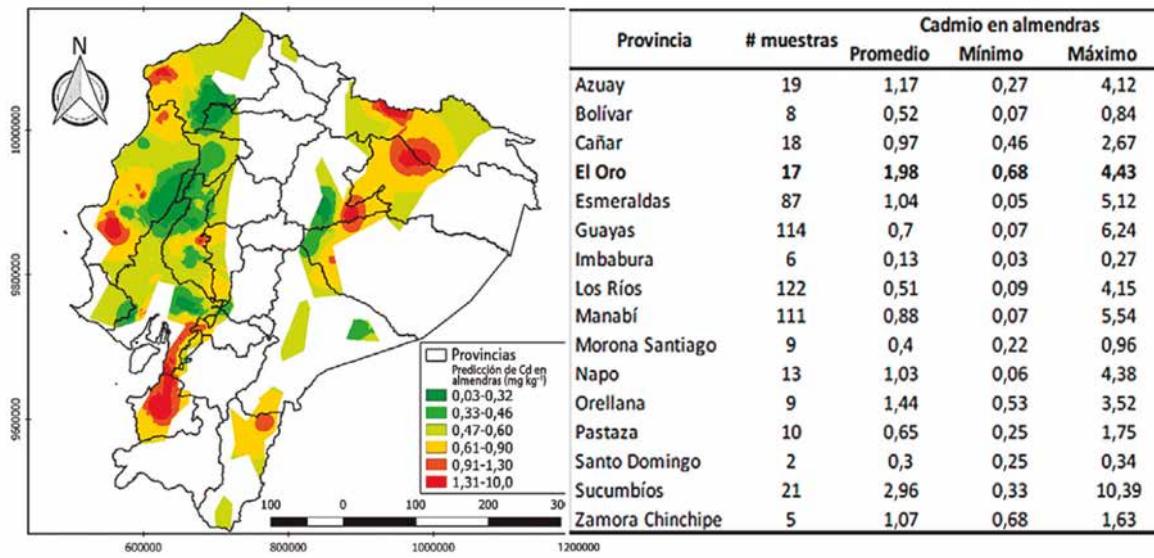
Naturellement, les roches sédimentaires sont en général les plus concentrées en Cd puisqu'elles se sont formées en conditions anaérobies à partir de sédiments riches en matière organique au sein de laquelle le Cd forme des complexes organiques et sulfuriques (Alloway, 1995 ; Argüello et al., 2019). Au Pérou par exemple, Guarin et al. (2023) indiquent que parmi les fermes échantillonnées, celles qui sont situées sur des sols alluviaux présentent les plus fortes concentrations en Cd, tandis que celles situées sur des sols colluviaux présentent des niveaux de Cd inférieurs. De ce fait, l'altération de la roche mère

enrichit naturellement les sols en Cd. Par ailleurs les sols volcaniques peuvent présenter des concentrations en Cd supérieures à celles d'autres environnements du fait des dépôts consécutifs aux éruptions volcaniques. Ces derniers contiennent certes des éléments nutritifs, mais aussi des éléments toxiques comme le Cd (Ma et al., 2019). L'existence de différents contextes géologiques explique l'hétérogénéité spatiale des concentrations de Cd dans les sols à l'échelle planétaire. Cette observation est également valable à l'échelle d'un continent comme nous pouvons l'apprécier sur la figure 6 présentant la distribution du Cd dans les sols européens, avec les *hot-spots* de Cd en rouge (points chauds en français, désignant une zone restreinte où les concentrations d'un élément présentent une anomalie positive).



**Figure 6:** Distribution du cadmium pseudo-total dans les sols européens (Birke et al., 2017).

Si l'on étudie les sols à une encore plus petite échelle, Argüello et al. (2019) ont montré que les concentrations de Cd dans les sols équatoriens pouvaient aller de 0,03 à 10,39 mg kg<sup>-1</sup>, ce qui correspond à une gamme particulièrement large de concentrations en cet élément (Figure 7).



**Figure 7:** Carte des concentrations en cadmium (moyenne – minimum – maximum, en  $\text{mg kg}^{-1}$ ) dans les fèves provenant des provinces productrices de cacao d'Équateur. Source : Argüello et al. (2019).

Au-delà de l'origine naturelle du Cd, certaines activités humaines contribuent à l'augmentation de sa concentration dans les sols. Parmi elles, l'utilisation agricole de fertilisants phosphatés (en particulier ceux issus des mines de phosphate marocaines, sénégalaises ou encore israéliennes) où le Cd reste présent sous forme d'impureté impossible à éliminer en l'état actuel des techniques de fabrication (Robert, 2014). En fonction de la provenance des phosphorites et apatites à l'origine des fertilisants phosphatés, les concentrations en Cd des roches peuvent atteindre  $507 \text{ mg kg}^{-1}$ , au Maroc par exemple (Suciu et al., 2022). Il est également connu que les industries minières de Zn et Pb ainsi que l'extraction pétrolière peuvent contribuer à la pollution des sols en Cd par transport de celui-ci via les cours d'eau contaminés (Chavez et al., 2015 ; Argüello et al., 2019), même si ce n'est pas systématique (Barraza et al., 2017). D'autres industries comme la production de pigments, de panneaux solaires ou encore des batteries participent également à l'apport de Cd dans les sols (Khan et al., 2017).

Même s'il n'a pas été démontré que le Cd puisse être utile aux processus physiologiques des êtres vivants, certaines plantes l'absorbent via leurs racines et le mobilisent jusqu'aux organes comestibles. Le Cd peut aussi remplacer d'autres cations ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , ...) dans les organismes sans pour autant jouer leur rôle.

L'Agence Internationale pour la Recherche sur le Cancer (IARC) a classifié le Cd comme cancérogène groupe I en 1993 et l'Organisation Mondiale pour la Santé (OMS, 2019) considère que l'alimentation est la principale source d'exposition des humains au Cd, avec une période de demi-vie de 10 à 35 ans, en particulier dans les reins. Ce risque sanitaire lié à sa consommation explique l'attention portée au Cd par diverses instances d'évaluation des risques et de prévention de la santé humaine.

Dans les années 70, la détection de la maladie *Itai-Itai* au Japon, causée par l'exposition de la population au Cd en raison de la consommation quotidienne de riz contaminé, illustre parfaitement le risque sanitaire que ce métal présente (Sakurai et al., 2023). Les transporteurs racinaires présents dans les cellules du riz, responsables de l'absorption des nutriments ne discriminent pas le Cd, qui peut alors entrer au sein de la plante et être transféré vers les grains. La consommation de riz et donc de Cd a provoqué des troubles osseux, des anémies et des dommages rénaux sévères caractéristiques de la maladie *Itai-Itai*. D'autres cultures consommées massivement dans le monde comme le blé dur (Nguyen et al., 2021), les oléagineux (Romero-Estévez et al., 2023) et le cacao (Vanderschueren et al., 2021) sont également riches en Cd. En conséquence de ces observations, la Commission Européenne a établi des régulations sur la concentration en Cd dans les produits alimentaires tels que les légumes, tubercules, viandes, et depuis 2014, les produits dérivés du cacao (Régulation UE N°488/2014, Codex Alimentarius). Les seuils attribués à ces derniers sont présentés en figure 8. Cette régulation a pris effet postérieurement, en janvier 2019.

Au-delà de ses effets sanitaires, le Cd peut nuire au métabolisme des plantes. Correa et al. (2021) indiquent que le Cd peut affecter l'absorption de certains nutriments par les racines des cacaoyers et ainsi limiter le développement des plantules. Le Cd peut entrer en

compétition avec certains nutriments comme le Fe, Zn et Mn au niveau des transporteurs racinaires et peut aussi interférer dans l'expression des gènes codants pour ces transporteurs. De ce fait, la présence de Cd peut entraîner des carences nutritionnelles des plantes (Küpper et al., 2017).

La problématique du Cd dans les produits dérivés du cacao est particulièrement préoccupante en Amérique latine et dans les Caraïbes (ALC) tandis que le continent africain n'est pas concerné (Takrama et al., 2015). En ALC, deux facteurs expliquent cette importance : 1) le contexte géologique de cette zone où les sols volcaniques relativement jeunes et peu altérés expliquent l'existence de *hot-spots* de Cd (Thomas et al., 2023) ; 2) le fait que le cacao produit dans cette zone et notamment en Équateur, Colombie et Pérou, est destiné particulièrement à l'export vers l'Europe pour la fabrication de chocolat noir de qualité car le profil aromatique de ces fèves est recherché par les industriels et les consommateurs (Bustamante et al., 2022). En conséquence, le cacao à l'origine du chocolat produit sera peu dilué à d'autres ingrédients (lait, sucre, etc.) pour conserver ses arômes et le produit final sera donc plus concentré en Cd, avec le risque de dépasser les seuils européens de Cd dans les produits cacaotés : 0,60 mg kg<sup>-1</sup> pour la poudre de cacao et 0,80 mg kg<sup>-1</sup> pour le chocolat > 50 % de cacao.

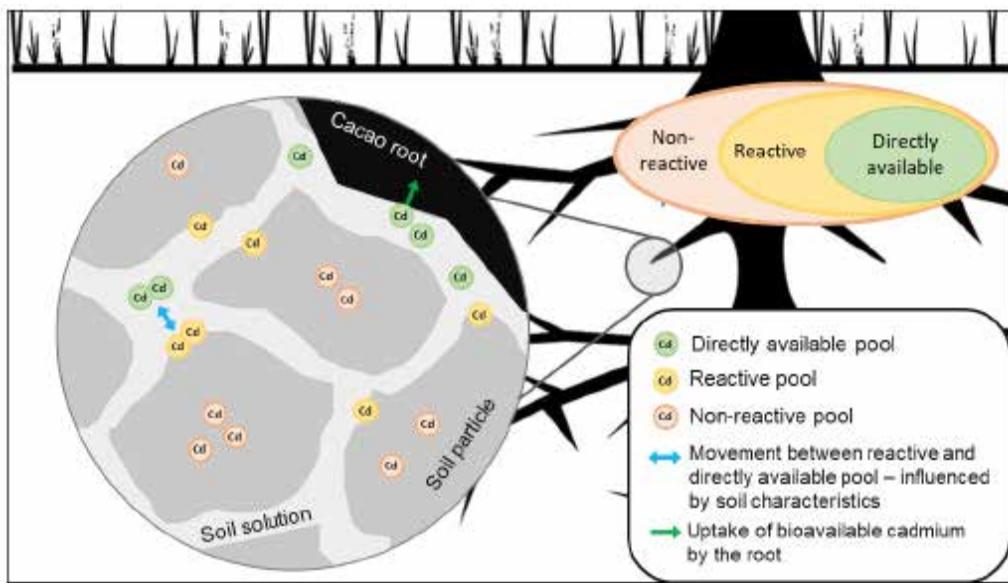
<b>Agency (Reference)</b>	<b>Cocoa-based material</b>	<b>Cd limit (mg kg<sup>-1</sup>)</b>
European Union (EC, 2014)	Milk chocolate with <30% total dry cocoa solids	0.10
	Chocolate with <50% total dry cocoa solids; milk chocolate with ≥30% total dry cocoa solid	0.30
	Cocoa powder sold to the final consumer or as an ingredient in sweetened cocoa powder sold to the final consumer (drinking chocolate)	0.6
	Chocolate with ≥50% total dry cocoa solids	0.8

**Figure 8:** Régulation européenne sur les teneurs maximales en cadmium dans les produits dérivés du cacao. Source : Maddela et al. (2020).

### 3.3.2. Absorption du Cd depuis le sol et translocation vers les fèves de cacao

#### 3.3.2.1. Biodisponibilité du Cd dans le sol

Le Cd dans le sol est présent sous plusieurs formes chimiques que l'on peut distinguer en fonction de leur mobilité au sein de cette matrice (Figures 9 et 10). Le Cd « total » contient l'ensemble des espèces chimiques ; sa concentration peut être déterminée en laboratoire par digestion à l'acide fluorhydrique (HF) puis à l'eau régale. Parmi les espèces du Cd, les plus rémanentes dans le sol constituent le réservoir dit « non réactif » car elles peuvent persister dans le sol pendant des décennies sans interagir avec le réservoir dit « réactif » (Meter at al., 2019). Le réservoir « réactif » inclut les formes chimiques du Cd qui sont adsorbées à la MO au sein des groupes fonctionnels des substances humiques, mais aussi les formes liées aux oxy-hydroxydes de Fe ou Al ou encore aux argiles. La quantification de ces espèces se fait par des extractions avec des acides faibles. Enfin, le réservoir « directement disponible » de Cd contient la forme ionique Cd<sup>2+</sup> qui est directement absorbable par les racines des plantes et que l'on peut quantifier en utilisant des sels comme le CaCl<sub>2</sub> par exemple.



**Figure 9:** Biodisponibilité du cadmium dans le sol en fonction de son réservoir (Meter et al., 2019).



**Figure 10:** Différentes formes et localisations des éléments traces dans les sols. Adapté de Baize et al. 2007

L'importance d'estimer les réservoirs réactifs ou directement disponibles de Cd dans un sol est de pouvoir prédire la quantité de Cd que la plante pourrait absorber et donc le risque subséquent de transfert vers les organes comestibles. Plusieurs études ont été conduites en laboratoire pour trouver la meilleure méthode d'extraction du Cd des sols étudiés, afin de quantifier les espèces chimiques de Cd qui sont les mieux corrélées au Cd dans les fèves de cacao. Cependant, il n'y a pas de consensus général puisque les facteurs coûts et temps peuvent être limitants lors du choix du protocole expérimental et donc plusieurs techniques sont encore actuellement utilisées pour déterminer les différentes fractions du Cd. Chavez et al. (2015) et Gramlich et al. (2018) ont montré que le protocole d'extraction Mehlich 3 (M3) permet d'obtenir une bonne estimation de la fraction réactive ou biodisponible du Cd, que celle-ci est bien corrélée au Cd dans les fèves de cacao et qu'il s'agit d'une technique facile et peu onéreuse à mettre en place en laboratoire. Par ailleurs, en 2016, Chavez et al. indiquent que dans les sols équatoriens, 60 % du Cd est présent dans la fraction réactive et que celle-ci est fortement corrélée aux concentrations obtenues par extraction M3. Ainsi, pour faciliter la compréhension de ce manuscrit, la fraction « biodisponible » représentera désormais la concentration en Cd extraite par M3, ce qui représente le réservoir réactif (Figure 9).

La mobilité du Cd est gouvernée par différents facteurs qui permettent le transfert de ce métal d'un réservoir à un autre. Les propriétés physico-chimiques des sols influencent la mobilité du métal en affectant ses formes chimiques. Par exemple, le Cd est plus mobile dans un sol acide que dans un sol alcalin puisqu'en milieu acide ( $\text{pH} < 5.5$ ), les protons  $\text{H}^+$  entrent en compétition avec le  $\text{Cd}^{2+}$  pour les sites de liaison et entraînent une désorption du métal et donc sa mise à disposition pour les plantes (Shahid et al., 2016 ; Lu & Xu, 2009). La MO du sol présente de nombreux groupes chimiques auxquels le Cd peut être lié de sorte que l'augmentation du % de MO pourrait réduire la biodisponibilité du Cd (Meter et al., 2019).

### 3.3.2.2. Absorption racinaire et translocation du Cd vers les fèves de cacao

Au sein du règne végétal, on peut distinguer trois catégories de plantes en fonction de leur capacité à absorber et accumuler les métaux au sein des leurs organes aériens. D'après Memon Schröder (2009) on rencontre, premièrement, les plantes tolérant les métaux : ceux-ci peuvent s'accumuler dans leurs racines mais sans parvenir, ou très peu, aux organes aériens. Ensuite, les plantes indicatrices de métaux dont les concentrations dans leurs organes reflètent les concentrations dans le sol. Enfin, il existe des plantes accumulatrices ou hyper accumulatrices dont les concentrations en métaux dans leurs organes aériens excèdent largement celles que l'on peut trouver dans les sols où elles se développent. Ici, *Theobroma cacao* L. peut être considérée comme une plante accumulatrice puisque les ratios  $Cd_{fèves}/Cd_{sol}$  peuvent varier de 2 à 6 en fonction des zones géographiques (Vanderschueren et al., 2021).

La première étape d'absorption du Cd par le cacao s'opère via les racines. Dans les parois des cellules racinaires, il existe des protéines transporteurs de métaux et responsables de la nutrition de la plante en permettant l'entrée de micronutriments tels que le Zn, Mg, Ca, Mn, ou encore le Fe. Parmi les différentes familles de transporteurs, certaines ne discriminent pas le Cd et permettent son transport vers l'intérieur de la plante. La famille *Natural Resistance-Associated Macrophage Proteins* (NRAMPs) est un exemple de gènes codants pour des protéines qui permettent de transporter le  $Zn^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  et  $Fe^{2+}$  du sol vers les racines. Ullah et al. (2018) montrent que le  $Cd^{2+}$  est également transporté par ces protéines peu spécifiques. Il est d'ailleurs important de souligner que cette non spécificité des transporteurs racinaires explique parfois les fortes corrélations entre le Cd dans le sol et d'autres éléments. Par exemple, Smolders (2001) indique que la déficience en Zn peut entraîner une augmentation de l'absorption de Cd par certaines céréales comme le blé. D'autre part, Guarin et al. (2023) ont identifié des fortes corrélations négatives entre les concentrations de Cd dans les fèves de cacao et le Mn total du sol provenant de fermes péruviennes.

La translocation du Cd des racines vers les organes aériens du cacao peut être complexe puisque le cacao a une physio-morphologie particulière. En comparaison à d'autres cultures annuelles comme le riz, il existe très peu de littérature à propos de la mobilité du Cd au sein de la plante (Vanderschueren, 2021). Il s'agit d'un arbre cauliflore, c'est-à-dire que les fruits poussent directement sur le tronc ou sur les branches les plus développées. Ainsi, le transport du Cd vers les fèves peut être dû à plusieurs processus physiologiques. Une fois dans les cellules racinaires, plusieurs mécanismes régulent le transfert du Cd vers les différents organes de la plante. Moore et al. (2020) expliquent que l'ATPase 3 de la famille des transporteurs de métaux lourds (HMA), pourrait séquestrer le Cd dans les vacuoles des cellules racinaires des plantules de cacao, sans conclusion avérée. Les connaissances obtenues grâce à d'autres espèces végétales suggèrent que les métaux non séquestrés dans les vacuoles cellulaires sont transférés par voie apoplasmique dans le xylème puis migrent vers les organes aériens comme les feuilles principalement (Clemens & Ma, 2016). L'accumulation de Cd dans les fèves est principalement issue du phloème et plusieurs études suggèrent que la majeure partie du Cd présent dans les fèves serait principalement issue des branches plutôt que des feuilles (Barraza et al., 2019 ; Engbersen et al., 2019). Plus récemment, Blommaert et al. (2022) ont apporté de nouvelles connaissances sur le transfert du Cd dans le système sol-cacao. Il s'avère qu'environ 2/3 du Cd dans l'arbre est situé dans les parties ligneuses et que lors de la migration des éléments des racines vers les parties aériennes, le Cd serait séparé des nutriments comme le Zn et Mn en étant stocké dans les rayons du phloème, tandis que les nutriments sont transportés par le xylème vers les feuilles. Cette étude isotopique suggère également une remobilisation directe du Cd des branches et troncs vers les fèves via le phloème. Une fois dans les fèves, le Cd serait principalement lié à des ligands oxygénés et phosphorés. Malgré ces nouvelles hypothèses, les fortes corrélations entre les concentrations Cd dans les fèves et celles dans les feuilles suggèrent néanmoins un transfert du Cd entre ces deux tissus (Guarin et al., 2023). Une fois dans le fruit, la mobilité du Cd au sein de la cabosse (écorce, placenta, pellicule et nib) semble être influencée par le pH au sein du fruit. D'après l'étude de Vanderschueren et al. (2021) ayant simulé la fermentation des fèves de cacao (qui est la première étape de la

fabrication du chocolat, avant le séchage des fèves), il s'avère que l'accumulation de cadmium dans le nib (partie centrale de la fève de cacao) est inversement proportionnelle à la température de fermentation et au pH du milieu, et il en est de même pour le Mg, Mn, P et Zn. L'hypothèse est que le Cd migrerait de la fève vers le fruit suite à l'augmentation de température et à la diminution du pH lors de la fermentation suite à l'hydrolyse des phytates (ou acide phytique, agent chélateur de Ca, Zn ou Fe) auxquelles le Cd est associé dans les fèves de cacao. En outre, le mucilage qui est excréte au cœur des branches au sein de cavités résineuses peut également contenir du Cd lié à des groupes carbo/hydroxyles au sein de polysaccharides ; or ce mucilage est aussi celui qui recouvre les fèves de cacao au sein des fruits (Blommaert et al., 2024). Enfin, l'absorption de Cd par les cacaoyers et sa mobilisation au sein de la plante semble également dépendre de la variété étudiée. En effet, d'après Moore et al. (2020), les 19 variétés de cacao étudiées en laboratoire ne présentent pas la même efficacité lors de la séquestration du Cd dans les vacuoles de cellules racinaires.

### 3.3.3. Potentiel des intrants organiques et biologiques pour remédier aux fortes concentrations en Cd dans les fèves de cacao

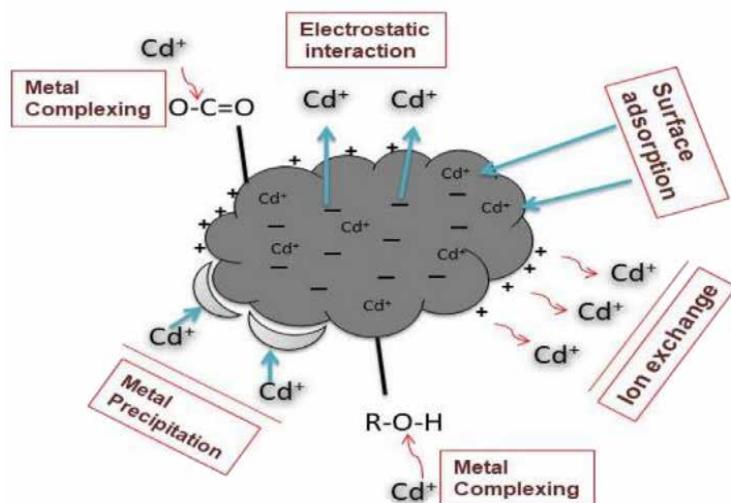
Puisque le sol est la source principale de Cd dans les fèves de cacao, il semble cohérent d'agir sur la biodisponibilité du Cd dans le sol pour limiter son transfert vers la plante. Pour ce faire, différentes pratiques agricoles peuvent permettre d'immobiliser le Cd dans le sol et d'empêcher ainsi son absorption racinaire.

Du fait que les paramètres physicochimiques des sols gouvernent la mobilité du Cd, il est envisageable de réduire cette mobilité en appliquant des intrants dans les sols. Avant de présenter les principaux résultats des études menées à ce sujet, il est important de souligner que la quantité d'articles à propos de l'effet des intrants agricoles sur les teneurs en Cd dans les fèves de cacao reste actuellement limitée. Effectivement, peu d'études sont aujourd'hui menées à long terme alors que le cacao est un arbre qui met en général 3-4 ans à produire

ses premiers fruits exploitables et qui peut vivre jusqu'à un siècle, ce qui sous-entend que son temps de réponse à l'application d'un produit peut être de plusieurs années. De plus, la plupart des individus utilisés pour les expérimentations sont des plantules dont la physiologie diffère de celle des arbres matures, rendant ainsi les conclusions souvent non généralisables pour un verger avancé. Enfin, peu d'études ont été menées en conditions réelles de terrain (Wade et al., 2022), ce qui rend les solutions proposées par des études effectuées sous serres difficilement reproductibles chez les producteurs. Néanmoins, plusieurs études montrent quand même le potentiel de certains intrants agricoles pour réduire la disponibilité du Cd dans les sols.

Le biochar ou charbon végétal ainsi que le compost semblent être des amendements/fertilisants prometteurs dans une perspective de durabilité et en agroécologie. Ces deux intrants organiques présentent plusieurs atouts permettant de réduire la disponibilité du Cd, en particulier leur alcalinité et la présence de groupes fonctionnels (Figure 11), même si cela dépend de la matière première à partir de laquelle ils sont fabriqués. En effet, le biochar est généralement alcalin et l'augmentation du pH du sol permet de réduire la solubilité du Cd et d'augmenter la CEC du sol, ce qui favorise la rétention des cations dans la matrice du sol (Ullah et al., 2024). Les ions Cd<sup>2+</sup> peuvent également être adsorbés sur le biochar ou les composts par complexation au sein des groupes fonctionnels oxygénés ou bien par échange cationique (K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, etc.). La précipitation survient également lorsque les anions ou cations réagissent avec le Cd pour former des hydroxydes ou carbonates insolubles dans l'eau. (Liu et al., 2023 ; Li et al., 2024). L'apport de matière organique permet également de favoriser la formation de complexes stables entre le Cd et les substances humiques, ce qui réduit sa biodisponibilité (Khan et al., 2017). De plus, la présence d'oxydes de Mn, Al et Fe dans les amendements organiques est également responsable de la rétention à long terme des métaux dans les sols. En ce qui concerne la (micro)biologie du sol, le biochar forme un abri pour les microorganismes qui favorise leur abondance dans le sol (Ullah et al., 2024) tandis que le bokashi permet plutôt d'apporter des microorganismes et de contenir des éléments nutritifs favorisant leur développement. Il est connu aujourd'hui qu'il existe certaines souches bactériennes,

fongiques ou des levures qui aident à l'immobilisation du Cd dans le sol (Bambad et al., 2021). Par exemple, les bactéries appartenant à la famille des *Pseudomonas* sp. (Sarwar et al., 2023), *P. aeruginosa* (Suksabye et al., 2016) ou *Burkholderia* sp. (Yan et al., 2024), sont capables de bioaccumuler le Cd (Bravo et al., 2018) ou induire des mécanismes de précipitation ( $\text{CdCO}_3$ , par exemple). En outre, l'apport de nutriments par les amendements organiques augmente la compétition entre les cations et le Cd vis-à-vis des transporteurs racinaires des plantes. Néanmoins, Wang et al. (2024) ont montré que les différentes variétés, ici de riz, ont des réponses différentes à l'apport d'amendements organiques dans les sols, ce qui indique que les effets des amendements ne peuvent pas toujours être généralisés à toutes les cultures ni à toutes les variétés. La dose et la méthode d'application ainsi que le contexte pédoclimatique et biologique dans lequel les amendements organiques sont utilisés peuvent également modifier la réponse du sol à leur application (Wortman et al., 2017 ; Chen et al., 2018 ; Garbowksi et al., 2023)



**Figure 11:** Mécanismes d'immobilisations des éléments traces métalliques par les intrants organiques (Hamid et al., 2020).

Lopez et al. (2022) montrent, à partir d'une expérimentation sous serre, que l'application de  $652 \text{ kg ha}^{-1}$  de biochar de quinoa a permis en 130 jours de réduire de 1,8 à 2,5 fois la concentration de Cd dans les feuilles de cacao, directement en lien avec la réduction de la fraction biodisponible de Cd dans le sol où les plantules ont poussé.

Une étude récente menée par Argüello et al. (2023) sur 30 mois en conditions de plein champ ont permis de comprendre que l'effet des amendements comme la chaux, le gypse ou le compost sur le Cd présent dans les feuilles dépend de l'acidité du sol. Si la concentration en Cd dans les feuilles a diminué dans le cas d'un sol acide (5,1), ce n'était pas le cas dans un sol initialement neutre (6,6). En effet, à Trinidad de Tobago, Ramtahal et al. (2019) ont également réussi à réduire en peu de temps les teneurs en Cd disponible dans les sols (environ 50 % de réduction) ainsi que le Cd dans les feuilles (-25 à 31 %) grâce à l'application de jusqu'à  $652 \text{ kg ha}^{-1}$  de biochar. Néanmoins les sols étudiés étaient considérablement acides avec un pH de 4,9.

De plus, dans l'étude d'Argüello et al. (2023) aucun des IO n'a permis de réduire les teneurs en Cd dans les fèves de cacao, suggérant que les effets observés dans les feuilles seraient encore plus retardés dans les fèves ou que d'autres processus et sources sont en jeu dans l'accumulation du Cd dans les fruits. Ce dernier résultat est probablement dû au faible transfert du Cd des feuilles vers les fèves.

### **3.4. L'utilisation des intrants organiques pour la souveraineté des producteurs de cacao**

La souveraineté est synonyme d'autonomie et d'indépendance. Dans notre étude, l'un des objectifs principaux était d'accroître la souveraineté des producteurs en matière de fertilisation des sols de sorte qu'à terme, ils soient en mesure de produire eux-mêmes leurs propres intrants avec des coûts de production limités et en pleine connaissance de ce qui est introduit dans leur plantation. S'il est fréquent d'associer les bio intrants à une meilleure qualité des sols et des aliments, et donc à la santé des consommateurs, il ne faut pas oublier que les agriculteurs sont les premières victimes de l'application d'intrants chimiques. Dans les pays en développement, certains agriculteurs n'ont pas les connaissances ni les moyens suffisants pour se protéger efficacement contre la toxicité de ces intrants chimiques. Au Ghana, une étude auprès de cacaoculteurs révèle que 81 % des interviewés ( $n=92$ ) possédaient peu ou très peu de connaissances sur l'usage des herbicides, uniquement la moitié d'entre eux utilisait un équipement de protection lors de l'application des produits et environ la moitié également entrait à nouveau dans leurs parcelles peu après l'application d'herbicides (Ansah et al., 2023). Ces pratiques posent un problème considérable puisque ces agriculteurs sont exposés directement à des produits concentrés, toxiques et dangereux pour leur santé. L'utilisation de produits biologiques, naturels et libres de risques sanitaires représente incontestablement une solution à ce problème.

En ce qui concerne la problématique du Cd dans les fèves de cacao latinoaméricaines, les producteurs ont subi une baisse des prix d'achat d'environ 20 % dans l'Amazonie équatorienne à cause de leur forte concentration en Cd et, en Colombie, les investissements des entreprises ont été réduits dans les zones à fortes concentrations en Cd, rendant les agriculteurs encore plus vulnérables (Charry et al., 2023). Il est donc urgent de trouver des techniques agronomiques permettant de remédier à cette problématique, tout en favorisant la durabilité des exploitations.

Les intrants artisanaux, faits maison et peu coûteux, semblent être une stratégie prometteuse pour que les producteurs maîtrisent les intrants qu'ils apportent à leur verger, tout en réduisant leurs coûts de production et en préservant leur santé. C'est ce que nous avons étudié dans la présente thèse dans deux contextes géographiques distincts, afin d'identifier le potentiel des intrants organiques et biologiques pour une production saine et durable de cacao.

# 4. Matériel et méthodes

---

## 4.1. Typologie des fermes pilotes, plans d'expérience et échantillonnage par site d'étude

### 4.1.1. Équateur

#### 4.1.1.1. Localisation et typologie des fermes pilotes

L'étude a été conduite dans 15 fermes pilotes réparties dans 3 provinces le long de la côte pacifique équatorienne où les conditions agroécologiques sont appropriées à la culture du cacao et qui représentent plus de la moitié de la production nationale : Esmeraldas et Manabí au Nord-Ouest et Guayas au Sud-Ouest du pays. Au sein de chaque province, l'expérimentation a été mise en place dans 5 fermes appartenant à une coopérative agricole partenaire commerciale de la SCOP ETHIQUABLE®. À Esmeraldas, Manabí et Guayas les coopératives agricoles correspondantes sont, respectivement, *Federación de Organizaciones Negras y Mestizas del Sur Occidente de Esmeraldas Atacames y Muisne* (FONMSOEAM), *Unión de Organizaciones Campesinas Cacaoteras* (UNOCACE) et *Unión Regional de Organizaciones Campesinas del Litoral* (UROCAL), comme le montre la figure 12.

Le tableau 1 présente les caractéristiques (localisation, type de sol et altitude) de chaque ferme pilote pour chaque province, un nom simplifié a été attribué à chacune.



**Figure 12:** Localisation des 3 coopératives agricoles partenaires (FONMSOEAM, UNOCACE et UROCAL) en Équateur.

**Tableau 1:** Caractéristiques générales des 15 fermes pilotes équatoriennes.<sup>1</sup> Selon la classification mondiale « Harmonized soil database V2 ».

ESMERALDAS				
Producteur	Code	Canton	Type de sol <sup>1</sup>	Altitude (m)
Roger VERA	F1	San José	Inceptisol - Udepts	0
José SALCEDO	F2	San José	Inceptisol - Udepts	30
Olquin OLIVEROS	F3	San José	Inceptisol - Udepts	29
Mario ARCE	F4	La Union	Inceptisol - Udepts	58
Guilber VERA	F5	San José	Inceptisol - Udepts	26
MANABI				
Producteur	Code	Canton	Type de sol <sup>1</sup>	Altitude (m)
Zaïda PARRAGA	M1	Pedernales	Inceptisol - Udepts	20
Kelvin DELGADO	M2	Pedernales	Inceptisol - Udepts	0
Manuel PARRAGA	M3	Pedernales	Inceptisol - Udepts	0
Agustina LOOR	M4	Pedernales	Inceptisol - Udepts	0
Freddy LOOR	M5			0
GUAYAS				
Producteur	Code	Canton	Type de sol <sup>1</sup>	Altitude (m)
Monica BUENO	U1	Puerto Inca	Inceptisol -Ustepts	0
Angel REMACHE	U2	Puerto Inca	Inceptisol -Ustepts	0
José LUCERO	U3	Puerto Inca	Inceptisol -Ustepts	0
Angel SUMBA	U4	Puerto Inca	Inceptisol -Ustepts	0
Cecilia LITARDO	U5			0

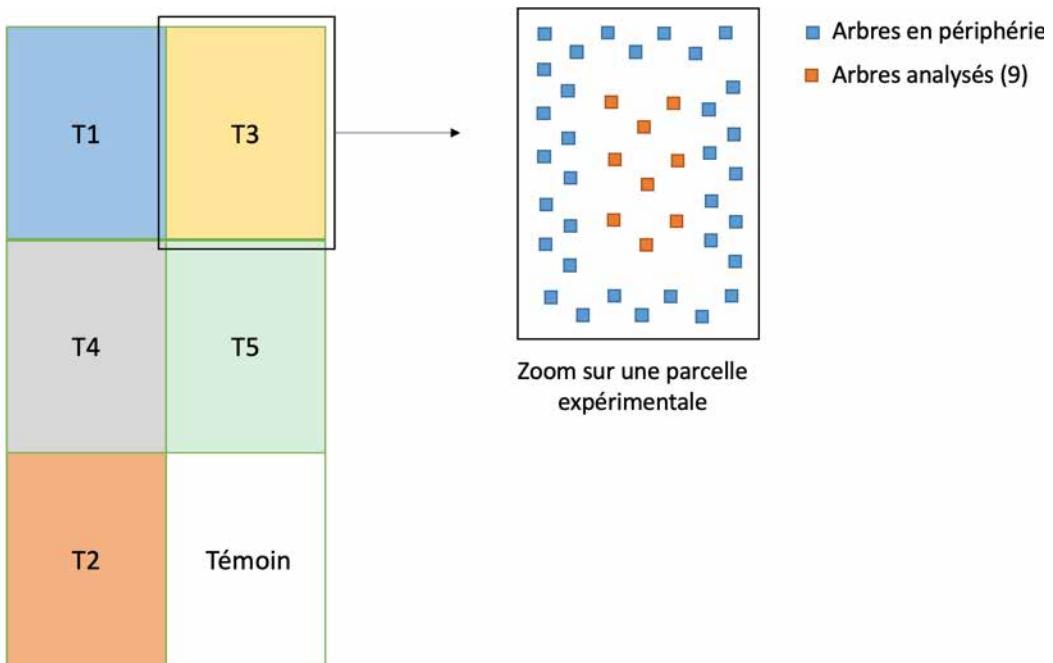
Les exploitations sont certifiées Agriculture Biologique® (AB) et Symbole des Petits Producteurs® (SPP) et produisent également le cacao en agroforesterie. Plusieurs critères pour le choix des producteurs ont été déterminés en amont de l'étude et l'un d'entre eux était la taille des cacaoyers comme bonne pratique agricole. Afin de contribuer à l'essor des « petits producteurs », nous avons choisi des exploitations de moins de 10 hectares (ha). Par ailleurs, il était important de ne choisir que des producteurs cultivant la variété *Nacional fino de aroma* par souci d'homogénéité des cultures et des fruits produits. Cette variété de cacao est emblématique de l'Équateur et du Pérou et possède des qualités organoleptiques très recherchées par les chocolatiers, ce pourquoi la SCOP ETHIQUABLE® cherche à conserver et promouvoir ce type de cacao. D'autre part, il était important de limiter la variabilité génétique puisque les cacaoyers diffèrent dans l'absorption et l'accumulation du Cd comme démontré par Lewis et al. (2018). Quant aux systèmes agroforestiers (SAF) au sein desquels les producteurs cultivent le cacao, ils peuvent différer entre les provinces selon leur degré de diversification. Au sein des SAF les plus simples, le cacao coexiste avec au moins deux autres espèces végétales dont les plus fréquemment rencontrées appartiennent aux *Musacées* (bananes dessert, bananes plantains essentiellement) et aux *Citrus* (orangers, citronniers, etc.). À Esmeraldas, les SAF sont les plus diversifiés avec plus de six espèces (cocotiers, papayers, lauriers, ananas, ...) autres que le cacao, tandis qu'à Manabí les SAF restent les moins diversifiés avec essentiellement des bananiers et des *Guabas* (légumineuses ligneuses) accompagnant le cacao, comme en témoigne la photographie de la Figure 13.



**Figure 13:** Exploitation de Agustina Loor (Manabí, Équateur) où le cacao est mélangé à des bananiers et des arbres à bois. L. Marchive<sup>©</sup>

#### **4.1.1.2. Schéma expérimental mis en œuvre au sein des fermes équatoriennes**

Au sein de chaque ferme, le même protocole expérimental (Figure 14) a été mis en place afin de tester les mêmes amendements organiques (AO) et biofertilisants (BF) sous plusieurs contextes pédoclimatiques. Dans ce but, 6 parcelles ont été délimitées dans chacune des fermes à l'aide de rubalisés (Figure 15) dont 5 correspondent aux traitements testés et la dernière parcelle étant le témoin où aucun AO ou BF n'a été appliqué (puisque il s'agit de la pratique agricole employée par les producteurs avant l'expérimentation). Afin de n'utiliser que 0.05 ha de chaque ferme, chaque parcelle contient 9 arbres expérimentaux (~81 m<sup>2</sup> par parcelle, les arbres étant espacés d'environ 3 mètres les uns des autres) et pour limiter la dispersion des traitements, les parcelles sont séparées les unes des autres par trois rangées de cacao, soit 8 à 10 m (Figure 14).



**Figure 14 :** Schéma de l'expérimentation mise en place dans chacune des 15 fermes pilotes en Équateur.



**Figure 15:** Parcelle expérimentale dans la ferme de Mario Arce (Esmeraldas, Équateur, Novembre 2020). L. Marchive<sup>©</sup>

Les intrants testés sont par principe tous artisanaux et fabriqués par les producteurs pilotes et les techniciens de chaque coopérative suite à la formation prodiguée par l'expert Rémi Thinard de Symbiotik Agroécologie®. Cet expert a mis en place, en amont de l'étude et en coopération avec la SCOP ETHIQUABLE®, une « biofabrique » par province dédiée à la production locale des intrants. Ces intrants sont : le « bokashi » qui est un compost, le biochar ou charbon végétal, un biofertilisant (BF) liquide obtenu après macération de litière forestière et de sulfates de Zn, Mg, Mn et de chaux, et enfin, une solution de microorganismes efficaces (SME) qui résulte de la macération de cette litière forestière sans suppléments. Ces quatre intrants ont été testés sous différentes combinaisons (T1 à T5) afin d'évaluer leurs effets sur l'absorption et l'accumulation de Cd par les cacaoyers ainsi que sur le rendement et l'incidence des maladies, comme le montre le tableau 2 et la figure 16. Les recettes et les doses testées ont également été déterminées par le spécialiste Rémi Thinard en amont de l'étude et inspirées de recettes empiriques d'Amérique latine (Restrepo, 2007).

**Tableau 2:** Détail des traitements appliqués dans les 15 fermes pilotes en Équateur. Les doses correspondent à une application.

2 applications par an (février et août)				
Traitement	Biochar 2Kg/arbre	Bokashi 2Kg/arbre	BF 0,2L/arbre	SME 0,2L/arbre
T1	X		X	
T2		X	X	
T3		X		X
T4	X		X	X
T5	X	X	X	
<b>Témoin</b>				

**Le bokashi** (Figure 16-C et 18) est un compost issu de la fermentation de différentes sources de matières organiques (cosses de riz, mélasse, fientes de poule), de lifofer et de solution de microorganismes efficaces (Restrepo, 2007 ; Quiroz et Céspedes, 2018 ; Aguilar, 2020 ;

Urra et al., 2019). Son application a été réalisée en enterrant le compost dans trois trous autour du tronc de chaque arbre à environ 1,5 m et entre 0 et 10 cm de profondeur.

**Le biochar** (Figure 16-A et 16-D) résulte de la pyrolyse de troncs et de branches (Weber & Quicker, 2018), issus ici de l'arbre *Inga edulis* appelé localement « *Guaba* » qui est une légumineuse abondante dans les trois provinces étudiées. Les déchets végétaux sont carbonisés dans des tanks métalliques en conditions anaérobiques (Figure 16). Le charbon obtenu est broyé afin d'obtenir des petits morceaux mieux dégradés à la suite de son application dans le sol. Sa méthode d'application est identique à celle du bokashi expliquée précédemment.

**Le biofertilisant liquide (BF)** (Figure 16-B et 19) testé dans cette expérimentation a été réalisé à partir de microorganismes liquides, d'herbe fermentée, de petit-lait et d'eau (Symbiotik Agroécologie<sup>®</sup>, <https://symbiotik-agroecologie.fr/wp-content/uploads/2023/02/Recettes-Lifofer-solides-liquides-et-reactivations.pdf>; O'Neill et Ramos Abensur, 2022 : Aguilar, 2020). Après fermentation, on y ajoute le minéral d'intérêt pour obtenir un biofertilisant spécifique puis on peut mélanger ces derniers pour constituer un biofertilisant complexe. Pour un litre de BF, il y a 0,4 L de BioMg, 0,5 L de BioCa, 0,05 L de BioMn et 0,05 L de BioZn. Le BF est appliqué avec des pulvérisateurs essentiellement sur les feuilles, les branches et le tronc des cacaoyers.

**Les microorganismes liquides (MOL)** (Figure 17) sont réalisés à partir de microorganismes solides (MOS, résultant de la fermentation de lifofer) ayant macéré 10 jours dans une mélange d'eau et de mélasse au sein d'un bidon hermétique). Cet intrant est également appliqué via aspersion des arbres. (Symbiotik Agroécologie<sup>®</sup> ; Aguilar, 2020)



**Figure 16:** A – Dispositif de fabrication du biochar à Guayas, Équateur ; B – Tank de BioMg dans la biofabrique de Guayas, Équateur ; C – Piles de sacs de bokashi en fermentation dans la biofabrique d’Esmeraldas, Équateur ; D – Dispositif de fabrication du biochar à Manabí, Équateur. L. Marchive<sup>®</sup>

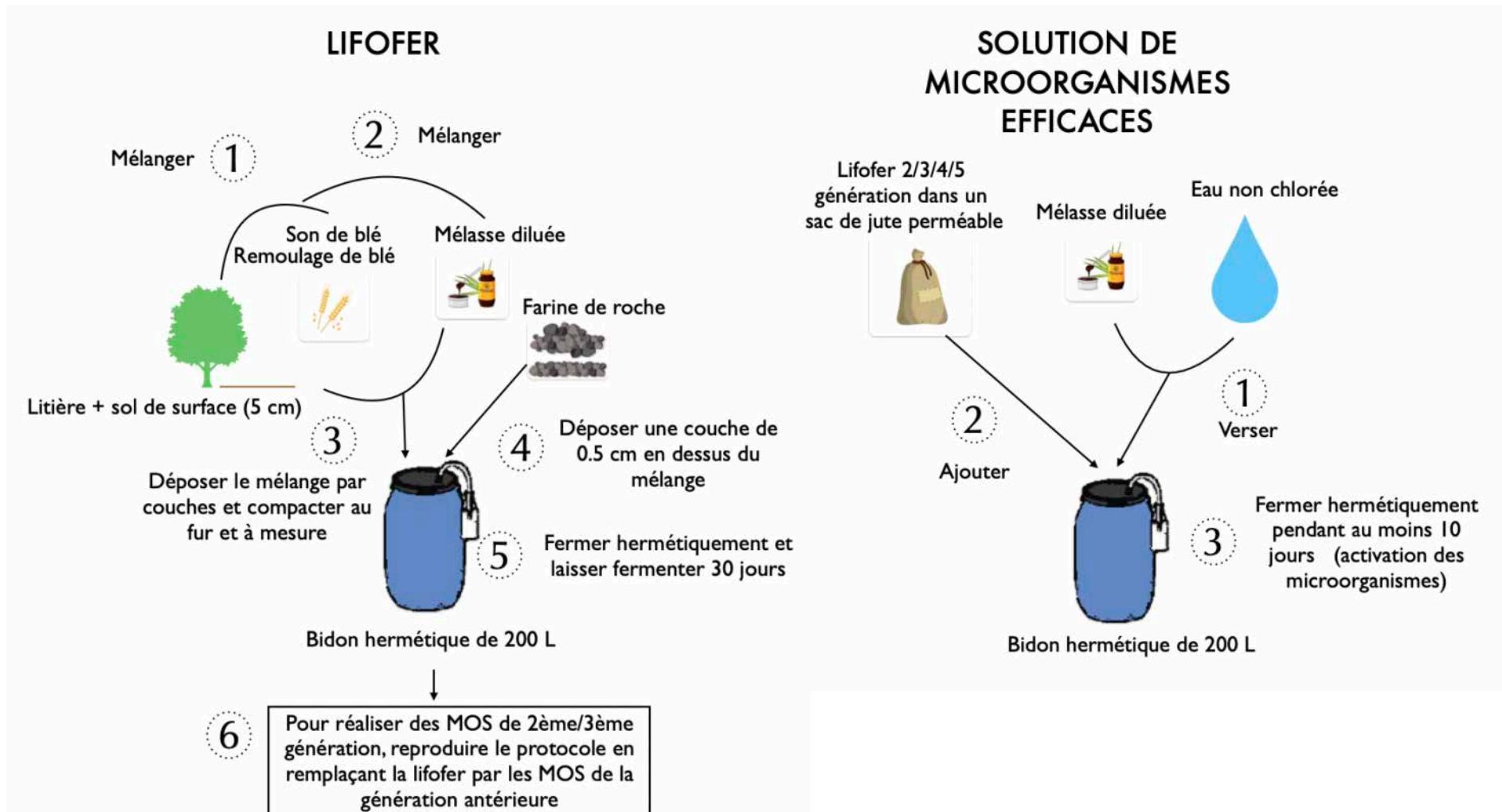


Figure 17: Processus de fabrication des microorganismes solides à partir de LIFOFER puis de la solution de microorganismes efficaces (SME).

## BOKASHI

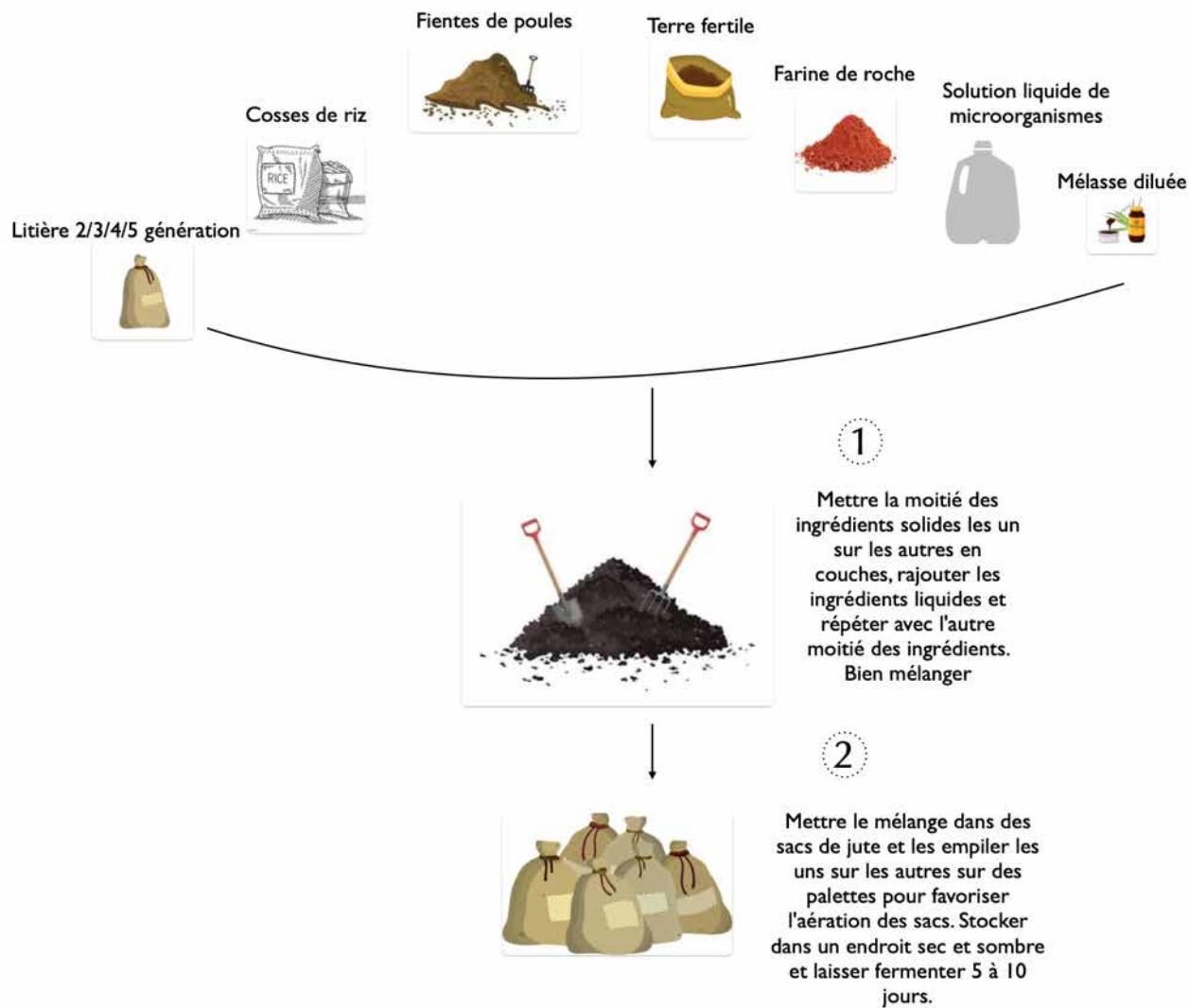


Figure 18: Processus de fabrication du Bokashi.

## BIOFERTILISANT LIQUIDE SPECIFIQUE - BFS (1 minéral d'intérêt)



## BIOFERTILISANT LIQUIDE COMPLEXE - BFC (mélange de BFS)

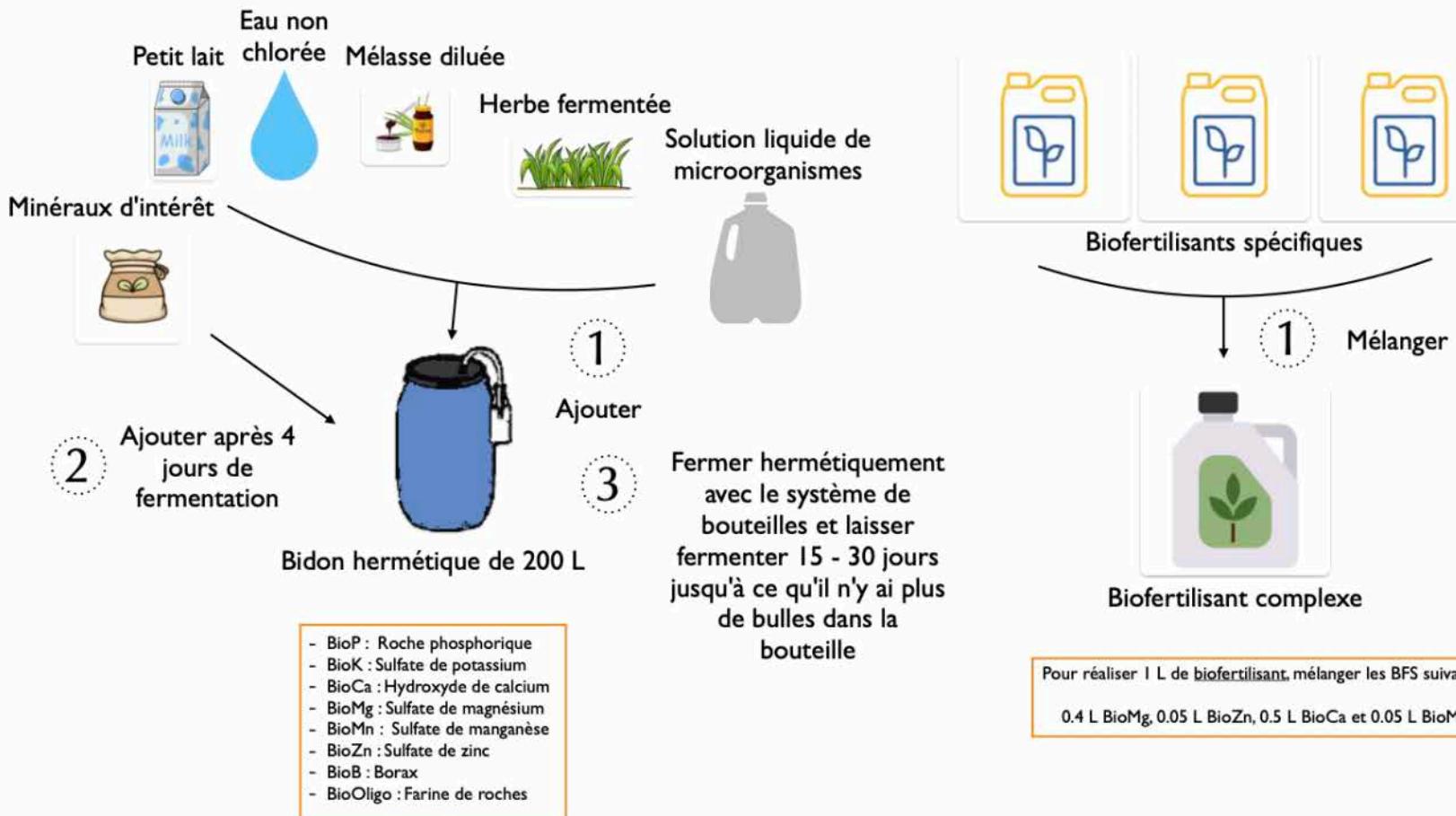
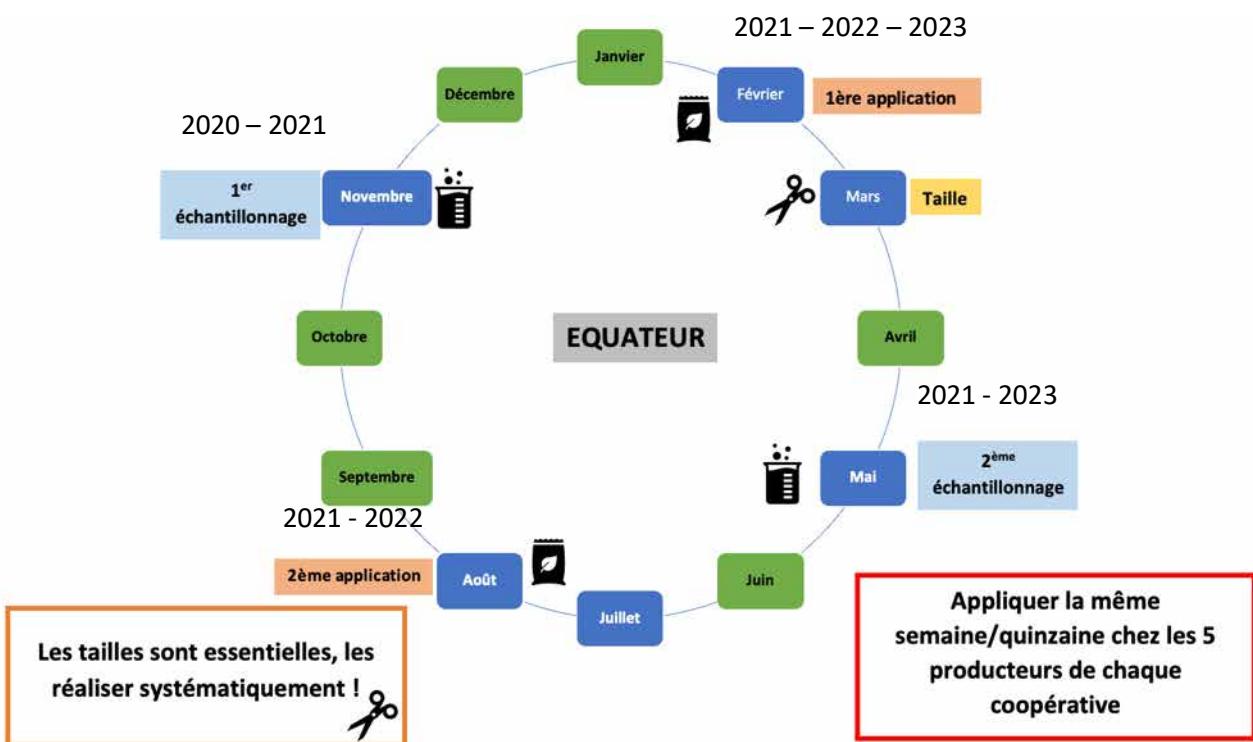


Figure 19: Processus de fabrication des biofertilisants spécifiques et complexes.

#### 4.1.1.3. Méthode d'échantillonnages

Durant toute la durée de cette expérimentation de plein champ, quatre campagnes d'échantillonnage ont été réalisées (Figure 20) : une première en novembre 2020 avant le début de l'application des traitements, une en mai 2021 (6 mois), une en novembre 2021 (12 mois) et enfin, une en mai 2023 (30 mois). Bien que collectés, les échantillons de la campagne à 6 mois n'ont finalement pas été analysés par la suite puisque les processus physicochimiques des sols étant parfois longs, il n'a pas été jugé utile de les exploiter au regard des moyens humains et financiers à disposition pour cette étude.



**Figure 20:** Calendrier des activités de terrain (taille et application des traitements) et des échantillonnages effectués chaque année dans les 15 exploitations équatoriennes.

Lors de chaque campagne, différentes matrices ont été collectées : le sol, les fèves de cacao, les feuilles fraîches, les feuilles de la litière ainsi que les OA et BF testés. Deux

types d'échantillons ont été collectés, à la fois des échantillons composites et des échantillons simples. Au total, 396 échantillons de sol, 378 fèves et 756 feuilles (fraîches + litière) ont été collectées pour la présente étude.

Concernant l'échantillonnage des sols, la litière de feuilles a été retirée au préalable autour de chacun des 9 arbres par parcelle pour prélever le sol à l'aide d'une tarière Edelman (Figure 21) entre 0 et 20 cm de profondeur (sol de surface, horizon organo-minéral). Les 9 échantillons prélevés ont été mélangés de façon homogène et 250 g d'échantillon ont été extraits pour constituer l'échantillon composite de chacune des parcelles expérimentales. Chaque extrait a ensuite été placé dans un sac hermétique et identifié. Ainsi, lors de chaque campagne, 90 échantillons composites de sol ont été obtenus pour l'ensemble des 15 fermes pilotes. En plus des composites, des échantillons simples ont été prélevés afin de déterminer si les échantillons composites étaient bien représentatifs de chaque parcelle et aussi d'étudier la distribution du Cd le long du profil de sol. Dans cet objectif, une seule ferme par province a été suivie tout au long de l'étude (soit 3 au total), et dans chaque parcelle expérimentale, les échantillons de sols ont été collectés au pied de l'arbre central. Afin de déterminer la distribution du Cd le long du profil de sol, trois profondeurs ont été échantillonnées : 0-20, 20-40 et 40-60 cm. Les trois fermes où les échantillons simples ont été collectés sont celles de Monica et Manuel Bueno (Guayas), Kelvin Delgado (Manabí) et Olquin Oliveros (Esmeraldas). Du fait que dans certaines parcelles il était difficile de prélever au-delà de 60 cm de profondeur, nous avons décidé de ne collecter que des échantillons entre 0-20 et 20-40 cm à partir de la 2<sup>ème</sup> campagne d'échantillonnage.



**Figure 21:** Échantillonnage de sol chez Mario Arce (à gauche) et chez Angel Remache (à droite) dans les provinces de Esmeraldas et Guayas, respectivement. Équateur, novembre 2020. Y. Cuaspa<sup>©</sup> (technicienne ETHIQUABLE<sup>©</sup>) et L. Marchive<sup>©</sup>.

Pour l'échantillonnage des fèves de cacao, 2 à 5 cabosses par parcelle ont été récupérées des arbres expérimentaux (selon la disponibilité des fruits) et 6 graines de chaque cabosse ont été extraites et mélangées afin d'obtenir un échantillon composite par parcelle (Figure 22). Ensuite, le mucilage et la pellicule de chaque graine ont été retirés manuellement à l'aide d'un couteau en céramique afin de ne garder que la fève. Afin de garantir la conservation de l'échantillon avant l'exportation au laboratoire d'analyses, les fèves ont été congelées pour éviter la fermentation puis la pourriture de celles-ci. Concernant les échantillons simples, dans les mêmes parcelles où les échantillons simples de sol ont été prélevés, les cabosses de l'arbre central ont été ouvertes et 6 graines en ont été extraites également.



**Figure 22:** Extraction des graines des cabosses de cacao et épeluchage manuel de la graine à l'aide d'un couteau en céramique pour ne garder que la fève. L. Marchive<sup>®</sup>.

Les feuilles de cacao (fraîches ou de la litière) ont été échantillonnées de la manière suivante : 3 feuilles ont été prélevées pour chacun des 9 arbres par parcelle et ensuite placées dans le même sac hermétique afin d'obtenir un échantillon composite. Pour les feuilles fraîches, ce sont les 3<sup>ème</sup> feuilles à partir de l'extrémité de la branche qui ont été prélevées (méthodologie proposée par l'*Instituto Nacional de Innovacion Agraria*, 2016, et recommandée par Snoeck et al., 2016). Concernant la litière, les feuilles ont été collectées au pied de chaque arbre. Pour les échantillons simples, 4 feuilles des arbres centraux des parcelles concernées ont été prélevées également (Figure 23).



**Figure 23:** Cabosses de cacao identifiées avant extraction des fèves (à gauche) et prélèvement des feuilles de la litière (à droite) par José Cedeño (technicien à Manabí). L. Marchive®

## 4.1.2. Côte d'Ivoire

### 4.1.2.1. Localisation et caractéristiques des fermes pilotes

En Côte d'Ivoire, l'étude a été menée dans deux départements : celui d'Abengourou à l'Est et celui de Tiassalé au Sud, dans la ville d'Abengourou et le village M'Brimbo, respectivement (Figure 24). Les sites sont distants de 300 km environ. Les deux coopératives partenaires étaient la Coopérative Agricole Mawoubé de Yéré Yéré (CAMAYE) et la Société Coopérative Équitable du Bandama (SCEB). Cinq producteurs pilotes ont été choisis dans chacune des coopératives.

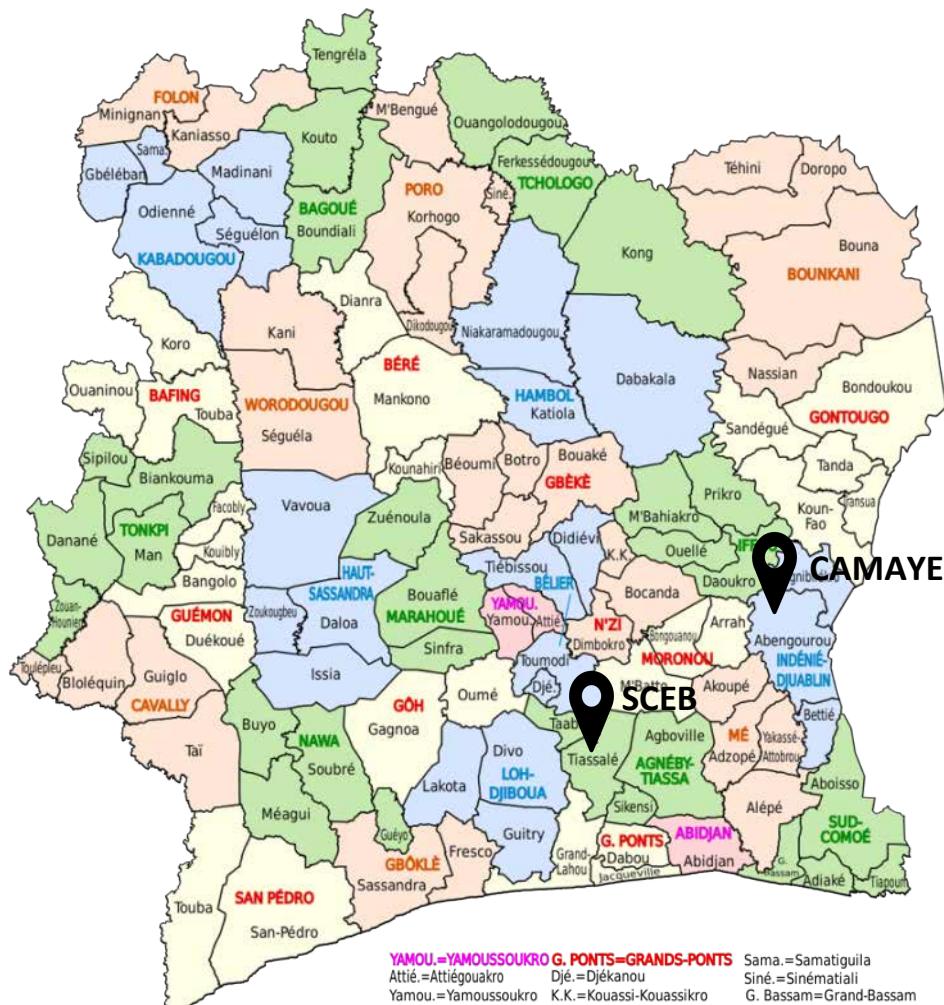


Figure 24: Localisation des coopératives partenaires CAMAYE et SCEB en Côte d'Ivoire.

Le tableau 3 présente les caractéristiques (localisation, type de sol et altitude) de chaque producteur mobilisé pour notre étude.

**Tableau 3:** Caractéristiques des 10 fermes pilotes en Côte d'Ivoire.<sup>1</sup> Selon la classification mondiale « Harmonized soil database V2 ».

<b>ABENGOUROU</b>				
<b>Producteur</b>	<b>Code</b>	<b>Localisation</b>	<b>Type de sol<sup>1</sup></b>	<b>Altitude (m)</b>
<b>Roger ADOU</b>	C1	Koitienkro	Plinthosol	172
<b>Fofana ZOUMANA</b>	C2	Amélékia	Plinthosol	165
<b>G'Niamien G'NIAMIEN</b>	C3	Zinzenou	Plinthosol	216
<b>Camille ABOU OI ABOU</b>	C4	Abengourou	Acrisol	175
<b>Issiaka NACOULMA</b>	C5	Kirifi	Plinthosol	200

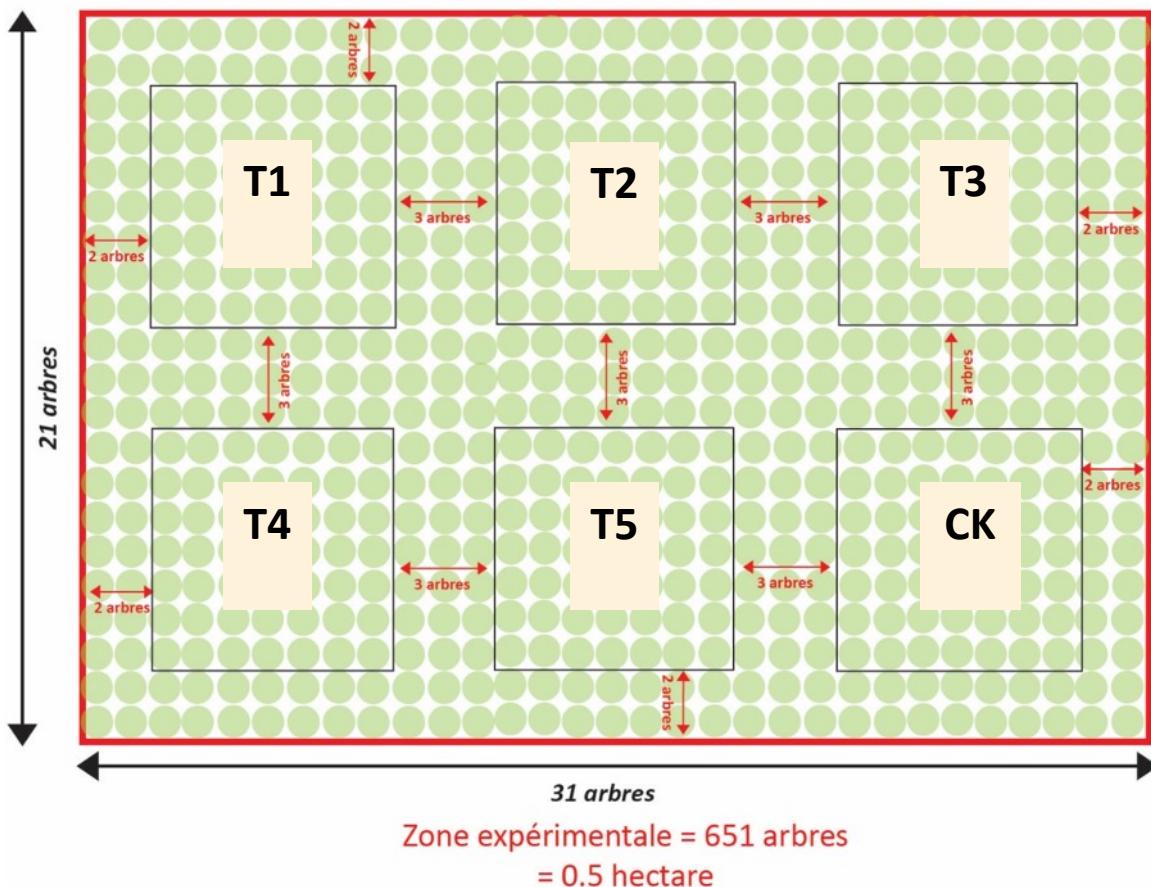
<b>M'BRIMBO</b>				
<b>Producteur</b>	<b>Code</b>	<b>Localisation</b>	<b>Type de sol<sup>1</sup></b>	<b>Altitude (m)</b>
<b>Bony SALO</b>	S1	M'Brimbo	Acrisol	45
<b>André KOALGA</b>	S2	M'Brimbo	Acrisol	45
<b>Sylvain BOTTY BI TAH</b>	S3	M'Brimbo	Acrisol	45
<b>Ambattien OUATTARA</b>	S4	M'Brimbo	Acrisol	45
<b>Alain KOUAKOU</b>	S5			

Les dix producteurs pilotes cultivent le cacao en Agriculture Biologique® et aussi sous la certification SPP®. Un critère important pour le choix des producteurs était qu'ils possèdent plus d'un hectare de plantation puisque les parcelles expérimentales sont d'environ 0,5 ha. Il fallait également que le producteur ait une gestion adéquate de la taille des cacaoyers et des adventices afin de maximiser l'effet potentiel des intrants testés

(Snoeck et al. 2016). La motivation du producteur en Côte d'Ivoire fut également un critère clé de sélection puisqu'il s'agit d'un engagement fort à moyen terme.

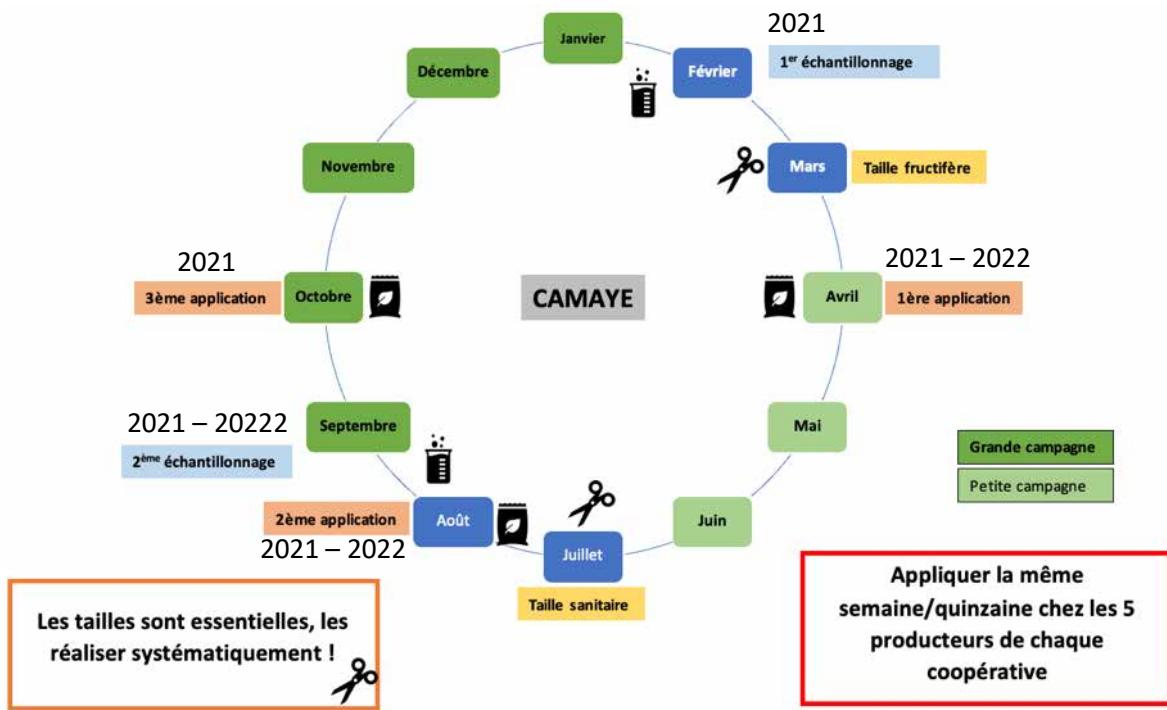
#### **4.1.2.2. Plan d'expérience mis en œuvre dans les fermes pilotes ivoiriennes**

Au sein de chaque ferme, et de façon similaire aux exploitations équatoriales, six parcelles expérimentales ont été délimitées. En Côte d'Ivoire, chaque parcelle compte 49 arbres. En effet, l'objectif de suivi primordial du rendement du cacao nécessite d'avoir davantage d'individus étudiés (Figure 25). Là encore, les six parcelles ont été espacées de 3 rangées d'arbres afin de limiter la dispersion des intrants vers les parcelles adjacentes.



**Figure 25:** Schéma du plan expérimental mise en place chez chaque producteur en Côte d'Ivoire.

Les amendements organiques et biofertilisants testés sont produits au sein des biofabriques à la fois par les techniciens des coopératives et par les responsables des biofabriques. L'ensemble du personnel a également été formé par Rémi Thinard de Symbiotik® pour la réalisation des recettes et la gestion d'une biofabrique. Les intrants testés sont : le bokashi (avec biochar), un biofertilisant liquide et les microorganismes liquides. Ceux-ci ont été appliqués sous plusieurs doses et combinaisons pour évaluer leur potentiel à augmenter les rendements et limiter l'incidence des maladies et ravageurs (Tableau 4). Les traitements ont été appliqués trois fois par an en avril, août et octobre (Figure 26 et Annexe 1).



**Figure 26:** Calendrier des activités de terrain (taille et application des traitements) et des échantillonnages effectués chaque année dans les 10 exploitations ivoiriennes.

**Tableau 4:** Détail des traitements appliqués dans les 10 fermes pilotes en Côte d'Ivoire. Les doses correspondent à une seule application.

Traitement	Bokashi avec biochar 1 Kg/arbre	Bokashi avec biochar 2 Kg/arbre	BF 0,1 L/arbre	SME 0,1 L/arbre
T1	X			
T2	X		X	X
T3		X		
T4		X	X	X
T5			X	X
<b>Témoin</b>				

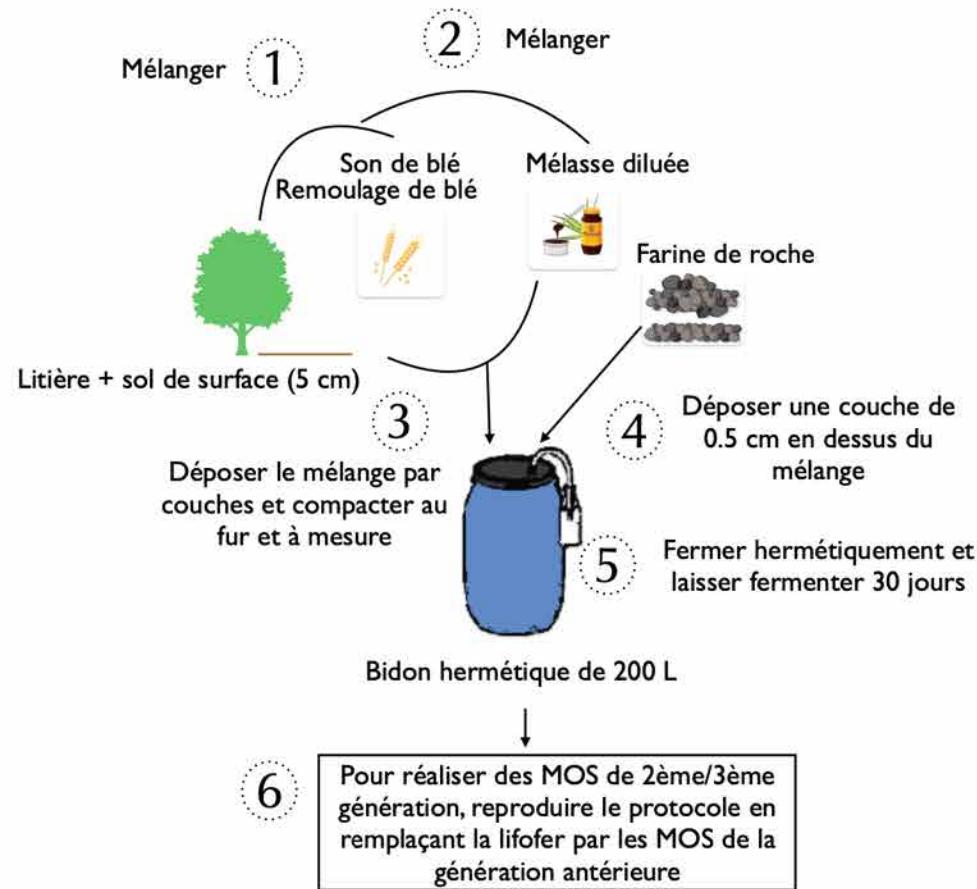
Le bokashi (BK) (Figure 28) constitue un mélange de diverses sources de matières organiques (remoulage et cosses de riz, fumier, cabosses de cacao, etc.) et de charbon végétal. Ces ingrédients sont mélangés et stockés dans des sacs de jute ou en plastique aérés dans un endroit sec et sombre pendant 5 à 10 jours. L'application du bokashi est réalisée en répandant le compost en couronne autour de chaque tronc d'arbre après avoir retiré la litière. Ensuite, il est recouvert de litière pour le mettre à l'abri des pluies et de l'incidence directe de lumière.

Les biofertilisants (BF) (Figure 29) correspondent à un mélange d'inoculant (fermentation d'herbe, son de céréales, remoulage, mélasse, MOS et MOL), de mélasse, MOL, petit lait et eau. Une fois ce mélange fermenté de 15 à 30 jours dans un bidon hermétique, on y ajoute des minéraux d'intérêt. Dans ce cas on a testé l'alternance de deux BF : le « biofloraison » à appliquer lors de l'époque de floraison du cacao (août) et le « biofructification » (appliqué en mars et octobre) pour favoriser le développement des fruits. Pour élaborer 50 L de **biofloraison**, il faut mélanger les BF individuels : 7,5 L de BioP (roche phosphorique), 11,5 L de BioK (sulfate de potassium), 7,5 L de BioCa (hydroxyde de calcium), 10 L de BioMg (sulfate de magnésium), 2,5 L de BioMn (sulfate de manganèse), 3,5 L de BioZn (sulfate de zinc), 5 L de BioB (borax) et 2,5 L de BioOligo (farine de roche). Pour fabriquer le **biofructification**, il faut mélanger : 5 L de BioP, 14 L de BioK, 5 L de BioCa, 7,5 L de BioMg,

2,5 L de BioMn, 3,5 L de BioZn, 10L de BioB et 2,5 de BioOligo. Ces BF sont appliqués sur les feuilles, branches et troncs des arbres à l'aide d'un pulvérisateur.

**Les microorganismes liquides (Figure 27)** sont préparés selon une recette identique à celle d'Équateur : réalisation des SME puis dilution avec de la mélasse et de l'eau pour une fermentation de 10 jours. Ce produit est appliqué par pulvérisation sur les feuilles, troncs et branches des arbres.

## LIFOFER



## SOLUTION DE MICROORGANISMES EFFICACES

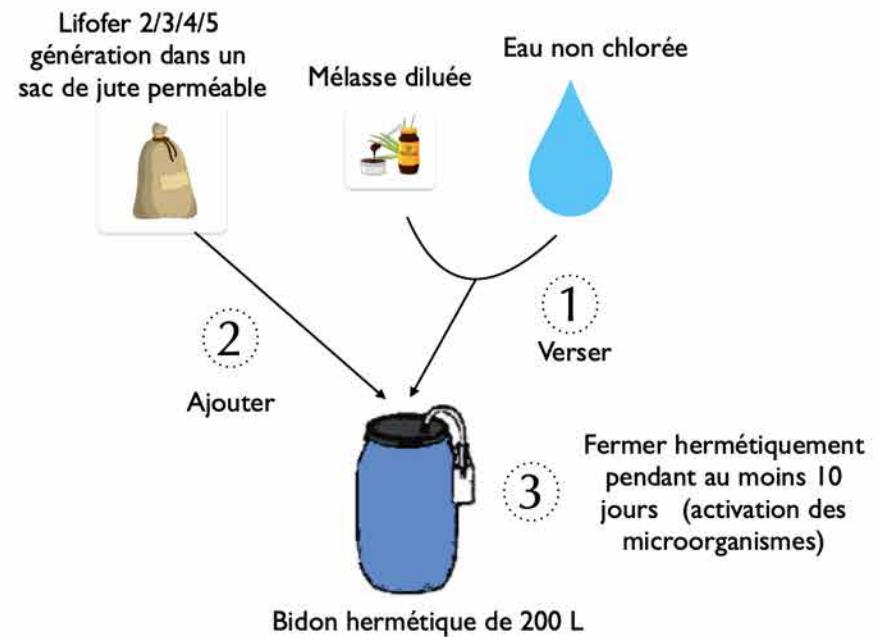


Figure 27: Processus de fabrication de la LIFOFER (litière forestière fermentée) à gauche et la solution de microorganismes efficaces, à droite.

## BOKASHI

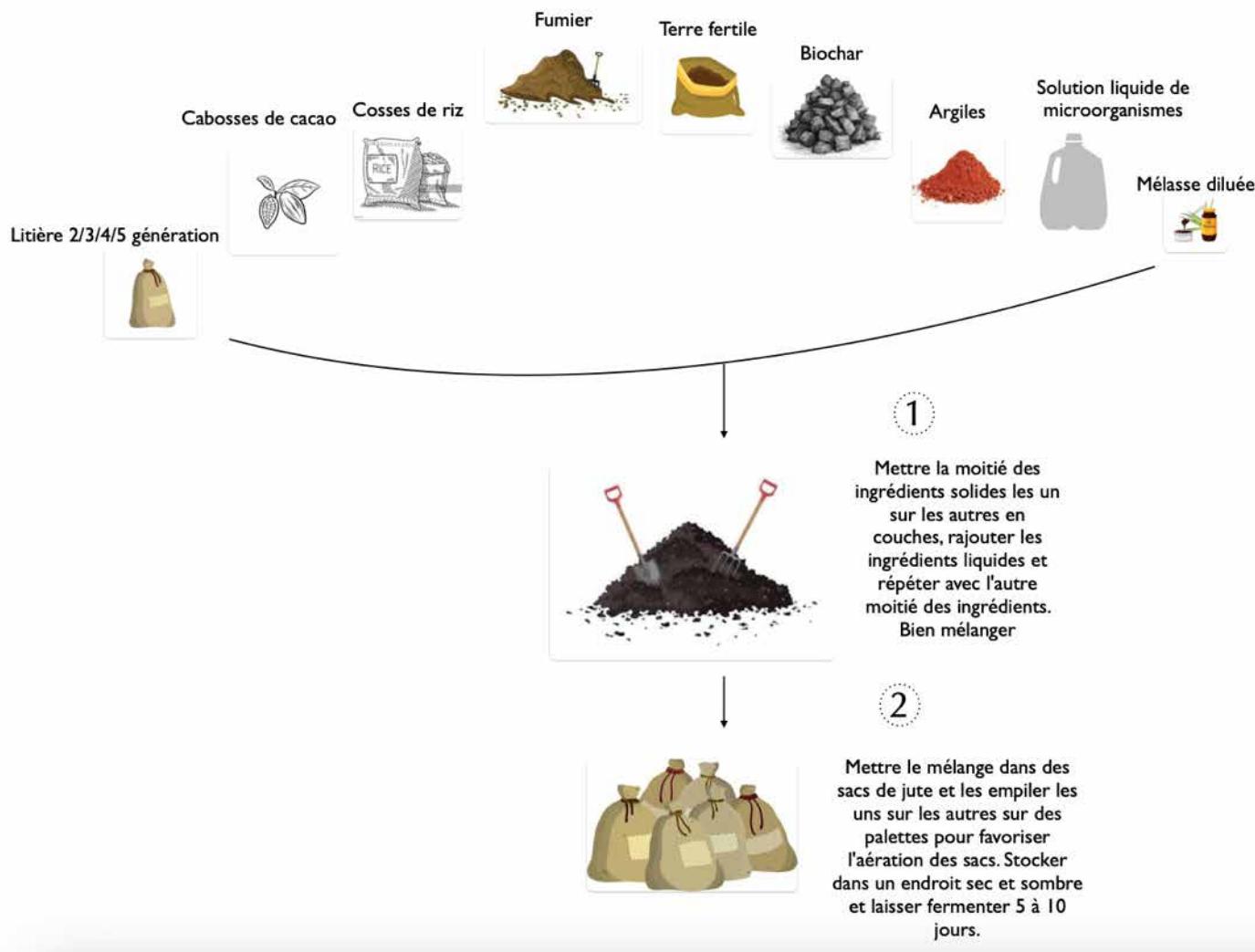
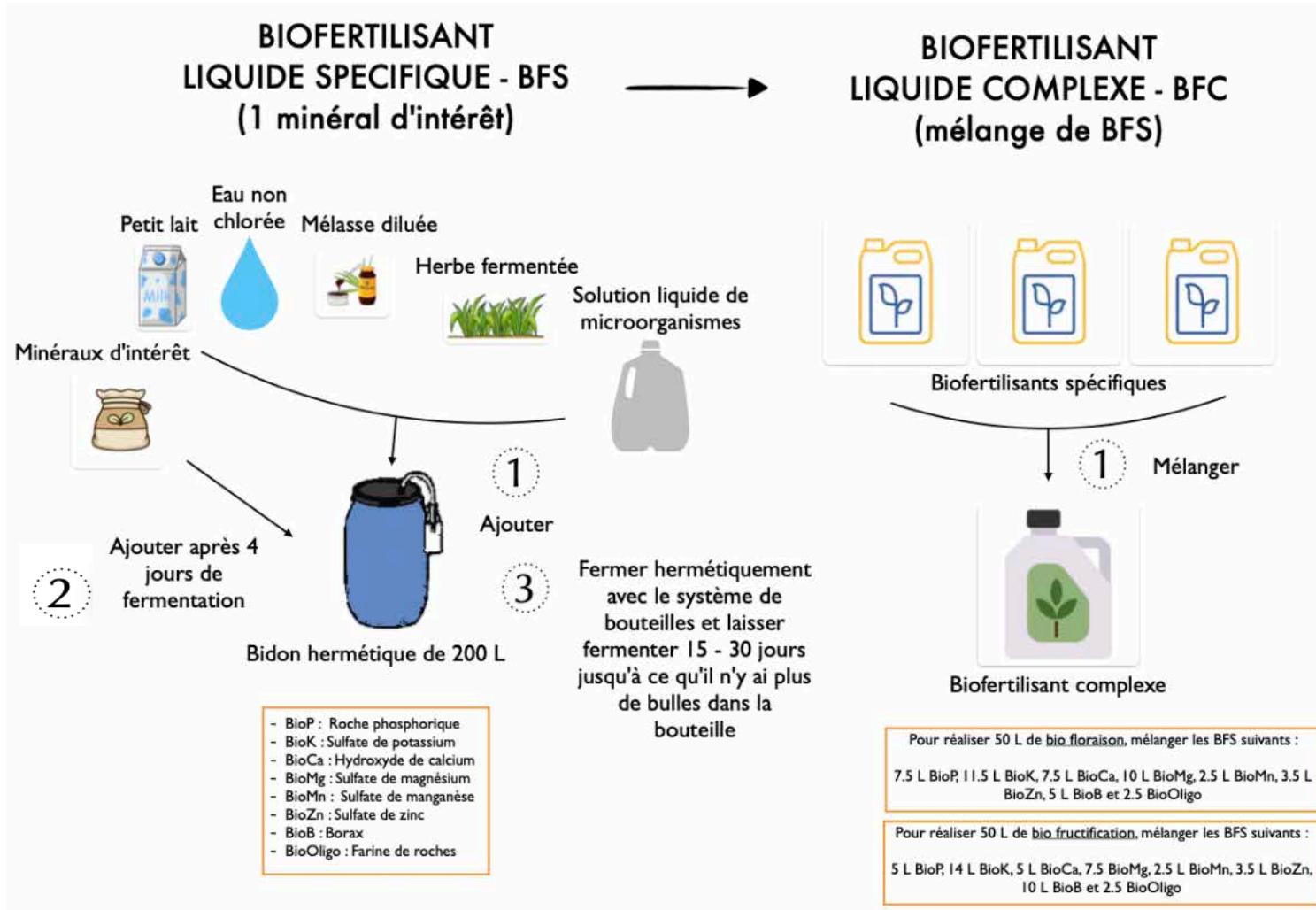


Figure 28 : Processus de fabrication du bokashi en Côte d'Ivoire.

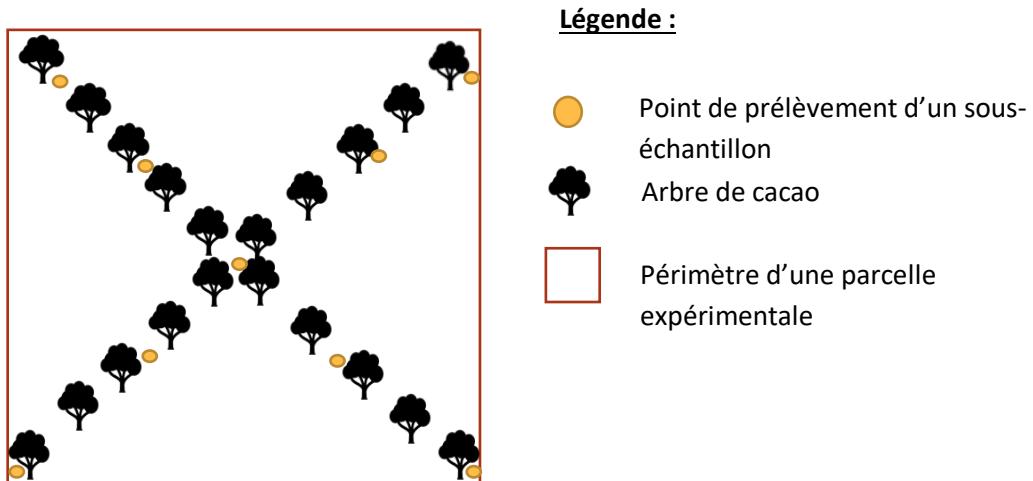


**Figure 29:** Processus de fabrication des biofertilisants liquides complexes à partir des biofertilisant spécifiques.

#### 4.1.2.3. Méthode d'échantillonnages

Trois campagnes d'échantillonnage ont été réalisées tout au long de l'étude. La première s'est tenue en février 2021, puis 5 mois après la première application une seconde a eu lieu en septembre 2021 et enfin la dernière s'est tenue en octobre 2022, soit un an et demi après la première application. Lors de ces campagnes de terrain, des échantillons composites de sols et bio intrants ont été collectés.

Les prélèvements de sols ont été réalisés dans chacune des 60 parcelles expérimentales. Pour ce faire, 10 sous-échantillons ont été prélevés à l'aide d'une tarière Edelman (Figure 30) entre 0 et 20 cm de profondeur suivant la méthode d'échantillonnage non systématique en X (ISO, 1993). Ces sous-échantillons ont été mélangés de façon homogène puis 250 g d'échantillon composite ont été extraits et placés dans un sac plastique hermétique et identifié (Figure 31). Les amendements organiques solides ont été collectés aux 1<sup>er</sup> et 3<sup>ème</sup> échantillonnages, tandis que les liquides n'étaient disponibles qu'aux 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup>.



**Figure 30:** Schéma de la méthode d'échantillonnage des sols en Côte d'Ivoire, méthode en X (ISO, 1993).



**Figure 31:** Échantillonnage des sols avec l'aide des techniciens de la coopérative CAMAYE (Février 2021), Abengourou, Côte d'Ivoire. S. Senan<sup>©</sup> (ex-agronome de la SCOP ETHIQUABLE<sup>®</sup>).

## 4.2. Analyses en laboratoire et mesures *in-situ*

### 4.2.1. Traitement préalable des échantillons

En amont des analyses physicochimiques les échantillons ont d'abord été séchés à l'étuve à 40°C quelle que soit la matrice considérée (sols, tissus végétaux, amendements organiques) pendant 4 à 7 jours selon le taux d'humidité des échantillons prélevés.

Une fois secs, les échantillons ont été broyés afin d'obtenir une poudre fine pour les tissus de cacao et une fraction fine pour les sols (Figure 32). Pour ce faire, les fèves de cacao ont été broyées manuellement à l'aide d'un mortier en agate. Les feuilles ont été réduites en poudre à l'aide d'un broyeur électrique prévu à cet effet (Retsch GM 2000<sup>®</sup>). Les sols ont été broyés manuellement dans un mortier en porcelaine puis tamisés à l'aide d'un tamis en nylon afin de conserver uniquement la fraction fine de sol (< 2mm). Quelle que soit la matrice, l'outil de broyage a été lavé à l'eau puis à l'éthanol entre chaque échantillon afin d'éviter les contaminations croisées.

Ces traitements ont été effectués au laboratoire GET à Toulouse (France) pour tous les échantillons mis à part ceux provenant de la province de Guayas. Ces derniers ont été traités au laboratoire de sols de l'établissement ESPOL, *Escuela Superior Politécnica del Litoral* (Guayaquil, Équateur) dans le cadre du projet Clima-LoCa.

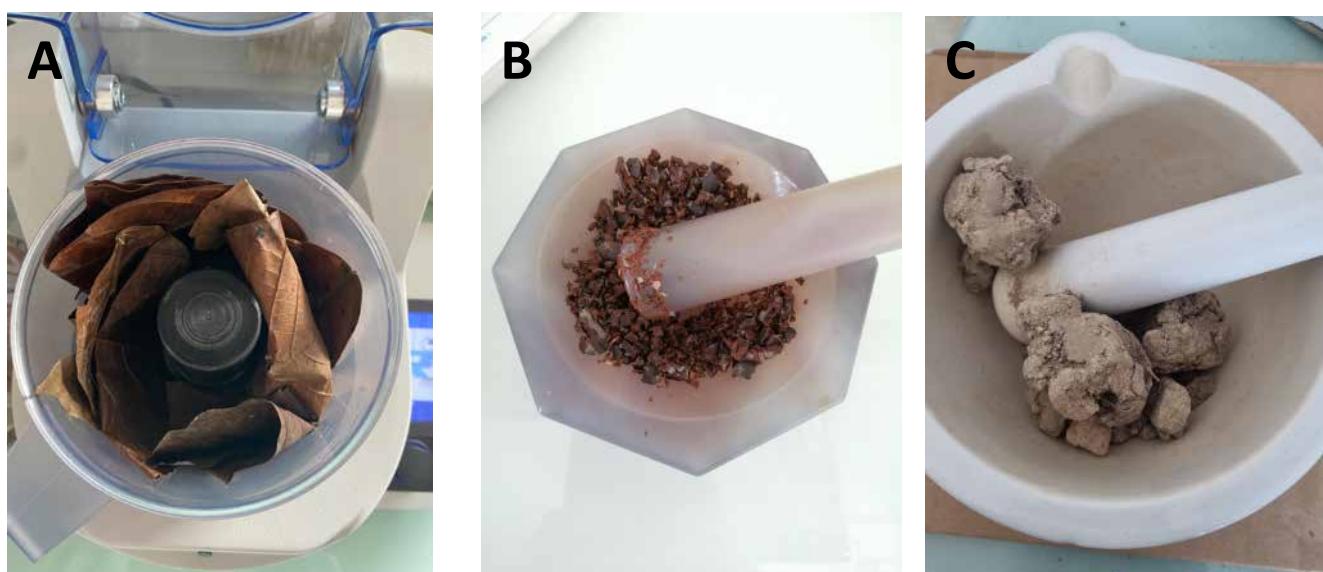


Figure 32: Broyage des feuilles de cacao (A), des fèves de cacao (B) et des sols (C). L. Marchive<sup>®</sup>

## 4.2.2. Analyses physicochimiques des échantillons de sol et des amendements organiques solides (biochar, bokashi)

Pour tester les effets des amendements organiques et biofertilisants sur la qualité des sols, plusieurs paramètres physicochimiques ont été mesurés. Il est important de souligner que l'ensemble de la vaisselle et les consommables employés lors des analyses ont été préalablement lavés pour éviter toute contamination par l'environnement de travail (acide chlorhydrique (HCl) 1% + eau ultra pure pour les consommables et acide chlorhydrique technique + acide nitrique technique ( $\text{HNO}_3$ ) + eau ultra pure pour les Savillex<sup>®</sup> en téflon). La multiplicité des laboratoires d'analyses découle du fait que la présente étude s'inscrit dans plusieurs projets comme détaillé dans le chapitre 2 « Historique de l'étude ». Les analyses des échantillons de Guayas en Équateur ont été financées par le projet Clima-LoCa dont le laboratoire d'analyse est celui de l'Université de Nottingham. Les analyses de Guayas ont été effectuées au laboratoire de la *Escuela Superior Politécnica del Litoral* à Guayaquil en Équateur également.

Les propriétés des sols et des amendements organiques solides (bokashi et biochar) ont été déterminées de la manière suivante (Figure 33) :

- **pH – Norme ISO 10390 :**

Dissolution de 5 g d'échantillon de sol dans 25 mL d'eau ultra pure puis agitation mécanique pendant 1 heure. Après décantation, le pH a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre de terrain Fieldscout<sup>®</sup> soilstick. Chaque échantillon a été analysé en triplicats pour obtenir le pH moyen sur trois mesures. *Laboratoire GET (Toulouse, France)*.

- **Capacité d'Échange Cationique (CEC) – Norme AFNOR X 31-130 – Ciesielski et al. (1996) :**

Dissolution de 2 g d'échantillon de sol dans 30 ml de solution de cobalthexamine 0,0208 mol L<sup>-1</sup>. La solution est agitée mécaniquement pendant 1 heure puis laissée à décanter. Ensuite, la solution est filtrée à l'aide de seringues et filtres en acétate de cellulose (0,22 µm). L'absorbance est ensuite mesurée par spectrocolorimétrie à 475 nm (spectromètre Varian's Cary<sup>®</sup> 50). *Laboratoire GET (Toulouse, France)*.

- **Texture – Norme ISO 13320-1 :**

Les pourcentages d'argiles (< 2 µm), de limons (entre 2 et 50 µm) et de sables (entre 50 µm et 2 mm) ont été déterminées par granulométrie de diffraction laser par voie humide (Horiba® LA-950V2) après dispersion des échantillons à l'hexamétaphosphate de sodium. Les valeurs sont ensuite reportées dans un diagramme ternaire afin de déterminer la texture de chaque sol. *Laboratoire Écologie Fonctionnelle et Environnement (Toulouse, France)*.

- **Carbone organique ( $C_{org}$ ) et azote total ( $N_{tot}$ ) – Norme ISO 10694 et 13878 – Nelson et al. (1984) :**

Le  $C_{org}$  et  $N_{tot}$  ont été dosés après décarbonatation des échantillons de sol et ont été analysés par combustion sèche à l'aide d'un analyseur élémentaire (Thermoscientific® Flash 2000). *Laboratoire Écologie Fonctionnelle et Environnement (Toulouse, France)*.

- **Fraction réactive des éléments – Méthode Mehlich 3 (Mehlich, 1984) :**

La méthode Mehlich 3 (M3) permet d'extraire les fractions élémentaires solubles, échangeables, liées aux carbonates et à la matière organique, comme mis en évidence par Chavez et al. (2015). De plus, Lewis et al. (2021) à Trinidad de Tobago ont montré qu'il s'agit de la méthode d'extraction qui permet d'obtenir les concentrations élémentaires les mieux corrélées à celles mesurées dans les feuilles de cacao. Pour ce faire, une solution d'acide acétique 0,2N, de nitrate d'ammonium 0,2N, fluorure d'ammonium 0,015N, acide nitrique 0,013N et EDTA 0,001M est préparée. Ensuite, 2 g de sol sont dissous dans 20 mL de la solution M3 puis agitées mécaniquement durant 5mn. Après décantation, les solutions sont filtrées à l'aide de seringues et de filtres en acétate de cellulose (0,22 µm). Pour s'assurer de la propreté de la mise en œuvre du protocole, un blanc de réactifs a été inclus tous les 10 échantillons. Pour évaluer la reproductibilité du protocole et l'homogénéité des échantillons, un duplicat d'échantillon a été inclus tous les 5 échantillons. L'analyse des échantillons a été effectuée par spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS, Fischer Scientific® iCAP TQ) pour déterminer les concentrations élémentaires réactives des échantillons de sol. Pour les échantillons de Guayas, analysés en Équateur, l'analyse a

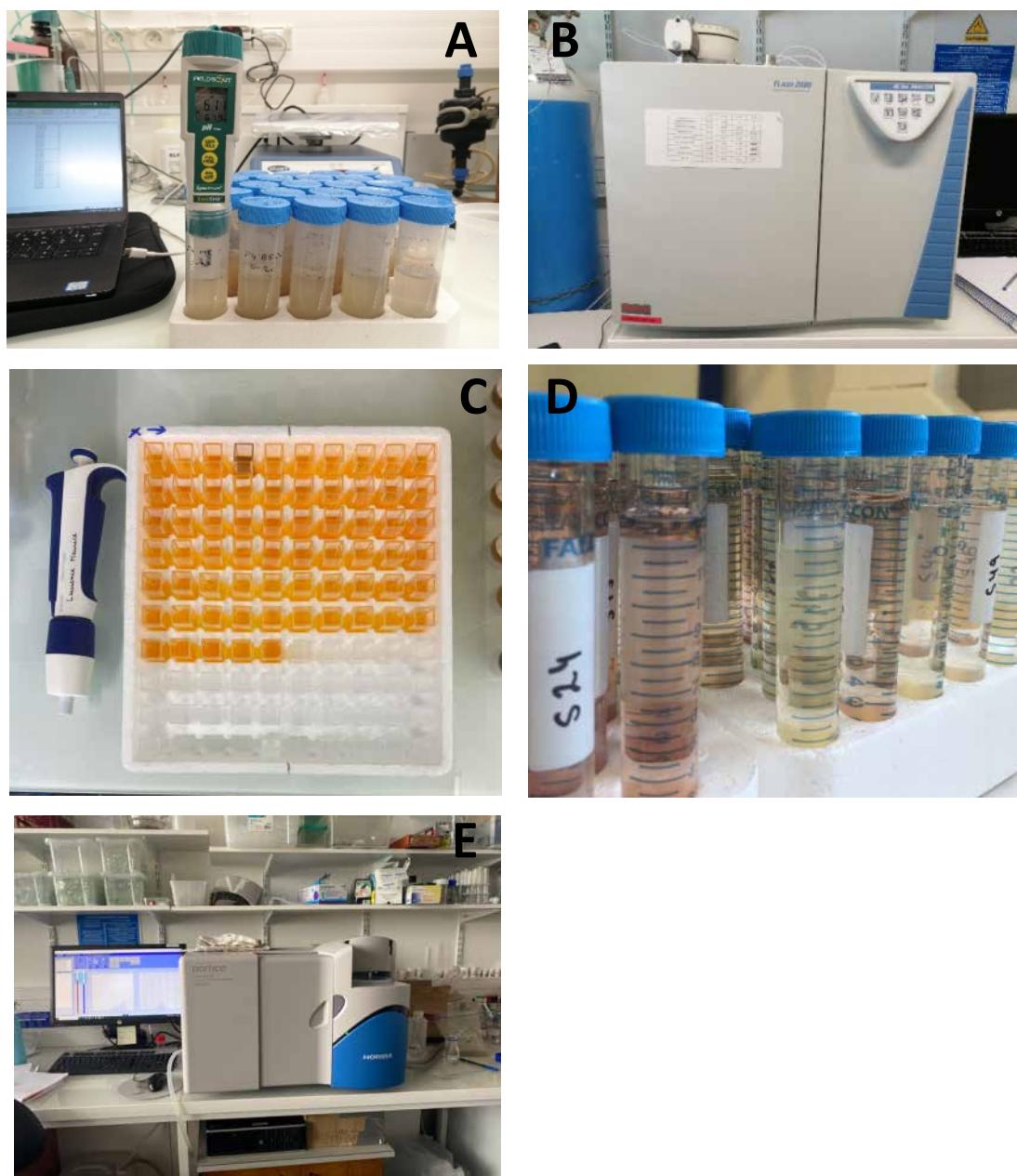
été réalisée par spectrométrie d'émission optique (ICP-OES, Perkin Elmer® 5300 DV). *Laboratoire GET (Toulouse, France) pour les échantillons de Côte d'Ivoire et des provinces Esmeraldas et Manabí en Équateur et Laboratorio de suelos de l'Université ESPOL (Guayaquil, Équateur) pour les échantillons de la province de Guayas.*

- **Fraction pseudo-totale (pt) des éléments – Méthode à l'eau régale – Melaku et al. (2005), Engbersen et al. (2019) et Thomas et al. (2023) :**

La fraction pt des éléments des sols et amendements organiques a été déterminée après la digestion acide de 200 mg d'échantillon dans l'eau régale (HCl et HNO<sub>3</sub> 3:1) au micro-ondes (Anton Paar® Multiwave Pro). Les solutions ont été analysées par ICP-MS (Thermo Fischer Scientific® iCAP TQ) pour déterminer les concentrations élémentaires. Des blancs de réactifs ont été inclus ainsi que des dupliques d'échantillon afin de contrôler la qualité des analyses et l'homogénéité des échantillons. Le rendement des analyses a été obtenu en utilisant le matériel de référence (CRM) BCR 142R *light sandy soil*. *Laboratoire de l'Université de Nottingham (Nottingham, Angleterre).*

- **Concentrations totales élémentaires – Méthode à l'acide fluorhydrique – Barraza et al. (2018) :**

L'analyse des concentrations totales des sols n'a été effectuée que pour les échantillons de Côte d'Ivoire. Pour cela, les échantillons ont été minéralisés à l'acide fluorhydrique pour solubiliser l'ensemble des espèces chimiques de chaque élément. Cette minéralisation a également été effectuée au micro-ondes (Anton Paar® Multiwave Pro). Pour ce faire, 200 mg d'échantillon ont été dissous dans 1 et 2 mL d'HNO<sub>3</sub> et d'HCl, respectivement avant d'être introduits dans le micro-ondes. Ensuite, 2,5 mL d'acide fluorhydrique ont été ajoutés aux solutions puis réintroduits dans le micro-ondes. Enfin, 2,5 mL d'HNO<sub>3</sub> et d'eau ultra pure ont été ajoutés avant de chauffer à nouveau les solutions. Celles-ci ont été analysées par ICP-MS. Des blancs de réactifs et des dupliques d'échantillons ont été inclus pour le contrôle de qualité. Le CRM BCR 142R *light sandy soil* a également été analysé pour déterminer le rendement des analyses. *Laboratoire de l'Université de Nottingham (Nottingham, Angleterre).*



**Figure 33:** A – Mesure du pH d'échantillons de sol ; B – Analyseur élémentaire servant à doser le carbone et l'azote par combustion sèche des échantillons ; C – Cuves de solutions de cobalhexamine pour déterminer la capacité d'échange cationique des échantillons ; D – Solutions Mehlich 3 après dissolution des sols dans la solution d'extraction et E – Granulomètre laser par voie humide pour la détermination de la texture des échantillons.

#### 4.2.3. Mesures *in-situ* du rendement de cacao et de l'incidence des maladies et ravageurs

Dans l'objectif de suivre la production de cacao mensuelle suite à l'application des traitements, il a été demandé aux producteurs, accompagnés des techniciens locaux, de réaliser certaines mesures dans les parcelles expérimentales.

En Équateur comme en Côte d'Ivoire, chaque mois, les données suivantes ont été prélevées : nombre de cabosses saines, nombre de cabosses malades et poids des fèves fraîches issues de chaque traitement (Figure 34, Annexe 1). Le poids des fèves fraîches collectées a déjà été utilisé dans plusieurs études afin de calculer le rendement comme celle de Beer et al. (1990) au Costa Rica.

Le rendement a été calculé comme suit :  $Rendement (kg/ha) = \frac{Masse\ de\ fèves\ fraîches\ (kg)}{Surface\ de\ la\ parcelle\ (ha)}$

Il est important de souligner que cette prise de données n'a pas toujours été correctement effectuée, en particulier selon les producteurs considérés. Cet aspect sera plus largement discuté dans la suite du document dans le chapitre 7. Dans certains cas, les données ont été mal prises (pas de témoin par exemple) ou non effectuées par incompréhension de la demande, ou suite à des relations parfois fragiles entre les coopératives et les producteurs, incidents personnels des personnes en charge, etc. L'ensemble de ces facteurs a dès lors compliqué fortement l'analyse des données de rendements.



**Figure 34:** Ecabossage et pesée des fèves de cacao (à gauche) et comptage des cabosses saines et malades (à droite) à Abengourou, Côte d'Ivoire. A. Goné<sup>©</sup> (coordinateur du projet Equité II) et D. Fulgence<sup>©</sup> (stagiaire INADES formation).

## 4.3. Traitement statistique

L'ensemble des traitements statistiques ont été réalisés grâce au logiciel R Studio® version 4.1.1.

Pour évaluer les effets des intrants biologiques sur les différentes variables étudiées (propriétés physico-chimiques de sols, concentrations élémentaires dans les différentes matrices, rendements des cacaoyers), nous avons utilisé le modèle linéaire à effets mixtes. Ce type de modèle permet de travailler, dans le cas d'une étude longitudinale, avec des mesures répétées dans le temps sur des mêmes individus et de prendre en compte la corrélation entre les échantillons prélevés dans les mêmes parcelles ainsi que la variabilité spatiale entre les parcelles, fermes et provinces, et ces dernières ont été donc renseignés comme effets aléatoires (province/ferme/parcelle) imbriqués dans le modèle. Pour ce faire, nous avons d'abord vérifié la normalité des résidus (test de Shapiro et Q-Q plot) et leur homoscédasticité (test de Levene, package « car ») pour chaque variable. Ensuite, le modèle a été construit de la manière suivante grâce à la fonction « lmer » du package « lme4 » : `lmer(variable ~ Traitement * Mois + (1|Province/Producteur/Traitement))` avec les traitements et le mois de prélèvement étant considérés comme des effets fixes. Ensuite, un test ANOVA a été appliqué à ce modèle afin de déterminer s'il existe un effet des traitements, du mois de prélèvement ou une interaction des deux sur la variable considérée. S'il existait un effet significatif ( $p < 0.05$ ), un test de comparaison multiple de type Tukey grâce aux package « emmeans » a été utilisé pour étudier précisément quelles modalités présentaient une différence significative. Dans le cas où les résidus ne suivaient pas une loi normale, nous avons appliqué une transformation des données (log10 ou racine carrée) jusqu'à ce que la condition de normalité soit atteinte.

Les figures ont été réalisées grâce aux packages « ggplot » et « ggpubr ».

# 5. Distribution des ETM dans les sols et fèves de cacao en Équateur : disponibilité des metalloïdes et leur transfert du sol vers les fèves de cacao

---

## 5.1. Préambule

L'objectif de ce chapitre est de dresser un état des lieux des caractéristiques des sols, fèves, feuilles et litières de cacao dans les 15 fermes pilotes en Équateur (Figure 35). Ce travail a fait l'objet du premier article scientifique, soumis le 14 novembre 2023 à la revue *International Journal of Environmental Science and Technology*, et toujours en révision, dans lequel nous avons uniquement discuté des sols et des fèves de cacao, qui étaient les seules matrices jusqu'alors analysées.

Dans cet article, nous souhaitions tout d'abord présenter les concentrations en cadmium dans les différentes matrices mais aussi celles des autres ETM, dans les sols et les fèves de cacao. À partir de ces résultats, nous avons mis en évidence l'importante hétérogénéité spatiale des concentrations en Cd à l'échelle du pays, des provinces et des fermes, mais aussi au sein d'une même parcelle expérimentale, comme le montre la Figure 35. Cependant, la quasi-totalité des fèves de cacao présentaient des concentrations supérieures à la limite de 0,80 mg Cd kg<sup>-1</sup> fixée pour un chocolat de plus de 50 % de cacao. Ensuite, l'établissement d'une matrice de corrélation nous a permis de souligner la dépendance spatiale des propriétés du

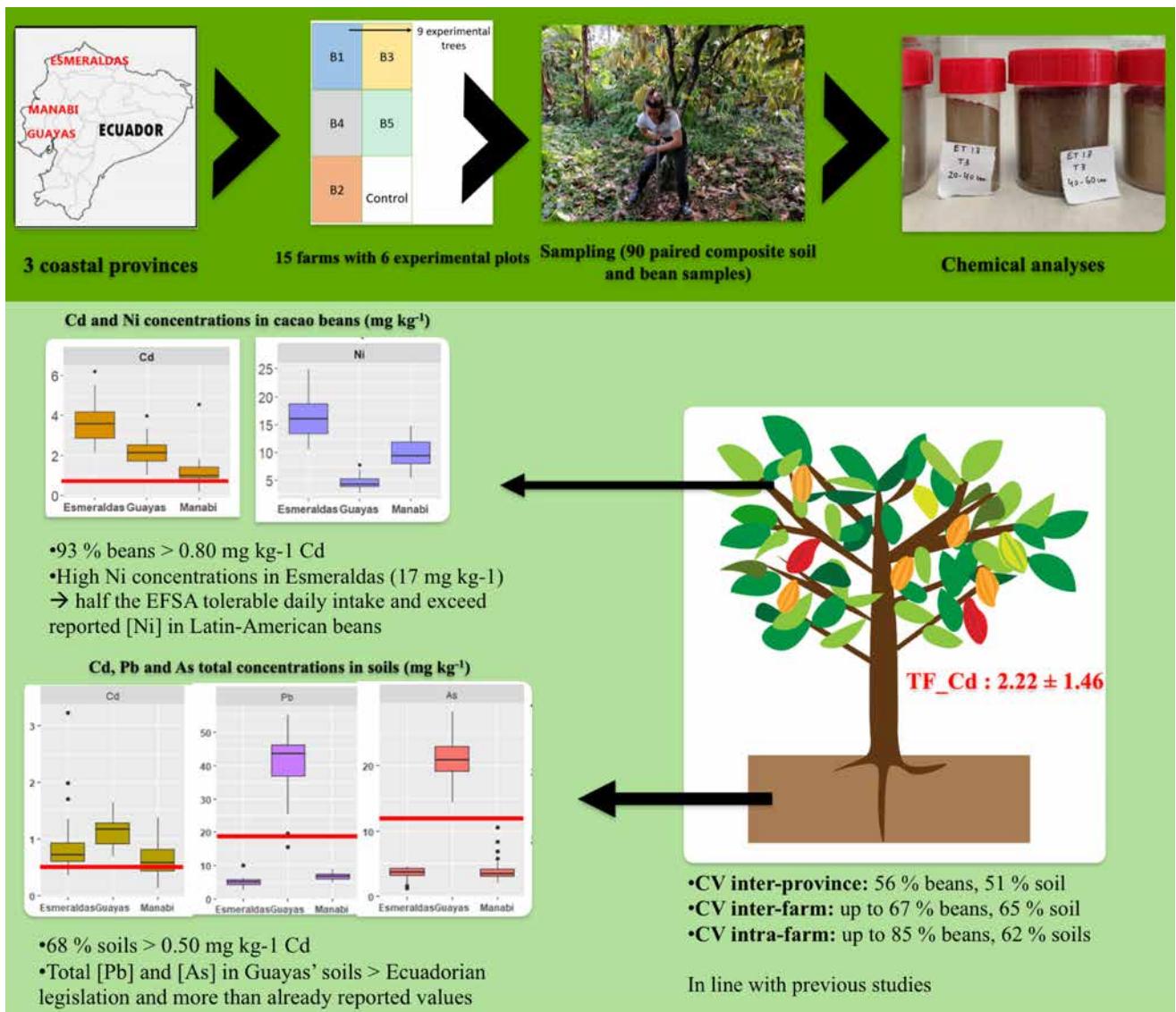
sol gouvernant la biodisponibilité du Cd dans les sols et son transfert vers les fèves de cacao. De cette manière, nous avons suggéré qu'il n'était pas possible de généraliser les variables permettant d'expliquer la biodisponibilité du Cd dans les sols à l'échelle nationale.

Ensuite, nous nous sommes également intéressés aux risques sanitaires induits par la présence d'autres éléments métalliques toxiques comme le plomb ou l'arsenic qui, même s'ils ne sont pas préférentiellement absorbés par les arbres de cacao, ils peuvent l'être par d'autres cultures comme le riz ou le manioc, largement consommées en Équateur. Concernant les fèves de cacao, nous nous sommes également concentrés sur d'autres métaux, comme le Ni (Figure 35), qui pourraient faire l'objet de futures réglementations européennes comme l'a été le Cd en 2014/2019. Suite à ces analyses, il s'est avéré que les sols provenant de la province de Guayas présentaient des concentrations pseudo-totales en Pb, As et Ni particulièrement inquiétantes, mais que leur fraction réactive restait comparable à celle des autres provinces. Pour la province d'Esmeraldas, ce sont les concentrations en Ba, Ni et Cu (Figure 35) qui excédaient les limites établies par le gouvernement équatorien pour les sols agricoles (TULSMA, 2015). Concernant la province de Manabí, le Co et Cu pseudo-total excédaient également les limites évoquées précédemment.

La plupart des éléments toxiques présents en fortes concentrations dans les sols étudiés ne présentaient pas de risque associé à une absorption par les cacaoyers. Ceci s'explique soit parce que l'arbre de cacao ne l'accumule pas dans ses fruits et ses fèves, soit parce que les concentrations biodisponibles restaient faibles. Néanmoins, pour le Ni, nous avons pu observer que les fortes concentrations dans les sols étaient répercutées dans les fèves de cacao ; et pour la province d'Esmeraldas, nous avons pu calculer un seuil de chocolat noir ingéré à ne pas dépasser à partir de la quantité tolérable d'ingestion journalière de Ni (EFSA, 2020).

Pour l'élaboration de cet article scientifique, j'ai été impliquée à toutes les étapes. En premier lieu, j'ai effectué l'ensemble des échantillonnages à l'aide d'un ou d'une technicienne locale ainsi qu'avec celle de chaque producteur. Ensuite, j'ai procédé à l'exportation et le traitement des échantillons et réalisé une partie des analyses physico-chimiques des sols. Toujours au cœur de cette étape, j'ai participé également à l'ajustement et à l'optimisation des protocoles pour mieux répondre aux objectifs de la présente thèse, comme l'inclusion de

la méthode d'extraction Mehlich 3. Par la suite, j'ai traité les résultats à l'aide de méthodes statistiques adaptées et expliquées précédemment en Matériel et Méthodes et ultérieurement dans le chapitre suivant. Enfin, j'ai rédigé l'article sous la supervision de mes directrices de thèse qui m'ont aidé dans l'élaboration du plan et la révision des différentes versions de l'article.



**Figure 35:** Schéma synthétique des principaux résultats obtenus et présentés dans l'article « Distribution of trace-elements in Ecuadorian soils and cacao beans: metal(loid) availability and transfer from soil to beans » (Marchive et al. 2024, soumis à *International Journal of Environmental Science and Technology*).

**5.2. Publication scientifique « Trace element contamination in Ecuadorian soils and cacao beans: Focus on cadmium availability and soil-to-bean transfer”. Article soumis le 14/11/23 et actuellement en révision.**

## **Trace element contamination in Ecuadorian soils and cacao beans: Focus on cadmium availability and soil-to-bean transfer**

L. Marchive<sup>1,2,\*</sup>, E. Schreck<sup>1</sup>, S. Senan<sup>2</sup>, N. Eberhart<sup>2</sup>, R. Thinard<sup>3</sup>, E. Chavez<sup>4</sup>, L. Maurice<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Géosciences Environnement Toulouse (GET), Université de Toulouse, CNRS, IRD, 14 Avenue Edouard Belin, 31400 Toulouse, France

<sup>2</sup> SCOP ETHIQUABLE, 32500 Fleurance, France

<sup>3</sup> Symbiotik Agroecologie, 42600 Montbrison, France

<sup>4</sup> Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador

\*: corresponding author: Laudine Marchive, laudinemarchive@gmail.com, [+33 6 22495779](tel:+33622495779)

### **ABSTRACT:**

For several years now, cadmium (Cd) was found to be readily transferred from soil to cacao beans, especially in Andean countries and cacao by-products can contain excessive Cd concentrations that do not comply with the recent European health standards. This research aims to assess trace elements (TE) contamination with a focus on Cd levels in three coastal Ecuadorian provinces to identify the drivers of availability and soil-to-beans transfer. In our study, 90 paired-samples of soil and cacao beans were collected in 15 farms of Esmeraldas, Manabí and Guayas provinces and analyzed by ICP-MS to assess TE concentrations. Results show that Cd concentrations are heterogeneous among provinces with Esmeraldas and Guayas being Cd hot-spots but also at the farm scale with high CV of 62 and 82 % for soil and cacao beans, respectively. In addition, the drivers of Cd availability in soil are site-dependent, and pH and CEC are significant drivers in Esmeraldas and Guayas, respectively. Also, soil CEC,

Cu and Zn concentrations control Cd accumulation in beans. Hence, those drivers could be a lever to reduce Cd concentrations in cacao beans through fertilization or amendment application. Beyond Cd, Guayas shows concerning Pb and As concentrations in soils which should be monitored to prevent their accumulation in other crops. Moreover, Esmeraldas appears as a Ni hot-spot for soil and beans samples, highlighting the importance to also follow this element in cacao orchards. Finally, we propose that mitigation techniques must be site-specific to ensure suitable and sustainable recommendations to cacao farmers.

Keywords: cadmium, phytoavailability, *Theobroma cacao* L., trace-elements, Ecuador, ICP-MS analyses

### 5.2.1. Introduction

Chocolate is a massively consumed product at a global scale and from an early age; the earliest evidence of *Theobroma cacao* use in the Americas has been dating approximatively 5,300 years ago in the current Southern Amazon region of Ecuador (Zarrillo et al. 2018). Cacao, which is the raw material for chocolate manufacturing, is a really important cash-crop valued at 16 billion dollars in 2023 and estimated to keep growing in the next years (CBI 2024). Nowadays, Ecuador is the 1<sup>st</sup> Latin-American cacao producer and the 3<sup>rd</sup> at the global scale (ICCO 2024) with cacao and its by-products appearing in the top 10 Ecuadorian exportation products (Ministerio de Produccion, Comercio exterior, Inversiones y Pesca 2024; Corporacion Financiera Nacional 2022). This highlights the importance of the cacao sector for the Ecuadorian economy. European countries represent a major market as the mean yearly chocolate consumption can reach up to 11 kg per person, for instance in Germany (CBI 2022), one order of magnitude more than the yearly global consumption average of 0.9 kg of chocolate. In this context, it is important to guarantee the cacao innocuity to protect consumers' health.

In 2019, the European Commission set thresholds of Cd concentrations in cacao by-products depending on their percentage of raw cacao (Codex Alimentarius 2019). Indeed, Cd is a toxic and carcinogenic metallic trace element for humans when ingested in large amounts or chronically during lifetime (EFSA 2009). For no smoking persons, food consumption is the

main source of exposure of Cd according to the World Health Organization (WHO 2019) and cacao products contribute to 24 and 26 % to dietary Cd intake for children and adolescents, respectively (EFSA 2012). Latin-American and the Caribbean (LAC) countries are particularly affected by the European regulation because the raw cacao beans coming from this region often exceed the threshold of Cd concentrations in the cacao by-products (Chavez et al. 2015 & 2016; Engbersen et al. 2019; Barraza et al. 2017 & 2021). In raw cacao powder, Mounicou and collaborators (2003) found a mean value of  $1.83 \pm 0.02$  mg Cd kg<sup>-1</sup> in samples from Venezuela and Zug et al. (2019) highlighted a range of Cd in Peru samples from 0.02 to 12.56 mg kg<sup>-1</sup>, the latter exceeding twenty-fold times the European threshold (0.60 mg kg<sup>-1</sup>). Moreover, LAC countries cultivate fine flavor cacao often involved in dark chocolate fabrication with high content of raw cacao which has to comply with the strictest European threshold.

Numerous studies pointed that cacao trees are considered as Cd accumulators (Van Der Ent et al. 2013; Lewis et al. 2018) and tend to absorb Cd indistinctively through their roots by the same pathways than nutrients although there is a genetic variability in Cd accumulation among cacao cultivars (Engbersen et al. 2019). Cadmium is a very mobile element in soil, e.g., can be sorbed/desorbed in mineral and organic matter, affecting its availability. Plants absorb this element as Cd<sup>2+</sup>, the major chemical form in soil solution. Actually, metal(loid) availability in soil could have many drivers such as soil acidity, texture, organic matter, and nutrient composition (Meter et al. 2019), playing on solubility and absorption by plants.

Beyond Cd issue for cacao cultivation, other TE can be harmful for human health, especially lead (Pb), nickel (Ni), arsenic (As) or chromium (Cr). For example, in Peruvian soils, Lewis et al. (2021) found that Pb concentrations ranged between 2.11 and 39.08 mg kg<sup>-1</sup>, highlighting wide variations between locations and showing the importance of studying the distribution of TE in soil and cacao beans. Nickel can be harmful for the immune system even if more clarification is needed (Mania et al. 2019). Very recently, the 30<sup>th</sup> of July 2024, the European Union published a new regulation on Ni maximum levels in foodstuffs. For cacao-based products, thresholds ranging from 2.5 to 15.0 mg Ni kg<sup>-1</sup> have been implemented for sweet chocolate (< 30% raw cacao) and cacao powder, respectively (European Commission Regulation (UE)

2024/1987). Ščančar et al (2013) indicate that chocolate greatly contributes to Ni intake for humans, especially for young people.

In this context, to address the metal(loid) issue in cacao production and better ensure consumers' health, there is an urgent need to identify the spatial hot-spots of TE in soils and crops, and especially Cd in LAC countries, as well as the drivers of their availability and transfer to cacao tissues. This, in turn, would help developing suitable mitigation techniques for cacao farmers, to help them having a better access to international markets as manufacturers need to buy innocuous cacao beans. This study aims to i) assess soil and cacao bean TE contamination risk in three Ecuadorian coastal provinces, among the most important cacao-producing region with a particular focus on Cd, ii) better understand the control factors of Cd and other TE transfer and accumulation in cacao beans and iii) identify the potential health issues associated with TE occurrence in soil and/or cacao beans.

This study also represents the initial state of elemental distribution in soil and bean samples from a baseline field work carried out in November 2020 to better propose innovative and efficient strategies of Cd (and other TE) mitigation in cacao production by smallholders.

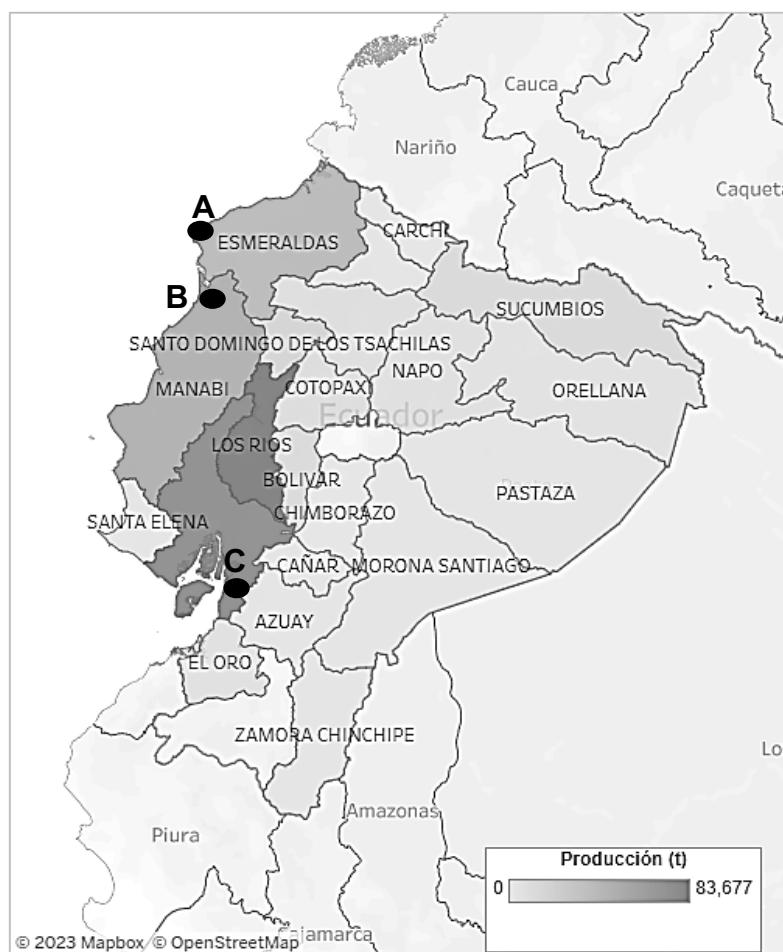
## 5.2.2. Materials and methods

### 5.2.2.1. General context and study area

The present study takes part of an in-progress participative agronomical project about the effects of organic amendments and bio-fertilizers on Cd transfer in smallholder's cacao. Soil, beans, leaves and amendment samples were collected to monitor their physicochemical properties through time. Four sampling intervals have been programmed and spaced of 6 months in 15 pilot cacao farms. As shown in figure 36, samples were collected from three of the main cacao-growing provinces in Ecuador: Guayas, Esmeraldas and Manabí, which account for more than half of the national cacao production (MAGAP 2021), with approximatively 154 000 tons produced annually. More precisely, in Guayas province, the selected farms are located in the Naranjal district (Figure 1), and soils are classified as Entisols

(from USDA soil taxonomy & “Geoportal del Agro Ecuatoriano”). In Manabí, the selected farms are near Pedernales city, in the town of Mache, and characterized by Inceptisol type of soil (from USDA classification). Finally, in Esmeraldas, 4 farms are located near Mompiche whereas one farm is in La Union, near Atacames city. The farms’ soils in the Esmeraldas province are Inceptisols (USDA soil taxonomy). In the three studied provinces, the mean annual temperature is 25°C (“Geoportal del Agro Ecuatoriano”) and the altitude close to the sea level. Regarding rainfall, Manabí and Guayas average 1000-1200 mm year<sup>-1</sup> while Esmeraldas mean rainfall is 2370 mm year<sup>-1</sup> (Climate Change Knowledge Portal 2021).

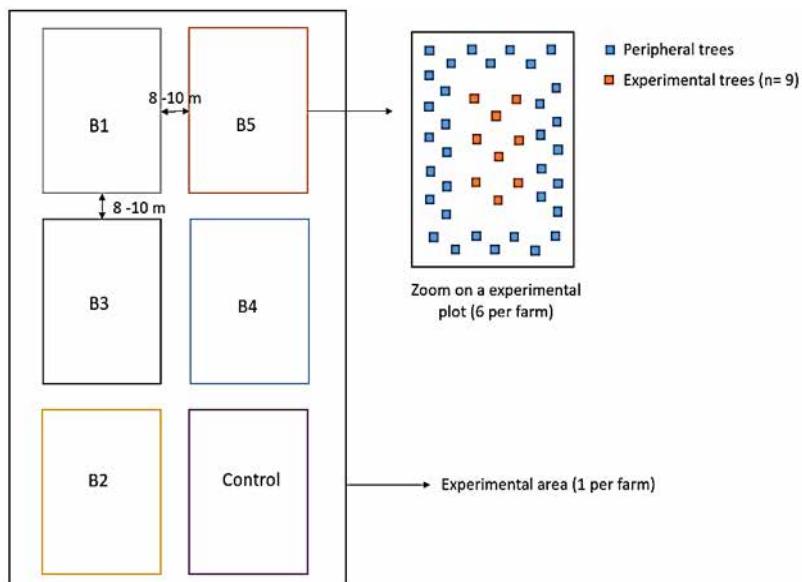
All the farmers practice organic farming and most of them cultivate the cacao under agroforestry systems with more than 6 different plant species growing with the cacao trees.



**Figure 36:** Map of the Ecuadorian cacao production (2021), adapted from the Ecuadorian government, with the location of the studied farms in Esmeraldas (A), Manabí (B) and Guayas (C).  
<http://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/cacao>

### 5.2.2.2. Experimental set-up and sampling methodology

The same experimental design was set-up (Figure 37) for all provinces, *i.e.*, a replicate of 5 farms per site with six experimental plots of 9 cacao trees in each farm, where soils and beans were sampled. All the experimental trees are from Nacional variety and in each farm, trees have the same age in all plots, in order to limit Cd absorption variability due to genotype or age.



**Figure 37:** Detail of an experimental design implemented in each farm.

A total of 90 paired soil and bean composite samples were collected in November 2020, during the dry season. In each farm, composite soil samples were taken at ~1.5 m of the trunk of each of the 9 experimental cacao trees per plot with an Edelman auger, at 0-20 cm depth and mixed homogeneously to extract a 250 g composite sample. Additionally, single samples were taken in one farm from each province to assess the representativity of composite samples and to evaluate the elemental composition through the soil profile. For this, the central tree of each plot was sampled at three different depths: 0-20, 20-40 and 40-60 cm. In Manabí, the soil was too compact to sample and describe under 40 cm with the auger. All the samples were stored in hermetic plastic bags prior to lab transportation. Before sending to France, soil samples were oven-dried in Quito at the *Universidad San Francisco de*

*Quito* (USFQ) at 40°C until stable weight, and manually grounded and milled < 2 mm in France, within a porcelain mortar and a nylon miller.

For bean composite samples, in each plot, 1 to 4 pods were collected and 4 beans from each pod were extracted and kept in hermetic plastic bags. Even if the pod's maturity was not rigorously the same, the extracted beans were checked to be enough developed. Single samples were also collected for beans, taking 6 beans from several pods in the central tree of each plot in the same farms as for the single soil samples. The mucilage and the beans' shell were hand-removed with a ceramic knife to analyze only the raw bean and then frozen prior to shipping to France. Bean samples were oven-dried at 40°C until stable weight. Dried samples were mechanically grounded to get a homogeneous cacao powder prior to analysis.

### **5.2.2.3. Laboratory analyses**

#### ***5.2.2.3.1. Determination of soil physicochemical parameters***

For soil pH measurement, 9 mL of ultra-pure water were poured on 1 g soil sample in polypropylene tubes before being mechanically agitated for 1 h. After decantation, measurements in the supernatant were performed with the Fieldscout Soilstick® device, in triplicates. The cation exchange capacity (CEC) of soil was measured following the AFNOR X 31-130 protocol described by Aran et al. (2008). For this, 30 mL of cobalthexamine trichloride solution (0.0208 mmol L<sup>-1</sup>) were poured on 2 g soil sample in polypropylene tubes before being mechanically agitated for 1h. After decantation, the solutions were filtrated with ammonium acetate filters (0,22 µm) and measurements were done by spectrophotometry (Varian's Cary® 50) at 475 nm. Total organic carbon and total nitrogen (% C<sub>org</sub> and % N, respectively) were measured with an elemental analyzer Flash 200 Thermo Scientific® after decarbonation according to NF ISO-10694 standards, as described by Nelson et al. (1983). Texture of Manabí's and Esmeraldas' soils was determined after analyzing the clay, silt and sand fractions by laser granulometry with a LA950-V2 granulometer (from Horiba®) at the French laboratory of "Ecologie Fonctionnelle et Environnement" in Toulouse.

### **5.2.2.3.2. Analysis of total and available TE concentrations in soil samples**

The analyses of pseudo-total TE concentrations in soil samples were performed by open-block *aqua regia* digestion (according to USEPA 3050 standard), with a 3:1 ratio of bi-distillated nitric acid ( $\text{HNO}_3$ ) and hydrochloric acid (HCl) for 100 mg of soil sample. The determination of elemental concentrations was performed by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS, iCAP-TQ from ThermoScientific®). All the acids used for mineralization were of analytical grade. The certified reference material (CRM) BCR-142 light sandy soil was included for recovery calculation which reached  $97 \pm 1.85$ ,  $95 \pm 8$ ,  $89 \pm 7$  and  $90 \pm 1$  % for respectively Cd, Zn, Ni, and Pb. Blanks were also included for calculating the limits of detection and quantification (LOD and LOQ, respectively), and to check the protocol efficiency and performance. Sample replicates were analyzed every 5 samples to evaluate reproducibility. Finally, even if these TE concentrations in soils correspond to real “pseudo-total concentrations” as we didn’t use fluorhydric acid, we choose to call them “total concentrations” from now for convenience.

For the determination of the available TE concentrations in soils ( $X_{\text{av}}$ ), Mehlich 3 (M3) method was performed in all soil samples (Mehlich 1984). This protocol extracts the soluble-exchangeable but also carbonate and organically bound fractions. Blanks and duplicates were performed every 10 samples to evaluate analysis reproducibility. Due to the multiple sources of funding and the implication of various partners in this study (see *Acknowledgments section*), samples from Guayas were analyzed with inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES, 5300 DV, Perkin Elmer) while the Manabí and Esmeraldas samples were analyzed both by ICP-OES (Horiba Jobin Yvon Expert®) for major elements and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS, iCAP TQ, Thermoscientific®) for trace elements in the Géosciences Environnement Toulouse laboratory (GET) of the Observatoire Midi-Pyrénées Platform (OMP) in Toulouse, France. Indeed, the intercomparison of the results allowed us to validate the reproducibility of the protocols, regardless of the laboratory.

#### **5.2.2.3.3. *Determination of total element concentrations in cacao bean samples***

For the TE quantification in cacao beans, 200 mg of sample were open-bloc digested with 20 mL of ultra-pure HNO<sub>3</sub>. Analyses were performed by ICP-MS (iCAP TQ, Thermoscientific®) in the Nottingham University laboratory (Gramlich et al. 2017; Bertoldi et al. 2016). The CRM “dark chocolate” ERM BD512 was used to evaluate the recoveries for certified elements. For Guayas’ samples, the recoveries were 102, 107, 105 and 106 % for Cd, Cu, Mn and Ni, respectively. For Manabí and Esmeraldas, these recoveries were respectively 99, 98, 96 and 93%. Reagent blanks were included for LOD and LOQ calculations and quality control. Replicate samples were also included every 5 samples to measure the repeatability.

#### **5.2.2.4. Statistical analyses**

Statistical analyses on elemental concentrations were performed with R<sub>Studio</sub>® software (version 4.1.1.).

Shapiro test was used to check if data followed a normal distribution. When data was not normally distributed, log10, square root or reciprocal transformations were applied to achieve normality. When data was normally distributed, one-way ANOVA test and Tukey *post-hoc* test were performed to assess the spatial heterogeneity among regions and farms. When data transformation did not achieve a normal distribution, Kruskal Wallis and Wilcoxon pairwise comparison tests were used as a non-parametric alternative to ANOVA.

For correlation analyses, Spearman’s coefficient was calculated because no transformation allowed to change the distribution of certain variables.

## 5.2.3. Results

### 5.2.3.1. Soil physicochemical properties

Results of soil physicochemical parameters are reported in Table 1 for composite and single samples. Values show that soil pH is homogeneous between the provinces ( $p = 0.07$ ) and slightly acidic (mean pH of 6.5). Similarly, soil organic carbon ( $C_{org}$ ) does not differ between provinces ( $p = 0.15$ ) and averages 1.85 %. Regarding the effective CEC, soils from Manabí have significantly ( $p = 0.002$ ) lower values than the other two provinces. Significantly different C/N ratios ( $p = 2.19^{-12}$ ) are observed, with Guayas showing the lowest values compared to Manabí and Esmeraldas.

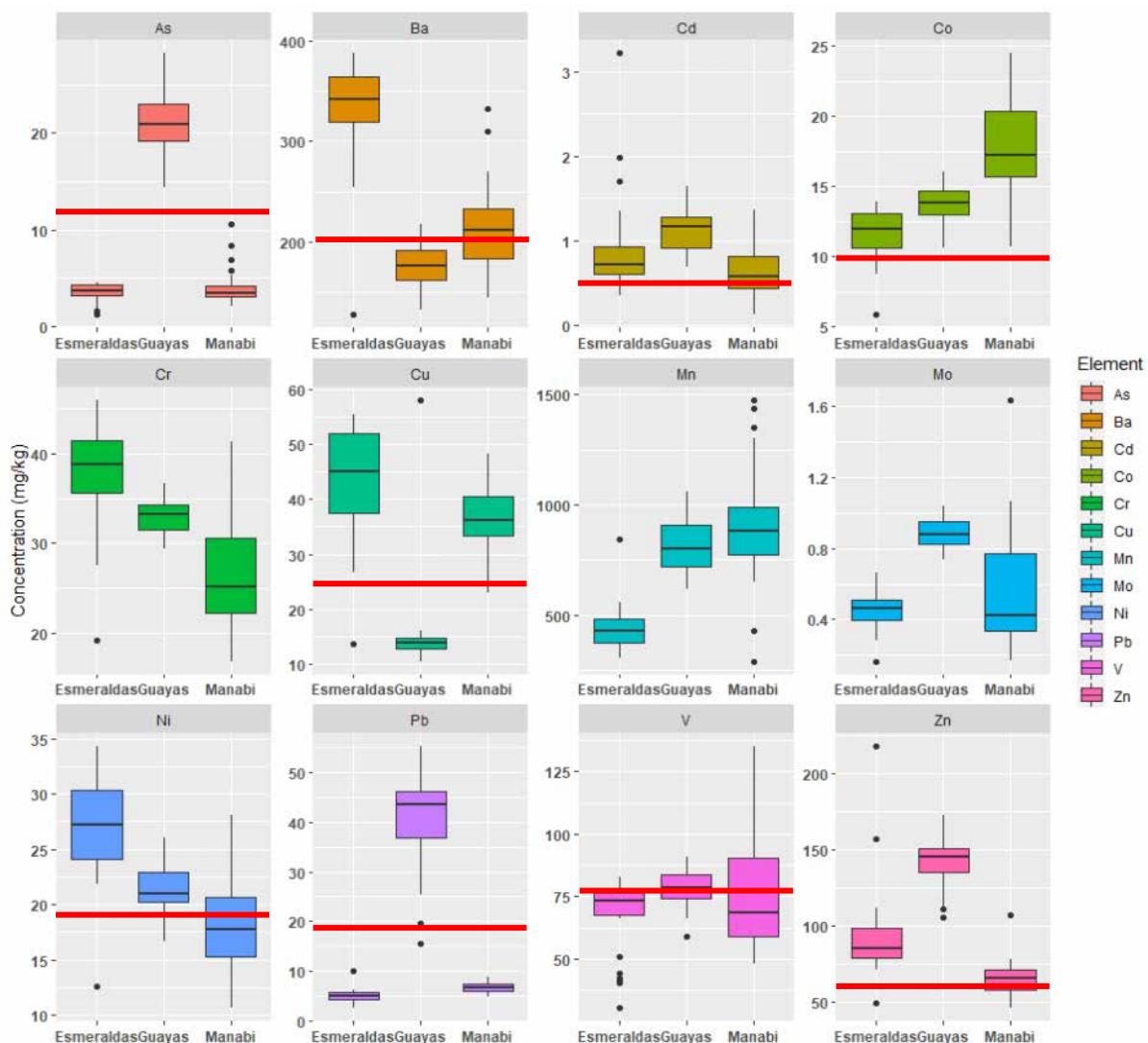
Physicochemical parameters values are homogeneous along soil profiles, till 60 cm depth, and there are no significant differences between composite and single topsoil samples, indicating that composite samples are representative of the study plots.

**Table 5:** Mean ( $\pm$  SD) of soil pH,  $C_{org}$ , CEC and C/N of composite (C) and single (S) samples (3 depths: 0-20, 20-40 and 40-60 cm) from the provinces of Guayas, Esmeraldas and Manabí (Ecuador). SD of pH values are calculated with the triplicates of each measurement. ND = not determined.

Region	Sampling depth (cm)	Sample type	n	pH	$C_{org}$ (%)	CEC ( $cmol^{+} kg^{-1}$ )	C/N
Esmeraldas	0-20	C	28	$6.4 \pm 0.3$	1.74	22.6	9.2
	0-20	S	5	$6.4 \pm 0.2$	1.90	33.0	8.7
	20-40	S	6	$6.4 \pm 0.1$	1.49	35.6	8.6
	40-60	S	5	$6.4 \pm 0.2$	1.34	28.1	8.0
Manabí	0-20	C	29	$6.4 \pm 0.3$	1.85	20.4	8.8
	0-20	S	6	$6.3 \pm 0.2$	1.61	ND	8.9
	20-40	S	6	$6.3 \pm 0.6$	1.29	ND	10.1
Guayas	0-20	C	29	$6.5 \pm 0.2$	1.91	25.8	5.7
	0-20	S	5	$6.5 \pm 0.1$	1.78	27.2	5.8
	20-40	S	5	$6.6 \pm 0.2$	0.80	25.3	4.6
	40-60	S	5	$6.5 \pm 0.3$	0.97	23.8	5.0

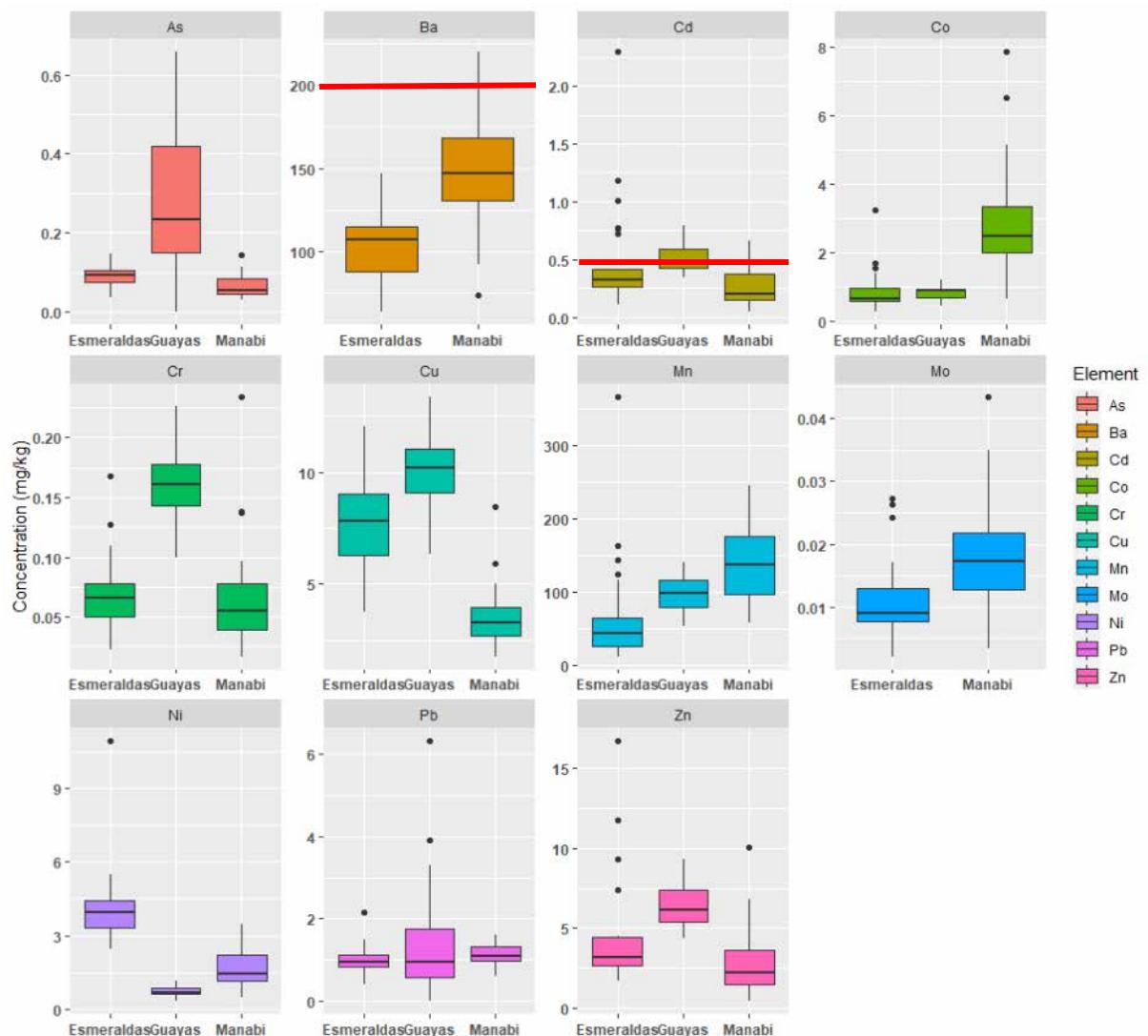
### 5.2.3.2. Total and available TE concentrations in soils

The total and available TE concentrations in soil composite samples for the three studied provinces are reported in Figures 38 and 39, and in Table SI-1.



**Figure 38:** Boxplots of total trace element concentrations (As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, V, Zn) in  $\text{mg kg}^{-1}$  in composite topsoil samples (0-20 cm), collected in the provinces of Esmeraldas, Guayas and Manabí.

The quality criteria settled by the Ecuadorian environmental legislation for agricultural soils (TULSMA, 2015) are also plotted with red lines. For Cr and Mo, the quality criteria are not represented in the boxplots as the maximum value of y axis is under this value of the quality criteria



**Figure 39:** Boxplot of available trace element concentrations (As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Zn) in  $\text{mg kg}^{-1}$  in composite topsoil samples (0-20 cm), collected in the Ecuadorian provinces of Esmeraldas, Guayas, and Manabí. The quality criteria settled by the Ecuadorian environmental legislation for total TEs in agricultural soils (TULSMA, 2015) are also plotted with red lines. For As, Co, Cr, Cu, Mo, Ni, Pb and Zn, the quality criteria is not represented in the boxplots as this maximum value of y axis is under the value of the quality criteria. Ba concentrations in Guayas were not determined. RStudio®

Total Cd concentrations in composite topsoils (0-20 cm) range from 0.12 to 3.22  $\text{mg Cd kg}^{-1}$ . The average concentrations for Manabí, Esmeraldas and Guayas soils are respectively 0.63, 0.90 and 1.14  $\text{mg Cd kg}^{-1}$  (Figure 3), exceeding the quality criteria (QC) of Ecuadorian environmental regulation (TULSMA 2015). This environmental regulation aims to prevent crop contamination by providing threshold of TE total concentrations for agricultural soils, amongst

others. For total Cd, the QC is set at 0.5 mg Cd kg<sup>-1</sup>. This regulation also includes maximal permissible values (MPV) above which remediation techniques should be applied in order to reduce TE concentrations.

Available Cd concentrations in soil composite samples vary between 0.05 and 2.29 mg kg<sup>-1</sup> and average concentration per province ranges from 0.26 to 0.52 mg kg<sup>-1</sup> in Manabí and Guayas, respectively (Figure 4).

As previously observed for soil physicochemical properties, there is no significant differences between total Cd concentration in simple and composite samples for 0-20 cm depth, implying that composite samples are representative of the plots, the simple sample being located in the center of each plot. The same result was observed for the other TE.

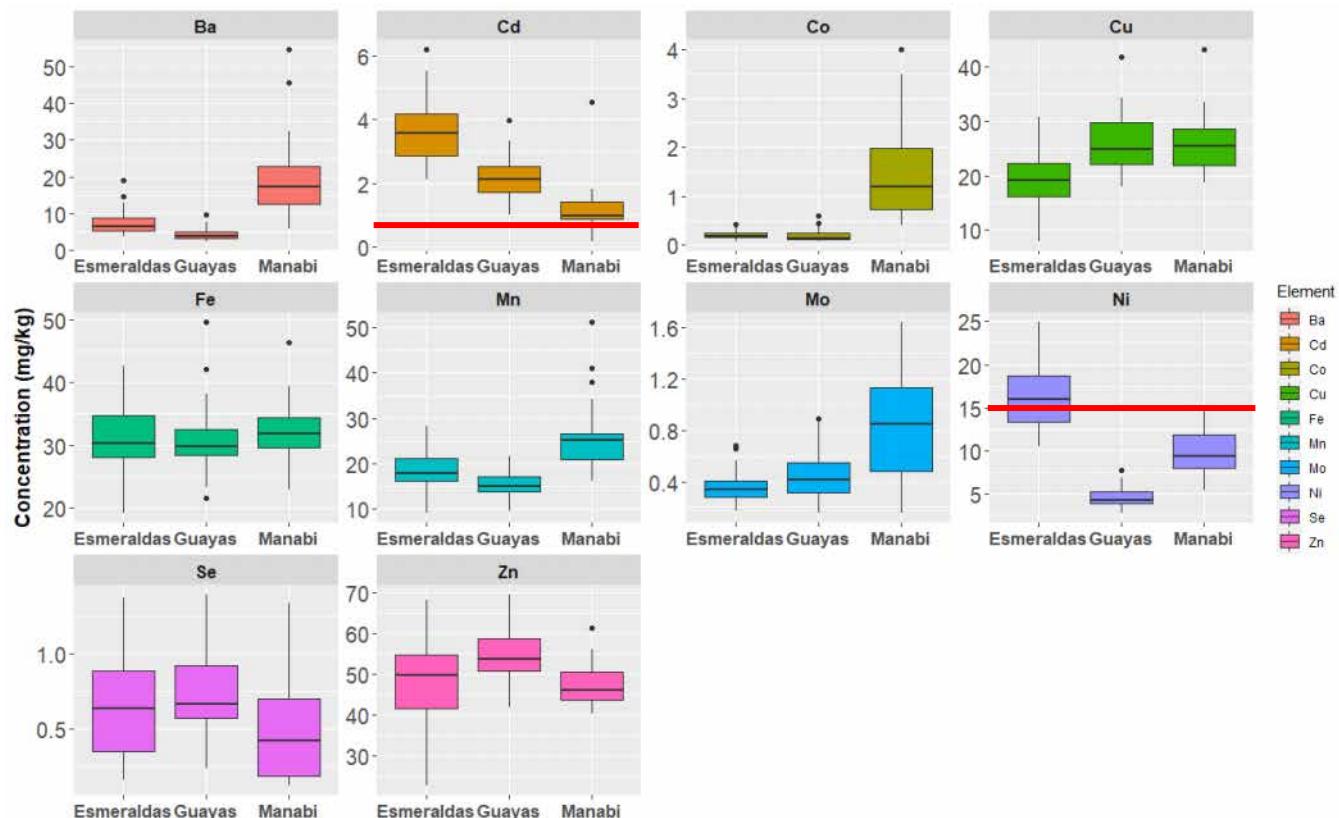
Apart for chromium (Cr) and molybdenum (Mo) which concentrations are under the QC limit (Figure 3), each province shows mean As, Ba, Co, Cu, Nu, Pb, V and/or Zn total concentrations above the respective QC of TULSMA legislation. For example, the soils of Guayas' farms show critical concentrations of As and Pb compared to the two other provinces (with mean concentrations of 21 and 41 mg kg<sup>-1</sup> for As and Pb, respectively; while the TULSMA QC values are 12 and 19 mg kg<sup>-1</sup>). In addition, vertical distribution of soil TE concentrations is interesting to identify the different of sources of the chemical elements (anthropic input, bedrock alteration, natural cycling, ...). The elemental vertical distribution along the soil profile (up to 60 cm) of As and Zn are homogeneous for the three provinces (Table SI-3). For Guayas, greater concentrations are found in the middle of the soil profile (20-40 cm) for Ba, Ni and Co, with an enrichment of 10, 14 and 14 %, respectively.

#### 5.2.3.3. Total TE concentrations in cacao bean samples

Considering the whole dataset, the Cd concentrations in cacao beans average 2.36 mg kg<sup>-1</sup> and range from 0.18 to 6.19 mg Cd kg<sup>-1</sup> in Manabí and Esmeraldas, respectively (Figure 5). All the cacao beans from Guayas and Esmeraldas exceed the 0.8 mg Cd kg<sup>-1</sup> European threshold settled for chocolate (> 50 % cacao) and, in Manabí, approximatively 80 %

overpassed such Cd concentrations. From 88 beans samples, 95 % exceed the strictest threshold of  $0.60 \text{ mg Cd kg}^{-1}$  for cacao powder.

Finally, concerning the other TE: Ba, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni and Zn are currently detected in the cacao beans of the three investigated provinces (Figure 5) and discussed later. Still, Ni concentrations range from 2.7 to  $24.9 \text{ mg Ni kg}^{-1}$  with an average of 10.4, which is close to the EU threshold for Ni levels in cacao powder of  $15 \text{ mg Ni kg}^{-1}$  (European Commission, 2024).



**Figure 40:** Boxplot of total trace element concentrations (Ba, Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Se and Zn) in  $\text{mg kg}^{-1}$  in composite cacao bean samples collected in the Ecuadorian provinces of Esmeraldas, Guayas and Manabi. The red line for Cd values corresponds to the  $0.8 \text{ mg Cd kg}^{-1}$  threshold settled by the European commission (2014) for cacao by-products. RStudio®

## 5.2.4. Discussion

### 5.2.4.1. Spatial heterogeneity of trace element distribution in soils

#### 5.2.4.1.1. *Spatial distribution in coastal Ecuadorian in comparison to the whole South America*

The soil physicochemical properties are not really discriminant in this study but bring precious information on soil fertility in coastal Ecuador. The homogenous pH values are consistent with the results reported in Chavez et al. (2015), and are in the optimal range for cacao cultivation according to the Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA 2017). Despite the differences, the three provinces show medium CEC values that remain above the minimum recommended value of the IICA (2017). The recommended value for soil organic matter (expressed as 1.72 C<sub>org</sub>) is generally 3 % (IICA 2017), unravelling that our soils are at the limit and their fertility and nutrient status could be improved. The different C/N values, which are under 10, show that organic matter is quickly decayed and it is typical of tropical soils as the high temperatures and humidity enhance microbial activity and thus, the rapid mineralization of soil organic carbon (Snoeck et al. 2016).

In this pedological and agronomical context, total Cd concentrations in soils, that nowadays become the main issue for cacao cultivation in the countries of South America and the Caribbean regions, average 0.89 mg kg<sup>-1</sup> in our study. Overall, more than 80 % of our samples exceed the Ecuadorian QC (TULSMA 2015) and one sample exceed the MPV of 2.00 mg Cd kg<sup>-1</sup>. This clearly indicates that the studied farms are Cd hot-spots and should be monitored to prevent subsequent excessive Cd concentrations in cacao beans. Guayas shows the highest total Cd concentrations compared to the other provinces ( $p = 1.25^{-10}$ ). When comparing with other local studies, our mean overall total Cd concentration is as twice as high than the average found in a nationwide survey in Ecuador conducted by Argüello et al. (2019). Gramlich et al. (2018) found a mean Cd concentration in Honduras topsoils of 0.25 mg kg<sup>-1</sup> which is at least 4 times less than our mean value. Regarding the soil available Cd fraction, our values exceed the mean value of  $0.13 \pm 0.09$  mg kg<sup>-1</sup> (Mehlich-3 extracted) unraveled by Atiaga et al. (2021) in three Ecuadorian coastal provinces.

Comparing the vertical distribution of total Cd among sampling depths (Table 2), in Esmeraldas there is significantly more Cd (+ 30%) at 0-20 cm than at 40-60 cm depth, while it was not determined in both Guayas and Manabí samples. This trend has been already observed by Chavez et al. (2015) but in a lesser extent. An anthropogenic source of Cd enrichment or a Cd recycling from the litter decomposition and decayed pods is suggested (Barraza et al. 2019; Vanderschueren et al. 2021).

Finally, soil Cd concentrations seem to vary spatially in a large extent which implies to perform a fine monitoring when studying Cd distribution. This, in turn, entails tailored mitigation techniques depending on the degree of Cd contamination to avoid unsuitable or unnecessary agricultural practices (*i.e.* excessive liming to reduce Cd availability when soil pH is already neutral/alkaline). In order to assess the spatial heterogeneity of Cd distribution in soils, coefficients of variation (CV) were calculated with the composite samples and at different scales. At the provincial scale (n=30), total Cd concentrations vary from 23, 47 and 65 % in Guayas, Manabí and Esmeraldas, respectively. At the farm scale (n=6), the CV ranges from 8 to 62 %. Regarding the available Cd fraction, the maximal CV was found in one of the 5 Guayas' farms and reached 77 %. These great variations at a very small scale (500 m<sup>2</sup> per farm) need to be considered carefully when designing further agronomical trials, especially to calculate the required individuals and repetitions.

Beyond Cd issue, total Pb concentrations were also assessed because, even if cacao beans seem to not accumulate this TE, other crops like manioc (which is consumed on a daily basis by the Ecuadorian coastal inhabitants) can readily absorb it in the edible organs (Barraza et al. 2018; Maurice et al. 2021). In our study, the Guayas province shows concerning total Pb concentrations as they are almost 8 times higher than in Manabí and Esmeraldas provinces. Most of the Guayas soil concentrations are over the QC (TULSMA 2015) and 5 samples exceed the MPV of 50 mg Pb kg<sup>-1</sup>.

According to Bundschuh et al. (2021), the average concentration of As in the upper Earth's crust is 6 mg kg<sup>-1</sup>, which is approximatively the value of total As found for Manabi's and Esmeraldas' soils (5 and 3 mg As kg<sup>-1</sup>, respectively). Spatial heterogeneity of soil total As content is high among each province (CV = 45% in Manabí, n=30, the highest among the 3 provinces) and inside each farm (up to 70 % in a farm from Esmeraldas).

In Esmeraldas, the presence of Mn in the sub-soil unravels the presence of manganiferous soil concretions at this depth, explained by sub-soil moisture regime (Glasby et al. 1979). The opposite was found for Cu and Pb: the total concentrations of both elements are slightly lower (6%) in the topsoil than in the subsoil, maybe explained by their mobility specificities (Cerqueira et al. 2011).

#### *5.2.4.1.2. The potential sources of Cd in soils are difficult to grasp*

The accumulation of TE and especially Cd in Ecuadorian soils is generally attributed to geological sources (Romero-Estevez et al. 2023; Thomas et al. 2020). Indeed, Alloway et al. (1990) indicated that alluvial soils derived from sedimentary rocks tend to contain higher concentrations of Cd compared to those derived from igneous rocks. This can be an explanation for the high Cd concentrations found in our soils belonging to the Entisol and Inceptisol types (USDA soil taxonomy). This is in line with the results of Argüello et al. (2019) and Scaccabarozzi et al. (2020), who found higher Cd concentrations in Ecuadorian alluvial soils compared to volcanic ones.

However, anthropogenic sources can also play a role in high Cd concentrations in agricultural soils, by the use of phosphate fertilizers, fungicides, but also the proximity of metals ore processing or fossil fuel combustions (Khan et al. 2017). These sources can be detected when the topsoil has higher concentrations than deeper horizons (Table 2).

In our study different sources could explain the occurrence of Cd together with its spatial variability. Firstly, even if all the farms are organic without any added amendment, some samples from Guayas are close to conventional farms where numerous synthetic inputs are regularly sprayed and can potentially diffuse till the closest farms by soil leaching or atmospheric fallouts. Indeed, according to Zambrano et al. (2022), 75 % of Naranjal canton's farmers (Guayas province) are under conventional management of crop production and apply chemical fertilizers and agrochemicals respectively up to 2 and 9 times a year, and sometimes can be sprayed over conventional crops. Another hypothesis of Cd accumulation in top-soils is recycling through cacao litter decomposition, as leaves and pod-husks tend to accumulate more Cd than soils and cacao beans (Gramlich et al. 2018; Lewis et al. 2018; Engbersen et al.

2019). Moreover, 2 farms of Guayas province use irrigation waters during the dry season. In the Ecuadorian Amazon, where there are metal deposits and oil reservoirs, Cd, Pb, As and others TE have been found in nearby groundwater and drinking water (Romero-Estévez et al. 2023; Maurice et al. 2019). Similarly, Vinueza et al. (2021) found high contents of Pb and Cu in water from Guayas River (Ecuador) used for agriculture or human consumption, and probably due to human activities.

Then, even if geology with sedimentary rocks remain the most important source of Cd in our Ecuadorian soils, anthropogenic activities seem to highly contribute, and the origin of this toxic element remains really difficult to grasp. To better understand the Cd sources and cycling, further investigations as stable isotopes fractionation would be helpful.

#### **5.2.4.2. Cadmium and TE bioavailability in soils**

##### **5.2.4.2.1. *Cadmium availability is driven by soil properties and certain TE contents***

The Cd availability in soil is driven by numerous factors like pH, CEC, soil organic matter (SOM) and other elements' content in soil (McLaughing et al. 1999; Ullah et al. 2018; Meter et al. 2019; Smolders 2001, Chavez et al. 2015). For example, in low soil pH (e.g., < 5.5), dissolved metal phytoavailability increases (Qin et al. 2020) as in alkaline soils, Cd precipitates in carbonates ( $\text{CdCO}_3$ ). The SOM is also important because humic substances contain functional groups that can react with metals (Hamid et al. 2019). Also, some cations like  $\text{Ca}^{2+}$  or  $\text{Zn}^{2+}$  can compete with Cd for plant absorption through cell membrane transporters and other elements as Se. As well, Mn seems to be involved in Cd plant sequestration processes (Riaz et al. 2021). Redox potential in soils is also a controlling factor of Cd availability as it can modify microbial communities which include SOM degraders and thus enhance or limit Cd availability (Meng et al. 2019).

Correlation analyses (Table SI-4) highlight that the drivers of Cd availability are site-dependent. Indeed, pH was found to be significantly and moderately correlated to Cd content in beans in Esmeraldas and Manabí ( $p_{\text{Spearman}} = -0.50$  and 0.53, respectively) but in an opposite

way. In Guayas, pH was not correlated with Cd beans but it was with Corg and CEC ( $\rho_{\text{Spearman}} = 0.38$  and  $0.47$ , respectively), which is consistent with the results of Chavez et al. (2015) in Ecuadorian small-scale cacao farms at 5-15 soil depth. Regarding the results for the whole dataset, the greater correlation coefficient was found between Cd in beans and % N in soils ( $\rho_{\text{Spearman}} = 0.42$ ) as already suggested by Yang et al. (2020). Nitrogen can enhance Cd solubility and modify the N-regulated cell membrane transporters activity, increasing Cd absorption by plant roots. In addition, N enhances microbial activity and fasten C mineralization affecting Cd desorption from SOM which increases its phytoavailability. The main drivers of Cd availability are not rigorously the same among provinces and farms, and then cannot be generalized.

Regarding the influence of other TE and soil nutrient concentrations on Cd availability, strong correlations (we choose the limit of  $> 0.50$  or  $< -0.50$  to consider a correlation coefficient as strong) exist with some elements (Table SI-5). Those which enhance Cd availability are:  $\text{Cd}_{\text{tot}}$ ,  $\text{Zn}_{\text{tot}}$  and  $\text{Zn}_{\text{av}}$ ,  $\text{Cu}_{\text{av}}$ ,  $\text{Se}_{\text{av}}$ ,  $\text{Mg}_{\text{tot}}$  and  $\text{Ca}_{\text{av}}$ ; whereas the available P fraction seems to limit Cd availability. McLaughlin et al. (1999) indicated that Cd sorption in soil matrix is enhanced by low concentrations of Ca and Zn. These observations are consistent with our study highlighting a positive relation between Cd and Zn or Ca, suggesting a competition between these elements. Regarding the three provinces separately, strong correlations have also been found between available Pb and Cd in Esmeraldas and Guayas, also underlined by Lu et al. (2009), suggesting that there is a competition for soil binding sites between toxic metals and especially Cd and Pb. The cations  $\text{Mn}^{4+}$  have been considered as competitors for binding sites with  $\text{Cd}^{2+}$ , and could explain the strong correlation between available Mn and Cd for Esmeraldas' site ( $\rho_{\text{Spearman}} = 0.82$ ).

#### 5.2.4.2.2. *Influence of soil properties on other TE availability*

If we look at the factors influencing the availability of other TEs, we found a strong ( $\rho = 0.50$ ) significant correlation between soil available Cu and CEC (all provinces together). Zinc availability seems to be driven by soil pH for the three regions, with  $\rho = 0.68$ ,  $0.57$  and  $-0.41$  for Guayas, Manabí and Esmeraldas respectively. For Guayas only, Ni was strongly influenced by  $\text{C}_{\text{org}}$  content. The opposite relationship between available Zn and pH between provinces,

although they have comparable Zn concentrations and pH ranges, disapprove the general statement between these two variables (Wang et al. 2006; Alloway 2009). The same result has been observed for available Pb. The narrow range of soil pH is certainly the right explanation.

#### **5.2.4.3. Translocation and bioaccumulation of Cd and other TE in cacao beans**

##### ***5.2.4.3.1. Observed disparities in Cd and other TE concentrations in cacao beans: new insights on metallic contamination risk***

In their global study, Bertoldi et al. (2016) investigated TE concentrations in cacao beans from different regions of the world. Overall data reveal that South America has the highest Cd concentrations compared to Central America, Asia and East and West Africa. Moreover, South and Central Americas appear as the only regions with a mean Cd concentration value above the European threshold (European Commission 2014) proposed for cacao by-products. Thus, there is an evident concern of Cd concentration in cacao beans from South America.

Our results support these findings as nearly 93 % of our cacao beans samples show a Cd concentration above the  $0.80 \text{ mg Cd kg}^{-1}$  maximal permissible value for dark chocolate. In Peru, Arévalo-Gardini et al. (2017) found a maximal mean value of Cd concentration in beans of  $1.78 \text{ mg kg}^{-1}$  in Tumbes region, and 57 % of their cacao bean samples exceeded the European threshold. Conversely, in Brazil, Oliveira et al. (2020) found mean Cd concentration in cacao beans of 0.06, 0.13 and  $0.14 \text{ mg kg}^{-1}$  in Bahia, Para and Espírito Santo respectively, indicating that not the whole continent is concerned about the Cd issue. Cd hot-spots seem to exist mainly in Colombia, Peru and Ecuador, involving a potential risk for cacao cultivation and exportation.

Furthermore, in our study, Cd concentrations in cacao beans follow the order ( $p = 2^{-16}$ ): Manabí < Guayas < Esmeraldas. Consequently, Cd concentrations in beans show high variability among provinces, as already highlighted by Argüello et al. (2019), directly in relation with the variation observed in cultivated soils (see section 4.1.1.). The CV values at the farm scale range from 13 to 82 %, indicating that the Cd content in cacao beans can be locally very

heterogeneous. Average Cd concentration in cacao beans of Guayas is higher than the one reported by Romero-Estévez et al. (2019) for the same province. In Esmeraldas, the same authors reported a mean Cd concentration of  $1.25 \text{ mg kg}^{-1}$  obtained on 9 samples which is almost a half of our mean value on 30 samples ( $2.08 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ ).

Beyond Cd contamination, other toxic TE were also analyzed to assess the innocuity of cacao beans. Regarding Pb concentrations, only five samples (from Esmeraldas and Guayas) out of 88 could be exploited (blanks concentration < 10 % of the sample concentration) and their concentrations were above the maximal permissible value of  $0.10 \text{ mg Pb kg}^{-1}$  settled by the Codex Alimentarius (UE 2021/1317 2021). Even if some samples exceed the European threshold, the mean Pb concentrations in cacao beans remain below the one found in Peru by Arévalo-Gardini et al. (2017) or in Brazil by Oliveira et al. (2020). Considering these results, our three studied provinces do not seem to be Pb hot-spots for cacao beans even if in Guayas, high Pb concentrations were found in cultivated soils.

Only the Chinese Ministry of Health (2017) settled a maximal permissible value of As in cacao products, chocolates and candies of  $0.5 \text{ mg kg}^{-1}$ . Our As concentrations are below this threshold except for one in Manabí ( $0.06 \text{ mg As kg}^{-1}$ ), suggesting no As contamination risk by cacao consumption from these areas.

Even if Ni concentrations in cacao-based food are not regulated, the values measured in Esmeraldas' cacao beans (mean  $17 \text{ mg Ni kg}^{-1}$ ) are higher ( $p = 2^{-16}$ ) than those from the other provinces but also higher than in other studies in South America and may be at risk for regular consumption of these cacao-derived products. Actually, Bertoldi et al. (2016) show Ni concentrations in cacao beans from South America of about  $6.5 \text{ mg Ni kg}^{-1}$  and Kruszewski et al. (2018) found average Ni concentrations from Ecuador of  $2.3 \text{ mg kg}^{-1}$ . Also in Ecuador, Romero-Estévez et al. (2019) found a mean Ni concentration in Esmeraldas' cacao beans of  $8.5 \text{ mg kg}^{-1}$  which is their maximal value among the 9 studied provinces but 2-fold less than our mean value.

#### **5.2.4.3.2. Cd translocation and accumulation in plant tissues is mainly governed by local environment and physiological factors**

The transfer factor (TF) of cadmium from soil to cacao beans has been calculated for each studied province following the equation:

$$TF_{Cd} = Cd_{bean}/Cd_{soil} \quad (\text{Equation 1})$$

For Guayas, Esmeraldas and Manabí provinces, the mean TF\_Cd measured from composite soil and bean samples are 2.0, 5.2, and 1.9, respectively. These TF\_Cd, higher than 1, confirm that cacao trees are Cd bioaccumulators. Still, Cd absorption and translocation to cacao beans appear as not homogeneous among provinces and Esmeraldas shows significantly higher TF\_Cd than Guayas and Manabí ( $p = 7.31^{-9}$ ). This suggest that all cacao trees do not absorb Cd in the same extent and also depend on local pedoclimatic conditions.

The transfer of Cd from soil to plant shoots begins with its absorption by root cells through different membrane transporters of Zn, Fe, Mn belonging to the ZIPs, NRAMPs and HMAs proteins (Vanderschueren et al. 2021; Ullah et al. 2018; Moore 2020). As the bioavailability of the elements are by theory mostly driven by soil physicochemical properties, we also assessed the correlation between Cd concentrations in cacao beans and soil properties. The correlations analyses performed in this study suggest that the drivers of Cd accumulation in cacao beans differ among provinces. Firstly, considering the whole dataset, pH and SOM are not correlated with bean Cd concentrations ( $p = 0.12$  and 0.95, respectively). However, when looking at each province separately, a positive correlation was found between soil CEC and bean Cd content ( $\rho_{Spearman} = 0.40$ ) for Esmeraldas samples. In Manabí, the TF\_Cd is negatively correlated to soil CEC ( $\rho_{Spearman} = -0.50$ ) suggesting that improving CEC could diminish the Cd transfer from soil to cacao beans, in the studied farms.

Regarding the link between Cd in beans and its concentration in soils, we found that Manabí was the only province where significant correlations were observed, especially between the available soil Cd fraction and Cd in beans ( $\rho_{Spearman} = 0.56$ ). For the whole dataset, the correlation coefficient was low (0.29). In the literature, there are discrepancies regarding the correlation between both variables. While Chavez et al. (2015) found a strong correlation

coefficient of 0.82 between soil available and bean Cd in Ecuador, Gramlich et al. (2017) found no significant correlation between those variables in Bolivia. These findings can suggest an indirect Cd pathway between soil and bean compartments that may be related to plant physiological processes. Indeed, recent studies show that Cd in beans represent a tiny part of the whole Cd content in cacao trees and that leaves and woody parts are the main Cd sink in the plant. Blommaert et al. (2023 & 2024) indicates that the main driver of Cd loading in cacao beans is the branches' remobilization of this metal through the produced mucilage containing Ca oxalates where Cd is sequestered and that this mucilage is then loaded to the fruits and to the beans. This process has also been evidenced by Vanderschueren et al. (2023) in their pulse-chase experiment with  $^{108}\text{Cd}$  where they highlighted that the delayed Cd loading in beans compared to leaves and branches suggest a phloem redistribution of Cd rather than a direct root-to-beans pathway.

Beyond soil Cd, other elements in soils were found to be correlated with bean Cd such as total P, Mn, Ba, Cr, Ni, Co, K and Ca and with available Mn, Cu, Fe and Co.

Absorption and translocation to cacao beans could differ among provinces and drivers may change. The Cd accumulation concern should be specifically addressed locally to avoid inappropriate remediation techniques. Indeed, a recent study conducted by Argüello et al. (2023), where several soil amendments were tested to reduce Cd absorption by cacao trees in Ecuador, showed that liming only help in reducing Cd in leaves when grown in acidic soil, while in neutral soils no effects were observed.

Furthermore, TE can directly or indirectly interact during translocation and accumulation processes in plant tissues. For example, Chen et al. (2007) indicate that Mn has synergetic interactions with Cd accumulation in rice grains. Similarly, Zhao et al. (2022) found that Cd and Zn are often translocated from root to shoot rice grains by the same proteins and this could explain the synergetic interaction between both elements. Barraza et al. (2021) also found strong correlations between Ni or Zn and Cd concentrations in cacao beans. In our study, high correlations were found between Cd and Cu or Zn in beans ( $\rho = 0.51$  and  $\rho = 0.50$  respectively) for Guayas province. For Manabi's and Esmeraldas' data separately, a moderate correlation of  $\rho = 0.44$  and  $-0.61$  respectively was found between Ni and Cd in beans (Table SI-6).

External factors such as climatic conditions can also affect Cd translocation in plants, especially the temperature, moisture and shade in the plantation (Liu et al. 2016). In cacao cultivation, the orchards are grown under different shade managements (agroforestry, full-sun, etc.) which can thus affect the Cd translocation in the different cacao tree tissues.

Finally, the variability of Cd concentrations in beans can also be explained by genetic factors influencing its absorption. For example, a significant difference of Cd absorption among genotypes was reported by Lewis et al. (2018). In our study, even if the cacao trees are all from the National genetic group, there still exist genetical differences between trees, especially when the orchard has been planted by seeds and not grafted. Nevertheless, this information is unfortunately not available for the studied farms. Moreover, genetic variation in Cd absorption has been reported by Moore et al. (2020), suggesting that different gene expressions can lead to different Cd accumulation rates.

#### **5.2.4.4. Potential health risks related to TE concentrations in soils and cacao beans**

Beyond the issue of Cd accumulation in South America and the Caribbean's cacao beans and its adverse effect on human health, it is worth to look at the risks by ingestion involved by metallic contamination for cacao beans but also other crops from Ecuador.

Regarding TE concentrations in cacao beans, Yanus et al. (2014) assessed the human exposure risk to Pb through regular chocolate consumption and for some brands, one cube of chocolate represents 20 % of the daily intake safe limit for children. Even if the cacao beans from our study do not present a great health risk in relation with Pb, Anyimah-Ackah et al. (2019) suggested to monitor the Pb concentrations in cacao beans because the processing methods of cacao-based products can enrich the final product with this metal and thus, be harmful for human health. But, the high concentrations of Pb in Guayas' soils can also raise concern as some crops like manioc can accumulate high rates of Pb in their edible parts (Barraza et al. 2018; Maurice et al. 2021). In Ecuador, Barraza et al. (2018) highlighted that various manioc tubers sampled in Ecuador showed Pb concentrations ten-fold higher than the European threshold of  $0.10 \text{ mg kg}^{-1}$  for Pb in food, even if they have grown in non-

contaminated soils. Moreover, the Pb risk is clearly of concern since manioc is widely consumed in South America and produced partly in coastal regions (INIAP 2014). Baldi et al. (2021) also underlined the importance of monitoring Pb levels in both soils and crops as even if Pb concentrations in soil is lower than the 300 mg Pb kg<sup>-1</sup> threshold settled by the European Directive 86/278/CEE, some crops like tomato can accumulate this element and exceed greatly the safe limit value of 0.10 mg Pb kg<sup>-1</sup> settled by the Codex Alimentarius. Romero-Estevez et al. (2023) highlighted that several banana samples from Ecuador also accumulated Pb above this threshold.

According to the World Health Organization (WHO 2019), As is a natural element of the upper Earth's crust but very toxic for humans when they are exposed to its inorganic form. The main exposure way is the use of contaminated water for drinking, food preparation or crop irrigation. After chronic or massive exposure, the inorganic As is carcinogen and can lead to poisoning with skin issues or pulmonary, cardiovascular and diabetes diseases (WHO 2022). Unlike Pb contamination, Anyimah-Ackah et al. (2019) indicated that cacao processing does not cause As enrichment in the final product. But, a previous study (Otero et al. 2016) conducted in major Ecuadorian rice-growing regions unraveled that even if the As concentrations in the soil-rice paired samples were below the threshold limits of Codex Alimentarius Commission (2014), there is a significant correlation between bioavailable As in soils and its content in rice grains. This raises a high concern giving the fact that Guayas is one of main areas of rice production in Ecuador and, that our As concentrations recorded in this province are almost 5 times higher than those of the previously mentioned study.

Even if Cu is an essential element for human metabolism, it can become harmful when ingested at high doses and cause disturbance in the cardiovascular system. Given that the daily recommended intake (DRI) for Cu is 1.6 mg/day for a 70 kg person as a standardized value for bodyweight (EFSA 2015), our mean value of 30 mg Cu kg<sup>-1</sup> approximatively in cacao beans indicate that a 5-10 g of dark chocolate could cover 10-20 % of the daily needs.

The European regulation of Ni concentrations in foodstuffs have been recently revised (n° 2024/1987) and cacao-based products are now included in the regulated products (European Commission 2024). Considering the 15 mg Ni kg<sup>-1</sup> threshold implemented for cacao powder, which is the way our bean samples were prepared and analyzed, Esmeraldas appears as a

concerning province since 60 % of our bean samples exceed the EU limit. Regarding Manabí and Guayas, none of the samples exceed the threshold even if some of them remain close (almost half of Manabí's samples have Ni levels between 10 and 15 mg kg<sup>-1</sup>). The intercomparison of the Ni concentrations in soils and cacao beans from the 3 provinces shows that, in Esmeraldas, the average concentration in beans and soils (available fraction) is 2 to 4 times greater than in Manabí and Guayas, respectively. Moreover, our maximal Ni concentration in beans is 25 mg kg<sup>-1</sup> (Esmeraldas' sample) and considering a 70 kg adult with an average daily consumption of 14 g of dark chocolate, the ingested Ni would be 0.360 mg, corresponding to almost half of the TDI (EFSA 2020). In other words, no more than 36 g of dark chocolate from this origin should be eaten by an adult every day in order to prevent excessive Ni ingestion. Considering that this value can be higher depending on the consumption, the body weight and the additional sources of Ni in the diet, great attention have to be paid to the concentration of this metal in cacao beans in order to prevent excessive Ni ingestion.

Regarding Ba concentrations, WHO (2016) reported a maximal level of almost 2 mg kg<sup>-1</sup> in chocolates. Even if the cacao is highly diluted in those products, our study showed Ba concentrations in beans going from 2.5 to 54.4 mg Ba kg<sup>-1</sup>, suggesting that great attention has to be paid to Ba content as food is the principal source of exposure, and even more for children (Peana et al. 2021).

According to the ASTDR (2004), stable strontium (Sr) in our bean samples (mean value 8.1 mg kg<sup>-1</sup>) exceed the upper value almost 4-fold and 10-fold for some Manabí samples. As Sr can be harmful for human health as it can substitute Ca and cause bone issues, Sr levels should also be monitored to ensure safe Sr concentrations in chocolate.

Finally, multiple contamination in Guayas soils due to high concentrations of Cd, Pb and As can be a new issue for farmers as they have few alternative options for crop cultivation. Indeed, rice, cacao and manioc are very common crops in this province but are also TE accumulators as explained before.

### 5.2.5. Conclusion

Investigation of TE distribution in coastal Ecuadorian soils and cacao beans showed that spatial heterogeneity of Cd, Pb and As distribution in topsoils is very high, and even more at the farm scale, suggesting the development of site-specific techniques of mitigation. This variability is reflected in cacao beans TE concentrations which are also quite heterogeneous. Yet, more than 80 % of the soils or cacao beans samples exceed the national and European Cd thresholds, indicating that there is a real concern for food innocuity. High As and Pb concentrations were also observed especially in Guayas soils, highlighting potential risk of transfer to other local crops together with high Ni concentrations in Esmeraldas' cacao beans that exceed the new European threshold in foodstuffs. Moreover, the drivers of Cd availability and transfer to cacao shoots were likely to depend on local environment (soil elemental concentrations and physicochemical properties), as well as physiological factors and agronomical management (full-sun, agroforestry, etc.). Indeed, a high spatial heterogeneity in Cd concentrations in beans in such small areas ( $\sim 500 \text{ m}^2$  per farm) and with homogeneous soil physicochemical properties and climatic conditions suggest that cacao physiological processes and agricultural practices are key drivers of Cd accumulations in shoots.

Different opportunities for Cd mitigation are now available for the cacao chain from production stage to by-products fabrication (Vanderschueren et al. 2021). At the agronomic stage, recent studies have unraveled that organic amendments or fertilizers can reduce Cd availability, and consequently Cd accumulation in cacao tissues, for example with biochar or liming agents (Ramtahal et al. 2019). Thus, starting from this baseline field work carried out in these three Ecuadorian coastal provinces, further studies are in progress to better explore the effects of organic amendments on Cd accumulation in beans, working in straight collaboration with cacao producers, co-building new pathways of Cd mitigation in South American countries affected by this health and economical issue.

#### **AKNOWLEDGMENTS:**

We want to express our deepest gratitude to the 15 cacao farmers and their families for their involvement in the project, especially when helping us collecting samples from their farms, applying the organic inputs, and collecting the data together with the local technicians who facilitated the logistic and practical aspects. We also want to thank Mion Orsa, who was in charge of the “biological sampling” in Guayas as part of her Master’s degree. The French cooperative company ETHIQUABLE® and the non-profit associations *Central Ecuatoriana de Servicios Agrícolas* and *Agronomes et Vétérinaires Sans Frontières* are also thanked for their financial support, logistical help and support during field work. Additionally, we would like to thank Natalia Carpintero and Valeria Ochoa-Herrera from the Ecuadorian *Universidad San Francisco de Quito* (USFQ) and both Byron Moyano, Julia Flores, Valeria Moreira, Daniel Bravo and Anthony Cedeño from *Escuela Superior Politécnica del Litoral* for opening us their laboratory before soil samples exportation to France, for some physicochemical analyses and for their help during field work. Finally, we want to thank the staff of *Géosciences Environnement Toulouse* French laboratory for the help with physicochemical analyses of soil and bean samples and also the *Plateforme d’Analyses Physico-Chimiques* of the French laboratory *Laboratoire d’Ecologie Fonctionnelle et Environnement* for granulometry, C and N analyses. Thanks should also go to Liz Baileys and Saul Vazquez of the University of Nottingham (UK) for the reception of the samples and the performed analysis.

#### **FUNDING:**

This work was supported by the *French National Association of Research (ANRT) and Technology* and *ETHIQUABLE®* (PhD study grants n°2020/0369 of the first author). The author Laurence M. also received research support from the *Agence Française pour le Développement* (AFDCZZ2355 01) through the association *Agronomes et Vétérinaires Sans Frontières* and from the European Clima Lo-Ca project (2019/407-158) coordinated by the Alliance Bioversity and CIAT for the samples’ analyses.

#### **DECLARATION OF COMPETING INTEREST:**

The authors have no relevant financial or non-financial interest to disclose.

## **COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS:**

Not applicable.

## **AUTHOR CONTRIBUTION:**

Laudine Marchive: Investigation, Methodology, Formal analysis, Writing - Original Draft.  
Laurence Maurice: Conceptualization, Funding acquisition, Investigation, Methodology, Project administration, Resources, Supervision, Validation, Visualization, Roles/Writing - original draft, Writing - review & editing. Eva Schreck: Conceptualization. Investigation. Methodology. Supervision. Validation. Visualization. Roles/Writing - original draft. Writing - review & editing. Stéphane Senan: Supervision. Nicolas Eberhart: Supervision. Eduardo Chavez: Formal analysis, Writing - review & editing. Rémi Thinard: Methodology, Writing - review & editing.

## **References:**

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (2004) Toxicological profile for strontium.

<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp159.pdf>. Accessed 24 September 2024

Alloway BJ (2009) Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans. Environ. Geochem. Health, 31(5), 537–548. <https://doi.org/10.1007/s10653-009-9255-4>

Alloway BJ (1990) Heavy metals in soils. John Wiley and Sons, New York, NY, USA.

Anyimah-Ackah E, Ofosu IW, Lutterodt HE, Darko G (2019) Exposures and risks of arsenic, cadmium, lead, and mercury in cacao beans and cacao-based foods: a systematic review. Food Qual. Saf. 3, 1–8. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyy02517>

Aran D, Maul A, Masfaraud JF (2008) A spectrophotometric measurement of soil cation exchange capacity based on cobaltihexamine chloride absorbance. Comptes Rendus Geoscience 340, 865–871. <https://doi.org/10.1016/j.crte.2008.07.015>

Arévalo-Gardini E, Arévalo-Hernández CO, Baligar VC, He ZL (2017) Heavy metal accumulation in leaves and beans of cacao (*Theobroma cacao* L.) in major cacao growing

regions in Peru. *Sci. Total Environ.* 605–606, 792–800.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.122>

Argüello D, Chavez E, Lauryssen F, Vanderschueren R, Smolders E, Montalvo D (2019) Soil properties and agronomic factors affecting cadmium concentrations in cacao beans: A nationwide survey in Ecuador. *Sci. Total Environ.* 649, 120–127.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.292>

Argüello D, Chavez E, Gutierrez E, Pittomvils M, Dekeyrel J, Blommaert H, Smolders E (2023) Soil amendments to reduce cadmium in cacao (*Theobroma cacao L.*): A comprehensive field study in Ecuador. *Chemosphere* 324, 138318.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138318>

Atiaga O, Ruales J, Nunes LM, Otero XL (2021) Toxic Elements in Soil and Rice in Ecuador. *Agronomy* 11, 1594. <https://doi.org/10.3390/agronomy11081594>

Baldi A, Cecchi S, Grassi C, Zanchi CA, Orlandini S, Napoli M (2021) Lead Bioaccumulation and Translocation in Herbaceous Plants Grown in Urban and Peri-Urban Soil and the Potential Human Health Risk. *Agronomy* 11, 2444. <https://doi.org/10.3390/agronomy11122444>

Barraza F, Maurice L, Uzu G, Becerra S, López F, Ochoa-Herrera V, Ruales J, Schreck E (2018) Distribution, contents and health risk assessment of metal(loid)s in small-scale farms in the Ecuadorian Amazon: An insight into impacts of oil activities. *Sci. Total Environ.* 622–623, 106–120. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.246>

Barraza F, Schreck E, Lévéque T, Uzu G, López F, Ruales J, Prunier J, Marquet A, Maurice L (2017) Cadmium bioaccumulation and gastric bioaccessibility in cacao: A field study in areas impacted by oil activities in Ecuador. *Environ. Pollut.* 229, 950–963.

<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.07.080>

Barraza F, Moore RET, Rehkämper M, Schreck E, Lefevre G, Kreissig K, Coles BJ, Maurice L (2019) Cadmium isotope fractionation in the soil – cacao systems of Ecuador: a pilot field study. *RSC Adv.* 9, 34011–34022. <https://doi.org/10.1039/C9RA05516A>

Barraza F, Schreck E, Uzu G, Lévêque T, Zouiten C, Boidot M, Maurice L (2021) Beyond cadmium accumulation: Distribution of other trace elements in soils and cacao beans in Ecuador. Environ. Res. 192, 110241. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110241>

Bertoldi D, Barbero A, Camin F, Caligiani A, Larcher R (2016) Multielemental fingerprinting and geographic traceability of Theobroma cacao beans and cacao products. Food Control 65, 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.01.013>

Blommaert H, Castillo-Michel H, Veronesi G, Tucoulou R, Beauchêne J, Umaharan P, Smolders E, Sarret G (2024) Ca-oxalate crystals are involved in cadmium storage in a high Cd accumulating cultivar of cacao. Environ. Exp. Bot. 221, 105713.

<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2024.105713>

Blommaert H, Aucour AM, Wiggenhauser M, Moens C, Telouk P, Campillo S, Beauchêne J, Landrot G, Testemale D, Pin S, Lewis C, Umaharan P, Smolders E, Sarret G (2022) From soil to cacao bean: Unravelling the pathways of cadmium translocation in a high Cd accumulating cultivar of Theobroma cacao L. Front. Plant Sci. 13, 1055912.

<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1055912>

Bundschuh J, Schneider J, Alam MA, Niazi NK, Herath I, Parvez F, Tomaszewska B, Guilherme LR G, Maity JP, López DL, Cirelli AF, Pérez-Carrera A, Morales-Simfors N, Alarcón-Herrera MT, Baisch P, Mohan D, Mukherjee A (2021) Seven potential sources of arsenic pollution in Latin America and their environmental and health impacts. Sci. Total Environ. 780, 146274.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146274>

Center for the Promotion of Imports from developing countries (2024) What is the demand for cacao on the European market? <https://www.cbi.eu/market-information/cacao/what-demand>. Accessed 24 September 2024

Center for the Promotion of Imports from developing countries (2022) The European market potential for tree-to-bar chocolate. <https://www.cbi.eu/market-information/cacao-cacao-products/tree-bar/market-potential>. Accessed 24 September 2024

Cerqueira B, Covelo EF, Andrade ML, Vega FA (2011) Retention and Mobility of Copper and Lead in Soils as Influenced by Soil Horizon Properties. Pedosphere 21, 603–614.

[https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(11\)60162-8](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(11)60162-8)

Chavez E, He ZL, Stoffella PJ, Mylavarapu RS, Li YC, Baligar VC (2016) Chemical speciation of cadmium: An approach to evaluate plant-available cadmium in Ecuadorian soils under cacao production. Chemosphere 150, 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.013>

Chavez E, He ZL, Stoffella PJ, Mylavarapu RS, Li YC, Moyano B, Baligar VC (2015) Concentration of cadmium in cacao beans and its relationship with soil cadmium in southern Ecuador. Sci. Total Environ. 533, 205–214. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.106>

Chen F, Dong J, Wang F, Wu F, Zhang G, Li G, Chen Z, Chen J, Wei K (2007) Identification of barley genotypes with low grain Cd accumulation and its interaction with four microelements. Chemosphere 67, 2082–2088.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.10.014>

Codex Alimentarius (2019) Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023 on maximum levels for certain contaminants in food and repealing Regulation (EC) No 1881/2006. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32023R0915>. Accessed 24 September 2024

Codex Alimentarius (2021) Commission Regulation (EU) 2021/1317 of 9 August 2021 amending regulation (EC) no 1881/2006 as regards maximum levels of lead in certain foodstuffs. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=OJ:L:2021:286:FULL>. Accessed 24 September 2024

Codex Alimentarius (2024) Commission Regulation (EU) 2024/1987 of 30 July 2024 amending Regulation (EU) 2023/915 as regards maximum levels of nickel in certain foodstuffs. [https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=OJ:L\\_202401987](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=OJ:L_202401987). Accessed 30 September 2024

Corporacion Financiera Nacional (2023) Ficha Sectoral Cacao. <https://www.cfn.fin.ec/wp-content/uploads/downloads/biblioteca/2023/fichas-sectoriales-2-trimestre/Ficha-Sectorial-Cacao.pdf>

Engbersen N, Gramlich A, Lopez M, Schwarz G, Hattendorf B, Gutierrez O, Schulin R (2019) Cadmium accumulation and allocation in different cacao cultivars. Sci. Total Environ. 678, 660–670. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.001>

European Food Safety Authority (2009) Cadmium in food - Scientific opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. EFS2 7. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.980> . Accessed 19 January 2024

European Food Safety Authority (2012) Cadmium dietary exposure in the European population. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2551> . Accessed 24 September 2024

European Food Safety Authority (2015) Scientific Opinion on Dietary Reference Values for copper. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4253> . Accessed 24 September 2024

European Food Safety Authority (2018) Review of the existing maximum residue levels for copper compounds according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005. EFS2 16. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5212> . Accessed 19 January 2024

EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), Schrenk D, Bignami M, Bodin L, et al. (2020) Update of the risk assessment of nickel in food and drinking water. EFSA Journal, 18(11). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6268>

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (2014) Cultivo de yuca en el Ecuador. <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/5214/1/INIAPEPbd436.pdf> . Accessed 24 September 2024

Glasby GP, Rankin PC, Meylan MA (1979) Manganiferous Soil Concretions from Hawaii. Pacific Science, University of Hawaii Press, 33.  
<https://scholarspace.manoa.hawaii.edu/bitstreams/72c68ee8-f394-4f9b-86ff-02f20d4173ca/download>

Gramlich A, Tandy S, Andres C, Chincheros Paniagua J, Armengot L, Schneider M, Schulin R (2017) Cadmium uptake by cacao trees in agroforestry and monoculture systems under conventional and organic management. Sci. Total Environ. 580, 677–686.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.014>

Gramlich A, Tandy S, Gauggel C, López M, Perla D, Gonzalez V, Schulin R (2018) Soil cadmium uptake by cacao in Honduras. Sci. Total Environ. 612, 370–378.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.145>

World Health Organization (2022) Guidelines for drinking-water quality, fourth edition incorporating the first and second addenda.

<https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/352532/9789240045064-eng.pdf?sequence=1>.

Accessed 30 September 2024

Hamid Y, Tang L, Sohail MI, Cao X, Hussain B, Aziz MZ, Usman M, He Z, Yang X (2019) An explanation of soil amendments to reduce cadmium phytoavailability and transfer to food chain. *Sci. Total Environ.* 660, 80–96. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.419>

Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura (2017) Manual Técnico del Cultivo de Cacao Prácticas Latinoamericanas.

<https://repositorio.iica.int/handle/11324/6181&ved=2ahUKEwj--ZXbzduIAxVmUqQEHbD0KZAQFnoECBgQAQ&usg=AOvVaw1lKaYRfyB-xB6THaGdzKCW>.

Accessed 24 September 2024

International Cacao Organization (2024) [https://www.icco.org/wp-content/uploads/Production\\_QBCS-L-No.-3.pdf](https://www.icco.org/wp-content/uploads/Production_QBCS-L-No.-3.pdf). Accessed 24 September 2024

Khan MA, Khan S, Khan A, Alam M (2017) Soil contamination with cadmium, consequences and remediation using organic amendments. *Sci. Total Environ.* 601–602, 1591–1605.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.030>

Kruszewski B, Obiedziński MW, Kowalska J (2018) Nickel, cadmium and lead levels in raw cacao and processed chocolate mass materials from three different manufacturers. *J. Food Compos. Anal.* 66, 127–135. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.12.012>

Lewis C, Lennon AM, Eudoxie G, Sivapatham P, Umaharan P (2021) Plant metal concentrations in *Theobroma cacao* as affected by soil metal availability in different soil types. *Chemosphere* 262, 127749. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127749>

Lewis C, Lennon AM, Eudoxie G, Umaharan P (2018) Genetic variation in bioaccumulation and partitioning of cadmium in *Theobroma cacao* L. *Sci. Total Environ.* 640–641, 696–703.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.365>

Liu H, Wang H, Ma Y, Wang H, Shi Y (2016) Role of transpiration and metabolism in translocation and accumulation of cadmium in tobacco plants (*Nicotiana tabacum* L.). Chemosphere 144, 1960–1965. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.10.093>

Lu SG, Xu QF (2009) Competitive adsorption of Cd, Cu, Pb and Zn by different soils of Eastern China. Environ. Geol. 57, 685–693. <https://doi.org/10.1007/s00254-008-1347-4>

Maurice L, Barraza F, Blondet I, Ho-A-Chuck M, Tablon J, Brousse P, Demar M, Schreck E (2021) Childhood lead exposure of Amerindian communities in French Guiana: an isotopic approach to tracing sources. Environ. Geochem. Health 43, 4741–4757.  
<https://doi.org/10.1007/s10653-021-00944-9>

Maurice L, López F, Becerra S, Jamhoury H, Le Menach K, Dévier MH, Budzinski H, Prunier J, Juteau-Martineau G, Ochoa-Herrera V, Quiroga D, Schreck E (2019) Drinking water quality in areas impacted by oil activities in Ecuador: Associated health risks and social perception of human exposure. Sci. Total Environ. 690, 1203–1217.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.089>

McLaughlin MJ, Parker DR, Clarke JM (1999) Metals and micronutrients – food safety issues. Field Crops Res. 60, 143–163. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(98\)00137-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(98)00137-3)

Meter A, Atkinson RJ, Laliberte B (2019) Cadmium in Cacao from Latin America and the Caribbean – A Review of Research and Potential Mitigation Solutions. Bioversity International, Rome. <https://cgspace.cgiar.org/bitstreams/e3666102-2fac-42b4-a364-e5a6a0c204d1/download> . Accessed 30 September 2024

Mehlich A (1984) Mehlich 3 soil test extractant: A modification of Mehlich 2 extractant. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 15, 1409–1416. <https://doi.org/10.1080/00103628409367568>

Meng D, Li J, Liu T, Liu Y, Yan M, Hu J, Li X, Liu X, Liang Y, Liu H, Yin H (2019) Effects of redox potential on soil cadmium solubility: Insight into microbial community. J. Environ. Sci. 75, 224–232. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2018.03.032>

Ministerio del Ambiente de Ecuador (2015) Texto unificado de legislación Medio Ambiental (TULSMA) Acuerdo Ministerial N°028, Libro VI Anexo 1.

<https://faolex.fao.org/docs/pdf/ecu112180.pdf> . Accessed 24 September 2024

Ministerio de Producción, Comercio Exterior, Inversiones y Pesca (2024) Análisis Trimestral Enero-Marzo 2024. <https://www.produccion.gob.ec/wp-content/uploads/2024/05/Analisis-trimestral-de-comercio-exterior-ene-mar-2024.pdf> . Accessed 24 September 2024

Moore RET, Ullah I, De Oliveira VH, Hammond SJ, Strekopytov S, Tibbett M, Dunwell JM, Rehkämper M (2020) Cadmium isotope fractionation reveals genetic variation in Cd uptake and translocation by *Theobroma cacao* and role of natural resistance-associated macrophage protein 5 and heavy metal ATPase-family transporters. *Hortic Res* 7, 71.

<https://doi.org/10.1038/s41438-020-0292-6>

Mounicou S, Szpunar J, Andrey D, Blake C, Lobinski R (2003) Concentrations and bioavailability of cadmium and lead in cacao powder and related products. *Food Addit. Contam.* 20, 343–352. <https://doi.org/10.1080/0265203031000077888>

Nelson DW, Sommers LE (1996) Total Carbon, Organic Carbon, and Organic Matter. Methods of Soil Analysis (eds D.L. Sparks, A.L. Page, P.A. Helmke, R.H. Loepert, P.N. Soltanpour, M.A. Tabatabai, C.T. Johnston and M.E. Sumner). <https://doi.org/10.2136/sssabookser5.3.c34>

Oliveira BRM, de Almeida AAF, Pirovani CP, Barroso JP, de C. Neto CH, Santos NA, Ahnert D, Baligar VC, Mangabeira PAO (2020) Mitigation of Cd toxicity by Mn in young plants of cacao, evaluated by the proteomic profiles of leaves and roots. *Ecotoxicol.* 29, 340–358.

<https://doi.org/10.1007/s10646-020-02178-4>

Otero XL, Tierra W, Atiaga O, Guanoluisa D, Nunes LM, Ferreira TO, Ruales J (2016) Arsenic in rice agrosystems (water, soil and rice plants) in Guayas and Los Ríos provinces, Ecuador. *Sci. Total Environ.* 573, 778–787. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.08.162>

Peana M, Medici S, Dadar M, Zoroddu MA, Pelucelli A, Chasapis CT, Bjørklund G (2021) Environmental barium: potential exposure and health-hazards. *Arch. Toxicol.* 95, 2605–2612. <https://doi.org/10.1007/s00204-021-03049-5>

Qin S, Liu H, Rengel Z, Gao W, Nie Z, Li C, Hou M, Cheng J, Zhao P (2020) Boron inhibits cadmium uptake in wheat (*Triticum aestivum*) by regulating gene expression. *Plant Sci.* 297, 110522. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110522>

Ramtahal G, Umaharan P, Hanuman A, Davis C, Ali L (2019) The effectiveness of soil amendments, biochar and lime, in mitigating cadmium bioaccumulation in *Theobroma cacao*. *L. Sci. Total Environ.* 693, 133563. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.369>

Riaz M, Kamran M, Rizwan M, Ali S, Parveen A, Malik Z, Wang X (2021) Cadmium uptake and translocation: selenium and silicon roles in Cd detoxification for the production of low Cd crops: a critical review. *Chemosphere* 273, 129690.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129690>

Romero-Estévez D, Yáñez-Jácome GS, Navarrete H (2023) Non-essential metal contamination in Ecuadorian agricultural production: A critical review. *J. Food Compos. Anal.* 115, 104932.

<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104932>

Romero-Estévez D, Yáñez-Jácome GS, Simbaña-Farinango K, Navarrete H (2019) Content and the relationship between cadmium, nickel, and lead concentrations in Ecuadorian cacao beans from nine provinces. *Food Control* 106, 106750.

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106750>

Scaccabarozzi D, Castillo L, Aromatisi A, Milne L, Búllon Castillo A, Muñoz-Rojas M (2020) Soil, Site, and Management Factors Affecting Cadmium Concentrations in Cacao-Growing Soils. *Agronomy*, 10(6), 806. <https://doi.org/10.3390/agronomy10060806>

Ščančar J, Zuliani T, Milačič R (2013) Study of nickel content in Ni-rich food products in Slovenia. *J. Food Compos. Anal.* 32, 83–89. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.06.011>

Smolders E (2001) Cadmium uptake by plants. *Int J Occup Med Environ Health* 4(2):177-83. PMID : 11548068

Snoeck D, Koko L, Joffre J, Bastide P, Jagoret P (2016) Cacao Nutrition and Fertilization, in: Lichtfouse, E. (Ed.), *Sustainable Agriculture Reviews*, Sustainable Agriculture Reviews. Springer International Publishing, Cham, pp. 155–202. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-26777-7\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-26777-7_4)

Thomas E, Atkinson R, Zavaleta D, Rodriguez C, Lastra S, Yovera F, Arango K, Pezo A, Aguilar J, Tames M, Ramos A, Cruz W, Cosme R, Espinoza E, Chavez CR, Ladd B (2023) The distribution of cadmium in soil and cacao beans in Peru. *Sci. Total Environ.* 881, [163372](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163372).

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163372>

U.S. EPA (1996) Method 3050B: Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Soils. Washington, DC. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-06/documents/epa-3050b.pdf>. Accessed 24 September 2024

Ullah I, Wang Y, Eide DJ, Dunwell JM (2018) Evolution, and functional analysis of Natural Resistance-Associated Macrophage Proteins (NRAMPs) from *Theobroma cacao* and their role in cadmium accumulation. *Sci Rep* 8, 14412. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32819-y>

Van der Ent A, Baker AJM, Reeves RD, Pollard AJ, Schat H (2013) Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: Facts and fiction. *Plant Soil* 362, 319–334.

<https://doi.org/10.1007/s11104-012-1287-3>

Vanderschueren R, Argüello D, Blommaert H, Montalvo D, Barraza F, Maurice L, Schreck E, Schulin R, Lewis C, Vazquez JL, Umaharan P, Chavez E, Sarret G, Smolders E (2021) Mitigating the level of cadmium in cacao products: Reviewing the transfer of cadmium from soil to chocolate bar. *Sci. Total Environ.* 781, 146779.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146779>

Vanderschueren R, Wantiez L, Blommaert H, Flores J, Chavez E, Smolders E (2023). Revealing the pathways of cadmium uptake and translocation in cacao trees (*Theobroma cacao* L.): A <sup>108</sup>Cd pulse-chase experiment. *Sci. Total Environ.* 869, 161816.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161816>

Van Der Ent A, Baker AJM, Reeves RD, Pollard AJ, Schat H (2013) Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: Facts and fiction. *Plant and Soil*, 362(1-2), 319-334.

<https://doi.org/10.1007/s11104-012-1287-3>

Vinueza D, Ochoa-Herrera V, Maurice L, Tamayo E, Mejía L, Tejera E, Machado A (2021) Determining the microbial and chemical contamination in Ecuador's main rivers. *Sci Rep* 11, 17640. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96926-z>

Wade J, Ac-Pangan M, Favoretto VR, Taylor AJ, Engeseth N, Margenot AJ (2022) Drivers of cadmium accumulation in *Theobroma cacao* L. beans: A quantitative synthesis of soil-plant relationships across the Cacao Belt. *PLoS ONE* 17, e0261989.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261989>

Wang AS, Angle JS, Chaney RL, Delorme TA, Reeves RD (2006) Soil pH Effects on Uptake of Cd and Zn by *Thlaspi caerulescens*. *Plant Soil* 281, 325–337. <https://doi.org/10.1007/s11104-005-4642-9>

World Health Organization (2016) Barium in drinking-water.

<https://cdn.who.int/media/docs/default-source/wash-documents/wash-chemicals/barium-background-jan17.pdf>. Accessed 24 January 2024

Yang Y, Xiong J, Tao L, Cao Z, Tang W, Zhang J, Yu X, Fu G, Zhang X, Lu Y (2020) Regulatory mechanisms of nitrogen (N) on cadmium (Cd) uptake and accumulation in plants: A review. *Sci. Total Environ.* 708, 135186. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135186>

Yanus RL, Sela H, Borojovich EJC, Zakon Y, Saphier M, Nikolski A, Gutflais E, Lorber A, Karpas Z (2014) Trace elements in cacao solids and chocolate: An ICPMS study. *Talanta* 119, 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.10.048>

Zambrano G, Ramírez K, Santos A, Charry A, Chávez E. 2022. Caracterización de tipologías de agricultores de cacao de los cantones Tena y Naranjal en Ecuador: indicadores financieros y modelos de negocios. Publicación CIAT No. 539. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. 58 p. <https://cgspage.cgiar.org/handle/10568/125723>

Zarrillo S, Gaikwad NW, Lanaud C, Powis T G, Viot C, Lesur I, Fouet O, Argout X, Guichoux E, Salin F, Solorzano RGL, Bouchez O, Vignes H, Severts P, Hurtado J, Yepez A, Grivetti LE, Blake M, Valdez F (2018). The use and domestication of *Theobroma cacao* during the mid-Holocene in the upper Amazon. *Nat. Ecol. Evol.* <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0697-x>

Zhao FJ, Tang Z, Song JJ, Huang XY, Wang P (2022) Toxic metals and metalloids: Uptake, transport, detoxification, phytoremediation, and crop improvement for safer food. *Molecular Plant* 15, 27–44. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2021.09.016>

Zug KLM, Huamaní Yupanqui HA, Meyberg F, Cierjacks JS, Cierjacks A (2019). Cadmium Accumulation in Peruvian Cacao (*Theobroma cacao* L.) and Opportunities for Mitigation. *Water Air Soil Pollut* 230, 72. <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4109-x>

## Supplemental Information:

**Table SI - 1:** Mean (min-max) total and available concentrations ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) of trace elements in top-soil samples (0-20 cm) from the provinces of Esmeraldas, Guayas and Manabí (Ecuador). The quality criteria (QC) and the maximal permissible value (MPV) of the Ecuadorian environmental legislation (TULSMA, 2015) have also been included. The values in orange correspond to the average concentrations above the QC while the red values indicate that the mean concentrations exceed the MPV.

	Esmeraldas		Guayas		Manabí		TULSMA
Element	Total fraction	Available Fraction	Total fraction	Available Fraction	Total fraction	Available Fraction	Total (QC – MPV)
Mn	438 (307 - 842)	67 (13 - 367)	820 (620 – 1062)	99 (54 – 142)	9.14 (290 – 1477)	140 (58 – 246)	
Ba	332 (128 - 387)	102 (64 - 147)	178 (133 – 217)	-	214 (145 – 332)	149 (74 – 220)	200 - 750
Zn	93 (49 - 218)	5 (2 - 17)	142 (105 – 173)	6 (4 – 9)	65 (46 – 106)	3 (1 – 10)	60 - 200
V	116 (64 - 141)	-	78 (59 – 91)	-	123 (88 – 180)	-	76 -130
Cr	38.81 (19.19 - 46.00)	0.07 (0.02 - 0.17)	32.97 (29.45 – 36.68)	0.16 (0.10 – 0.23)	26.40 (16.82 – 41.31)	0.06 (0.02 – 0.23)	54 - 65
Cu	45 (14 - 55)	8 (2 - 12)	52 (38 – 61)	10 (6 – 13)	37 (23 – 48)	4 (2-9)	25 - 63
Ni	27 (13-34)	4 (3 - 11)	21.16 (16.62 – 23.80)	0.73 (0.34 – 1.18)	17.8 (10.7 – 28.0)	1.7 (0.5 – 3.5)	19 - 50
Co	11.62 (5.86 - 13.95)	0.90 (0.26 – 3.25)	13.76 (10.60 – 16.07)	0.81 (0.44 – 1.19)	18.00 (10.70 – 24.45)	2.91 (0.65 – 7.85)	10 - 40
Pb	5.04 (2.58 - 10.01)	1.01 (0.40 – 2.16)	40.58 (15.52 – 55.26)	1.49 (0.00 – 6.32)	6.80 (4.65 – 8.82)	1.12 (0.60 – 1.61)	19 - 60
As	3.49 (1.20 – 4.61)	0.09 (0.04 – 0.15)	20.92 (14.43 – 28.23)	0.27 (0.00 – 0.66)	4.06 (2.14 – 10.63)	0.06 (0.03 – 0.15)	12 - 12
Cd	0.90 (0.35 – 3.22)	0.50 (0.11 – 2.29)	1.14 (0.69 – 1.65)	0.52 (0.35 – 0.80)	0.58 (0.12 – 1.36)	0.26 (0.05 – 0.66)	0.5 - 2
Mo	0.460 (0.164 – 0.666)	0.011 (0.002- 0.027)	0.90 (0.77 – 1.04)	-	0.558 (0.169 – 1.637)	0.018 (0.003 – 0.043)	5 - 5

**Table SI - 2:** Mean ( $\pm$  SD) total concentrations ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) of trace elements in soil single samples (for 3 depths: 0-20, 20-40 and 40-60 cm) from the provinces of Esmeraldas, Guayas and Manabí (Ecuador).

Total TE concentrations ( $\text{mg kg}^{-1}$ )								
Region	Esmeraldas			Guayas			Manabí	
Depth (cm)	0-20	20-40	40-60	0-20	20-40	40-60	0-20	20-40
<b>Mn</b>	479 $\pm$ 66	507 $\pm$ 66	521 $\pm$ 66	807 $\pm$ 66	969 $\pm$ 66	839 $\pm$ 66	645 $\pm$ 66	625 $\pm$ 66
<b>Ba</b>	356 $\pm$ 13	347 $\pm$ 13	345 $\pm$ 13	186 $\pm$ 13	201 $\pm$ 13	178 $\pm$ 13	202 $\pm$ 13	186 $\pm$ 13
<b>Zn</b>	99 $\pm$ 3	96 $\pm$ 3	94 $\pm$ 3	152 $\pm$ 3	155 $\pm$ 3	137 $\pm$ 3	60 $\pm$ 3	64 $\pm$ 3
<b>V</b>	81 $\pm$ 5	86 $\pm$ 5	86 $\pm$ 5	85 $\pm$ 5	91 $\pm$ 5	85 $\pm$ 5	94 $\pm$ 5	109 $\pm$ 5
<b>Cr</b>	44 $\pm$ 2	46 $\pm$ 2	46 $\pm$ 2	35 $\pm$ 2	38 $\pm$ 2	35 $\pm$ 2	30 $\pm$ 2	34 $\pm$ 2
<b>Cu</b>	53 $\pm$ 1	58 $\pm$ 1	58 $\pm$ 1	54 $\pm$ 1	57 $\pm$ 1	60 $\pm$ 1	37 $\pm$ 1	41 $\pm$ 1
<b>Ni</b>	31 $\pm$ 1	32 $\pm$ 1	32 $\pm$ 1	22 $\pm$ 1	25 $\pm$ 1	21 $\pm$ 1	16 $\pm$ 1	19 $\pm$ 1
<b>Co</b>	14 $\pm$ 2	14 $\pm$ 2	14 $\pm$ 2	15 $\pm$ 2	17 $\pm$ 2	14 $\pm$ 2	17 $\pm$ 2	21 $\pm$ 2
<b>Pb</b>	5.8 $\pm$ 2.1	5.5 $\pm$ 2.1	5.5 $\pm$ 2.1	47.4 $\pm$	54.1 $\pm$	47.9 $\pm$	6.2 $\pm$ 2.1	6.7 $\pm$ 2.1
				2.1	2.1	2.1		
<b>As</b>	4.4 $\pm$ 0.5	4.7 $\pm$ 0.5	4.8 $\pm$ 0.5	22.8 $\pm$	30.1 $\pm$	25.7 $\pm$	4.1 $\pm$ 0.5	5.4 $\pm$ 0.5
				0.5	0.5	0.5		
<b>Cd</b>	0.86 $\pm$	0.66 $\pm$	0.60 $\pm$	1.31 $\pm$	0.85 $\pm$	0.88 $\pm$	0.32 $\pm$	0.22 $\pm$ 0.10
	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	
<b>Mo</b>	0.52 $\pm$	0.62 $\pm$	0.78 $\pm$	0.96 $\pm$	1.33 $\pm$	1.46 $\pm$	0.40 $\pm$	0.68 $\pm$
	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07

**Table SI - 3:** Spearman correlation coefficients between the transfer factor of Cd (TF\_Cd) from soil to cacao beans and from beans with the other soil elements. The calculation have been done with the whole dataset ("All data") and for each province separately. Only the significant correlations are shown. The coefficient with a \* , \*\* or \*\*\* corresponds respectively to a p-value  $0.01 < \text{p-value} < 0.05$ ,  $< 0.01$  or  $<< 0.01$ .

Guayas	Esmeraldas	Manabí	All data
--------	------------	--------	----------

	TF_Cd	Cd_beans	TF_Cd	Cd_beans	TF_Cd	Cd_beans	TF_Cd	Cd_beans
<b>Ni_tot</b>							0.37 **	0.71 **
<b>Ni_av</b>								0.38 **
<b>Cd_tot</b>	-0.52**					0.49 **		
<b>Cd_av</b>	-0.68**		-0.61**			0.47 *		0.29 **
<b>Pb_tot</b>		0.43*		0.39*			-0.26 *	-0.28 *
<b>Pb_av</b>							-0.35 **	
<b>Zn_tot</b>		0.49**				0.45 *		0.42 **
<b>Zn_av</b>	-0.61***							
<b>Na_tot</b>		0.49**						
<b>Mg_tot</b>		0.45*	0.42*	0.42*			0.23 *	0.45 *
<b>Mg_av</b>			0.53**	0.53**			0.22 *	0.35 *
<b>Ca_tot</b>	0.52**	0.13*	0.40*				0.27 *	0.61 **
<b>Ca_av</b>					-0.46 *		-0.24 *	
<b>Al_tot</b>	0.44*	0.52*	0.13**			-0.44 *		
<b>V_tot</b>								
<b>Cr_tot</b>		0.49**	0.36*				0.63 **	0.67 **
<b>Cr_av</b>								
<b>Mn_tot</b>		-0.35*	-				-0.56 **	-0.55 **
<b>Mn_av</b>		-0.43**					-0.66 **	-0.56 **
<b>Fe_tot</b>	0.39**	0.38*	0.41*					
<b>Fe_av</b>							0.55 **	0.62 **
<b>Co_tot</b>	0.39*	0.41*	0.50*				-0.41 **	-0.59 **
<b>Co_av</b>		-0.49*					-0.59 **	-0.52 **
<b>Cu_tot</b>	0.43*		0.45*				0.31 **	0.29 **
<b>Cu_av</b>			0.53**				0.28 *	0.52 **
<b>As_tot</b>		0.46*	0.40*					
<b>As_av</b>								0.30 **
<b>Se_tot</b>			-0.55 **				0.38 **	0.43 **
<b>Se_av</b>		-0.46*	-0.46 *					
<b>Mo_av</b>		-0.60**	-0.60 **					
<b>Ba_tot</b>	0.43						0.30 **	0.52 **
<b>Ba_av</b>			0.67**					
<b>K_tot</b>							0.39 **	0.74 **

P_tot	0.42*	0.26 *	0.51 **
P_av			0.32 *

---

**Table SI - 4:** Spearman correlation coefficients between soil Cd available concentration and the other soil elements of the Ecuadorian provinces of Manabí, Esmeraldas, Guayas and the three provinces combined. X\_tot corresponds to the total element and X\_av to the available fraction. The degree of significance is represented with \*\*, \*\*\* or \*\*\*\* corresponding respectively to  $0.01 < p\text{-value} < 0.5$ ,  $p\text{-value} < 0.01$  or  $p\text{-value} \ll 0.01$ .

	P_tot	P_av	Mn_tot	Mn_a	Ni_av	Ba_tot	Ba_av	Zn_tot	Zn_av	Cr_tot	Cr_av	Cu_tot	Cu_av	Co_tot	Co_av	Pb_tot	Pb_av	As_tot	As_av	Mo_tot	Mo_a	Se_av	Mg_tot	Mg_a	K_tot	K_av	Ca_tot	Ca_av
Manabi	0.43*	0.50*	0.23	0.53*	0.63*			0.46*	0.74*			0.60*		0.45*		0.48*		0.43*		0.41*								
Esmeraldas			*	**				**				**				*												
Guayas			0.61*	0.61*	0.87*	0.62*			0.62*					0.81*		0.72*			0.43*	0.67*			0.40*	0.47*		0.45*		
All data			*	*	**	**			**					**		**				**								

**Table SI - 5:** Spearman correlation coefficients between trace-metal elements and Cd in cacao beans samples from the Ecuadorian provinces of Esmeraldas, Guayas and Manabí. The \* corresponds to  $p < 0.01$  and \*\* to  $p << 0.01$ . Only significant correlations are shown.

	Esmeraldas	Guayas	Manabí	All data
<b>Se</b>		0.41 *		
<b>Mn</b>			-0.33 **	
<b>Ba</b>			-0.37 **	
<b>Mo</b>			-0.36 **	
<b>Ni</b>	0.44 *		-0.61 *	0.44 **
<b>Cu</b>		0.51 *		-0.29 **
<b>Zn</b>		0.50 *		
<b>Fe</b>		0.40 *		
<b>Co</b>			-0.64 **	

## 5.3. Complément d'information sur la composition élémentaire initiale des feuilles et de la litière en lien avec les paramètres physico-chimiques des sols

### 5.3.1. Teneurs en ETM dans les feuilles de cacao

Les analyses de feuilles montrent que la concentration moyenne en Cd est de 4,74 mg kg<sup>-1</sup> pour les trois provinces, avec un coefficient de variation de 48 %. Si l'on distingue les concentrations de ces provinces, elles sont, en moyenne, de  $3,82 \pm 0,84$ , ;  $6,26 \pm 1,86$  et  $4,14 \pm 2,87$  mg Cd kg<sup>-1</sup> respectivement pour la province de Guayas, d'Esmeraldas et de Manabí. Nous constatons que les teneurs en Cd dans les feuilles sont supérieures à celles dans les fèves, elles-mêmes supérieures à celles dans les sols. Les analyses de corrélations montrent que le Cd dans les feuilles est modérément corrélé au Cd dans les fèves ( $\rho_{\text{Spearman}} = 0,66$  ;  $p < 0,01$ ) ce qui peut suggérer l'existence d'un transfert direct du Cd entre ces deux compartiments de la plante. D'autre part, le Cd dans les fèves est également négativement corrélé au Ca, K, Co et Mn dans les feuilles ( $p < 0,05$ ), ce qui indique un possible antagonisme entre ces éléments et le Cd. Une récente étude (Blommaert et al., 2024) montre que dans les feuilles de cacao, le Cd peut être retrouvé au sein de cristaux de Ca-oxalate formés dans le mésophylle, ce qui peut expliquer la corrélation négative entre le Cd dans les fèves et le Ca dans les feuilles ( $\rho_{\text{Spearman}} = -0,52$  ;  $p < 0,01$ ).

### 5.3.2. Lien entre concentrations élémentaires dans les feuilles et le sol

Il paraît important de déterminer si la fraction réactive des nutriments, et donc biodisponibles dans les sols, mesurée suite aux extractions Mehlich 3, reflétaient véritablement les concentrations absorbées et accumulées dans les feuilles de cacao. Pour cela, des corrélations ont été établies entre les concentrations élémentaires réactives du sol et leurs concentrations correspondantes dans les feuilles de cacao. Il s'est avéré que la fraction extraite par Mehlich 3 reflète celle qui est retrouvée dans les feuilles uniquement pour l'Al et le Ni qui ont des coefficients de corrélation de 0,80 et 0,78, respectivement. Pour les autres éléments, soit la corrélation n'est pas significative, soit les coefficients sont < 0.80. Ceci montre que Mehlich 3 n'est pas la méthode la plus adaptée pour extraire la fraction « biodisponible » des éléments dans le sol, effectivement absorbée par la plante dans notre contexte pédoclimatique. Des méthodes d'extraction moins fortes (telles que des extractions par des sels) pourraient être utilisées pour extraire la fraction soluble des éléments et pouvant refléter davantage le statut nutritif des feuilles.

# 6. Effets des intrants biologiques sur la santé des cacaoyères en Équateur et en Côte d'Ivoire

---

## 6.1. Préambule

Peu d'études sur l'effet des amendements et/ ou fertilisants organiques et biologiques sur la biodisponibilité du Cd et sa translocation *in planta* vers les fèves et feuilles de cacao ont été réalisées en conditions de terrain et sur plusieurs années. Jusqu'à présent, nous avons identifié uniquement deux études similaires à la nôtre (Ramtahal et al. 2019 ; Argüello et al., 2023).

L'objectif du chapitre 6.2 est de présenter les résultats obtenus lors des expérimentations menées en Équateur à propos de l'effet des intrants organiques et biofertilisants sur l'état biologique et physico-chimiques des sols, la biodisponibilité du Cd dans les sols ainsi que son transfert vers les organes aériens des arbres. Le document est articulé en deux sections principales. La première partie s'intéresse aux effets des traitements toutes provinces confondues en Équateur, en considérant chaque ferme comme une répétition. En deuxième lieu, nous avons dressé une analyse plus holistique en nous intéressant plus particulièrement à la province de Guayas où nous avons pu réaliser, dans le cadre du projet Clima-LoCa, des analyses de l'activité biologique des sols (équipe de l'Université de Wageningen au Pays Bas), ainsi qu'une analyse économique de l'utilisation des intrants organiques (équipe de l'Université ESPOL en Équateur).

Les principaux résultats montrent que même si des tendances se dégagent, il n'y a pas eu d'effet significatif des traitements sur les variables étudiées après 2 ans et demi d'essai agronomique de plein champ. Les diverses raisons pour lesquelles ces traitements n'ont pas eu d'effet sont discutées. La raison principale tient à la physiologie particulière de l'arbre de cacao : celui-ci étant cauliflore, 2 ans et demi ne sont certainement pas suffisants pour détecter des changements significatifs des concentrations de Cd dans les fèves de cacao, ni dans les sols (Annexe 3). Il s'avère que la translocation du Cd du sol vers les fèves n'est pas linéaire et que plusieurs mécanismes physiologiques jouent un rôle dans la redistribution du Cd entre les organes des arbres de cacao. Certains processus sont connus depuis peu (Blommaert et al., 2024), d'autres restent encore incompris. De plus, les doses utilisées sont apparues comme trop faibles en comparaison à d'autres études similaires, ce qui pourrait expliquer que les traitements n'ont pas permis, en 2 ans et demi, de favoriser la fertilité des sols. Toutefois, ces doses ont été choisies car elles correspondent aux quantités maximales d'intrants organiques pouvant être produits localement par les producteurs, et restent réalistes pour des exploitations de cette échelle. En outre, les amendements étudiés ont peut-être la caractéristique de retenir les nutriments des sols dans un premier temps et de les libérer progressivement, d'où l'allongement du temps nécessaire pour l'observation d'effets plus importants et significatifs. Les propriétés biologiques des sols n'ont pas été affectées non plus par les traitements des sols de Guayas.

Au-delà des concentrations élémentaires analysées dans plusieurs matrices, nous avons également présenté les effets des amendements et biofertilisants sur le rendement du cacao dans la province de Guayas, où nous avions des données complètes. Cette étude a été couplée à une analyse économique des coûts et bénéfices de l'application des traitements au vu de leur efficacité à augmenter les rendements. Nous avons pu observer un effet bénéfique des traitements à base de biochar ou bokashi couplé au biofertilisant liquide ( $p = 0,08$ ), qui ont permis d'augmenter les rendements d'au maximum  $993 \text{ kg ha}^{-1}$  par rapport au témoin (Ferme U1). Le traitement T2 ainsi est apparu comme le seul traitement rentable dans le meilleur des cas présentés précédemment. Toutefois il est important de préciser que l'analyse des rendements ainsi que l'étude économique de

l'utilisation de IO reste un travail exploratoire, dont le protocole s'avère insuffisant pour tirer des conclusions robustes et fiables. Il s'agit donc de résultats préliminaires visant à orienter les agriculteurs, techniciens et agronomes vers des pratiques qui pourraient augmenter les rendements tout en restant accessibles économiquement.

Pour l'élaboration de cet article, j'ai pris en charge toutes les étapes et coordonné les analyses et l'exploitation de l'ensemble des données. L'analyse économique et les échantillonnages et analyses de biologie des sols, très spécifiques et nécessitant des compétences plus poussées dans ces domaines, ont été respectivement confiés à l'Université ESPOL en Équateur et l'Université de Wageningen au Pays-Bas. Cependant, j'ai réalisé les échantillonnages dans les trois provinces pour les autres analyses puis effectué une partie des analyses physicochimiques subséquentes. Ensuite, j'ai traité les données à l'aide d'outils statistiques adaptés, sous conseil de Giulia Buongiorno (co-autrice de l'article) puis j'ai coordonné la rédaction du document (dont j'ai rédigé plus de 75 % des différentes parties, en collaboration avec différents auteurs aux disciplines variées et complémentaires).

## 6.2. Les intrants organiques pour la remédiation du Cd dans les fèves de cacao équatoriennes. *Article scientifique à soumettre*

### **Can artisanal organic inputs improve the sustainability of cacao farming? Insights from a participatory field research in Ecuador**

Laudine Marchive<sup>1,2 \*</sup>, Giulia Bongiorno<sup>3</sup>, Eva Schreck<sup>1</sup>, Andrés Charry<sup>7</sup>, Eduardo Chavez<sup>4</sup>,  
Nicolas Eberhart<sup>2</sup>, Rémi Thinard<sup>5</sup>, Mirjam Pulleman<sup>3,7</sup>, Guillermo Zambrano<sup>4</sup>, Karen  
Ramírez<sup>4</sup>, Adriana Santos<sup>4</sup>, Laurence Maurice<sup>1,6</sup>

<sup>1</sup>Géosciences Environnement Toulouse (GET), Université de Toulouse, CNRS, IRD 14 Avenue Edouard Belin, 31400 Toulouse, France

<sup>2</sup> SCOP ETHIQUABLE, 32500 Fleurance, France

<sup>3</sup> Wageningen University & Research, Soil Biology Group, P.O. Box 47, 6700 AA Wageningen, Netherlands

<sup>4</sup> Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador

<sup>5</sup> Symbiotik Agroecologie, 42600 Montbrison, France

<sup>6</sup> Universidad Andina Simon Bolivar, Area de Salud, P.O. Box 17-12-569, Quito, Ecuador

<sup>7</sup> Alliance of Bioversity International and International Center for Tropical Agriculture (CIAT), Cali, Colombia

\*: corresponding author: Laudine Marchive, [laudine.marchive@get.omp.eu](mailto:laudine.marchive@get.omp.eu) /  
[laudinemarchive@gmail.com](mailto:laudinemarchive@gmail.com)

## **Abstract**

Cacao farming is performed by nearly 5 million households in developing countries, vulnerable to climatic and financial uncertainty. Although Ecuador is well positioned in the international cacao market, locally high cadmium (Cd) concentrations in beans are threatening their trade after the implementation of food safety regulation on Cd in cacao by the European Union and other cacao importing economies. In this context, a 2.5 years agronomic field study was carried out in 15 organic farms across three major cacao-growing provinces of Ecuador: Esmeraldas, Manabí and Guayas. The aim was to assess the effectiveness of artisanal biochar, bokashi and foliar bio-inputs to reduce Cd bioavailability and its transfer from soil to cacao leaves and beans. We also studied their impacts on soil fertility, cacao yield and diseases. In the Guayas site, a cost-benefit assessment was also performed. Results showed that the soil physicochemical and biological properties as well as the Cd concentrations in soils, beans, leaves and litter were only affected by the sampling time, highlighting their seasonal variability. Overall, leaf Cd decreased within the study period while the reactive soil and the bean Cd contents were not affected by time, nor by treatments, including in the control plots. This indicates that plant physiological processes are key to Cd transfer from soil to plant organs including Cd loading in beans. Finally, we observed a trend of yield improvement ( $p = 0.08$ ) in the bokashi treatments, which were also the treatments that showed feasibility from a cost-benefit perspective. More than 2.5 are needed to observe significant effects of artisanal bio-inputs on soil properties and bean and leaf quality under organic and agroforestry management.



**Figure 41:** Picture (left) of a liquid bio-input tank from the Guayas' bio-factory and (right) of cacao plot from Roger Vera's farm in Esmeraldas, Ecuador.

### 6.2.1. Introduction

Nearly 50 million people, mainly smallholder farmers, around the world depend on cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivation for their livelihoods, making cacao an important cash crop, especially in West Africa, Latin-America and the Caribbean (LAC) and few Asian countries like Indonesia (Fountain and Hüetz-Adams, 2020). The LAC countries represent 20 % of the worldwide cacao production (ICCO, 2024) with Ecuador appearing as the first LAC cacao exporter. Ninety percent of the cacao farmers in LAC are smallholders (IISD, 2019; Arvelo et al., 2016) with limited financial resources that cope with low cacao productivity, price volatility and increasingly with impacts of climate change. This, in turn, threatens cacao supply, making it difficult to meet the rising cacao demand (CIRAD, 2014). The increase of LAC cacao production was mainly due to increased cultivated surfaces like in Ecuador, where they rose by 200 000 ha between 2012 and 2022 (MAG, 2024). Moreover,

high producing genotypes are incrementally adopted by farmers for their resistance to diseases and/or adverse climatic conditions (Middendorp et al., 2018; Conceição do Santos et al., 2023). However, high producing genotypes like “CCN-51” are less suitable for fine chocolate manufacturing as compared to the *Nacional* cultivars for which LAC countries are recognized and can limit the access to premium cacao markets more profitable for farmers (Jaimez et al., 2022).

Apart from low productivity, a significant part of cacao farmers in LAC are facing challenges due to a stringent food safety regulation limiting cadmium (Cd) concentrations in cacao by-products which was implemented in 2019 by the European Union, a key cacao beans destination (European Commission, 2014; Argüello et al., 2019; Chavez et al., 2015 & 2016). Cacao production in LAC is particularly impacted by this regulation, since the region is the largest producer of fine flavor and organic cacao owed to its particular aromatic profile (Arvelo. et al., 2016; Vanderschueren et al., 2021). Indeed, the Cd regulation in Europe and other cacao importing economies has raised concern in the cacao value chain due to the risk for some producers to no longer being able to access to premium international markets thus lowering their incomes (Villar et al., 2022; Charry et al., 2023). In LAC, farmers and companies that offering specialty and organic cacao to the EU have been negatively affected because blending with contrasting Cd levels is not possible, due to the loss of the origin characteristics (Charry et al., 2023). It is important to note that Cd issue in cacao beans is localized as long as Cd concentrations are highly variable among regions and even at the farm scale (Argüello et al., 2018, Thomas et al, 2023). Indeed, the Cd content variability in soils is mainly due to the diversity of geological materials, topography and other soil forming processes in LAC (Vanderschueren et al., 2021; Guarin et al., 2023). However, anthropogenic sources including agronomic inputs, oil or mine industry and proximity to roads can also be sources of Cd in the environment (Guarin et al., 2024). Soil Cd heterogeneity is not the only factor affecting Cd content in beans since plant characteristics like the trees age or variety can also induce Cd variability in cacao tissues.

Recent studies have reported that soil properties such as pH, organic matter (OM) or clay % are main drivers of Cd availability in soil and transfer to cacao plants (Xu et al.,

2022; Oliva et al., 2020; Argüello et al., 2019). The effect of these properties is not always constant among sites as shown in our previous study in 3 provinces of Ecuador (Marchive et al., 2024, under review) as the Cd mobility in the soil-plant system depends on a combination of factors inherent to soil, plant physiology and the local environment such as edaphic-climatic conditions or geologic backgrounds. Blommaert et al. (2022 & 2024) reported that Cd is stored mainly in branches and tree trunk and is later transported to cacao beans. This finding is key to understand that soil Cd concentrations are not the only contributor to Cd in beans.

Given the high Cd concentrations, the low yields and soil fertility as well as low cacao profitability, there is an urgent need to develop sustainable agricultural practices that can ensure the wellbeing of farmers, while also meeting supply chain demands and consumers' health. Short-term economic benefits that farmers perceive from agronomic innovations is one of the key drivers of adoption. Consequently, possible mitigation practices require critical attention when evaluating (Rajendran et al., 2016; Piñeiro et al., 2020).

In this context, organic inputs (OI) have received growing interest as there are several benefits they can provide for soil management. Moreover, these organic inputs can be produced by farmers with local and accessible raw materials (Figure 41), which can be less expensive and ensure nutrient recovery from local residue and waste streams thus contributing to the local bioeconomy (Rayna-Ramirez et al., 2018). However, there is hardly any scientific literature about the benefits of home-made liquid bio-inputs in the Andean region, as reported by O'Neill and Ramos-Abensur (2022).

The OI benefits may include the increase of soil pH in acidic soils, thereby reducing metal availability, Cd bonding sites and ligands and supply of important macro and micronutrients for plant nutrition. OM and nutrients can also affect Cd dynamics. For instance, certain nutrients and cations ( $Zn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ , ...) compete with Cd in the plant cell walls transporters, nutrients and OM enhance biological activity for soil aggregation, root development, amongst other assets (Khan et al., 2017; Saifullah et al., 2014; Lim et al., 2017; Argüello et al., 2020; Ramtahal et al., 2019). In organic spinach field cultivation,

Christel (2017) showed that food waste bokashi (a type of compost) increased soil nutrient availability resulting in better yields and spinach quality compared to the control treatment.

Despite an overwhelming amount of literature on the multiple benefits of OI for soil fertility, biological activity, soil structure, disease control, crop yields and Cd mitigation, there is a considerable knowledge gap about the benefits of OI in cacao cultivation. Moreover, most of the existing studies about OI efficiency, especially on Cd mitigation in cacao farming are conducted in controlled conditions or with seedlings (Vanderschueren et al., 2021; Argüello et al., 2023). Although this methodology can provide results within a short time, those results are often not reproducible in real farms due to biotic and abiotic factors, especially climate, pests and diseases, agricultural practices, cultivated genotypes and soil variability (Vries et al., 1980; Matt, 2021). Regarding Cd mitigation with OI and to the best of our knowledge, only two studies on this topic under field conditions. Argüello et al. (2023) reported that compost application did not reduce Cd in beans or leaves after 30 months of application in Ecuador. In Trinidad de Tobago, Ramtahal et al. (2019) succeeded in reducing cacao leaf Cd (25% reduction) with biochar field application (dose 356 kg ha<sup>-1</sup>) after 6 months. In addition, the synergies and trade-offs in terms of nutrient cycling and cacao yields were not addressed in those studies.

In this context, we tested the hypothesis that the combination of farmer-made organic amendments (OA) and foliar bio-inputs (BF) has a positive synergistic effect on Cd mitigation and soil fertility in organic, agroforestry and smallholder cacao production. To this end, a 2.5-years field study was implemented following a participatory approach in three of the main cacao-producing provinces in Ecuador (Guayas, Esmeraldas and Manabí). Additionally, in the Guayas province, we assessed the effects of the evaluated bio-input combinations on cacao yields and their profitability for cacao smallholders with organic management.

## 6.2.2. Material and methods

### 6.2.2.1. General context and study area

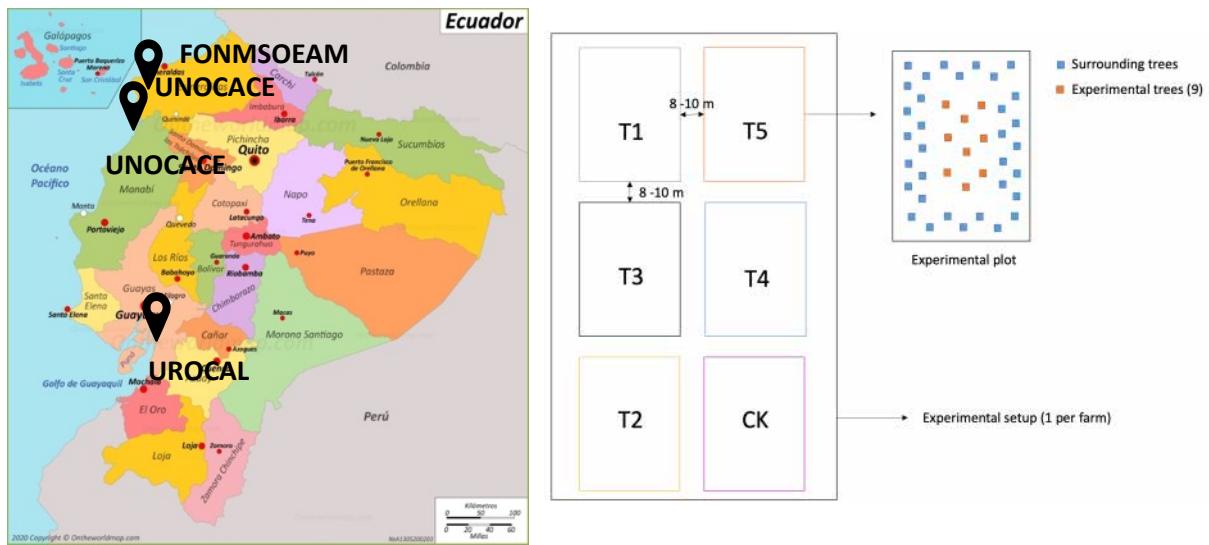
The study was conducted in Ecuador with three cacao-producers associations located in the coastal provinces of Esmeraldas, Manabí, and Guayas (Figure 42) which count 300, 1200 and 250 members, respectively (<https://ethiquable.coop>). By 2022, Guayas, Manabí and Esmeraldas contributed to 21, 15 and 11 % of the national cacao production (MAG, 2024). It is estimated that 2 % of the area planted with cacao in Guayas corresponds to the *Nacional* variety, 85 % in Manabí and 61 % in Esmeraldas (Guilcapi, 2018). The *Nacional* cacao, considered as fine flavor cacao due to its organoleptic characteristics, has a high potential to be sold in high value-markets (i.e. EU market) so it can be linked to business models that pay a higher price to farmers compared to other varieties (Avadi et al., 2021). However, business models linked to niche markets present greater vulnerability to Cd regulations due to the requirement related to innocuity and quality (Ramirez et al., 2022). In this study, all the trees belong to only one genetic group, the *Nacional* genetic group.

All studied soils belong to the Inceptisol type (USDA classification) and are characterized by a quasi-neutral pH (average  $6.5 \pm 0.3$ ), a low OM content (average  $3.2 \pm 0.8$  %) and a silt or silt loam texture, depending on the provinces. The baseline Cd assessment (Marchive et al., 2014, submitted) showed average concentrations (in  $\text{mg kg}^{-1}$ ) for the three provinces of  $0.42 \pm 0.30$  soil reactive Cd (Mehlich-3 extraction),  $0.89 \pm 0.45$  soil pseudo-total Cd (*aqua-regia* extraction),  $2.36 \pm 1.32$  bean Cd,  $4.74 \pm 2.29$  mature leaf Cd and  $6.76 \pm 3.59$  litter Cd. The average soil pseudo-total Cd concentrations are above the 0.50 Ecuadorian threshold for agricultural soils (TULSMA, 2015) and the Cd content in beans exceeds both the  $0.80 \text{ mg kg}^{-1}$  European threshold (established for chocolate but commonly used for cacao beans in scientific publications) and the national average of  $0.90 \text{ mg kg}^{-1}$  reported by Argüello et al. (2019).

The cacao trees are cultivated in agroforestry systems which include more than 6 species apart from cacao, such as lime, mango, bananas, etc.. All the experimental trees are mature and productive trees, but the ages range from 6 to 80 years. However, in each farm, all the experimental trees have the same age. The farmers have an organic management of their farm, and have never applied any agricultural input in their farms. Moreover, farmers were asked to prune their trees once a year in March and were advised to keep removing the ill pods from their fields to avoid a contamination of the surrounding fruits.

#### **6.2.2.2. Experomental set-up**

The experimental set-up (Figure 42) was implemented similarly in 13 farms, 5 in Guayas, 5 in Manabí and 3 in Esmeraldas. In each site, five combinations of organic amendments and liquid foliar bio-inputs were tested (T1 to T5, see later for more details). An additional plot without any application was included as control (CK). This way, six plots per farm were implemented, each plot containing 9 cacao trees each, where the samplings and the treatments' application were done. Because some treatments included foliar application of liquid inputs, plots were separated by 3 rows of cacao trees without any application, corresponding approximatively to 9 meters apart. Applications were done twice a year in February and August, resulting in five applications at the end of the study corresponding to a distributed application of 10 kg biochar/bokashi per tree (or 4.4 Mg ha<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup>) and/or 1 L of liquid biological inputs.



**Figure 42:** Localization of the three cacao cooperatives where the experiments were settled (left) and scheme of the experimental set-up established in each farm in the provinces of Esmeraldas, Manabí and Guayas (right).

The treatments, which are explained more in details below, are a combination of biochar (BI), bokashi (BK), a liquid bio-input (LB) and an effective microorganisms' solution (EMS). For each tree, the treatment T1 consisted in 2 kg BI + 0.2 L BF, the T2 in 2 kg BK + 0.2 L BF, T3 in 2 kg BK + 0.2 L EMS, T4 in 2 kg BI + 0.2 L BF + 0.2 L EMS and T5 in 2 kg BI + 2 kg BK + 0.2 L BF.

All the inputs were produced locally by the farmers and technical assistants of the cooperatives. The production units are called “bio-factories” which are artisanal ateliers where the farmers elaborate and store the inputs. Each province has its own bio-factory supplying the 5 corresponding farmers with locally sourced ingredients.

The BI is produced with the branches and trunks of *Inga edulis* tree, locally named “Guabo” which is an abundant species and has low Cd accumulation according to our preliminary biochar analyses ( $0.04 \text{ mg kg}^{-1}$ ). The BI is obtained after the pyrolysis of the trees’ residues in TLUD systems made from oil drums, for about 24-48 h and the semi-mechanical grinding of the resulting char.

The BK is the result of the fermentation of organic residues. For this study, the bokashi was inoculated with local forest litter (0-5 cm). The BK also contains, soil, rice husk, rock powder, poultry manure and diluted molasses. After heaping the ingredients in layers, they were mixed and moistened with the effective microorganisms solution (see below, EMS) and stored in non-hermetic big bags to ensure little aeration during the fermentation process for about 15 d.

The LB is a mix of single bio-inputs, obtained by mixing fermented grass, diluted molasses, milk serum and water without chlorine. After 4 days, the chosen mineral is added (in this study calcium hydroxide, magnesium, zinc and manganese sulfates were used) to obtain respectively BioCa, BioMg, BioZn and BioMn single bio-inputs. After 30 d of anaerobic fermentation in a hermetic tank, the final LB is done by combining 50% BioCa, 40% BioMg, 5% BioZn and 5% BioMn.

For the EMS, the first step is elaborating the solid microorganisms by mixing rice fibers, organic material from the forest top-soil, molasses and rock powder fermented for 30 d. Then, in a hermetic tank, 5% of the mixture immersed in a jute bag (like a teabag) in 90 % water and 5 % molasses. This process is called “microorganism activation” and lasts approximately 10 d.

Solid amendments (BI & BK) were buried in 3 holes at 1.5 m of the trunk and then covered again with the litter to protect the inputs from heavy rains and direct solar radiation. The liquid inputs were sprayed over the leaves, branches and trunks. The main chemical characteristics of BK and BI are presented in table SI-6. The semi-quantitative analysis of the Esmeraldas' LB showed concentrations of boron (B), calcium (Ca), zinc (Zn) and magnesium (Mg) and manganese (Mn) of 0.26, 1237, 455, 1943 and 731 mg L<sup>-1</sup>, respectively. When sprayed in the field, farmers diluted the LB by a ratio 2:15 in tap water.

### **6.2.2.3. Sampling methodology**

Figure SI-1 sums up the field activities performed each year. In each farm, composite samples (one per plot) of soil, beans, leaves and litter were taken at three sampling times before and after the first application which occurred in February 2021. The first sampling was in November 2020, before the first application. The second and third sampling were at 9 and 27 months after the 1<sup>st</sup> application. In July 2022 (15 months after the 1<sup>st</sup> application), an additional sampling was done for chemical, biochemical and biological soil health properties and leaves elemental concentrations only in the 5 farms located in Guayas. For practical reasons, this additional sampling will be called “biological sampling”.

Soil samplings were done as follows: one sub-sample was taken at 0-20 cm deep with an Edelman auger at ~ 1.5 m of each tree per plot and then mixed to have a composite sample for each plot per farm resulting in 90 (6 plots \* 5 farms \* 3 provinces) soil samples per sampling campaign. The samples were stored in plastic bags for several days before being oven-dried at 40°C the *Escuela Superior Politécnica del Litoral* (ESPOL, in Guayas) or at the *Universidad San Francisco de Quito* (USFQ, in Quito for the samples from Esmeraldas and Manabí). The samples were then manually ground with a porcelain mortar and a nylon miller and passed through a sieve (2mm). For the additional sampling (“soil biological sampling”) done only in Guayas in July 2022, soil cores were taken with a hand auger at 0-20 cm deep and from six points around each cacao tree, within 1 m from the tree trunk thus avoiding the exact holes where the solid OA were applied. Soil cores were mixed to obtain a 2 kg composite samples per plot.

Cacao beans were obtained by collecting, 1 to 4 cacao pods in each plot and 4 beans from each pod were extracted and pooled to get a composite sample. The mucilage and bean shell were removed manually with a ceramic knife to keep only the nib. Samples were frozen until being oven dried at 40°C. Beans were mechanically grounded until obtaining a fine powder prior to elemental analyses.

For leaves, 3 mature leaves (from different branches) from each tree were collected to obtain a composite sample of 27 leaves per plot. The leaves in the 4<sup>th</sup> position of the branch were chosen as suggested by Chavez and Argüello (2021). For litter, three cacao leaves were collected at the bottom of each cacao tree. All the samples were also oven-dried and mechanically ground until obtaining a fine powder prior to elemental analyses. For the July 2022 sampling, 30 mature cacao leaves were collected per plot following the same procedure (Chavez and Argüello, 2021). Leaves with signs of necrosis, chlorosis or any yellowing were included in the samples. Collecting only healthy leaves could have biased the results on nutrient deficiencies.

#### **6.2.2.4. Physicochemical and biological analyses**

##### ***6.2.2.4.1. Determination of soil physicochemical properties***

Soil pH was measured in triplicates for each soil sample in a 1:10 ratio solution of soil and ultra-pure water with Fieldscout® soilstick device. For the “biological sampling”, soil pH was measured in distilled water.

The measurement of the cation exchange capacity (CEC) was done following the AFNOR X 31-130 protocol of cobalthexamine trichloride extraction (Ciesielski et al., 1996). For the “biological sampling”, CEC was determined through the ammonium acetate method at field pH. For that, 5 g of soil and 25 mL of 1M NH<sub>4</sub>-acetate were centrifugated for 15 min decantated 2 h and centrifugated again for 60 min. The measurement was done after filtering the solutions, by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES, DV 5300 Perkin Elmer®, USA).

Total organic carbon (TOC) and total nitrogen (N<sub>tot</sub>) were determined after soil decarbonation (with HCl) by elemental analyses with the Flash 200 Thermo Scientific® according to the NF ISO-10694 standard (Nelson et al. 1984). Soil texture was determined by laser granulometry with LA950-V2 (Horiba®) device.

#### 6.2.2.4.2.

#### *Determination of TE concentrations in soils, biological inputs, cacao beans and leaves*

Pseudo-total elemental soil concentrations were measured using *aqua-regia* digestion procedure (US EPA 3050b) whereas the reactive pool was analyzed after Mehlich 3 extraction (M3). For the *aqua-regia* digestion of soils and solid OA, 100 mg of sample was added to 9 mL of analytical grade bi-distilled HNO<sub>3</sub> and 3 mL of HCl. Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS, iCAP-TQ Thermo Scientific<sup>®</sup>) was used to determine elemental concentrations. The yield of the *aqua-regia* digestion process was controlled with the certified reference material (CRM) BCR-142 included in each batch (recoveries detailed in table SI-7). Recoveries for pseudo-total Cd concentrations ranged from 95 to 104 %. Sample duplicates and reagent blanks were also included every 5 and 10 samples, respectively, to evaluate the reproducibility and cleanliness of the procedure. Blanks allowed to calculate the limit of detection (LOD) and quantification (LOQ) for each element.

Regarding the reactive pool of elements in soils and OA, M3 single extraction procedure was performed to scavenge the soluble-exchangeable, carbonate and organically bound fractions (Mehlich, 1984). Sample replicates and blanks were included for quality control.

For cacao beans and leaves, samples were digested with HNO<sub>3</sub> in a microwave assisted digester (Multiwave Pro, Anton Paar<sup>®</sup>) prior to ICP-MS analyses for total concentrations. The CRM ERM BD512 and 1515 were included for beans and leaves recoveries, respectively (table SI-7). The recoveries for Cd concentrations in beans and leaves ranged from 91 to 104 %. Samples duplicates as well as reagent blank were included for quality control.

Finally, liquid biofertilizers' elemental composition was analyzed by ICP-OES after a semi-quantitative analysis in ultra-pure water (in 1:80 ratio).

The transfer factor (FT) for Cd between topsoil and cacao bean was calculated according to Equation 1:

$$TF_{Cd} = Cd_{bean}/Cd_{soil\ pseudo-total} \quad [\text{Eq. 1}]$$

#### 6.2.2.4.3. *Soil biochemical and biological properties*

The following analyses were performed in the Guayas soils sampled during July 2022. Soil permanganate oxidizable carbon (POXC) was measured after samples oxidation prior to spectrophotometry quantification (Weil et al., 2003). Briefly, 2.5 g of air-dry samples sieved at 2 mm was weighed into a polypropylene tube and 18 mL of distilled water plus 2 mL of 1 M KMnO<sub>4</sub> were added before shaking in an orbital for 2 min at 120 rpm. After 10 min of settling, 0.5 mL of supernatant was taken and added to a new tube with 49.5 mL of distilled water. The absorbance of this solution was read at 550 nm on a UV-VIS spectrophotometer. Permanganate oxidizable carbon was calculated according to Equation 2 (Weil et al., 2003):

$$\text{POXC (mg kg}^{-1}\text{)} = [0.02 \text{ mol L}^{-1} - (a + b * \text{Abs})] * 9000 \text{ mg C mol}^{-1} (0.02 \text{ L solution Wt}^{-1}) \quad [\text{Eq. 2}]$$

where 0.02 mol L<sup>-1</sup> is the concentration of the K<sub>2</sub>MnO<sub>4</sub> solution, a is the intercept and b is the slope of the standard calibration curve, 9000 mg is the amount of carbon oxidized by 1 mol of MnO<sub>4</sub> changing from Mn<sup>+7</sup> to Mn<sup>+4</sup>, 0.02 L is the volume of the K<sub>2</sub>MnO<sub>4</sub> reacting with the samples, and Wt is the mass of soil in kg used for the reaction.

Soil phosphatase activity was used as an indicator of P availability (Tabatabai and Bremner, 1969). One g of dry soil was incubated at a ratio of 4 mL of modified universal buffer (MUB) at pH 6.5, 0.25 mL of toluene, and 1 mL of 0.115 M p-nitrophenyl phosphate (PNP) at 37 °C. After incubation, 1 mL of 0.5 M CaCl<sub>2</sub> and 4 mL of 0.5 M NaOH were added, after which the suspensions were filtered at 0.45 µm. The absorbance was measured at 400 nm by spectrophotometry within 24 h after filtration (Le Bayon and Binet, 2006), after which the concentration in µmol p-nitrophenol g<sup>-1</sup> soil was corrected for incubation time. For the measurement of phosphatase activity, controls were used for each treatment in

order to correct potential color derivation from p-nitrophenol released by phosphatase activity. For controls, the PNP solution was added after the additions of 0.5 M CaCl<sub>2</sub> and 0.5 M NaOH (e.g., directly before filtration).

Potential soil respiration was measured as an indicator of microbial activity (protocol adapted from Hess and Schmidt, 1995). Homogenized air-dried soil samples passed through a 2 mm sieved were rewetted by adjusting their moisture content to 60 % of the soil water holding capacity (WHC) of the farm to which they belonged (WHC was previously determined for each farm according to Visscher et al., 2024). 30 g of rewetted soil was then transferred to 50 mL polyethylene bottles sealed with parafilm and stored in dark conditions at 22°C. Before each measurement, bottles were opened for 10 min. The increase in gaseous CO<sub>2</sub> concentrations (mg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>) was determined during a time interval of 10 min with a Go Direct® CO<sub>2</sub> Gas sensor. Measurements were performed after 24, 48, 72 and 96 h of incubation. Only the 96-h incubation measurement were used to avoid disturbance effect after rewetting and because of the unstable temperature conditions in the lab during the first three days of incubation (Visscher et al., 2024). Equation 3 was used to calculate the µg C-CO<sub>2</sub> respired per g of dry soil per h:

$$C - CO_2 (\mu\text{g } h^{-1}) = 0.273 \frac{[\text{* change } CO_2 \text{ in the headspace (mg } m^{-3} h) * \text{ headspace volume (m}^{-3}\text{)}]}{\text{air dried sample weight (g)}} \quad [\text{Eq. 3}]$$

where 0.273 is the conversion factor from C to CO<sub>2</sub> in mg.

The soil potential mineralizable N (PMN) was determined as an indicator of N availability by executing a 5-week aerobic incubation experiment (protocol adapted from Robertson et al., 1999). Before incubation, air dried soil samples sieved at 2 mm were brought to 60 % of their WHC. For each rewetted sample, 100 g dry soil was placed in polyethylene bags and incubated at constant room temperature (18°C). A 2M KCl extraction was performed before (i.e. t0) and at the end (i.e. t5) of the incubation period. The concentration of mineral N (N-NO<sub>3</sub> and N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) was measured with a Segmented Flow Analyzer (SFA). The soil concentrations of mineral N were calculated using Equations [4] and [5]:

$$N - NH_4 (\text{mg kg}^{-1} \text{dry soil}) = \frac{(V_{\text{tot}} \times \text{dil}) \times (N - NH_4 \text{ sample (mg L}^{-1}\text{)} - \text{blank (mg L}^{-1}\text{)})}{\text{weight dry soil (g)}} \quad [\text{Eq. 4}]$$

$$N - NO_3 (\text{mg kg}^{-1} \text{dry soil}) = \left( \frac{V_{\text{tot}} \times \text{dil} \times (N - NO_3 \text{ sample (mg L}^{-1}\text{)} - \text{blank (mg L}^{-1}\text{)})}{\text{weight dry soil (g)}} \right) \quad [\text{Eq. 5}]$$

$$N_{\text{tot}} = N - NH_4 + N - NO_3 \quad [\text{Eq. 4}] + [\text{Eq. 5}]$$

where  $V_{\text{tot}}$  is the volume of the KCl extractant and dil is the dilution factor (i.e. 2). The PMN was then calculated as:

$$N_{\text{tot}} (\text{mineralization after incubation}) - N_{\text{tot}} (\text{mineralization before incubation}) \text{ in mg kg}^{-1} \quad [\text{Eq. 6}]$$

The soil active microbial community profile was investigated through phospholipid fatty acids (PLFAs) and neutral lipid fatty acids (NLFAs), which are commonly used as chemotaxonomic markers of microbial organisms (Buyer and Sasser, 2012). Cell membranes can be extracted and decomposed into their fatty acid constituents and then used as markers for alive microorganisms. This method provides both quantitative and qualitative information of the whole microbial biomass existing in the soil. Soil samples were freeze-dried and stored at -20 °C before analyses (at the WUR Soil Biology group). Briefly, total lipids are extracted and divided into fractions of different polarity (Blight and Dyer, 1959). The fatty acids, liberated from the polar lipids and derivatized to form fatty acid methyl esters (FAME) are analyzed by gas chromatography (GC) and compared to the PLFA of known organisms for identification (Frostegard et al. 2011). The absolute ( $\text{pM g}^{-1}$ ) and relative (%) abundances of saprotrophic fungi, arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria and actinomycetes were quantified. Classification of the microbial groups was based on Buyer & Sasser (2012). The ratio between the absolute

abundances of soil fungi and bacteria, as well as Gram-positive and Gram-negative bacteria were then calculated.

#### **6.2.2.4.4. *Agronomic performances: yields and incidence of pest and diseases***

In 5 farms (Guayas province), yield was recorded from June 2021 to November 2023. In each plot, all healthy and diseased pods were harvested from each tree and counted. Then, the fresh beans with pulp were extracted from the healthy pods and weighed per plot. Annual dry coacoa bean production ( $\text{kg dry beans}^{-1} \text{y}^{-1}$ ) was calculated following the equation [7]:

$$\text{Yield} = \text{Cumulated monthly production (kg fresh beans) / trees} \times \\ \text{Tree density (trees ha}^{-1}\text{)} \times 0.35 \quad [\text{Eq. 7}]$$

where 0.35 is the coefficient to convert the weight of fresh beans in dry beans (Wibaux et al., 2017).

Pest and diseases incidence was calculated for each year by dividing the sum of ill pods by the sum of total produced pods for each plot.

#### **6.2.2.4.5. *Cost-benefit assessment of the use of organic inputs***

The production costs and indicative prices of the amendments and bio-inputs produced in the bio-factory were calculated using a cost benefit analysis (Akinyi et al., 2022). Similarly, to determine the economic feasibility of the inputs, a partial budget analysis was conducted, using the reported labor, input costs and the yield increases obtained in the trials.

Data was collected using in-depth interviews with the technical personnel in charge of the establishment of the bio-factory and the producers involved in manufacturing and

application of the treatments. This analysis was conducted in the 5 farms located in Guayas. The opportunity cost of labor for the biofactory and farm activities was established at the price of a rural day paid in the region of 20 USD day<sup>-1</sup>.

The bio-factory consists in three independent production units: i) biochar (BI), ii) bokashi (BK) and iii) effective microorganisms' solution (EMS) and liquid biofertilizer (LB); all of these units are installed under a roofed area to protect the bio-inputs from rain and sunlight.

The biochar unit consists in metal tanks, zinc plaques, a crushing machine, a chainsaw for collecting the feedstock, a thermometer and other minor supplies. The production capacity of the unit is 138 kg biochar per shift. It was estimated that 3.3 labor days are necessary to harvest the feedstock, setting up materials, monitoring the burning process and crushing the resulting biochar. The bokashi unit is the most rudimentary, only requiring *Guadua spp* trunks, plastic sheets and jute bags. Regarding the liquid inputs, 7 plastic tanks with 200 L capacity each are needed. The tanks are equipped with a device made of a hose and a plastic bottle for gases exhaust during the fermentation process. Each tank has a capacity of 180 L liquid inputs per month. Among the 7 tanks, three are dedicated to the EMS production and four to the liquid single biofertilizers which compose the final LB.

Biochar production and application was reported as the most labor-intensive activity because of the amendments and the necessary application time according to our doses was estimated at 6 days ha<sup>-1</sup>. For spraying of the liquid inputs, 1 labor-day ha<sup>-1</sup> was estimated.

#### **6.2.2.4.6. Statistical analyses**

All statistical analyses were conducted using RStudio® software version 2023.12.0 (R® Development Core Team, 2013).

To assess the effects of the application of OI on Cd concentrations in the collected samples, linear mixed models were performed with the “lme4” package and the “lmer” function. They were used to consider the possible correlations resulting from the multi-sites field experiment and to focus on the treatment effects. Treatments and sampling time were considered as fixed effects while treatments/farmer/province were considered as random effects to take into account for the nested structure of the design. Analysis of variance ANOVA (Type II, because two factors were tested) for the fitted linear mixed effect models was performed to assess the effects of the fixed factors on the response variable and their interaction. When the effect was significant ( $p < 0.05$ ), *post-hoc* Tukey test was used for pairwise comparison with the “lmerTest” and “emmeans” packages. The ANOVA assumptions were both checked visually and performing Levene and Shapiro tests (equal variance and normality, respectively). Graphs were created with the “ggpubr” package.

For the variables that were analyzed only in the Guayas province, i.e. yield and the chemical and biological soil health indicators and leaves nutrients, the effect of the treatment was also tested with linear mixed effect models where the treatment was considered as a fixed factor, and the treatment nested within the farms was considered as a random factor. Normality and homogeneity of the residuals from the models were checked in the same way as for the two-way ANOVA mentioned above.

## 6.2.3. Results

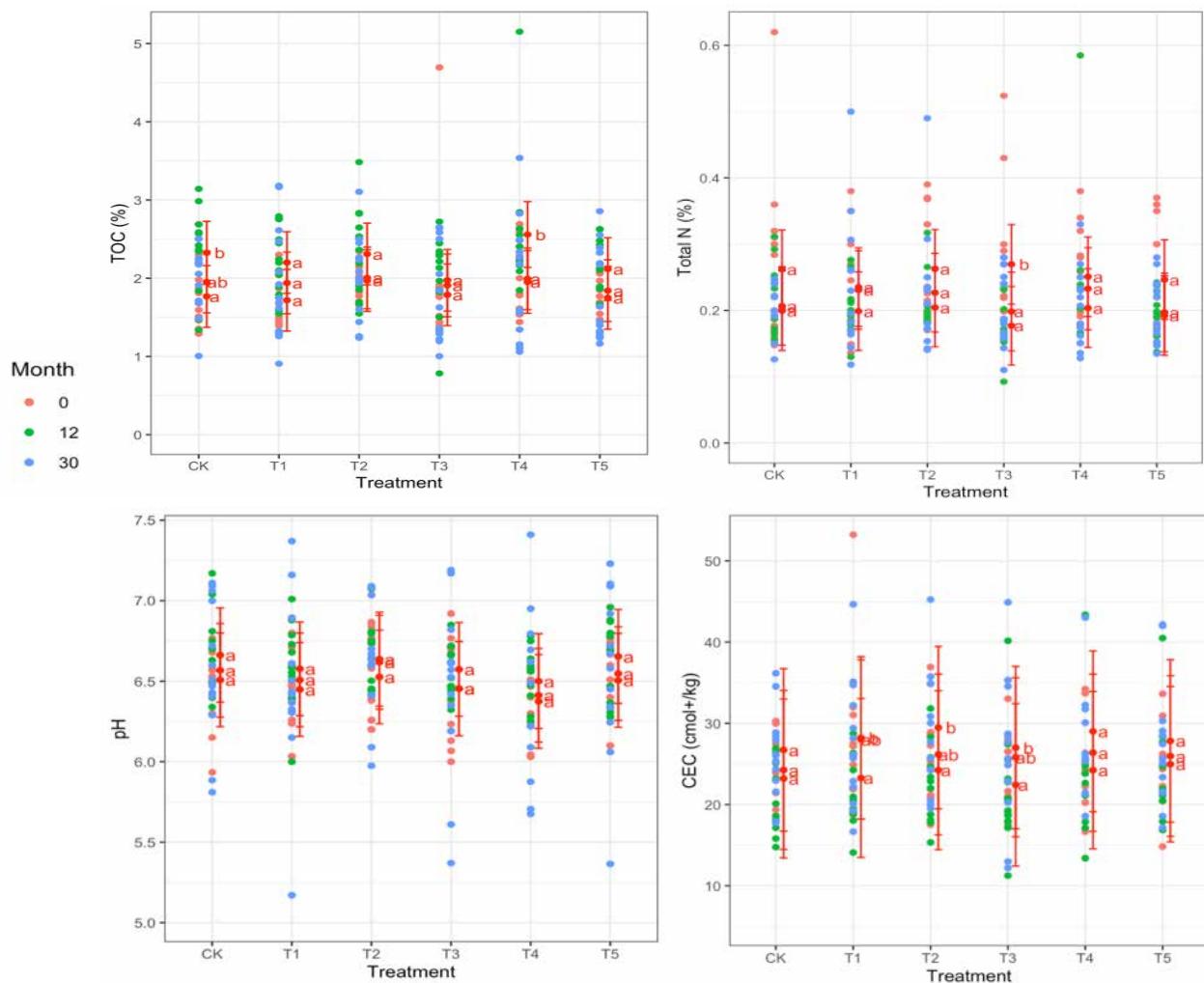
### 6.2.3.1. Effects of organic inputs on soil physicochemical properties and Cd uptake in the soil-plant system

#### 6.2.3.1.1. *Soil, leaves and beans nutrient status*

Between 0 and 12 or 30 months after the first sampling, soil N<sub>tot</sub>, TOC, CEC and pH showed significant variations through time but were not affected by treatments (non-significant interaction between month\*treatments). Overall, we observed a decreased in N<sub>tot</sub> while pH, TOC and CEC showed a decrease from month 0 to 12 but a subsequent increase at 30 months resulting in no variation between the beginning and the end of the study (Figure 43). C/N ratio followed the same trend as N<sub>tot</sub> since TOC did not significantly vary from month 0 to 30.

In the same line, soil nutrient concentrations were only linearly affected by sampling time ( $p < 0.05$ ) but not by treatments (Figures SI-2 and SI-3). Overall, pseudo-total Ba, Cr, Fe, Mn, P and reactive Ca, K and Mn decreased over time while pseudo-total K, Zn and Se increased from month 0 to 30. In line with Ca, Fe and Mn decrease in soils, the analyses of leaves samples also showed a decrease of these elements from month 0 to 30, in addition to Zn and Se. However, according to the recommendations of nutrient concentrations in cacao leaves proposed by Snoeck et al. (2016), these nutrients are above the deficient threshold recommended for cacao.

Beans nutrients also showed temporal changes ( $p < 0.05$ ) with an increase of Ba, Ca, Fe, Mg, Mn and Mo from month 0 to 30 while Ni concentrations decreased, regardless of the treatments.



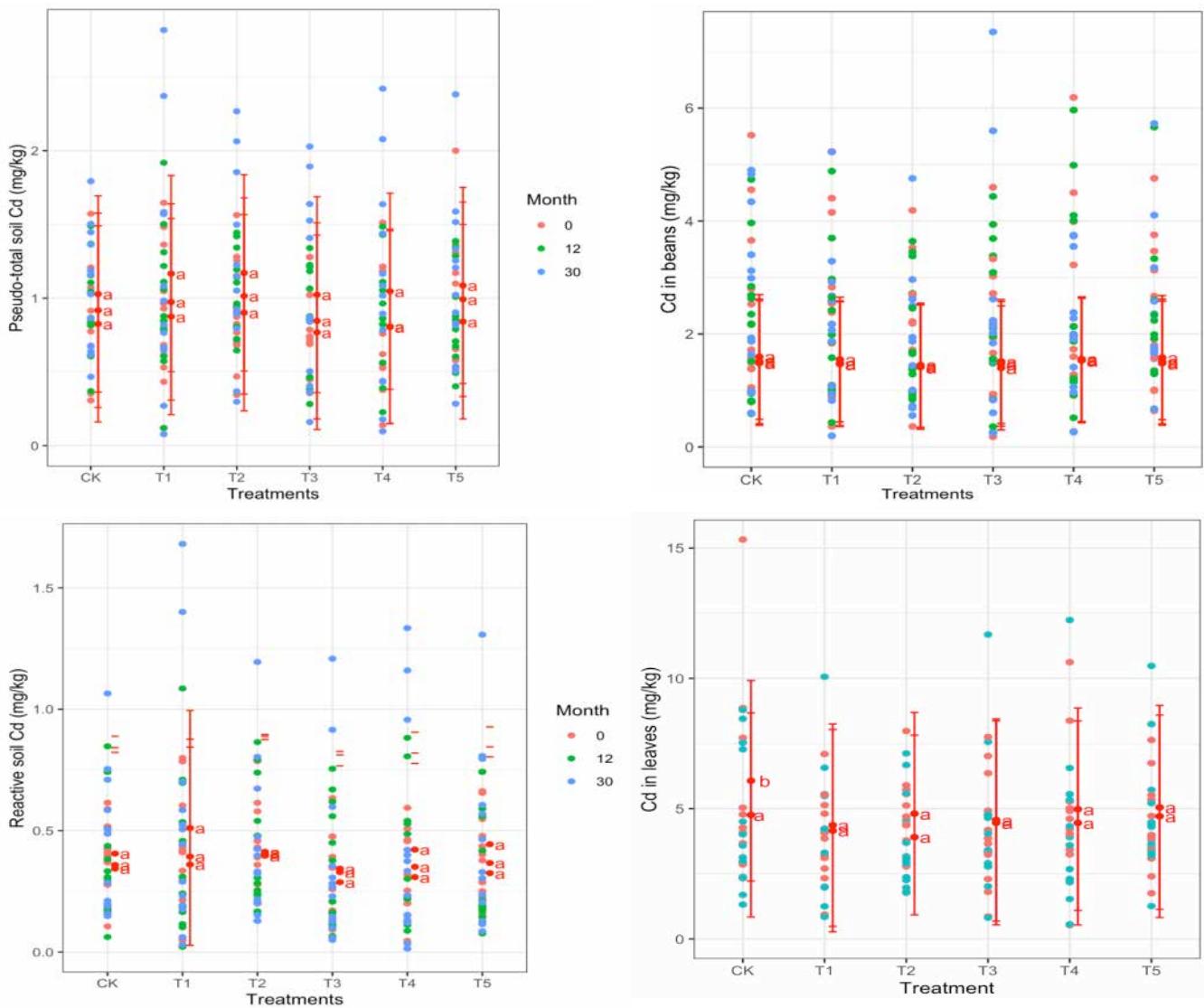
**Figure 43:** Evolution of total organic carbon (TOC), total N, pH and cation exchange capacity (CEC) through sampling times for all the farmers ( $n=13$ ). Red dots and error bars represent adjusted mean with 95% confidence limits per treatments. Means followed by a common letter are not significantly different according to the Tukey-test.

#### **6.2.3.1.2. *Effects of organic inputs on Cd mitigation of organic cacao agroforests***

According to the comparison between the treated and the control plots of the three studied provinces, no difference was observed regarding pseudo-total or reactive Cd concentrations in soil ( $p > 0.05$ ). However, regardless of the different treatments, the mean pseudo-total Cd pool increased over time from 0.86 to 1.09 mg kg<sup>-1</sup> (Figure 44).

When looking at leaves' Cd concentrations (Figure 44), sampling time significantly affected their concentrations showing an overall decrease within the study period from 4.54 to 4.23 mg Cd kg<sup>-1</sup>. The transfer factor of Cd from soil to leaves showed a significant interaction of treatments and sampling time and pairwise comparisons highlight a decrease in the soil-to-leaf translocation in the T2 plots but in the CK plots as well, indicating that the Cd decrease is certainly mainly due to natural reasons instead of a treatment effect.

In beans, no effects of time or treatments were observed for Cd concentrations. However, at month 30, the TF\_Cd from soil to beans was two-fold higher in the T4 (2 kg BI + 0.2 L BF) plots than T2 ( $p < 0.05$ ) indicating that biochar applications may have increased Cd translocation from soil to beans.



**Figure 44:** Effects of treatments on soil pseudo-total and reactive Cd, leaves and beans' Cd through sampling times (Month). Red dots and error bars represent adjusted mean with 95% confidence limits per treatments. Means followed by a common letter are not significantly different according to the Tukey-test

### **6.2.3.2. Effects of organic inputs on soil biological activity, physicochemical properties, yield improvements and economic benefits**

#### ***6.2.3.2.1. Chemical and biological soil health indicators and beans and leaves' nutrient status***

Looking closer at the five Guayas farms, we can notice that the soil elemental pseudo-total and reactive concentrations as well as TOC and CEC were also only affected by the sampling time ( $p < 0.05$ ). For pH, an overall increase from 6.4 to 6.8 was detected from 0 and 30 but pairwise comparisons revealed that it happens only in the T4 treatment. Similarly, reactive Ca shows an overall increase but pairwise comparisons indicates that it was only for the T5 treatment ( $4544$  to  $5126 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Reactive Al decreased overall but pairwise comparisons reveal that only the CK plots were concerned. For Cd concentrations, both pseudo-total and reactive pools showed an overall increase within the study period without any significant effect of OA and BF application.

Regardless of the treatments, soils showed a significant decrease of  $N_{\text{tot}}$ , pseudo-total Ni, Pb, Al, Mn and Fe as well as reactive Al. On contrary, reactive P, Mg, Zn, Ca, Fe, Ni and Cu as well as pseudo-total K, Zn and Se increased over time. Accordingly, no effect of treatments was detected during the additional sampling of July 2022 for pH, CEC, TOC and  $N_{\text{tot}}$ .

While biological soil health indicators have often been found to be more sensitive to change in soil management than physicochemical ones (Visscher et al., 2024), the biological indicators measured in our study (POCX, soil respiration, PMN and PLFA) were not affected by OA, similarly to physicochemical properties (Table 6). Phosphatase activity was very variable and tended to be higher in the treatments T1, T2 and T3 compared to T4, T5 and CK ( $p = 0.053$ ).

Similarly to soils, almost all the leaves' nutrient concentrations were not affected by the treatment's application but by the sampling period. Over time, Al, Ca, Fe, Mg Mn and Se decreased whereas P concentrations increased. For Zn specifically, the treatments T1, T2, T4 and T5 showed a significant increase compared to the T3 and the CK plots (without BF supplemented in Zn) from 0 to 12 months, but this effect did not last until month 30.

On the contrary to soils and leaves, we found significant effect of the treatments on some beans' elements. Indeed, we found that the T3 treatments increased beans' Cu from month 0 to 30 from 6.97 to 7.40 mg kg<sup>-1</sup>. Similarly, T5 increased Mn concentrations by almost 6 mg kg<sup>-1</sup>. Inversely, T1 and T2 decreased Mg concentrations compared to the control and T1 also decreased P concentrations in beans.

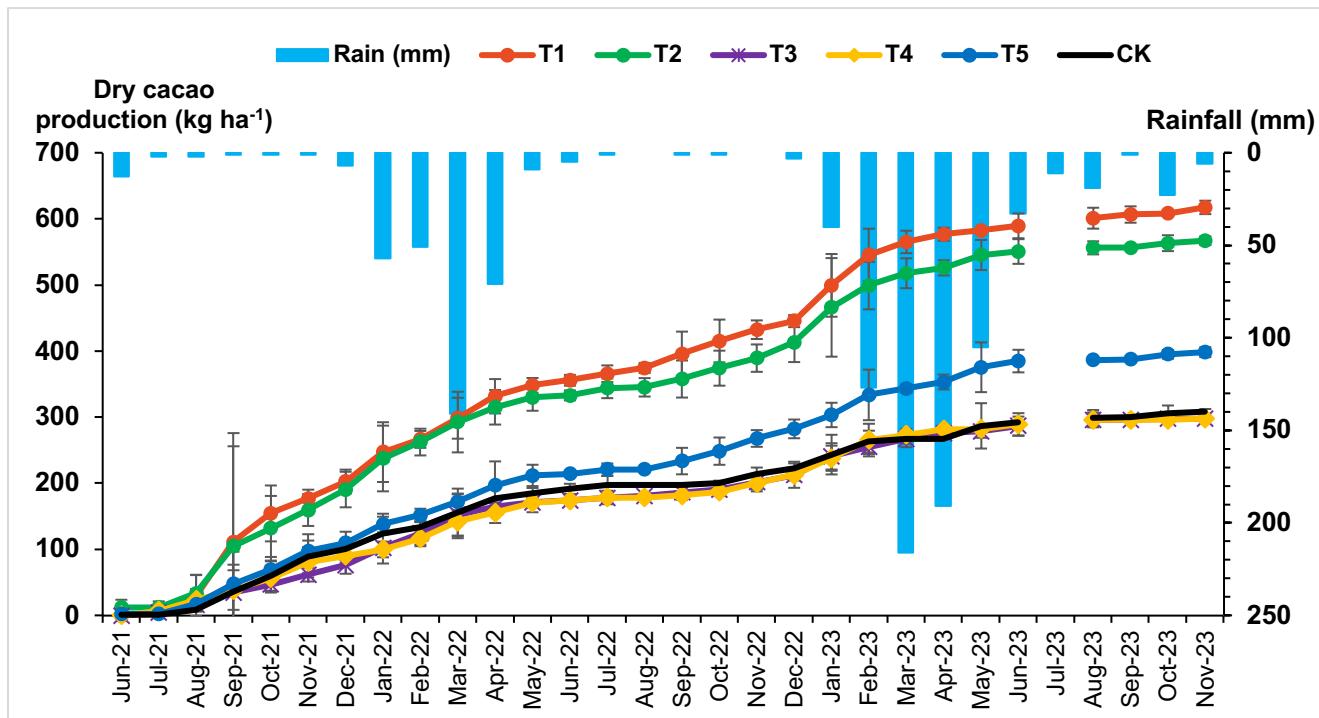
**Table 6:** Results of the linear effect mixed model testing the effect of OAs treatment on biological soil health indicators performed on soil samples collected in Guayas province in July 2022. Numbers reported represent estimated means from the model and in brackets confidence Interval at 95%. Investigated treatments are biochar + biofertilizer (T1), bokashi + biofertilizer (T2), bokashi + liquid microorganisms (T3), biochar + biofertilizer + liquid microorganisms (T4), biochar + biofertilizer + bokashi (T5), and control (CK). The F-values and the p-values of ANOVA are reported and significant effects ( $p \leq 0.05$ ) are indicated in bold.

Variable	Unit							Treatment	
		T1	T2	T3	T4	T5	CK	F-value	p-value
POXC	mg/kg	493 (362-625)	534 (402-665)	484 (353-615)	531 (400-662)	491 (360-622)	523 (392-654)	0.389	0.85
Phosphatase	μmol/g/hr	17.64 (3.56-87.17)	19.81 (4.00-97.91)	24.06 (4.86-118.91)	5.62 (0.94-33.56)	3.08 (0.62-15.22)	3.20 (0.65-15.84)	2.68	0.053
Soil respiration	μg C-CO <sub>2</sub> /g/hr	1.13 (0.528-1.74)	1.07 (0.47-1.68)	1.06 (0.45-1.67)	0.72 (0.11-1.33)	1.08 (0.47-1.69)	0.77 (0.16-1.38)	0.669	0.651
PMN	mg/kg	68.9 (50.9-83.0)	71.9 (54.9-85.6)	70.5 (53.1-84.4)	69.6 (51.9-83.7)	67.7 (49.3-82.1)	71.9 (54.9-85.6)	0.096	0.991
Total microbial biomass	pM/g soil	37363 (27160-47566)	38947 (28744-49150)	34290 (22920-45661)	38488 (28285-48691)	40199 (29996-50402)	42972 (32769-53175)	0.614	0.69
Fungi	pM/g soil	495 (293-697)	656 (454-861)	499 (277-720)	640 (439-842)	640 (439-842)	659 (457-861)	1.528	0.228
Bacteria	pM/g soil	26945 (19401-34490)	28089 (20545-35634)	24790 (16382-33197)	27773 (20229-35317)	29110 (21566-36654)	31235 (23691-38779)	0.625	0.682
AMF	pM/g soil	1474 (1026-1921)	1526 (1079-1974)	1367 (869-1864)	1481 (1034-1929)	1592 (1144-2039)	1662 (1214-2109)	0.422	0.827
Gram -	pM/g soil	10074 (6853-13295)	10654 (7433-13875)	8151 (4930-11372)	10452 (7231-13673)	11093 (7871-14314)	11602 (8380-14823)	1.218	0.336

Gram +	pM/g soil	16871 (12254- 21491)	17435 (12816-22055)	15449 (10300- 20598)	17321 (12701- 21940)	18017 (13398-22637)	19634 (15014- 24253)	0.682	0.643
--------	-----------	-------------------------	---------------------	-------------------------	-------------------------	---------------------	-------------------------	-------	-------

#### 6.2.3.2.2. Yield improvement and pests and diseases decrease

Figure 46 shows averaged cumulative yields of the 5 farms (Guayas province). The detail for each farmer is provided in Figure SI-3. The total dry bean production in the CK plots averages  $102 \text{ kg ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$  which is extremely low compared to the Guayas average yield of  $825 \text{ kg ha}^{-1}$  for similar cacao cropping systems (<http://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/sipa-estadisticas/estadisticas-productivas>).

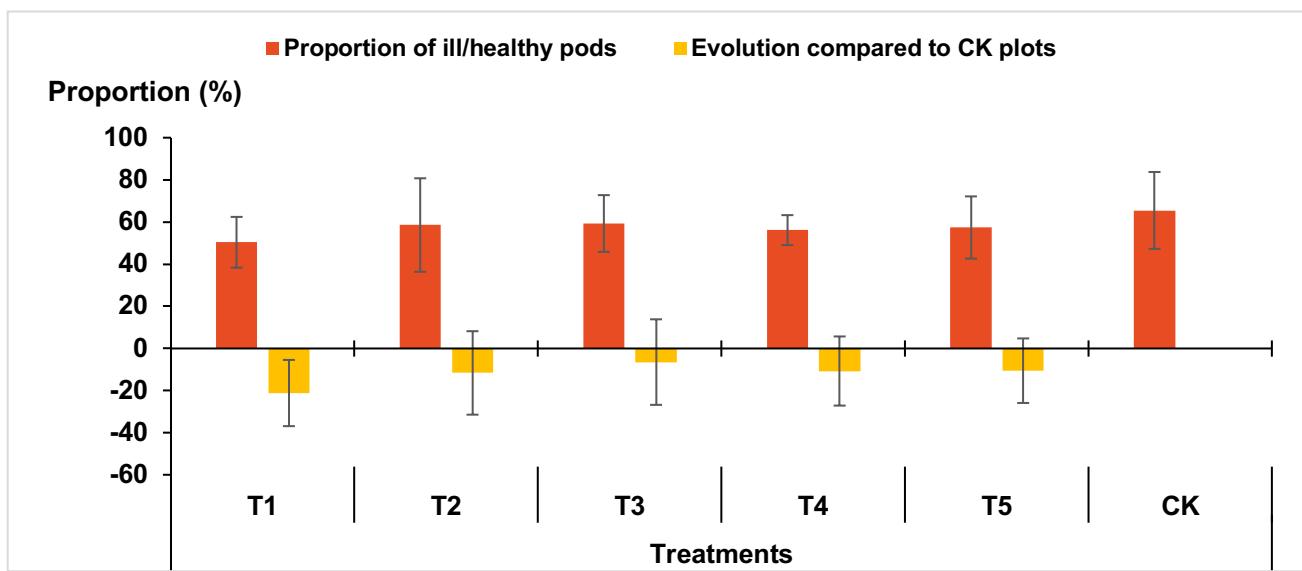


**Figure 45:** Monthly cumulated dry cacao production (in  $\text{kg ha}^{-1}$ ) per treatment (T1 to CK) and averaged for the 5 farmers from the Guayas province, Ecuador. Error bars correspond to the standard deviation of the cacao production ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) among farmers for each month.

T1 (BI + BF) and T2 (BK + BF) show a trend ( $p = 0.08$ ) of higher cacao production compared to the other treatments. Indeed, at the end of the study, T2 and T1 produced an average of  $575$  and  $574 \text{ kg ha}^{-1}$  whereas the other treatments produced less than  $400 \text{ kg ha}^{-1}$ . Furthermore, in one of the five farms, T2 produced  $993 \text{ kg dry cacao beans ha}^{-1}$  more than

the corresponding control (tree density of 914 cacao trees per ha in this farm). The benefits of the use of organic amendments on the yields start to be observed from the first year of the study.

In our case, even if the number of produced pods is not significantly different between plots, it follows the same trend as for yields indicating that treatments T1 and T2 could display a higher fruit production of 38 and 36 % more than the control, respectively. At the same time, we observe a decrease of damaged cacao pods of 21 % and 12 % for T1 and T2 treatments, respectively, compared to the control (Figure 47) indicating that in addition to enhanced productivity, there were also more healthy pods that could be harvested.



**Figure 46:** Comparison between treatments of the proportion of cumulated ill over total harvested pods (per tree) at 36 months averaged for the 5 farms of the Guayas province. The errors bars correspond to the standard deviation of the mean.

### 6.2.3.2.3. *Cost-benefit assessment of the use of OA in organic cacao cultivation*

The implemented bio-factory for bio-inputs fabrication was made-up with rudimentary equipment and materials which are easy and relatively affordable in the Guayas province aiming to easily replicate these kind of production units in similar agricultural contexts. Due to the expected commercial orientation of the bio-factory, the OI prices were set at 30 % above the production costs, representing the potential operational margins of the bio-factories.

Assuming two production shifts per month, the total production cost of biochar was estimated at 1.79 USD kg<sup>-1</sup>, including variable and fixed costs. The bokashi unit allows the production of 2250 kg per month, requires 2.15 labor days per batch and its cost was estimated at 0.09 USD kg<sup>-1</sup>. Regarding the liquid inputs, 6 480 L EMS year<sup>-1</sup> at a cost of 0.12 USD L<sup>-1</sup> can be produced. For LB, the unit can produce 8 640 L year<sup>-1</sup> at a cost of 0.29 USD L<sup>-1</sup>. The operation for producing the EMS and LB requires an estimated monthly 1.54 labor days.

Then table 7 presents the yearly cost of two applications a year and the necessary yield increase for breaking even for each treatment.

**Table 7:** Yearly cost (USD) and necessary yield increases for breaking even per treatment

Treatment	Labor costs (USD)	Input costs (USD)	Total costs (USD)	Yield increase for breakeven in kg ha <sup>-1</sup> (conventional)	Yield increase for breakeven in kg ha <sup>-1</sup> (Nacional organic)
T1	280	1 400	1 680	764	542
T2	280	450	729.5	332	235
T3	280	383	662.8	301	214
T4	280	1,444	1 724.2	784	556
T5	280	1 740	2 020	918	652

Biochar application represented the most expensive activity raising the costs of T1, T4 and T5 to 3387 USD ha<sup>-1</sup>, a substantially high value which would make these treatments practically unfeasible for smallholders. Under the best-selling price scenarios, farmers should increase their productivity by > 1200 kg ha<sup>-1</sup> to cover additional costs, which would imply more than the double average regional *Nacional* yield reported by Barrera et al. (2019).

Treatments T2 and T3 are substantially cheaper due to the lower prices of BK and LB. To cover the cost of the applications, the yield increase would need to be > 200 kg ha<sup>-1</sup> (best price scenario) and > 300 kg ha<sup>-1</sup> for the lowest selling price.

As shown in table 8 and Table SI-6, the only treatment that could generate profits for the farmers was T2, where the maximum yield increase was reported at 530 g tree<sup>-1</sup>. In all other cases, implementing the same practices at the farm level could generate substantiation losses, at least the first years.

**Table 8:** Maximum yield increases and expected profits/losses from treatment applications.

Treatment	Maximum yield increase (kg/tree)	Maximum yield increase (kg/ha)	Profit - Bulk price (USD ha <sup>-1</sup> )	Profit - Organic Nacional price (USD ha <sup>-1</sup> )
T1	0.33	237.34	- 1 157.9	- 944.3
T2	0.53	387.32	122.6	471.2
T3	0.18	128.66	- 379.7	- 263.9
T4	0.11	80.60	- 1 546.9	- 1 474.3
T5	0.17	121.45	- 1 752.8	- 1 643.5

These results have various implications. To be feasible application of amendments should minimize the labor particularly for regions as Guayas, where labor costs are considerably high. The liquid bio-inputs are the most promising products due to low production and application costs, and of course the positive effects observed. Further long-term evaluation of the effects of these products should be conducted to better understand their potential benefits. On the other hand, the estimated costs and lack of observed effects

would make it infeasible for commercial applications, especially for smallholder cacao farmers.

## 6.2.4. Discussion

### 6.2.4.1. Organic inputs as long-term soil fertilizers for organic cacao agroforests

In our study, sampling time was the only factor affecting physicochemical soil properties. Firstly, the observed N and TOC evolution can be due to the seasonal litterfall in cacao agroforests which can release both N and C after decomposition as shown by Sai et al. (2021) and Sari et al. (2022). Climate variability owed to the bimodal rain pattern in Ecuador could also explain the evolution of soil properties between sampling times since temperature, water regime and subsequent oxidoreduction processes or biological activity can affect soil indicators like pH (Peterson and Rolfe, 1985; Rengel et al., 2011).

Several studies about the use of OA on soil physicochemical properties report similar results as ours, i.e. no significant effects of OA. For example, Ramtahal et al. (2019) studied the effect of up to 652 kg ha<sup>-1</sup> biochar addition to pH-contrasting Trinidadian cacao soils under field conditions, and showed no pH changes. Rios Guayasamin et al. (2024) explained that Inceptisols (USDA classification, <https://www.nrcs.usda.gov/conservation-basics/natural-resource-concerns/soils/inceptisols>), like the ones in the present study, have high buffering capacity explaining the inalterability of soil pH and TOC in their trials after a single application of 10 Mg ha<sup>-1</sup> of biochar. In fact, the phyllosilicates in the 2:1 clay type could be the main factor buffering physicochemical changes in this soil type according to Moreira et al. (2019). In addition, several reviews suggested that biochar application appears inefficient for pH alleviation when applied to quasi neutral soils like ours, with an average pH of 6.4 for the three provinces (Dai et al., 2017; Duan et al., 2023; Li et al., 2024). In

Indonesia, Fungenzi et al. (2021) reported that TOC in cacao soils was not affected by 10 kg tree<sup>-1</sup> y<sup>-1</sup> of compost application after 6.5 years because the TOC spatial variability is higher than the applied TOC after compost additions leading to unsignificant differences between treatments and control. This suggests that compost rates should be rather high for a detectable TOC increase in cacao soils. The lack of effects of the OA application in our study can be explained by the high spatial heterogeneity of the biological and physicochemical parameters as shown in our previous study at month 0 (Marchive et al., 2024). Nonetheless, at the time when the study was launched (November 2020), there was no study of the use of artisanal OA under real cacao farm conditions in organic and agroforestry management and we aimed to work under these conditions to provide results to farmers that could be directly reproducible.

Regarding soil fertility, comparing with similar studies, it appears that the applied doses of OA in the present study (4.4 Mg ha<sup>-1</sup> y<sup>-1</sup>) are too low to induce a short-term substantial effect on soil physicochemical properties. Previous studies showed that, unfortunately, higher rates than ours are required to enhance soil properties and crop yields, ranging from 5 to more than 140 Mg ha<sup>-1</sup> (Diacono & Montemurro, 2011; Quilty & Cattle, 2011; Simarani et al., 2018; Herrmann et al., 2019). For instance, the increase of soil pH in the study of Argüello et al. (2023) conducted in Ecuadorian cacao soils, was achieved with 12.5 and 25 Mg ha<sup>-1</sup> y<sup>-1</sup> corresponding to 4 to 6-fold our doses. Agegnehu et al. (2016) indicated that compost and biochar application at 25 and 10 Mg ha<sup>-1</sup>, respectively, increased soil TOC and N<sub>tot</sub> as well as available P and other nutrients within one season on maize cultivation in Australia. In mandarin cultivation, which is also a perennial crop like cacao, El-Hamied (2014) reported an improvement of soil characteristics such as soil microflora, fungi, nutrient content, pH as well as mandarin yields after 2 years but with 10 kg bokashi application per tree which is 5-fold higher than our doses. Diacono and Montemurro (2011) also reported that, in general, the OA effects are observed in the long term (more than 4 years) because the nutrient release is rather slow and some studies have shown effects on soil characteristics (TOC, N<sub>tot</sub>, available nutrients) after 11 years of applications (Bi et al., 2009; Hu & Qi et al., 2023). This suggest that under field conditions, our doses and the study

period are probably not long enough to detect any significant effect of OA addition on the studied physicochemical soil properties. However, it is important to underline that the chosen doses for our experimental design was the maximum amount of OA that the farmers could prepare with the available raw material, space, time and labor. Hence, if the doses had to be much higher to have a significant effect on soils, in the conditions of our study, the farmers should have bought the inputs or increased the labor days which would have affected the final price of each OA.

Beyond OA doses, we can wonder if their quality is good enough to enhance soil physicochemical properties. According to Ippolito et al. (2015), the potential of biochar to improve soil pH as well as C, K and Mg soil concentrations is influenced by its pyrolysis temperature and the highest the temperature is ( $\sim 750$  °C), the most efficient the biochar becomes. Regarding the studied bokashis in this study, they appear to be of good quality owed to their high CEC (29-44 cmol<sup>+</sup> kg<sup>-1</sup>) and their pseudo-total K, P and N concentrations ( $> 15$  g kg<sup>-1</sup>, 4 g kg<sup>-1</sup> and 0.5%, respectively) as underlined by Garbowski et al. (2023) and Sankar et al. (2017), indicating that farmers must continue to apply bokashi because potential effects on crop production should be observed after several years.

Liquid bio-based fertilizers can be applied not only on plants (as in our study) but also on soil (Olle and Williams, 2015). Urra et al. (2020) found that the application of fermented liquid OA on the soil resulted in a higher soil prokaryotic diversity and comparable lettuce yield compared to mineralized fertilized soils. The addition of bio-based fertilizers containing efficient microorganisms to the soil is suggested to enhance arbuscular mycorrhizal fungi (Olle & Williams, 2015) and their spraying over crop residues can accelerate their decomposition rate (Quilty & Cattle, 2011). Since biofertilizers have been reported to contain specific beneficial microorganisms such as arbuscular mycorrhizal fungi, *Azospirillum* and *Pseudomonas spp* (Quilty & Cattle, 2011), and are supposed to contain other types of beneficial microorganisms (e.g. photosynthetic bacteria, lactobacilli, yeasts, and actinomycetes), as reported by Olle & Williams, (2015), it might be interesting to investigate further the microbial community instead of screening broad microbial groups as done with PLFA.

To be reminded, in our study, the solid OA were applied into the soil in three 10 cm deep holes around the cacao tree within one meter from the tree trunk. The OA were often buried in the same holes for practical reasons not ensuring a homogeneous application but a more localized one. The effects of localized application of biochar (not mixed with the soil) on soil physicochemical properties (but also crop yields) remains poorly understood (Yan et al., 2022), and the effects of the application technique have not been explored for other types of OA.

Regarding climatic conditions, some plots were partially submerged after particularly heavy rains occurring in 2022 and 2023 (January to May), probably causing amendments leaching thus removing their potential effects on soil properties. Moreover, tropical soils tend to present a quick OM breakdown because of high microbial activity which can negate the benefits of compost addition to soil for OM improvement (Quian et al., 2023).

#### **6.2.4.2. Natural factors affecting cacao leaves' chemical composition**

The lack of treatment's effects on leaves' nutrients status can be explained by many variables influencing the chemical composition of cacao leaves, such as their age, position with respect to the light, and time of sampling (Acquaye, 1964). The time of sampling is considered as the main factor of variation in leaf mineral composition (Snoeck et al., 2016). Diurnal variation in the chemical composition of the leaves can also occur (Acquaye, 1964). However, the greatest variation in the foliar nutrient contents is attributed to the time of the year in which the leaves are sampled (Burridge et al. 1964; Snoeck et al., 2016). In addition, the way in which time influences nutrient contents in cacao leaves likely depends on the considered nutrient, as reported by Burridge et al. (1964). For N, P and K, these authors observed the lowest foliar contents during the peak of the main cacao harvest season and the highest concentrations a few weeks after the end of the harvest. An

opposite trend was observed for foliar Ca by the authors, while no variations between seasons were reported for foliar Mg. In addition, cacao takes up more nutrients by lateral roots (Hartemink, 2005) that grow far away beyond the limit of the tree's canopy (Ghana Cacao Board, 2018). It might be that in the current study the amendments could have been applied too close to the tree trunk to have an influence on the nutrient's uptake and consequently on the foliar nutrient contents. Also, the heavy rains occurred in 2023 amplified by the El Niño phenomenon probably caused BF leaching from leaves, negating its potential effect.

#### **6.2.4.3. Physical and biochemical processes that drive cadmium mobility in the soil-cacao system**

The application of OA on Cd availability has previously been shown to be efficient in acidic soils as reported by Ramtahal et al. (2019) in their field study where 652 kg ha<sup>-1</sup> of biochar application decreased bioavailable Cd after 6 months of application in their strongly acidic cacao soils (pH = 4.9). By contrast Qi et al. (2018) indicated that biochar addition in high sorption capacity and neutral soils like Inceptisols is not efficient for soil Cd remediation. However, given that Mehlich 3 procedure extracts the reactive Cd pool it could be interesting to perform supplemental extractions with weaker reactive like CaCl<sub>2</sub> in order to assess Cd speciation in soils and determine whether the directly available Cd was affected by OA addition. This suggestion is supported by the work conducted by Chavez et al. (2016) showing that a 2 % vermicompost addition to neutral soils helped in reducing the water-extractable Cd while the Mehlich 3-Cd was not affected by OA. However, given that Cd mobility has been shown to be driven mainly by soil properties such as pH, SOM and clay % as well as cation soil concentrations and that these properties were not affected by the applied treatments, we understand that logically reactive Cd was not affected either.

Furthermore, the OA already contains Cd and even if its content is relatively low, its reactive concentration was close to that of the studied soils. Consequently, applying bokashi

or biochar could have added Cd in soils and perhaps neutralized the expected benefits of these inputs. Considering a tree density of 900 cacao trees  $\text{ha}^{-1}$  and a Cd concentration of  $0.57 \text{ mg kg}^{-1}$  in the bokashi (as in the Guayas one), the application of 4 kg of bokashi per year at 20 cm depth, results in a  $4 \text{ \%}$   $\text{Cd ha}^{-1}$  addition per year compared to minimum natural  $0.5 \text{ mg kg}^{-1}$  Cd content in the topsoil. This phenomenon has been already shown in a study conducted in Italy (Baldi et al., 2021) where 14 years of consecutive application of  $12.5$  and  $25 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$  of compost with Cd concentrations of  $0.55 \text{ mg kg}^{-1}$  on nectarines resulted in a significant increase of total and available Cd of  $0.014$  and  $0.013 \text{ mg kg}^{-1}$ , respectively. Even if this increase remains low, the latter study shows that 14 years of compost addition in high doses (with similar or higher Cd content in compost than in soils) is not efficient for soil Cd mitigation. Besides OA addition containing Cd, the litter decomposition could have also induced a constant Cd recycling in the soil-plant system; and then OA could not have been able to counteract with the chosen experimental doses and within the study period (Guarin et al., 2024; Barraza et al., 2019). This is in line with the moderate correlation observed between soil reactive and litter Cd concentrations ( $r^2 = 0.62$ ).

As commented in the previous section about soil physicochemical status, the doses may be too low to induce a significant Cd decrease in tropical pedoclimatic conditions. Beside the doses, the application technique can also influence the OA efficiency. Indeed, after testing several methods for hydrated lime and biochar applications in soils, Ramtahal et al. (2021) concluded that only soil injection at 15 cm depth with a soil injector led to significant effects on Cd concentrations in cacao soils whereas the auger technique (digging holes around the tree and burying the amendments, as in the present study) was not efficient. Yan et al. (2022) reported short-term effects of biochar on soil quality when the amendments were homogeneously incorporated into the soil of the plough layer (0-20 cm) and long-term effects when it was buried above the soil plough plan (< 20 cm). In addition, they found a positive linear relationship between soil quality index and biochar's application dose.

Recent studies driven by Blommaert et al. (2022 & 2023) explain that Cd translocation *in planta* until cacao aerial organs can be driven by physiological processes of Cd remobilization from bark or branches rather than a direct root-to-tissue pathways. They showed that Cd accumulation in cacao beans highly relies on Cd remobilization from bark and branches to cacao nibs rather than from leaves or roots. A key process in Cd nib loading is the metal sequestration Ca crystals located in the mucilage produced in the branches' vascular systems, which then migrate to fruits in order to supply nutrients to the beans. Moreover, a recent <sup>108</sup>Cd pulse-chase experiment conducted with National cacao trees in an experimental Ecuadorian field revealed that Cd loading in nibs from branches, trunks, and leaves is slow (more than 1 year) and that it is not directly related with soil Cd availability (Vanderschueren et al., 2023). Hence, bokashi, biochar and liquid biofertilizers at low doses appear to be not a fast (over than 2 years) cacao bean Cd mitigation technique in our pedoclimatic context (neutral soils, tropical conditions) and the physiological processes of Cd translocation between the aerial parts of the trees are probably the main drivers of Cd loading in beans. Finally, the cacao fruits last 6 months approximately to reach maturity so the effects of OA application on soils could be even more delayed in fruits and beans.

#### **6.2.4.4. OA effect on cacao yields and cost-benefit assessment of their use**

The yield increase after applying low doses of amendments or fertilizers is in line with a 2-years field experiment conducted in Ghana and Côte d'Ivoire where NPK fertilizers have been reported to increase the yield by 670 kg dry beans ha<sup>-1</sup> compared to unfertilized plantations owed to higher and larger pod production during the major harvesting season (Goudmist et al., 2023).

However, it is important to keep in mind that these results are exploratory and that they have to be considered carefully mainly due to two factors. Firstly, researchers could

not make sure that the monthly reported production in this participative study was the exact total production for each month because cacao production is the principal revenue source of the farmers and they could have harvested some fruits between the data collection dates. For this, the potential yield could have been used to calculate a theoretical yield and the checking in the field what have been really produced by the cacao trees. On the second hand, it is also known that cacao production is extremely genetically dependent (Cunningham and Burridge, 2015), and that even if the studied trees belong to the *Nacional* group, they are not clones, and fruit production can vary dramatically among trees. For example, in the CK plot of the farm U5, one of the 9 trees has a very high production, thus overestimating the CK plot monthly production. Ribeiro et al. (2008) and Cuenca-Cuenca et al. (2020) indicated that cacao genotypes, even close ones, differ in nutrient use efficiency, which can be one of the reasons of yield variability inside and among cacao plots.

As said before, even if it is an exploratory experiment regarding yield assessment, this is a preliminary study to orient farmers towards the most promising treatment and T1 and above all, T2 seem to be here the most promising ones. Long-term studies with more experimental trees are needed to understand the OA and BF benefits over years to reduce the influence of climate variability and spatial heterogeneity on the results.

The cost-benefit assessment of the use of OA in cacao cultivation showed that, in our particular experimental design and study location, only the treatment T2 is feasible. This result has various implications: application formats should strive to minimize the demanded labor in order to be feasible particularly for regions as Guayas, where labor costs are considerably high compared to the sale prices of cacao beans and reminding that the national currency in Ecuador is the US dollar that increases the living costs. The liquid bio-inputs are the most promising products due to low production and application costs, and of course the positive effects observed. Further long-term evaluation of the effects of these products should be conducted to better understand their potential benefits. On the other hand, the estimated costs and lack of observed effects would make it infeasible for commercial applications, especially for smallholder cacao farmers.

According to Hoffman et al. (2020), within a group of farmers under the same soil and weather conditions, the most important factor explaining yield variations in response to fertilization is the management. In their trial conducted in Sulawesi, Indonesia, about the effect of fertilization on cacao yield and farmers' income, they concluded that the farm management is the principal factor which can ensure a correct income for producer even in the worst-case weather and/or price scenarios. In our study, even if the cacao is sold at a great price thanks to organic and fairtrade certification, almost all the treatments resulted in money loss after treatment application mainly due to the local labor costs. We can wonder if the management of these farms is good enough to potential the use of organic fertilizer and obtain positive net returns. According to personal observations, the shade of some farms is quite high (too much shading trees) resulting in greater pest incidence and less photosynthesis while in other farms, pruning could be improved as well as damaged pods removal.

Finally, as we are working with agroforests, which sometimes include more than 6 species, it would be interesting to assess the overall productivity of the orchard (Jagoret et al., 2017). Even if the main effects of the OI application are not observed for the cacao trees, they have maybe affected the surrounding trees or crops like bananas or citrus, leading to a higher secondary income for the farmers (Cerda et al., 2014). According to personal communications, the OI appeared to have beneficial effects on bananas trees inside the cacao plots, which allowed them to sell more or to have more self-consumption.

### 6.2.5. Conclusion

To conclude this participative research, it can be underlined that results about the effects of OI addition in soils or over perennials crops are long to obtain and 2.5 years are not enough to detect any soil physicochemical change induced by the treatments. However, we highlighted the seasonal variability of soil physicochemical properties as well as leaves and beans elemental concentrations. We also observed that the Cd content doesn't follow

the same trend in soil and cacao tissues; while pseudo-total Cd increased in soils from month 0 to 30, it decreased in leaves decreased did not change in beans. These results could be explained by the important influence of trees' physiological mechanisms of Cd absorption from soil and translocation between the tissues. It is probable than within the study period the OI are in the process of nutrient's retention because freshly added to soil and that their benefits could be seen in the following years. Even if the tested treatments did not show any change in soil or cacao tissues' properties, we did find a trend in yield improvement with the use of 2 kg biochar/bokashi + biofertilizer per tree and twice a year the bokashi treatment could be feasible in the best price scenario and a good yield increase as for the U1 Guayas farm.

Overall, organic and artisanal amendments should be tested in longer field studies, including more tissues analysis such as branches and trunks which are important Cd reservoirs to beans, order to allow their ageing and let them show their benefits for soil fertility and Cd mitigation. This is also supported by the perennial characteristics of cacao trees of which the fruits can last 6 months to reach maturity so the effects on soils could be even more delayed in fruits and beans.

Beyond the laboratory analyses, we also succeeded in sharing results and knowledge with the farmers who took advantage of this research to be more autonomous regarding the fertilization of their orchards. According to personal communications, the OI appeared to have beneficial effects on bananas plants inside the cacao plots, which allowed them to sell more or to have more for their self-consumption.

To conclude, OA has already demonstrated benefits for soil health improvement, but more trials in contrasting pedoclimatic conditions have to be conducted in order to determine the more suitable doses, recipes and application methods.

## Declarations

### AKNOWLEDGMENTS

We are deeply grateful towards the 15 cacao farmers and their families for their volunteering to participate to the project and to help us collecting samples from their farms, as well as the local technicians who facilitated the transportation and communication. The French cooperative company ETHIQUABLE® and the non-profit associations *Central Ecuatoriana de Servicios Agrícolas* and *Agronomes et Vétérinaires Sans Frontières* are also thanked for their logistical help and support during field work. Additionally, we would like to thank Natalia Carpintero and Valeria Ochoa-Herrera from the Ecuadorian *Universidad San Francisco de Quito* (USFQ) and Daniel Bravo, Anthony Cedeño, Valeria Moreira, Byron Moyano and Julia Flores from *Escuela Superior Politécnica del Litoral* for helping us during field activities, opening us their laboratory before soil samples exportation to France and also for some physicochemical analyses performed. Finally, we want to warmly thank the staff of *Géosciences Environnement Toulouse* French laboratory, especially Camille Duquenoy and Carole Causserand, for the help with physicochemical analyses of soil and bean samples and also the *Plateforme d'Analyses Physico-Chimiques* of the French laboratory *Laboratoire d'Ecologie Fonctionnelle et Environnement* for granulometry, C and N analyses. This work was supported by the French National Association of Research (ANRT) and Technology and ETHIQUABLE© (PhD study grants n°2020/0369 of the first author). The author Laurence M. also received research support from the *Agence Française pour le Développement* (AFDCZZ2355 01) through the association *Agronomes et Vétérinaires Sans Frontières* and from the European Clima Lo-Ca project (2019/407-158) coordinated by the Alliance Bioversity and CIAT for the samples' analyses.

### FUNDING

The PhD grant was supported by the *French National Association of Research and Technology* (ANRT, grant n°2020/0369 of the first author) and the company SCOP ETHIQUABLE® which also funded part of the research through a collaborative research agreement signed with the IRD. The author Laurence Maurice also received financial support from the *Agence Française pour le Développement* (AFDCZZ2355 01) through the association *Agronomes et Vétérinaires Sans Frontières* (AVSF) in Ecuador for the expenses related to the Manabí study site. The European Clima Lo-Ca project

(2019/407-158) coordinated by the Alliance Bioversity and CIAT supported the Guayas samples' analyses.

#### COMPETING INTERESTS

The authors have no conflicts of interest to declare that are relevant to the content of this article

#### ETHICS APROVAL

Approval was obtained by the CIAT ethics committee.

#### CONSENT TO PARTICIPATE

Verbal informed consent was obtained prior to the interviews performed by the socioeconomic research team.

#### CONSENT FOR PUBLICATION

Not applicable

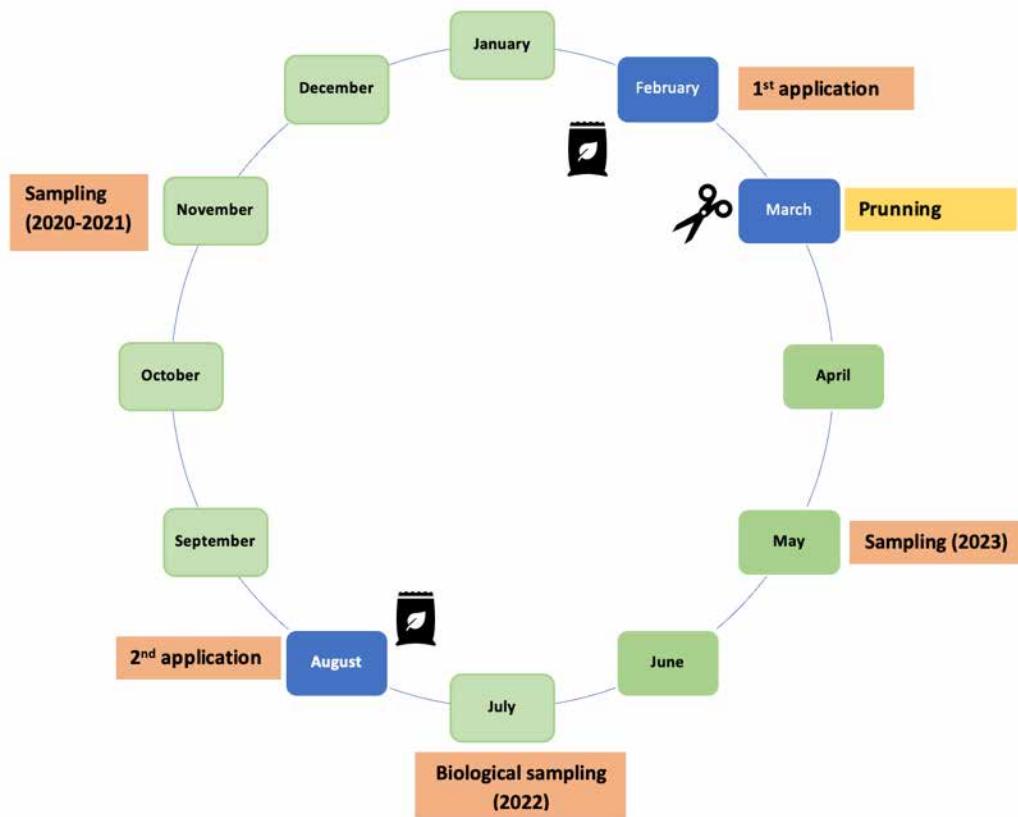
#### DATA AVAILABILITY STATEMENT

All data generated or analyzed during this study are included in this published article.

#### AUTHORS CONTRIBUTION

**Conceptualization**, L. Marchive, L. Maurice, E. Schreck, E. Chavez, M. Pulleman, G. Buongiorno, R. Thinard, N. Eberhart; **Methodology**, L. Marchive, L. Maurice, E. Schreck, R. Thinard, E. Eberhart, G. Buongiorno, A. Charry; **Validation**, L. Marchive, L. Maurice, E. Schreck, E. Chavez, G. Buongiorno, M. Pulleman; **Formal analysis**, L. Marchive, G. Buongiorno, A. Charry; **Investigation**, L. Marchive, G. Buongiorno, G. Zambrano, K. Ramírez; A. Santos **Resources**, L. Maurice, E. Schreck, M. Pulleman, E. Chavez, G. Buongiorno, N. Eberhart; **Writing-original draft preparation**, L. Marchive, G. Buongiorno, A. Charry; G. Zambrano; K. Ramírez **Writing-review and editing**, L. Maurice, E. Schreck, E. Chavez. M. Pulleman, A. Charry, G. Buongiorno; **Visualization**, L. Marchive; **Supervision**, L. Marchive, E. Schreck, M. Pulleman, E. Chavez, N. Eberhart; **Project administration**, L. Maurice, E. Schreck, M. Pulleman, E. Chavez; **Funding acquisition**, L. Maurice, M. Pulleman

## SUPPLEMENTAL INFORMATION



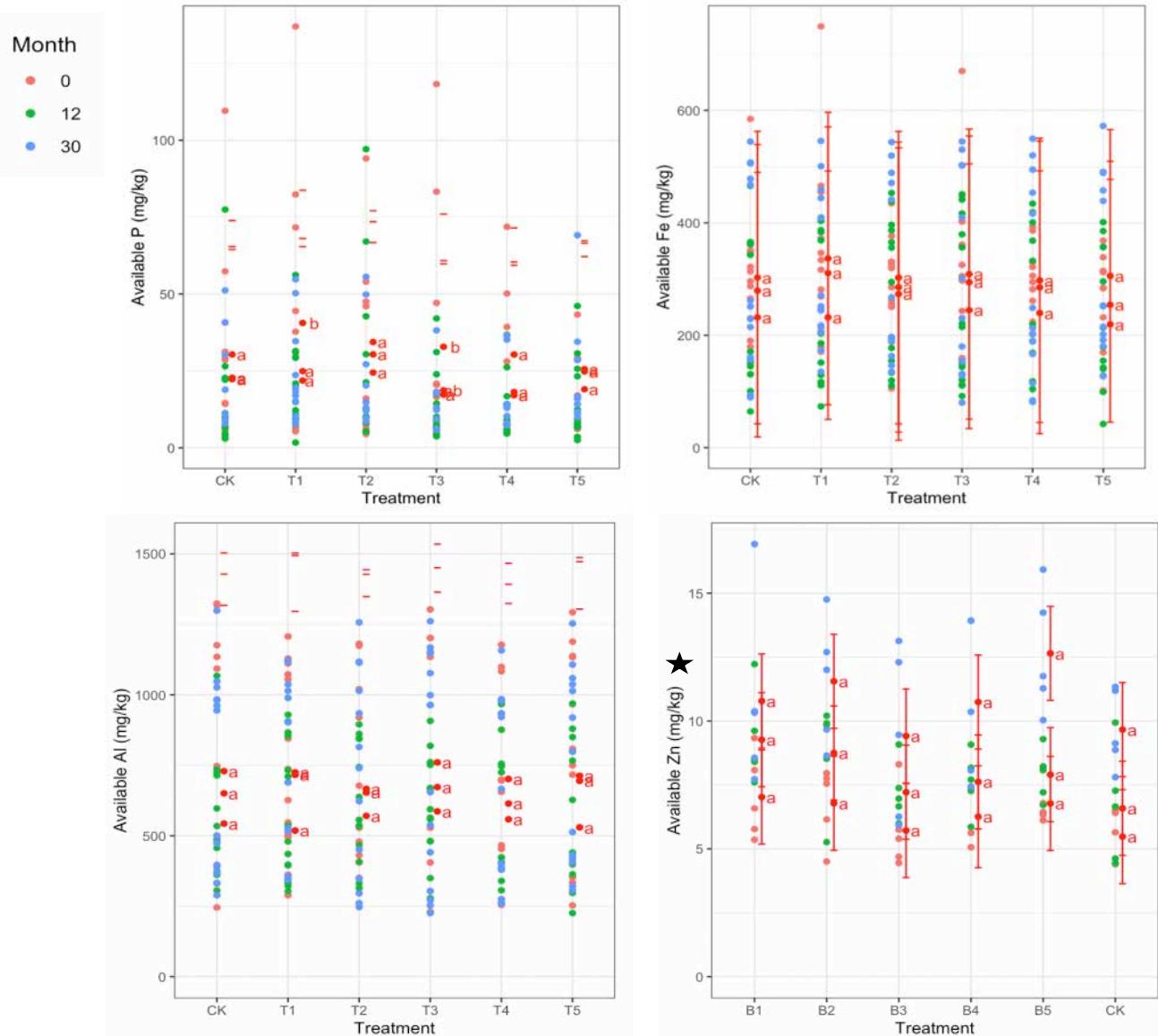
**Figure SI - 1:** Calendar of the field activities performed per year.

**Table SI - 6:** Chemical parameters of the biochar and bokashi of each province. The reactive pools ( $X_{\text{reac.}}$ ) of elements were extracted according to Mehlich 3 protocol and presented in mg kg<sup>-1</sup>. The line “-“ indicates that the corresponding analyses was not performed.

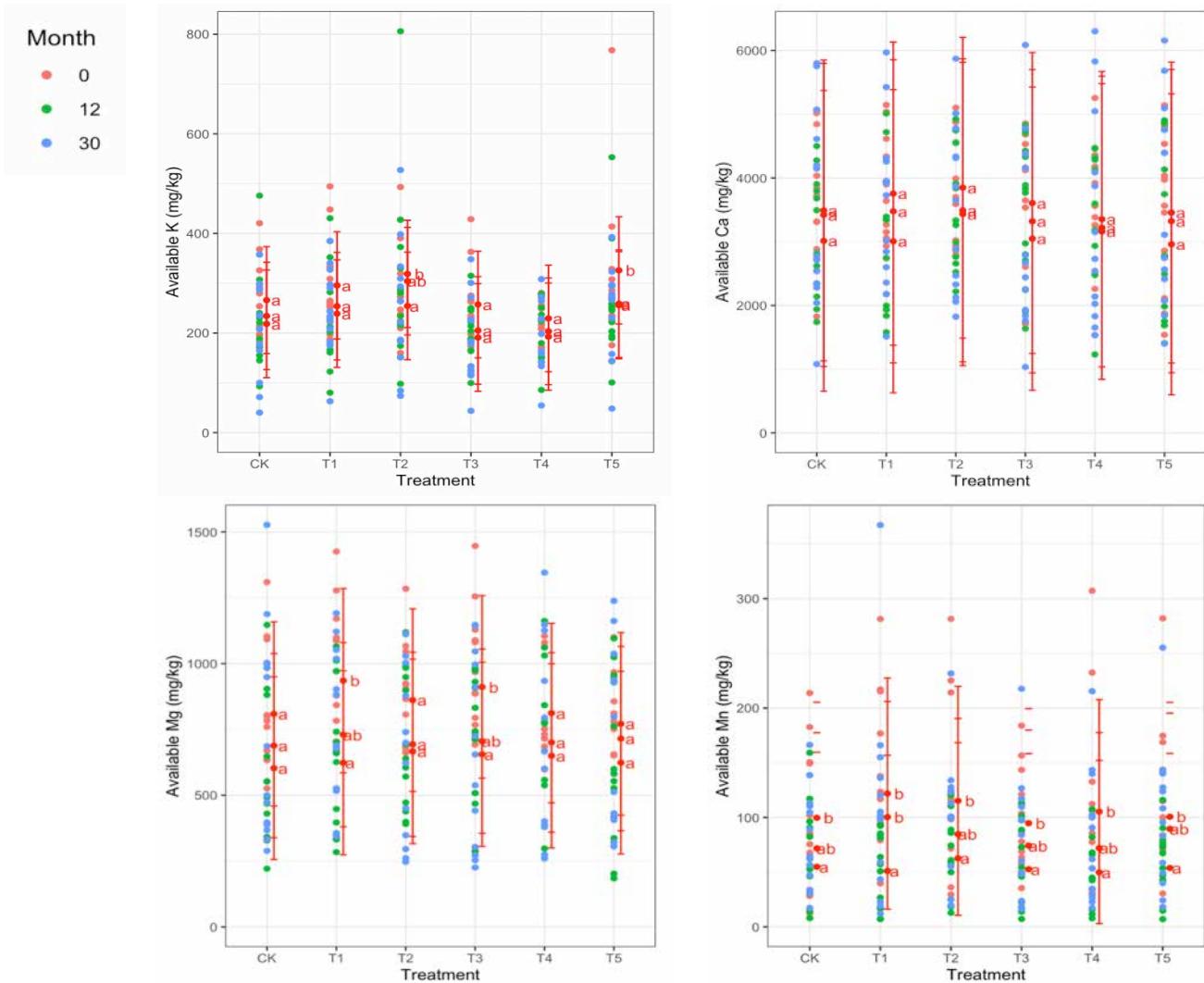
	Biochar Esmeraldas	Biochar Manabí	Biochar Guayas	Bokashi Esmeraldas	Bokashi Manabí	Bokashi Guayas
<b>OC (%)</b>	-	13	11	25	16	18
<b>N tot (%)</b>	-	0.18	0.24	1.15	0.71	1.39
<b>pH</b>	7.6	8.9	7.6	7.8	7.6	8.9
<b>CEC (cmol<sup>+</sup> kg<sup>-1</sup>)</b>	-	26	19	29	44	34
<b>C<sub>reac.</sub></b>	2194	2009	2016	1316	2138	1799
<b>Cd<sub>reac.</sub></b>	0.02	0.49	0.31	0.49	0.45	0.57
<b>Fe<sub>reac.</sub></b>	54	232	202	236	213	111
<b>K<sub>reac.</sub></b>	5323	145	106	41	114	83
<b>Mg<sub>reac.</sub></b>	154	512	395	243	423	426
<b>Mn<sub>reac.</sub></b>	13	12	19	7	24	27
<b>P<sub>reac.</sub></b>	109	26	< LOQ	29	22	< LOQ
<b>Zn<sub>reac.</sub></b>	2.75	4.34	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ

**Table SI - 7 :** Recoveries (in %) of the soil, leaves and beans digestions. The line “ - ” means that the corresponding element is not certified by the CRM.

Province	Sample type	Sampling time (month)	As	B	Ca	Cd	Co	Cu	Fe	Mn	Na	Ni	P	Pb	Rb	Se	Zn
<b>Guayas</b>	Leaves	0	128	99	107	103	92	99	86	99	88	148	113	-	101	131	100
		12	111	86	93	92	102	102	86	87	77	90	103	-	91	117	89
		30	126	86	98	98	87	89	84	91	79	77	111	-	95	117	92
	Soil	0 – 12	-	-	-	104	-	-	-	-	-	94	-	81	-	-	101
		30				97						84		92			94
	Beans	0	-	-	-	102	-	107	-	105	-	106	-	-	-	-	-
		12	-	-	-	103	-	102	-	103	-	105	-	-	-	-	-
		30	-	-	-	103	-	102	-	103	-	105	-	-	-	-	-
<b>EsmERALDAS and Manabí</b>	Leaves	0 – 30	116	96	99	96	84	86	78	92	81	67	109	-	94	192	92
		12	125	105	97	101	88	91	80	93	99	76	113	-	97	148	96
	Beans	0 – 30	-	-	-	104	-	106	-	107	-	98	-	-	-	-	-
		12	-	-	-	103	-	103	-	102	-	106	-	-	-	-	-
	Soil	0	-	-	-	95	-	-	-	-	-	84	-	86	-	-	89
		12	-	-	-	97	-	-	-	-	-	87	-	91	-	-	96
		30	-	-	-	96	-	-	-	-	-	84	-	96	-	-	94



**Figure SI - 2:** Evolution of reactive P, Fe, Al and Zn through sampling times for all farmers (n=13). Red dots and error bars represent adjusted mean with 95 % confidence limits per treatments. Means followed by a common letter are not significantly different according to Tukey-test. \* Reactive Zn pool was only presented for the Guayas provinces as the values of the other provinces were < LOQ.



**Figure SI - 3:** Evolution of reactive K, Ca, Mg and Mn through sampling times for all farmers (n=13). Red dots and error bars represent adjusted mean with 95 % confidence limits per treatments. Means followed by a common letter are not significantly different according to Tukey-test. \* Reactive Zn pool was only presented for the Guayas provinces as the values of the other provinces were < LOQ.

**Table SI - 8:** Average yield increases and expected profits/losses from treatment applications

Treatment	Average yield increase (kg/tree)	Average yield increase (kg/ha)	Profit - Bulk price	Profit - Organic Nacional price (ha)
<b>T1</b>	0.13	94.33	- \$1,472.5	- \$1,387.57
<b>T2</b>	0.14	99.88	- \$509.8	-\$419.9
<b>T3</b>	0.04	26.39	-\$604.8	\$581.00
<b>T4</b>	0.02	12.53	-\$1,696.6	-\$1,685.35
<b>T5</b>	0.04	25.91	- \$ 1,962.9	-\$1,939.67

## **REFERENCES:**

- Agegnehu, G., Bass, A. M., Nelson, P. N., & Bird, M. I. (2016). Benefits of biochar, compost and biochar–compost for soil quality, maize yield and greenhouse gas emissions in a tropical agricultural soil. *Science of The Total Environment*, 543, 295-306.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.11.054>
- Anggriawan, R., Ariska Salsabilla, N., & Ayu Prahesti, I. (2023). Volcanic Soils: Their Characteristics, Management Practices, and Potential Solution for Water Pollution. *SEAS (Sustainable Environment Agricultural Science)*, 7(1), 18-29.  
<https://doi.org/10.22225/seas.7.1.6313.18-29>
- Arao, T., Kawasaki, A., Baba, K., Mori, S., & Matsumoto, S. (2009). Effects of Water Management on Cadmium and Arsenic Accumulation and Dimethylarsinic Acid Concentrations in Japanese Rice. *Environmental Science & Technology*, 43(24), 9361-9367.  
<https://doi.org/10.1021/es9022738>
- Argüello, D., Chavez, E., Gutierrez, E., Pittomvils, M., Dekeyrel, J., Blommaert, H., & Smolders, E. (2023). Soil amendments to reduce cadmium in cacao (*Theobroma cacao L.*): A comprehensive field study in Ecuador. *Chemosphere*, 324, 138318.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138318>
- Argüello, D., Chavez, E., Lauryssen, F., Vanderschueren, R., Smolders, E., & Montalvo, D. (2019). Soil properties and agronomic factors affecting cadmium concentrations in cacao beans: A nationwide survey in Ecuador. *Science of The Total Environment*, 649, 120-127.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.292>
- Argüello, D., Montalvo, D., Blommaert, H., Chavez, E., & Smolders, E. (2020). Surface soil liming reduces cadmium uptake in cacao seedlings but subsurface uptake is enhanced. *Journal of Environmental Quality*, 49(5), 1359-1369. <https://doi.org/10.1002/jeq2.20123>
- Arvelo Sánchez, M. Á. (2017). *Estado actual sobre la producción, el comercio y cultivo del cacao en América*. IICA ; Colegio de Postgraduados : Fundación COLPOS.
- Baldi, E., Cavani, L., Mazzon, M., Marzadori, C., Quartieri, M., & Toselli, M. (2021). Fourteen years of compost application in a commercial nectarine orchard: Effect on microelements and potential harmful elements in soil and plants. *Science of The Total Environment*, 752, 141894. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141894>
- Barraza, F., Maurice, L., Uzu, G., Becerra, S., López, F., Ochoa-Herrera, V., Ruales, J., & Schreck, E. (2018). Distribution, contents and health risk assessment of metal(lloid)s in small-scale

farms in the Ecuadorian Amazon: An insight into impacts of oil activities. *Science of The Total Environment*, 622-623, 106-120. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.246>

Barraza, F., Moore, R. E. T., Rehkämper, M., Schreck, E., Lefevre, G., Kreissig, K., Coles, B. J., & Maurice, L. (2019). Cadmium isotope fractionation in the soil – cacao systems of Ecuador: A pilot field study. *RSC Advances*, 9(58), 34011-34022.  
<https://doi.org/10.1039/C9RA05516A>

Barrera, V.; Alwang, J.; Casanova, T.; Domínguez, J.; Escudero, L.; Loor, G.; Peña, G.; Párraga, J.; Arévalo, J.; Quiroz, J.; Tarqui, O.; Plaza, L.; Sotomayor, I.; Zambrano, F.; Rodríguez, G.; García, C.; Racines, M. (2019). *La cadena de valor del cacao y el bienestar de los productores en la provincia de Manabí-Ecuador*. INIAP. Libro Técnico No. 171. ARCOIRIS Producciones Gráficas. Quito, Ecuador. 204 pp.

Bashir, A., Rizwan, M., Ali, S., Adrees, M., Rehman, M. Z. U., & Qayyum, M. F. (2020). Effect of composted organic amendments and zinc oxide nanoparticles on growth and cadmium accumulation by wheat; a life cycle study. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(19), 23926-23936. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08739-8>

Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A RAPID METHOD OF TOTAL LIPID EXTRACTION AND PURIFICATION. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911-917.  
<https://doi.org/10.1139/o59-099>

Blommaert, H., Aucour, A.-M., Wiggenhauser, M., Moens, C., Telouk, P., Campillo, S., Beauchêne, J., Landrot, G., Testemale, D., Pin, S., Lewis, C., Umaharan, P., Smolders, E., & Sarret, G. (2022). From soil to cacao bean: Unravelling the pathways of cadmium translocation in a high Cd accumulating cultivar of *Theobroma cacao* L. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1055912. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1055912>

Buyer, J. S., & Sasser, M. (2012). High throughput phospholipid fatty acid analysis of soils. *Applied Soil Ecology*, 61, 127-130. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.06.005>

Cerda, R., Deheuvels, O., Calvache, D., Niehaus, L., Saenz, Y., Kent, J., Vilchez, S., Villota, A., Martinez, C., & Somarriba, E. (2014). Contribution of cacao agroforestry systems to family income and domestic consumption: Looking toward intensification. *Agroforestry Systems*, 88(6), 957-981. <https://doi.org/10.1007/s10457-014-9691-8>

Charry A; Atkinson R; Junca J; Perea C; Thomas E; Pulleman M. (2023). Effects of the EU food safety regulation on cadmium on the cacao value chains of Colombia, Ecuador, and Peru. Briefing Note No. 4. International Center for Tropical Agriculture (CIAT). Cali, Colombia. 14 p.

- Chavarria, D. N., Pérez-Brandan, C., Serri, D. L., Meriles, J. M., Restovich, S. B., Andriulo, A. E., Jacquelin, L., & Vargas-Gil, S. (2018). Response of soil microbial communities to agroecological versus conventional systems of extensive agriculture. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 264, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.05.008>
- Chavez, E., He, Z. L., Stoffella, P. J., Mylavarapu, R., Li, Y., & Baligar, V. C. (2016a). Evaluation of soil amendments as a remediation alternative for cadmium-contaminated soils under cacao plantations. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(17), 17571-17580. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6931-7>
- Chavez, E., He, Z. L., Stoffella, P. J., Mylavarapu, R. S., Li, Y. C., & Baligar, V. C. (2016b). Chemical speciation of cadmium: An approach to evaluate plant-available cadmium in Ecuadorian soils under cacao production. *Chemosphere*, 150, 57-62. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.013>
- Chavez, E., He, Z. L., Stoffella, P. J., Mylavarapu, R. S., Li, Y. C., Moyano, B., & Baligar, V. C. (2015). Concentration of cadmium in cacao beans and its relationship with soil cadmium in southern Ecuador. *Science of The Total Environment*, 533, 205-214. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.106>
- Ciesielski, H., Sterckeman, T., Santerne, M., & Willery, J. P. (1997). Determination of cation exchange capacity and exchangeable cations in soils by means of cobalt hexamine trichloride. Effects of experimental conditions. *Agronomie*, 17(1), 1-7. <https://doi.org/10.1051/agro:19970101>
- Cuenca-Cuenca, E. W., Puentes-Páramo, Y. J., & Menjivar-Flores, J. C. (2019). Efficient use of nutrients in fine aroma cacao in the Province of Los Ríos-Ecuador. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 72(3), 8963-8970. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v72n3.74862>
- Culman, S. W., Snapp, S. S., Freeman, M. A., Schipanski, M. E., Beniston, J., Lal, R., Drinkwater, L. E., Franzluebbers, A. J., Glover, J. D., Grandy, A. S., Lee, J., Six, J., Maul, J. E., Mirksy, S. B., Spargo, J. T., & Wander, M. M. (2012). Permanganate Oxidizable Carbon Reflects a Processed Soil Fraction that is Sensitive to Management. *Soil Science Society of America Journal*, 76(2), 494-504. <https://doi.org/10.2136/sssaj2011.0286>
- Cunningham, R. K., & Burridge, J. C. (1959). The Effect of the Yield Variability of Amelonado Cacao on the Design of Fertilizer Field Experiments in Ghana. *Journal of Horticultural Science*, 34(4), 229-237. <https://doi.org/10.1080/00221589.1959.11513963>

Dai, Z., Zhang, X., Tang, C., Muhammad, N., Wu, J., Brookes, P. C., & Xu, J. (2017). Potential role of biochars in decreasing soil acidification—A critical review. *Science of The Total Environment*, 581-582, 601-611. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.169>

De Vries, M. P. C. (1980). How reliable are results of pot experiments? *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 11(9), 895-902. <https://doi.org/10.1080/00103628009367090>

Desert Research Center, Cairo, Egypt, & Abed El-Hamied, S. A. (2014). Effect of multi-ingredient of Bokashi on productivity of mandarin trees and soil properties under saline water irrigation. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 7(11), 79-87. <https://doi.org/10.9790/2380-071127987>

Development Core Team, R., 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Diaco, M., & Montemurro, F. (2011). Long-Term Effects of Organic Amendments on Soil Fertility. En E. Lichtfouse, M. Hamelin, M. Navarrete, & P. Debaeke (Eds.), *Sustainable Agriculture Volume 2* (pp. 761-786). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-0394-0\\_34](https://doi.org/10.1007/978-94-007-0394-0_34)

Doran, J. W., & Zeiss, M. R. (2000). Soil health and sustainability: Managing the biotic component of soil quality. *Applied Soil Ecology*, 15(1), 3-11. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(00\)00067-6](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(00)00067-6)

Duan, Z., Chen, C., Ni, C., Xiong, J., Wang, Z., Cai, J., & Tan, W. (2023). How different is the remediation effect of biochar for cadmium contaminated soil in various cropping systems? A global meta-analysis. *Journal of Hazardous Materials*, 448, 130939. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.130939>

European Food Safety Authority (EFSA). (2009). Cadmium in food - Scientific opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. *EFSA Journal*, 7(3). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.980>

Frostegård, Å., Tunlid, A., & Bååth, E. (1991). Microbial biomass measured as total lipid phosphate in soils of different organic content. *Journal of Microbiological Methods*, 14(3), 151-163. [https://doi.org/10.1016/0167-7012\(91\)90018-L](https://doi.org/10.1016/0167-7012(91)90018-L)

Fungenzi, T., Sakrabani, R., Burgess, P. J., Lambert, S., & McMahon, P. (2021). Medium-term effect of fertilizer, compost, and dolomite on cacao soil and productivity in Sulawesi, Indonesia. *Experimental Agriculture*, 57(3), 185-202. <https://doi.org/10.1017/S0014479721000132>

- Galliano, D., Lallau, B., & Touzard, J.-M. (2017). Coexistences et transitions dans l'agriculture : *Revue Française de Socio-Économie*, n° 18(1), 23-30.  
<https://doi.org/10.3917/rfse.018.0023>
- Garbowski, T., Bar-Michalczyk, D., Charazińska, S., Grabowska-Polanowska, B., Kowalczyk, A., & Lochyński, P. (2023). An overview of natural soil amendments in agriculture. *Soil and Tillage Research*, 225, 105462. <https://doi.org/10.1016/j.still.2022.105462>
- Gockowski, J., & Sonwa, D. (2011). Cacao Intensification Scenarios and Their Predicted Impact on CO<sub>2</sub> Emissions, Biodiversity Conservation, and Rural Livelihoods in the Guinea Rain Forest of West Africa. *Environmental Management*, 48(2), 307-321.  
<https://doi.org/10.1007/s00267-010-9602-3>
- Goudsmit, E., Rozendaal, D. M. A., Tosto, A., & Slingerland, M. (2023). Effects of fertilizer application on cacao pod development, pod nutrient content and yield. *Scientia Horticulturae*, 313, 111869. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.111869>
- Guarín, D., Martín-López, J. M., Libohova, Z., Benavides-Bolaños, J., Maximova, S. N., Guiltinan, M. J., Spargo, J., Da Silva, M., Fernandez, A., & Drohan, P. (2024). Accumulation of cadmium in soils, litter and leaves in cacao farms in the North Sierra Nevada de Santa Marta, Colombia. *Geoderma Regional*, 36, e00762.  
<https://doi.org/10.1016/j.geodrs.2024.e00762>
- Gutiérrez, E., Chávez, E., Gamage, K. H. H., Argüello, D., Galkaduwa, M. B., & Hettiarachchi, G. M. (2022). Cadmium fractionation in soils affected by organic matter application: Transfer of cadmium to cacao (*Theobroma cacao* L.) tissues. *Frontiers in Environmental Science*, 10, 954521. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.954521>
- Hess, T. F., & Schmidt, S. K. (1995). Improved procedure for obtaining statistically valid parameter estimates from soil respiration data. *Soil Biology and Biochemistry*, 27(1), 1-7.  
[https://doi.org/10.1016/0038-0717\(94\)00166-X](https://doi.org/10.1016/0038-0717(94)00166-X)
- Hoffmann, M. P., Cock, J., Samson, M., Janetski, N., Janetski, K., Rötter, R. P., Fisher, M., & Oberthür, T. (2020). Fertilizer management in smallholder cacao farms of Indonesia under variable climate and market prices. *Agricultural Systems*, 178, 102759.  
<https://doi.org/10.1016/j.agsy.2019.102759>
- Jagoret, P., Michel, I., Ngnogué, H. T., Lachenaud, P., Snoeck, D., & Malézieux, E. (2017). Structural characteristics determine productivity in complex cacao agroforestry systems. *Agronomy for Sustainable Development*, 37(6), 60. <https://doi.org/10.1007/s13593-017-0468-0>

- Jaimez, R. E., Barragan, L., Fernández-Niño, M., Wessjohann, L. A., Cedeño-Garcia, G., Sotomayor Cantos, I., & Arteaga, F. (2022). *Theobroma cacao* L. cultivar CCN 51: A comprehensive review on origin, genetics, sensory properties, production dynamics, and physiological aspects. *PeerJ*, 10, e12676. <https://doi.org/10.7717/peerj.12676>
- Khan, M. A., Khan, S., Ding, X., Khan, A., & Alam, M. (2018). The effects of biochar and rice husk on adsorption and desorption of cadmium on to soils with different water conditions (upland and saturated). *Chemosphere*, 193, 1120-1126.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.110>
- Kobayashi, E., Suwazono, Y., Dochi, M., Honda, R., & Kido, T. (2009). Influence of Consumption of Cadmium-Polluted Rice or Jinzu River Water on Occurrence of Renal Tubular Dysfunction and/or Itai-itai Disease. *Biological Trace Element Research*, 127(3), 257-268.  
<https://doi.org/10.1007/s12011-008-8239-z>
- Kobayashi, Y., Inoue, Y., & Shibata, K. (1976). Inhibitory effect of p-nitrothiophenol in the light on the photosystem II activity of spinach chloroplasts. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 423(1), 80-90. [https://doi.org/10.1016/0005-2728\(76\)90102-x](https://doi.org/10.1016/0005-2728(76)90102-x)
- Kubier, A., Wilkin, R. T., & Pichler, T. (2019). Cadmium in soils and groundwater: A review. *Applied Geochemistry*, 108, 104388. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2019.104388>
- Le Bayon, R. C., & Binet, F. (2006). Earthworms change the distribution and availability of phosphorous in organic substrates. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(2), 235-246.  
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.05.013>
- Lehmann, J., & Joseph, S. (2015). *Biochar for environmental management: Science, technology and implementation* (2nd ed). Routledge.
- Li, B., Guo, Y., Liang, F., Liu, W., Wang, Y., Cao, W., Song, H., Chen, J., & Guo, J. (2024). Global integrative meta-analysis of the responses in soil organic carbon stock to biochar amendment. *Journal of Environmental Management*, 351, 119745.  
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.119745>
- Lim L.Y., Lee C.T., Lim J.S., Klemes J.J., Ho C.S., & Mansor N.N.A. (2017). Feedstock amendment for the production of quality compost for soil amendment and heavy metal immobilization. *Chemical Engineering Transactions*, 56, 499-504.  
<https://doi.org/10.3303/CET1756084>
- Maat, H. (2011). The history and future of agricultural experiments. *NJAS: Wageningen Journal of Life Sciences*, 57(3-4), 187-195. <https://doi.org/10.1016/j.njas.2010.11.001>

Middendorp, R. S., Boever, O., Rueda, X., & Lambin, E. F. (2020). Improving smallholder livelihoods and ecosystems through direct trade relations: High-quality cacao producers in Ecuador. *Business Strategy & Development*, 3(2), 165-184.

<https://doi.org/10.1002/bsd2.86>

Mohamad, R. S., Verrastro, V., Cardone, G., Bteich, M. R., Favia, M., Moretti, M., & Roma, R. (2014). Optimization of organic and conventional olive agricultural practices from a Life Cycle Assessment and Life Cycle Costing perspectives. *Journal of Cleaner Production*, 70, 78-89. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.02.033>

Moreira, F. M. D. S., Nóbrega, R. S. A., Jesus, E. D. C., Ferreira, D. F., & Pérez, D. V. (2009). Differentiation in the fertility of Inceptisols as related to land use in the upper Solimões river region, western Amazon. *Science of The Total Environment*, 408(2), 349-355.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.09.007>

Mortimer, R., Saj, S., & David, C. (2018). Supporting and regulating ecosystem services in cacao agroforestry systems. *Agroforestry Systems*, 92(6), 1639-1657.

<https://doi.org/10.1007/s10457-017-0113-6>

Nelson, D. W., & Sommers, L. E. (2018). Total Carbon, Organic Carbon, and Organic Matter. En D. L. Sparks, A. L. Page, P. A. Helmke, R. H. Loepert, P. N. Soltanpour, M. A. Tabatabai, C. T. Johnston, & M. E. Sumner (Eds.), *SSSA Book Series* (pp. 961-1010). Soil Science Society of America, American Society of Agronomy. <https://doi.org/10.2136/sssabookser5.3.c34>

Oliva, M., Rubio, K., Epquin, M., Marlo, G., & Leiva, S. (2020). Cadmium Uptake in Native Cacao Trees in Agricultural Lands of Bagua, Peru. *Agronomy*, 10(10), 1551.

<https://doi.org/10.3390/agronomy10101551>

Peterson, D. L., & Rolfe, G. L. (1985). Temporal variation in nutrient status of a floodplain forest soil. *Forest Ecology and Management*, 12(2), 73-82. [https://doi.org/10.1016/0378-1127\(85\)90076-3](https://doi.org/10.1016/0378-1127(85)90076-3)

Qi, F., Lamb, D., Naidu, R., Bolan, N. S., Yan, Y., Ok, Y. S., Rahman, M. M., & Choppala, G. (2018). Cadmium solubility and bioavailability in soils amended with acidic and neutral biochar. *Science of The Total Environment*, 610-611, 1457-1466.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.228>

Qian, S., Zhou, X., Fu, Y., Song, B., Yan, H., Chen, Z., Sun, Q., Ye, H., Qin, L., & Lai, C. (2023). Biochar-compost as a new option for soil improvement: Application in various problem soils. *Science of The Total Environment*, 870, 162024.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162024>

Ramtahal, G., Umaharan, P., Hanuman, A., Davis, C., & Ali, L. (2019). The effectiveness of soil amendments, biochar and lime, in mitigating cadmium bioaccumulation in *Theobroma cacao* L. *Science of The Total Environment*, 693, 133563.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.369>

Ramtahal, G., Umaharan, P., Davis, C., Roberts, C., Hanuman, A., & Ali, L. (2022). Mitigation of cadmium uptake in *Theobroma cacao* L: Efficacy of soil application methods of hydrated lime and biochar. *Plant and Soil*, 477(1-2), 281-296. <https://doi.org/10.1007/s11104-022-05422-4>

Rasul, G., & Thapa, G. B. (2004). Sustainability of ecological and conventional agricultural systems in Bangladesh: An assessment based on environmental, economic and social perspectives. *Agricultural Systems*, 79(3), 327-351. [https://doi.org/10.1016/S0308-521X\(03\)00090-8](https://doi.org/10.1016/S0308-521X(03)00090-8)

Rengel, Z. (2011). Soil pH, Soil Health and Climate Change. En B. P. Singh, A. L. Cowie, & K. Y. Chan (Eds.), *Soil Health and Climate Change* (Vol. 29, pp. 69-85). Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-20256-8\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-642-20256-8_4)

Reyna-Ramírez, C. A., Rodríguez-Sánchez, L. M., Vela-Correa, G., Etchevers-Barra, J., & Fuentes-Ponce, M. (2018). Redesign of the traditional Mesoamerican agroecosystem based on participative ecological intensification: Evaluation of the soil and efficiency of the system. *Agricultural Systems*, 165, 177-186. <https://doi.org/10.1016/j.aggsy.2018.06.013>

Ribeiro, M. A. Q., Da Silva, J. O., Aitken, W. M., Machado, R. C. R., & Baligar, V. C. (2008). Nitrogen Use Efficiency in Cacao Genotypes. *Journal of Plant Nutrition*, 31(2), 239-249. <https://doi.org/10.1080/01904160701853720>

Ríos Guayasamín, P. D., Smith, S. M., & Thomas, S. C. (2024). Biochar effects on NTFP-enriched secondary forest growth and soil properties in Amazonian Ecuador. *Journal of Environmental Management*, 350, 119068. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.119068>

Robertson, G., Wedin, D., Groffman, P., Blair, J., Holland, E., Nadelhoffer, K., & Harris, D. F. (1999). Soil carbon and nitrogen availability: Nitrogen mineralization, nitrification, and soil respiration potentials. In G. P. Robertson, C. S. Bledsoe, D. C. Coleman, & P. Sollins (Eds.), *Standard Soil Methods for Long-Term Ecological Research* (pp. 258-271). New York: Oxford University Press Oxford University Press.

Saifullah, Sarwar, N., Bibi, S., Ahmad, M., & Ok, Y. S. (2014). Effectiveness of zinc application to minimize cadmium toxicity and accumulation in wheat (*Triticum aestivum* L.).

*Environmental Earth Sciences*, 71(4), 1663-1672. <https://doi.org/10.1007/s12665-013-2570-1>

Saj, S., Nijmeijer, A., Nieboukaho, J.-D. E., Lauri, P.-E., & Harmand, J.-M. (2021). Litterfall seasonal dynamics and leaf-litter turnover in cacao agroforests established on past forest lands or savannah. *Agroforestry Systems*, 95(4), 583-597. <https://doi.org/10.1007/s10457-021-00602-0>

Santos, I. C. D., Silva, G. S., Silva, J. P. L., Souza, J. D. S., Santos, M. S. D., Souza Junior, J. O. D., Almeida, A.-A. F. D., Corrêa, R. X., Baligar, V. C., Zhang, D., Calle-Bellido, J., Jia, H., & Ahnert, D. (2023). Screening of cacao clones for drought tolerance by assessing predawn leaf water potential, growth, and leaf gas exchange. *Plant Stress*, 10, 100245. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100245>

Sari, R. R., Rozendaal, D. M. A., Saputra, D. D., Hairiah, K., Roshetko, J. M., & Van Noordwijk, M. (2022). Balancing litterfall and decomposition in cacao agroforestry systems. *Plant and Soil*, 473(1-2), 251-271. <https://doi.org/10.1007/s11104-021-05279-z>

Snoeck, D., Koko, L., Joffre, J., Bastide, P., & Jagoret, P. (2016). Cacao Nutrition and Fertilization. En E. Lichtfouse (Ed.), *Sustainable Agriculture Reviews* (Vol. 19, pp. 155-202). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-26777-7\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-26777-7_4)

Tabatabai, M. A., & Bremner, J. M. (1969). Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 1(4), 301-307. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(69\)90012-1](https://doi.org/10.1016/0038-0717(69)90012-1)

Thomas, E., Atkinson, R., Zavaleta, D., Rodriguez, C., Lastra, S., Yovera, F., Arango, K., Pezo, A., Aguilar, J., Tames, M., Ramos, A., Cruz, W., Cosme, R., Espinoza, E., Chavez, C. R., & Ladd, B. (2023). The distribution of cadmium in soil and cacao beans in Peru. *Science of The Total Environment*, 881, 163372. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163372>

Vanderschueren, R., Argüello, D., Blommaert, H., Montalvo, D., Barraza, F., Maurice, L., Schreck, E., Schulin, R., Lewis, C., Vazquez, J. L., Umaharan, P., Chavez, E., Sarret, G., & Smolders, E. (2021). Mitigating the level of cadmium in cacao products: Reviewing the transfer of cadmium from soil to chocolate bar. *Science of The Total Environment*, 781, 146779. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146779>

Vanderschueren, R., Doevenspeck, J., Goethals, L., Andjelkovic, M., Waegeneers, N., & Smolders, E. (2023a). The contribution of cacao consumption to the bioaccessible dietary cadmium exposure in the Belgian population. *Food and Chemical Toxicology*, 172, 113599. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2023.113599>

- Vanderschueren, R., Wantiez, L., Blommaert, H., Flores, J., Chavez, E., & Smolders, E. (2023). Revealing the pathways of cadmium uptake and translocation in cacao trees (*Theobroma cacao* L.): A 108Cd pulse-chase experiment. *Science of The Total Environment*, 869, 161816. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161816>
- Visscher, A. M., Chavez, E., Caicedo, C., Tinoco, L., & Pulleman, M. (2024). Biological soil health indicators are sensitive to shade tree management in a young cacao (*Theobroma cacao* L.) production system. *Geoderma Regional*, 37, e00772. <https://doi.org/10.1016/j.geodrs.2024.e00772>
- Wang, P., Peng, H., Liu, J., Zhu, Z., Bi, X., Yu, Q., & Zhang, J. (2020). Effects of exogenous dissolved organic matter on the adsorption–desorption behaviors and bioavailabilities of Cd and Hg in a plant–soil system. *Science of The Total Environment*, 728, 138252. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138252>
- Wong, T. M., & Freeman, R. F. (1976). Seasonal and thermal effects on the concentration of the hemolymph in the New Zealand freshwater crayfish *Paranephrops zealandicus* white. *Comparative Biochemistry and Physiology. A, Comparative Physiology*, 55(1), 17-22. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(76\)90116-x](https://doi.org/10.1016/0300-9629(76)90116-x)
- World Health Organization & Convention on Biological Diversity. (2015). *Connecting global priorities: Biodiversity and human health: a state of knowledge review*. World Health Organization. <https://iris.who.int/handle/10665/174012>
- Xu, D., Zhao, Y., Zhou, H., & Gao, B. (2016). Effects of biochar amendment on relieving cadmium stress and reducing cadmium accumulation in pepper. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(12), 12323-12331. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6264-6>
- Yang, Y., Liu, H., Dai, Y., Tian, H., Zhou, W., & Lv, J. (2021). Soil organic carbon transformation and dynamics of microorganisms under different organic amendments. *Science of The Total Environment*, 750, 141719. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141719>

## 6.3. Effets des intrants organiques pour l'amélioration de la santé de cacaoyères en Côte d'Ivoire

### 6.3.1. Rappel du contexte de l'étude et des objectifs sous-jacents

La Côte d'Ivoire est le premier producteur mondial de cacao avec une production d'environ 2,2 millions de tonnes en 2021 (Faostat, 2021) et des rendements moyens de 500 kg ha<sup>-1</sup> an<sup>-1</sup>. L'accroissement de la production de cacao en Côte d'Ivoire est étroitement lié à l'augmentation des surfaces cultivées depuis le XXème siècle, les vergers cacaoyers se substituant aux espaces forestiers à hauteur de 70 % à l'échelle du pays (Carimentrand, 2020 ; Sanial, 2019). Le système productif de cacao le plus répandu en Côte d'Ivoire demeure la monoculture en plein soleil avec des pourcentages d'ombrage entre 25 et 48 % d'après Tondoh et al. (2015). La principale raison de l'adoption d'un tel système de production est la meilleure productivité de cacao à court-terme comparée à un système agroforestier incluant diverses essences d'arbres ou de cultures associées. D'après Niether et al. (2020), la production de cacao en agroforesterie est de 25 % inférieure à celle d'un système de monoculture en plein soleil, ce qui permet d'expliquer l'intérêt économique de cette dernière pratique. Cependant, l'accès limité aux fertilisants combiné à l'utilisation de variétés hautement productives de cacao a entraîné un épuisement de la fertilité des sols et donc une diminution des rendements au fil des années (Amos et al., 2007). Les anciennes pratiques d'agroforesterie réapparaissent aujourd'hui comme une solution pour régénérer les sols, atténuer les effets des sécheresses de plus en plus fréquentes dues au changement climatique (Schroth et al., 2016), diversifier les sources de revenus pour les producteurs et moins les exposer à la volatilité des prix, accroître la biodiversité dans les vergers et réduire l'incidence des maladies et ravageurs. L'intérêt de ce type de modèle agricole est d'associer

plusieurs espèces d'arbres à la culture principale afin de créer des interactions bénéfiques au sein de l'agro-système. L'apparition des programmes de certification et de formation à l'agroforesterie ont permis de mieux faire connaître ce type de pratiques agricoles et leurs bénéfices (Gyau et al., 2014).

Le devenir de la culture de cacao ivoirienne repose donc sur la possibilité de régénérer les cacaoyères au sein d'agroécosystèmes dont la fertilité sera équivalente à celle héritée des anciennes forêts : taux d'humus suffisant, faible pression parasitaire, ombrage pour éviter la prolifération d'herbes adventices et limiter les fortes chaleurs. En 2020, les coopératives SCEB (Société Coopérative Équitable du Bandama) et la CAMAYE (Coopérative Agricole Mawoubé de Yéré Yéré) ont mis en place avec l'appui de Symbiotik et de la SCOP ETHIQUABLE® dans le cadre du programme EQUITE 2 (mené par Commerce Équitable France & Agronomes et Vétérinaires Sans Frontières et financé par l'Agence Française pour le Développement et le Fonds Français pour l'Environnement Mondial), une biofabrique, laboratoire artisanal de production d'intrants organiques et biologiques. Les produits issus de la biofabrique sont destinés à fertiliser le sol et les plantes ainsi qu'à dynamiser l'activité biologique des sols pour améliorer les rendements et lutter contre les maladies et ravageurs du cacao.

L'amélioration des rendements des producteurs de cacao demeure une problématique récurrente rencontrée dans diverses régions du monde (Asie, Amérique du Sud, Afrique, ...). Pour cela, une bonne gestion de la fertilité des sols et la mise en place de systèmes agroforestiers peuvent être des solutions adaptées. Le but de cette étude est donc de :

**Évaluer l'efficacité d'une utilisation mixte de bokashi (avec biochar), de microorganismes liquides et de biofertilisants liquides sur les rendements et les propriétés physico-chimiques du sol des agrosystèmes de cacao en Côte d'Ivoire.**

### 6.3.2. Rappel de la méthodologie

La méthodologie employée pour la conduite des essais agronomiques en Côte d'Ivoire est détaillée dans la section *Matériels et Méthodes* (Chapitre 4). Toutefois, un bref rappel du protocole expérimental sera effectué pour une meilleure lecture de ce chapitre.

Les parcelles expérimentales ont été mises en place dans deux provinces de la Côte d'Ivoire : Tiassalé au Nord-Ouest de la capitale Abidjan et à Abengourou, au Nord-Est à la frontière avec le Ghana (Chapitre 4 - Figure 24). Au sein de ces deux sites, 5 producteurs dans chaque province.

Le plan d'expérience compte 5 traitements (T1 à T5) et une parcelle témoin qui ne reçoit aucune application d'intrants et ce plan a été établi chez chacun des 10 producteurs. Chaque parcelle contient 49 arbres pour une zone expérimentale de 0.5 ha comprenant les 6 parcelles (Chapitre 4 – Figure 25).

Chez chacun des producteurs les traitements suivants ont été effectués trois fois par an sur chacun des arbres au sein des parcelles :

- T1 : 1 kg de bokashi (avec biochar)
- T2 : 1 kg de bokashi (avec biochar) + 0,1 L micro-organismes liquides + 0,1 L biofertilisant
- T3 : 2 kg de bokashi (avec biochar)
- T4 : 2 kg de bokashi (avec biochar) + 0,1 L micro-organismes liquides + 0,1 L biofertilisant
- T5 : 0,1 L micro-organismes liquides + 0,1 L biofertilisant
- CK (témoin) : aucune application

L'application des amendements solides a été réalisée de façon superficielle après avoir retiré les feuilles de la litière tandis que les fertilisants liquides ont été appliqués par aspersion sur les arbres (feuilles et tronc).

Les dates d'application ont été définies avec les producteurs selon les saisons et la production des arbres comme suit : 1<sup>ère</sup> application en avril – 2<sup>ème</sup> application en août et 3<sup>ème</sup> application en octobre, et ce pour chaque année. La première application a eu lieu en avril 2021 et la dernière en octobre 2022.

Des échantillons de sol ont été prélevés à trois reprises, mois 0, 6 et 18, dans chacune des parcelles expérimentales, soit 60 échantillons composites par campagne (Chapitre 4 – Figure 26).

### 6.3.3. Effets des amendements organiques et biofertilisants sur les propriétés physicochimiques des sols

#### 6.3.3.1. Etat préliminaire des sols avant les applications

L'étude préliminaire des sols au moins 0 (février 2021) a permis de caractériser les propriétés physico-chimiques des sols avant le début de l'expérimentation. Le tableau 9 présente la moyenne des variables physico-chimiques pour chaque ferme ( $n=6$  parcelles par ferme) pour les deux coopératives. Les figures 47 et 48 montrent la distribution spatiale des concentrations élémentaires des sols entre les deux coopératives.

**Tableau 9:** Moyenne  $\pm$  SD, par ferme (n=6 parcelles), des paramètres physicochimiques de sols au mois 0 (février 2021) pour chaque coopérative en Côte d'Ivoire.

Coopérative CAMAYE						
Paramètre ( $\pm$ SD)	CE1	CE2	CE3	CE4	CE5	Moyenne
pH	6.8 $\pm$ 0.4	6.7 $\pm$ 0.2	6.5 $\pm$ 0.5	6.3 $\pm$ 0.5	6.7 $\pm$ 0.4	6.6 $\pm$ 0.4
CEC ( $C_{mol}^+$ / kg)	25 $\pm$ 1	25 $\pm$ 1	24 $\pm$ 2	23 $\pm$ 1	24 $\pm$ 1	24 $\pm$ 1
Argiles (%)	11 $\pm$ 3	11 $\pm$ 2	8 $\pm$ 3	14 $\pm$ 2	13 $\pm$ 2	11 $\pm$ 3
Limons (%)	62 $\pm$ 1	66 $\pm$ 1	76 $\pm$ 3	70 $\pm$ 2	67 $\pm$ 2	68 $\pm$ 5
Sables (%)	27 $\pm$ 3	23 $\pm$ 2	16 $\pm$ 2	13 $\pm$ 7	20 $\pm$ 1	21 $\pm$ 5
C <sub>total</sub> (%)	2.3 $\pm$ 0.2	2.9 $\pm$ 0.5	2.8 $\pm$ 0.6	3.1 $\pm$ 0.7	2.8 $\pm$ 0.5	2.8 $\pm$ 0.6
C <sub>organique</sub> (%)	1.8 $\pm$ 0.2	2.3 $\pm$ 0.3	2.1 $\pm$ 0.4	2.3 $\pm$ 0.4	2.2 $\pm$ 0.4	2.1 $\pm$ 0.4
N <sub>total</sub> (%)	0.19 $\pm$ 0.02	0.23 $\pm$ 0.03	0.22 $\pm$ 0.03	0.24 $\pm$ 0.04	0.24 $\pm$ 0.04	0.23 $\pm$ 0.04
C/N	9.8 $\pm$ 0.3	10.7 $\pm$ 0.6	10.6 $\pm$ 0.7	10.1 $\pm$ 0.4	10.1 $\pm$ 0.1	10.2 $\pm$ 0.5
Coopérative SCEB						
Paramètre ( $\pm$ SD)	SE1	SE2	SE3	SE4	SE5	Moyenne
pH	6.8 $\pm$ 0.4	6.3 $\pm$ 0.7	6.6 $\pm$ 0.4	6.2 $\pm$ 0.5	6.4 $\pm$ 0.3	6.5 $\pm$ 0.5
CEC ( $C_{mol}^+$ / kg)	22 $\pm$ 0	21 $\pm$ 1	22 $\pm$ 1	21 $\pm$ 1	22 $\pm$ 1	22 $\pm$ 1
Argiles (%)	10 $\pm$ 2	12 $\pm$ 1	13 $\pm$ 1	4 $\pm$ 1	10 $\pm$ 3	10 $\pm$ 5
Limons (%)	60 $\pm$ 2	69 $\pm$ 3	61 $\pm$ 3	55 $\pm$ 5	61 $\pm$ 3	61 $\pm$ 14
Sables (%)	30 $\pm$ 2	19 $\pm$ 3	26 $\pm$ 3	41 $\pm$ 5	29 $\pm$ 2	29 $\pm$ 19
C <sub>total</sub> (%)	1.8 $\pm$ 0.2	1.3 $\pm$ 0.2	1.8 $\pm$ 0.4	1.0 $\pm$ 0.2	1.7 $\pm$ 0.3	1.5 $\pm$ 0.4
C <sub>organique</sub> (%)	1.4 $\pm$ 0.2	1.1 $\pm$ 0.1	1.6 $\pm$ 0.3	0.8 $\pm$ 0.1	1.5 $\pm$ 0.3	1.3 $\pm$ 0.4

Snoeck et al. (2020) recommandent des concentrations en potassium (K) et phosphore (P) biodisponibles entre 80 et 470 mg kg<sup>-1</sup> et entre 6 et 15 mg kg<sup>-1</sup> respectivement. D'après ces valeurs, il s'avère que **les sols de la SCEB présentent un déficit en phosphore** (moyenne de 4,71 mg P kg<sup>-1</sup>) et en potassium (moyenne de 52 mg K kg<sup>-1</sup>), tandis qu'à la CAMAYE, les concentrations se situent entre les valeurs seuils. Ces résultats coïncident avec l'étude de sols cacaotiers menée en Côte d'Ivoire par N'Guessan et al. (2017) où 85 % des échantillons (n = 450) sont déficients en P et 34 % en K. Concernant l'azote (N), les concentrations de la coopérative SCEB sont identiques à celles mesurées dans l'étude précédente pour les Acrisols et, en moyenne, juste à la limite de la recommandation fixée à 0,20 %. Dans le cas de la CAMAYE, les sols présentent une

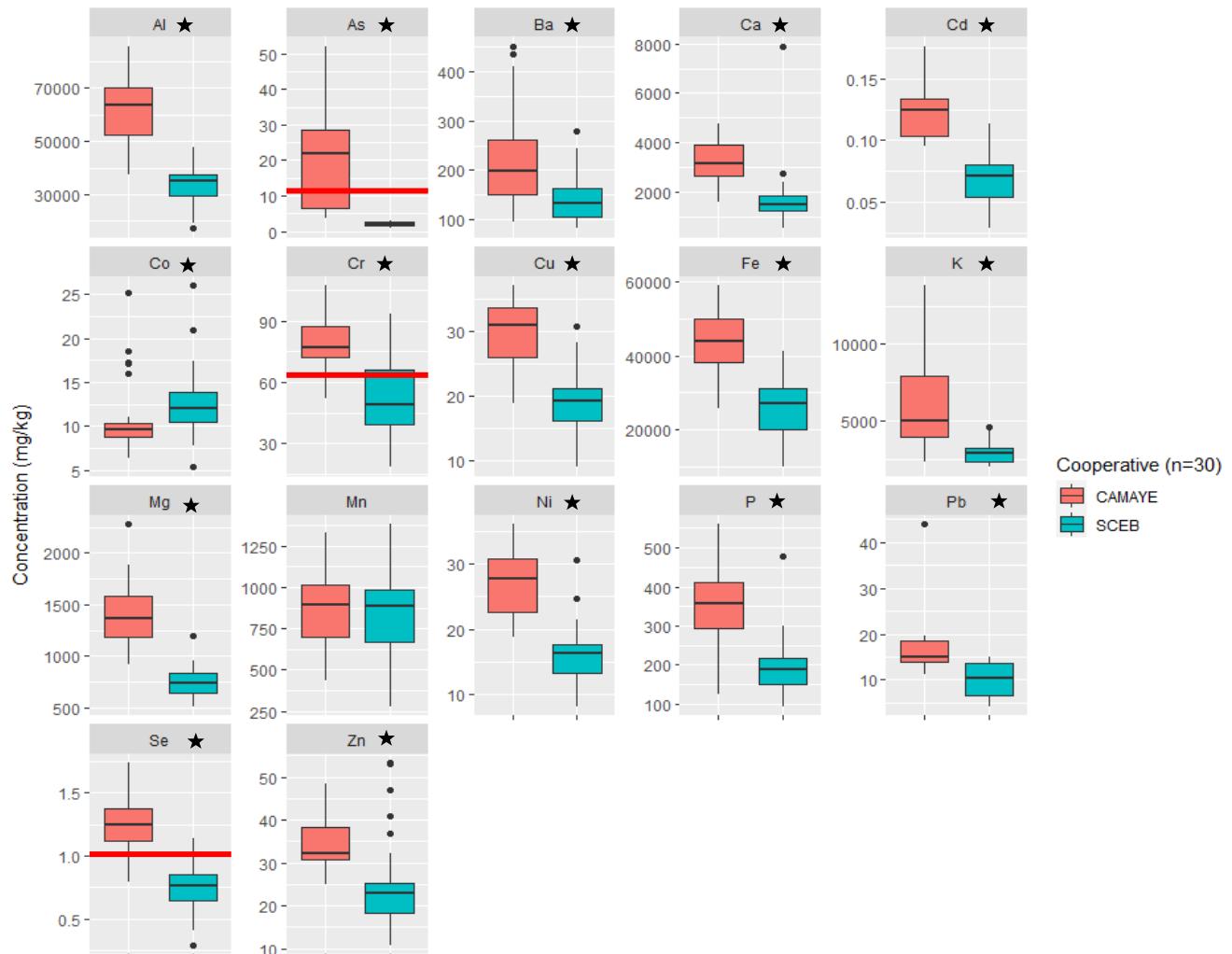
concentration moyenne de 0,23 %, de l'ordre du seuil recommandé. Concernant le calcium (Ca) et le magnésium (Mg) disponibles, les limites inférieures indiquées par Wessel et al., (1971) se situent respectivement à 1603 et 243 mg kg<sup>-1</sup>. **Les sols de la coopérative SCEB et CAMAYE présentent donc une déficience en Ca** (moyenne de Ca de 1258 et 902 mg kg<sup>-1</sup>, respectivement) et **pour le Mg, les sols se situent autour de la valeur inférieure**, ce qui indique qu'il est important d'apporter une fertilisation pour améliorer la productivité du verger.

Pour ce qui est des oligo-éléments, plusieurs études menées en Amérique du Sud au *Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza* (Orozco et al., 2016), ont amené à proposer des rangs optimaux de concentrations en certains éléments. Snoeck et al. (2020) proposent également des références en termes de concentrations élémentaires du sol optimales pour la culture du cacao. En ce qui concerne le zinc (Zn), les auteurs recommandent que les sols contiennent entre 2 et 10 mg kg<sup>-1</sup> de Zn disponible. Dans notre étude, les concentrations en zinc sont très faibles et les résultats montrent qu'un seul échantillon de sol sur les 60 a une teneur en Zn > 3.3 mg kg<sup>-1</sup>, ce qui montre qu'il existe une **carence en Zn dans les parcelles des deux coopératives**. Pour le fer (Fe) biodisponible, les concentrations optimales se situent entre 10 et 100 mg kg<sup>-1</sup>. De ce fait, **les sols de la CAMAYE, qui ont en moyenne 88 mg Fe kg<sup>-1</sup>, ont des teneurs optimales** pour cet élément, tandis que la SCEB possède des valeurs légèrement supérieures (124 mg kg<sup>-1</sup>) au seuil, mais qui restent néanmoins acceptables. Pour le manganèse (Mn), Snoeck et al. (2020) recommandent que les sols contiennent entre 3 et 12 mg kg<sup>-1</sup> ce qui indique que les sols étudiés sont largement (environ 200 mg kg<sup>-1</sup>) au-dessus de ces seuils. De la même manière, les concentrations en cuivre (Cu) des sols des deux coopératives se situent au-dessus des rangs optimaux de 0,4 - 1,8 mg Cu kg<sup>-1</sup> puisqu'ils ont des teneurs moyennes de 3.9 mg kg<sup>-1</sup> pour la SCEB et 4,0 mg kg<sup>-1</sup> pour la CAMAYE. En comparaison à la norme canadienne pour les autres oligo-éléments, les concentrations ne dépassent pas les seuils au-delà desquels le sol pourrait être contaminé.

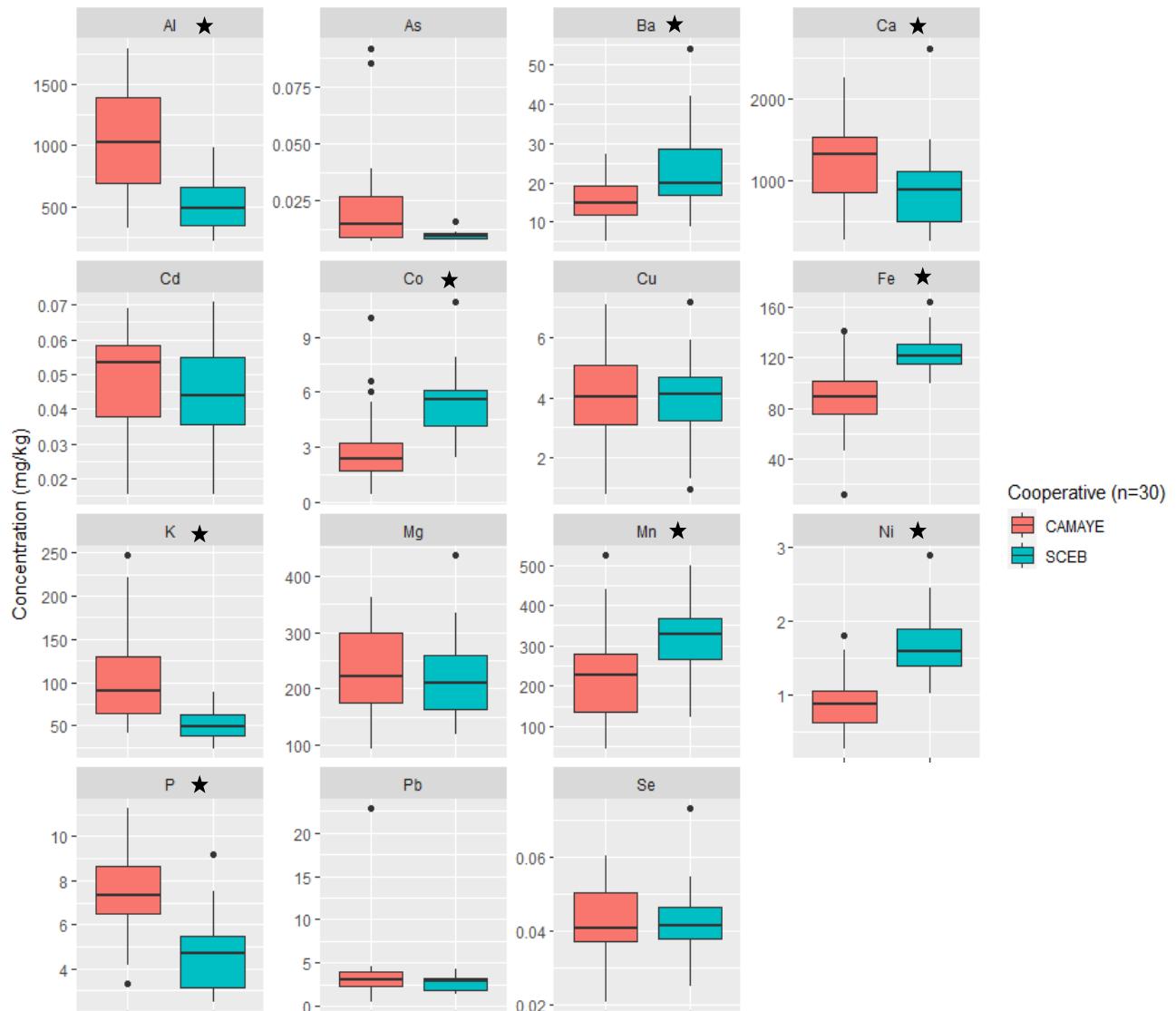
En ce qui concerne les ETM, il est important de noter que **les sols de la CAMAYE ont des concentrations totales Cr et As sont au-dessus des seuils fixés par la norme**

**canadienne de santé des sols.** Néanmoins, si l'on s'intéresse à la fraction biodisponible de ces éléments, elle demeure assez faible, ce qui indique que les éléments sont présents majoritairement dans la fraction résiduelle, et que le risque de mobilité vers les plantes ou l'environnement est réduit. Pour la SCEB, un seul producteur présente des concentrations en Cr supérieures à la norme considérée mais, de la même manière, les concentrations disponibles se situent en dessous de la limite de détection.

Les résultats statistiques ont montré **une forte variabilité spatiale des paramètres physico-chimiques des sols entre les deux sites d'études**, et ce même à petite échelle, au sein d'une même ferme par exemple. Effectivement, d'après le tableau de l'annexe 2, pour certains éléments comme le Co, le Pb ou encore le Ca, les coefficients de variation (CV) entre les parcelles d'une même ferme ( $n=6$ ) vont jusqu'à 132 %. A l'échelle d'une coopérative, cette variabilité spatiale est aussi notable, par exemple pour le Ca total entre les 5 exploitations de la SCEB dont le CV est égal à 73 %. A plus grande échelle, si l'on s'intéresse à la distribution spatiale des éléments entre les deux coopératives, les analyses de variance montrent que les deux coopératives ont des concentrations élémentaires totales et biodisponibles significativement différentes pour certains éléments, comme présenté dans les figures 41 & 42, respectivement. Nous pouvons remarquer qu'à part le Mn et le Co, les sols de la CAMAYE possèdent des concentrations totales significativement supérieures à celles de la SCEB pour les autres éléments. En ce qui concerne la fraction disponible des éléments, les sols d'Abengourou possèdent significativement plus d'Al, Ca, K et P que les sols de M'Brimbo tandis que ces derniers possèdent davantage de Ba, Fe, Ni et Mn.



**Figure 47:** Distribution spatiale des concentrations élémentaires **TOTALES** entre les 5 fermes de chaque coopérative (SCEB et CAMAYE) au moins 0 (février 2021). Les lignes en rouge représentent le seuil de la norme canadienne (2007) sur la santé des sols. Pour le Ni, Cu, Pb, Zn et Ba, les lignes n'ont pas été représentées car leurs concentrations sont largement en dessous des seuils respectifs de 50, 63, 1.4, 70, 200 et 750 mg kg<sup>-1</sup>. L'étoile pour chaque élément indique une différence significative entre les concentrations des 2 coopératives.



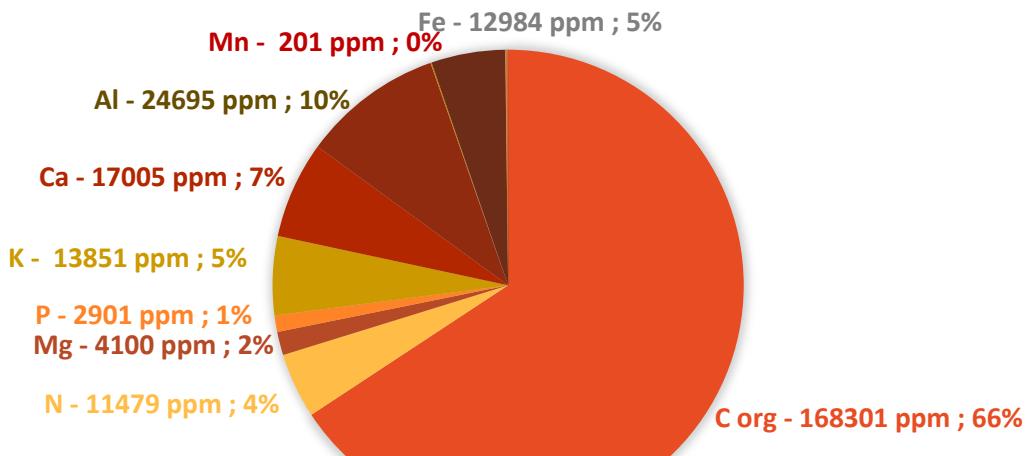
**Figure 48:** Distribution spatiale des concentrations élémentaires **DISPONIBLES** entre les coopératives SCEB et CAMAYE. Le Cr et Zn n'ont pas été inclus car leur concentration est en dessous de la limite de détection. Les valeurs seuils (concentration totale) de la norme canadienne (2007) sur la santé des sols n'ont pas été incluses car les concentrations **DISPONIBLES** sont largement inférieures aux valeurs permisibles. Pour l'arsenic (As), 23 sols sur les 30 de la coopérative SCEB possèdent des valeurs trop basses pour être exploitées. L'étoile à côté des éléments correspond à une différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les concentrations des deux coopératives.

### **6.3.3.2. Paramètres physicochimiques des bokashis de la SCEB et de la CAMAYE**

Les figures 49 et 50 présentent les concentrations et pourcentages en éléments dans les bokashis élaborés à la SCEB et à la CAMAYE. Ce fertilisant et amendement organique est largement constitué de carbone organique et possède des concentrations environ 10 fois plus importantes que dans les sols étudiés, ce qui pourrait améliorer le contenu en matière organique dans les sols et accroître leur fertilité. Concernant les éléments nutritifs, on constate que l'Al et le Fe sont les plus abondants, directement en lien avec leur concentration dans les sols puisque le bokashi est fabriqué majoritairement avec de la terre. Pour les éléments majeurs, on note que le N, P et K représentent environ 10 % des éléments présents dans le bokashi et leurs concentrations respectives sont près de 5 fois plus élevées que dans les sols. Ainsi, le bokashi semblerait être une bonne source de nutriments pour le sol et donc pour les plantes, même s'il serait intéressant d'effectuer des analyses de spéciation chimiques pour identifier les formes chimiques de ces éléments et mieux caractériser leur disponibilité pour les cacaoyers. Enfin, le Mn est présent en très petite quantité (< 0,5 %).

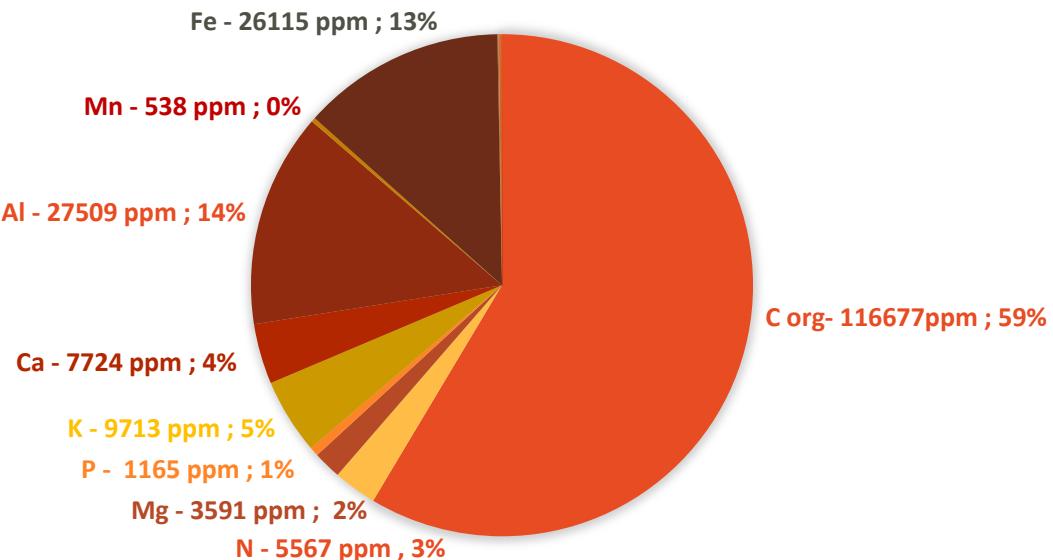
Si l'on considère comme référence la norme française sur les ETM dans les boues de station d'épuration utilisées en agriculture (Jofre, 1998), on peut comparer les concentrations en ETM dans nos amendements aux seuils de contamination. Nous constatons que les concentrations en Cd, Cr, Cu, Ni, Pb et Zn dans les bokashis demeurent inférieures aux seuils de 2, 150, 100, 50, 100 et 300 mg kg<sup>-1</sup> et ne présentent donc pas de risque de contamination des sols suite à leur épandage.

## COMPOSITION BOKASHI - CAMAYE



**Figure 49:** Représentation des concentrations totales élémentaires (sauf pour le carbone) dans le bokashi élaboré par la coopérative CAMAYE, Côte d'Ivoire. Les éléments représentant < 0.3 % du bokashi ne sont pas détaillés.

## COMPOSITION CHIMIQUE BOKASHI - SCEB



**Figure 50:** Représentation des concentrations totales élémentaires (sauf pour le carbone) dans le bokashi élaboré dans la coopérative SCEB, Côte d'Ivoire. Les éléments représentant < 1 % du bokashi ne sont pas détaillés.

### **6.3.3.3. Des propriétés physicochimiques des sols inchangées**

Afin de déterminer les effets des amendements organiques sur les propriétés physico-chimiques des sols, des analyses de variance ont été réalisées pour mettre en évidence d'éventuelles différences dans les variables du sol entre les différents traitements. Pour ce faire, nous avons utilisé les modèles linéaires mixtes en renseignant les traitements imbriqués dans chaque ferme et elles-mêmes dans chaque province, comme un facteur aléatoire. Ensuite, nous avons évalué l'effet de l'interaction entre les traitements et le mois d'échantillonnage sur chaque variable à l'aide d'une ANOVA type II, suivie d'un test de Tukey par paires si l'interaction était significative.

Après avoir effectué les analyses de variance en compilant les résultats des deux provinces, il s'avère qu'il n'y a pas eu d'interaction significative entre la période d'échantillonnage et les traitements, mais que seul l'échantillonnage influence les concentrations élémentaires (Tableau 10). Toutefois, lorsque l'on s'intéresse à la coopérative SCEB, les sols ont connu une diminution significative de la concentration en Mn total suite aux traitements T3 et T5 tout comme une réduction de la concentration du Mg disponible pour les traitements T2, T3 et T5.

Si l'on s'intéresse à l'évolution globale des sols quel que soit le traitement considéré, les analyses statistiques indiquent que les sols ont connu des variations naturelles concernant leurs concentrations élémentaires. En effet, si l'on compare les concentrations en éléments de toutes parcelles de la SCEB, entre le début et la fin de l'étude, on s'aperçoit que les teneurs en Cu<sub>disp</sub> et Ca<sub>disp</sub> ont augmenté tandis que celles en Cd<sub>disp</sub>, Al<sub>disp</sub>, Al<sub>tot</sub>, Fe<sub>disp</sub> et Se<sub>disp</sub> ont significativement diminué. Dans la province d'Abengourou, les concentrations en P<sub>tot</sub>, C<sub>org</sub>, N<sub>tot</sub>, Mn<sub>disp</sub>, Co<sub>disp</sub>, Cu<sub>disp</sub>, Cd<sub>disp</sub>, Mg<sub>disp</sub>, Al<sub>disp</sub>, Pb<sub>disp</sub> et Ba<sub>disp</sub> ont augmenté significativement tandis que c'est l'inverse pour le Cd<sub>tot</sub>, Pb<sub>tot</sub>, Ca<sub>tot</sub> et Se<sub>disp</sub> si l'on considère l'ensemble des parcelles.

Tableau 10: Évolution du pH, carbone organique (CO %), N total, P, K et Ca disponibles entre le mois 0 et 18 de l'étude, par parcelle expérimentale (n=10).

	Traitements (n=10)											
Variables	T1		T2		T3		T4		T5		CK	
	M0	M18	M0	M18	M0	M18	M0	M18	M0	M18	M0	M18
pH	6.54	6.85	6.71	6.85	6.63	6.81	6.40	6.66	6.44	6.65	6.45	6.88
OC %	1.75	2.08	1.67	2.34	1.68	2.12	1.65	2.20	1.69	2.31	1.89	2.38
N <sub>tot</sub>	0.18	0.17	0.18	0.19	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.19	0.19	0.20
P <sub>av</sub>	5.30	7.28	5.58	6.64	5.14	5.96	5.11	5.38	5.93	6.23	4.75	5.89
K <sub>av</sub>	85	143	85	173	78	142	83	125	80	127	71	151
Ca <sub>av</sub>	1190	1950	1380	1960	1110	1750	899	1760	953	1650	914	2210

Finalement, il est intéressant d'observer que, pour la coopérative CAMAYE, le Cd disponible a connu une tendance à l'augmentation ( $p= 0,09$ , ANOVA type II) pour les parcelles témoin et les parcelles ne recevant que des intrant liquides (biostimulant + solution liquide de microorganismes) tandis que les parcelles recevant des intrants solides, les concentrations n'ont pas significativement évolué (Figure 51). Si l'on effectue un parallèle avec les résultats précédents concernant l'étude en Équateur, où les concentrations en Cd disponible dans les sols n'ont pas significativement évolué suite à l'application des traitements, nous pouvons nous demander si, à plus faibles concentrations, il serait plus facile d'agir sur la disponibilité du Cd dans les sols. En effet, les concentrations en Cd disponible en Côte d'Ivoire sont 10 fois plus faibles qu'en Équateur. A cela s'ajoute les quantités d'intrants apportés qui sont, pour une même période donnée, plus importantes en Côte d'Ivoire qu'en Équateur.

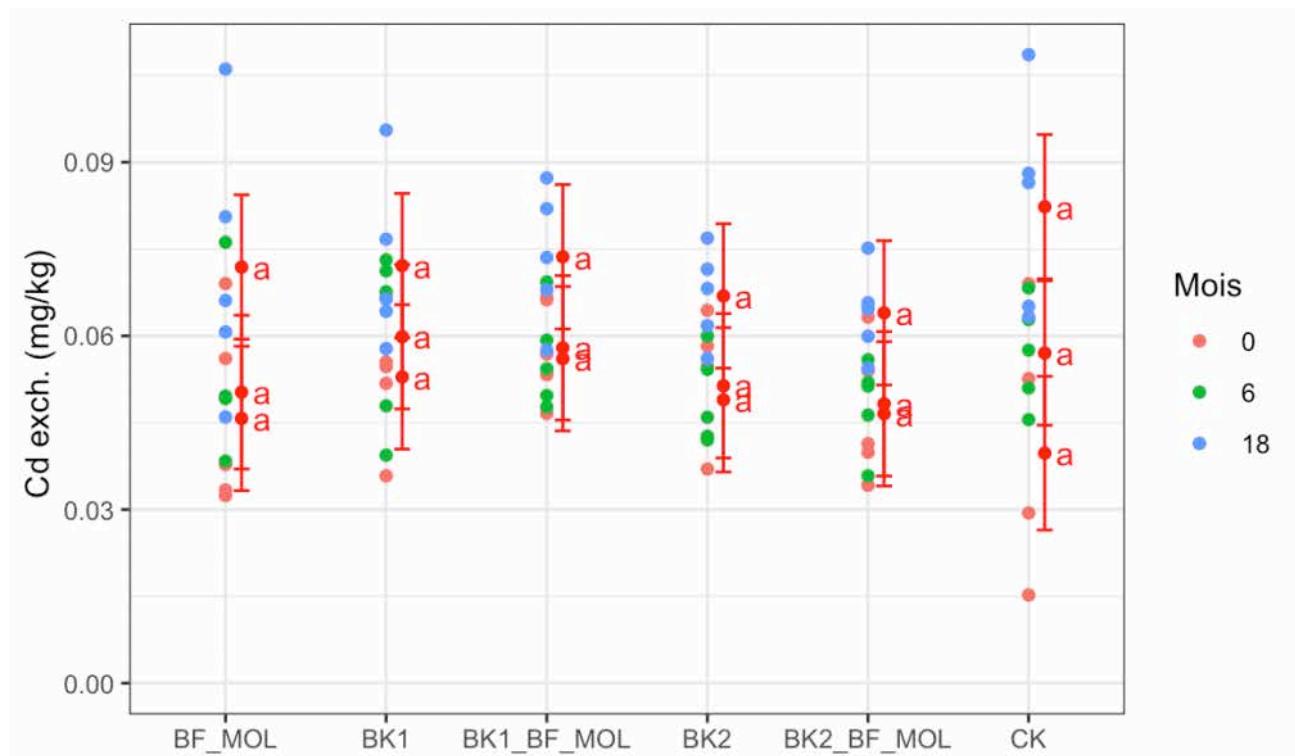


Figure 51: Évolution du Cd échangeable (Cd exch.) par traitement, dans les sols de la coopérative CAMAYE, entre les mois 0, 6 et 18 de l'étude

Plusieurs facteurs peuvent être à l'origine de la non significativité des effets des traitements suite aux analyses de variance. On peut tout d'abord s'intéresser aux coefficients de variation (CV) des concentrations élémentaires entre les parcelles, les fermes ou encore entre les provinces. En effet, lors d'une analyse de variance, un résultat non significatif peut indiquer que la variabilité au sein des groupes de données est supérieure à celle qui existe entre les groupes. Le coefficient de variation des concentrations d'un élément se calcule en divisant l'écart-type des concentrations par leur moyenne. On s'aperçoit que pour certains éléments le CV est très élevé entre les parcelles d'une même ferme, à T0 avant toute application. Par exemple, si l'on s'intéresse au Fe, les CV intra-fermes ont des valeurs allant de 5 à 45 % et entre les parcelles témoins des 10 fermes, les concentrations de ce métal présentent 38 % de variation au début de l'étude. Si on calcule le CV à la fin de l'étude, il est encore plus élevé et vaut 57 %. Ainsi, il est probable que la différence entre les concentrations en Fe des traitements et celles du témoin soit inférieure à celle qui existe entre les parcelles témoins elles-mêmes et que les statistiques ne renvoient pas de résultats significatifs. Autrement dit, les effets des traitements sont peut-être masqués par la variabilité spatiale des éléments.

Par ailleurs, il est également possible que la durée de l'étude n'ait pas été suffisante pour apprécier les effets attendus des traitements sur les propriétés physico-chimiques des sols, dont l'évolution peut être longue et complexe. A cela peut s'ajouter que les doses appliquées n'ont peut-être pas non plus été suffisantes pour engendrer des améliorations de la fertilité des sols durant la période de l'étude.

#### **6.3.3.4. Le biochar et le bokashi semblent prometteurs pour l'augmentation des rendements et la réduction de l'incidence des maladies**

L'analyse des effets des traitements sur la productivité des cacaoyères et l'incidence des maladies et ravageurs sera présentée sous forme descriptive (Tableau 11) car le trop grand nombre de lacunes de données à différents mois selon les producteurs n'a pas permis d'obtenir de différences significatives entre les parcelles. D'après les analyses de variance il y a, pour la coopérative SCEB, une tendance à l'augmentation du rendement ( $p=0,09$ ), le traitement T1 ( $648 \text{ kg ha}^{-1}$ ) étant supérieur au témoin ( $520 \text{ kg ha}^{-1}$ ). Cependant, sur 23 mois de collecte de données, hormis les mois d'absence de production (juin, juillet et août), il manque entre 2 et 5 mois de données pour plusieurs producteurs suite à des problèmes logistiques. D'autre part, la variabilité entre les rendements des traitements dans une même ferme peut être très élevée (CV de 53 à 105 % au mois d'avril 2021 et pour les producteurs de la coopérative CAMAYE, par exemple), masquant ainsi les effets potentiels des traitements. Ceci indique que la productivité d'une même ferme n'est pas homogène car elle dépend étroitement de la génétique des cacaoyers et des propriétés des sols, comme développé précédemment. Une étude agronomique menée également à M'Brimbo entre 2014 et 2016, montre que les CV du rendement entre des parcelles comprenant entre 726 et 2425 cacaoyers, varient de 56 à 102 %, ce qui est similaire aux CV de notre étude (Wibaux et al., 2018). D'autres études à propos des effets des amendements organiques sur la productivité du cacao (Hoffman et al., 2020 et Vanhove et al., 2016) aboutissent également à des effets non significatifs au terme de 2 ans d'étude avec une application de 4 à 5 kg de compost arbre $^{-1}$  an $^{-1}$ . Ces auteurs indiquent que la variabilité de productivité des fermes est fortement liée aux conditions climatiques, à la génétique ainsi qu'aux pratiques culturelles.

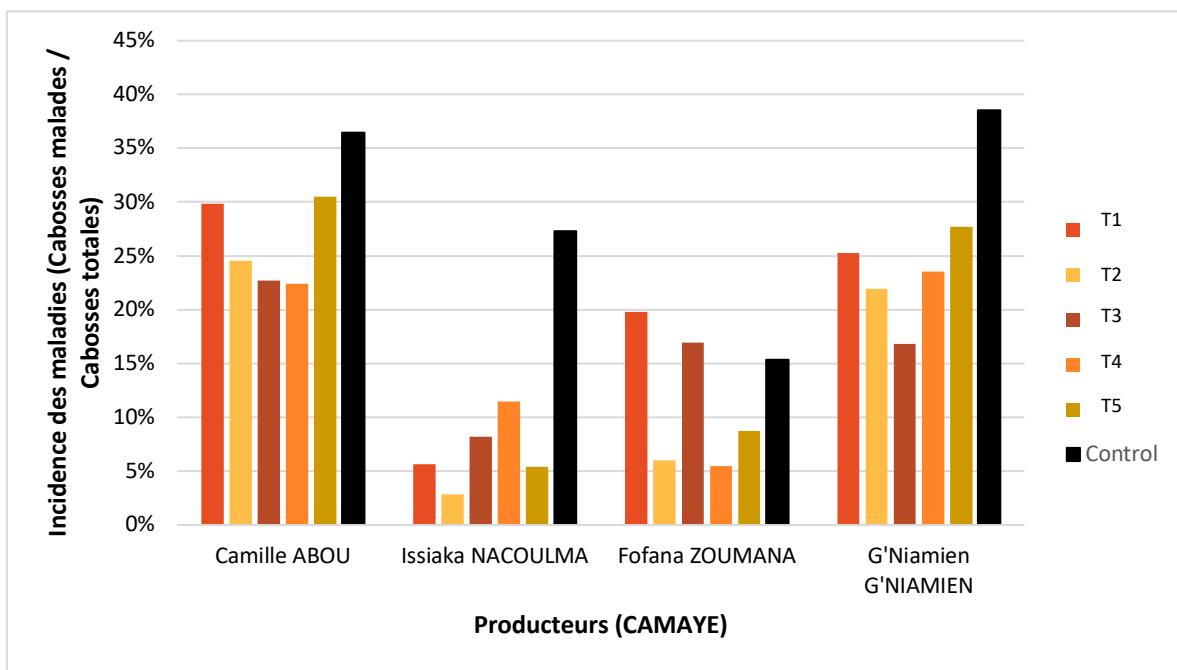
Les résultats des rendements seront présentés par producteur afin d'évaluer s'il existe des tendances communes permettant de distinguer le potentiel d'un ou plusieurs traitements par rapport au témoin.

**Tableau 11:** Comparaison des rendements cumulés des traitements par rapport aux parcelles témoins (en %), sur l'ensemble de la période de l'étude. Le producteur Roger Adou n'est pas représenté car les applications de l'année 2 n'ont pas été effectuées. Les valeurs en marron indiquent, pour chaque traitement, le % d'augmentation le plus fort parmi les différentes fermes.

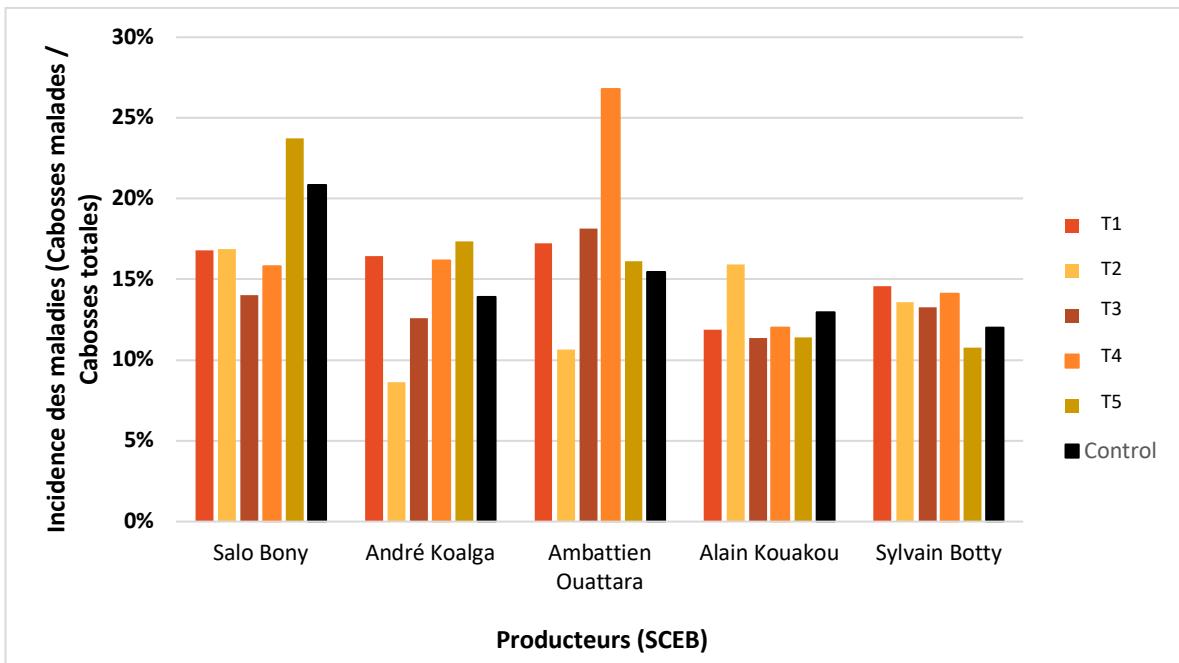
Coopérative	Producteur	Avril 2021 à Février 2023				
		T1	T2	T3	T4	T5
<b>CAMAYE</b>	Camille ABOU	27 %	74 %	<b>103 %</b>	57 %	34 %
	Issiaka NACOULMA	86 %	<b>104 %</b>	83 %	50 %	18 %
	Fofana ZOUMANA	26 %	59 %	14 %	<b>135 %</b>	23 %
	G'Niamien G'NIAMIEN	-20 %	<b>50 %</b>	14 %	-26 %	-19 %
	<b>Moyenne</b>	<b>30 %</b>	<b>72 %</b>	54 %	54 %	14 %
<b>SCEB</b>	Salo BONY	<b>37 %</b>	7 %	21 %	8%	-13 %
	André KOALGA	-43 %	<b>35 %</b>	-12 %	-20 %	-32 %
	Ambattien OUATTARA	<b>26 %</b>	-18 %	5 %	7 %	-40 %
	Alain KOUAKOU	<b>31 %</b>	10 %	-1 %	10 %	18 %
	Sylvain BOTTI	7 %	-8 %	<b>18 %</b>	6 %	-16 %
	<b>Moyenne</b>	<b>12 %</b>	5 %	6 %	2 %	-17 %

D'après le tableau 11, on peut constater que les traitements T1 et T2 semblent être les plus performants en ce qui concerne l'augmentation des rendements, par rapport aux parcelles témoin. Au sein de la coopérative CAMAYE, le traitement T2 a été le plus productif pour 2 producteurs sur 4 avec une augmentation moyenne de 75 % par rapport au témoin. À la SCEB, c'est plutôt le traitement T1 qui a le mieux fonctionné pour 3 producteurs sur 5, en augmentant leur rendement de 26 à 37 % par rapport au témoin. Force est de constater que le traitement T5, composé uniquement de biofertilisants liquides, présente une productivité moyenne inférieure à celle du témoin pour la coopérative SCEB, ce qui indique qu'il n'est pas efficace pour augmenter les rendements dans ce contexte pédoclimatique.

Les histogrammes des figures 52 et 53 présentent l'incidence moyenne des maladies sur l'ensemble de l'étude pour chaque producteur et par coopérative. On constate une tendance de réduction de l'incidence des maladies et ravageurs d'environ 15 et 10 % par rapport au témoin, chez les producteurs Issiaka Nacoulma et G'Niamien G'Niamien, respectivement (CAMAYE). A la SCEB, la figure 53 montre que les tendances ne sont pas évidentes et qu'aucun traitement n'a systématiquement permis de réduire l'incidence des maladies et ravageurs.



**Figure 52:** Incidence moyenne cumulée des maladies sur l'ensemble de l'étude pour la coopérative CAMAYE, Côte d'Ivoire.



**Figure 53:** Incidence moyenne cumulée des maladies sur l'ensemble de l'étude pour la coopérative SCEB, Côte d'Ivoire

### 6.3.4. Bilan

Au terme de cette étude de recherche participative sur l'effet des traitements composés d'amendements organiques et biofertilisants, menée en conditions paysannes dans deux régions de la Côte d'Ivoire, plusieurs résultats ont émergé.

Premièrement, il est important de nuancer l'absence de résultats significatifs suite au traitement statistique des données de sols, des rendements et de l'incidence des maladies et de bien comprendre les facteurs qui ont pu engendrer ce résultat. Premièrement, il s'agit d'une **étude agronomique réalisée en conditions non contrôlées**, ce qui soumet les parcelles expérimentales à des facteurs comme le climat, la topographie, les pratiques culturales etc., qui peuvent perturber les effets recherchés suite à l'application des traitements. En effet, nous avons pu observer une **forte variabilité spatiale à petite échelle de certains paramètres chimiques des sols, ainsi que de la productivité des arbres selon les parcelles**, et ce dès le début de l'étude. Ensuite, il est probable que la **durée de l'étude soit trop courte** pour obtenir des résultats significatifs concernant les variables étudiées. En effet, la libération des nutriments par le compost (bokashi) est plus lente que pour les fertilisants synthétiques (Amposah-Doku et al., 2021), ce qui pourrait expliquer qu'en 1 an et demi, on n'ait pas observé de différence significative entre la composition élémentaire des sols ayant reçu les traitements et le témoin. De plus, dans le cas de la coopérative SCEB, les vergers sont en agroforesterie et il est probable que les autres essences présentes au sein des parcelles puisent les ressources nutritives apportées par les amendements organiques. Comme indiqué dans les paragraphes précédents, plusieurs études comparables présentent les mêmes conclusions, ce qui indique qu'il est important de **poursuivre les expérimentations au-delà de 2 ans**, d'autant plus que **le cacao est une culture pérenne** qui a besoin de davantage de temps pour **s'adapter à de nouvelles pratiques agricoles**. Finalement, une étude plus longue pourrait également permettre de prendre en compte les effets de la **variabilité climatique** sur les propriétés physico-chimiques des sols et sur la productivité des cacaoyers.

# 7. Enjeux, limites et recommandations dans la mise en place de pratiques agricoles durables par le biais de la recherche participative

---

## 7.1. Préambule

Pour introduire ce chapitre, il est important de rappeler brièvement la construction de ce projet de recherche participative en agronomie. Dans une perspective générale, il s'agit d'une étude reposant sur la coopération entre la SCOP ETHIQUABLE®, un organisme de recherche (en l'occurrence l'IRD), plusieurs associations de producteurs et un bailleur de fonds (l'AFD). Les engagements de chaque acteur sont dirigés vers un objectif commun qui est d'accompagner les petits agriculteurs vers des pratiques plus justes, durables, rentables et respectueuses de la santé environnementale et humaine dans le cadre du concept « *One Health* » (<https://www.anses.fr/en/content/one-health-living-beings-and-ecosystems>). C'est au sein de cette structure d'ensemble que s'imbriquent plusieurs projets tels que le programme « Equité » en Côte d'Ivoire ou « Clima Lo-Ca » concernant la province de Guayas en Équateur et « *Cacao BioAndino* » dans celle de Manabí. Si ces projets ont pu être construits et menés à bien c'est grâce aux valeurs promues et partagées par les acteurs : l'essor des petits producteurs, l'agriculture paysanne et à taille humaine, la préservation

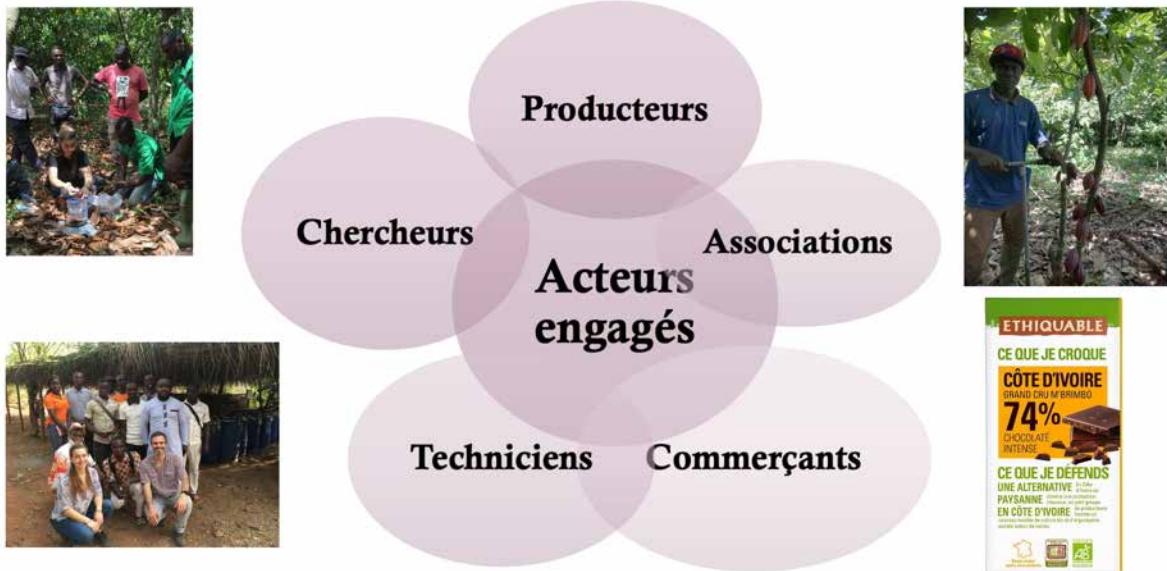
des ressources naturelles couplée à une agriculture rémunératrice, l'économie circulaire et le respect mutuel entre individus.

## 7.2. La recherche participative en agronomie

Dans le domaine de l'agronomie, les scientifiques sont confrontés à cet objet de recherche considérablement complexe qu'est l'agroenvironnement. Celui-ci peut être défini comme « le milieu dans lequel on pratique des activités agricoles en étant soucieux du respect et de la protection des écosystèmes qui le constituent » (Roux et al., 2010 ; <https://po.chambre-agriculture.fr/agroenvironnement>). En effet, lorsqu'on étudie un paysage agricole, plusieurs spécialités scientifiques sont nécessaires à sa compréhension telles que, outre l'agronomie, la physiologie végétale, la climatologie, la géologie, la pédologie, mais aussi la sociologie, l'anthropologie et l'économie qui s'intéressent au contexte dans lequel évoluent les agriculteurs et la population locale ainsi qu'à leurs pratiques et leurs connaissances du milieu. On comprend donc aisément que pour mener à bien un projet de recherche de terrain en agroenvironnement, il est essentiel de constituer des équipes pluri et transdisciplinaires afin de croiser les expertises et augmenter la probabilité de succès du projet. Aucun spécialiste, en effet, ne peut être expert de tous les contextes écosystémiques, parfois extrêmement singuliers, qui peuvent se présenter. Aussi la science participative cherche-t-elle à intégrer les connaissances locales au sein de ses propres travaux de recherche en impliquant les agriculteurs, les instances locales ou les coopératives (Figure 47). Ainsi est-il possible d'ajuster les problématiques visées par la recherche aux contraintes mais aussi aux ressources locales (Sumberg et al., 2003 ; Sumane et al., 2018). Au-delà de la prise en compte des multiples facteurs environnementaux propres à chaque agrosystème, la science participative considère également le profil personnel des agriculteurs (capacités, motivations, traditions, perceptions, croyances, etc.) qui conditionne leurs prises de décision et motivent leurs pratiques.

La science participative permet donc d'impliquer activement les personnes évoluant dans un cadre de vie qui leur est propre comme sources de connaissances et de savoir-faire. Mais elle leur offre aussi, réciproquement, la possibilité d'en apprendre davantage sur leur territoire et sur les fonctions assurées par les agroécosystèmes (filtration de l'eau, régulation des pluies et des températures par la végétation, etc.). En contexte de transition agroécologique et pour faire face à de nombreux défis sociaux et environnementaux tels que le changement climatique, l'érosion de la biodiversité ou la raréfaction des ressources, la mise en place de pratiques agricoles, de produits ou de technologies durables (au sens de respect des équilibres écologiques), implique de travailler en étroite collaboration avec les producteurs ciblés et de construire ensemble les meilleures solutions et dispositifs possibles.

## RECHERCHE PARTICIPATIVE



**Figure 54:** Engagement des différents acteurs dans la présente recherche participative

Le concept de recherche participative comprend plusieurs niveaux ou intensités de participation des acteurs au cours du processus. Si l'on se réfère aux modèles proposés par Faure et al. (2018), la présente étude pourrait être assimilée à un modèle de « co-conception de l'innovation ». Selon ce modèle, les chercheurs ont des objectifs initiaux clairs et bien définis mais aussi des incertitudes sur les moyens de les atteindre du fait de l'existence de facteurs externes méconnus. Lors de la mise en place d'une telle stratégie de recherche participative, les auteurs indiquent que son succès dépend fortement de la confiance mutuelle entre les acteurs et de leur coopération car l'échange de connaissances est essentiel. Dans notre cas, les objectifs initiaux étaient clairs : améliorer la fertilité des sols, réduire les teneurs en Cd dans les fèves de cacao équatoriennes, augmenter les rendements en Côte d'Ivoire tout en transférant les savoirs-faires aux producteurs pour qu'ils soient autonomes dans l'utilisation des intrants biologiques. Cependant, les contraintes locales telles que les relations coopératives-producteurs ou encore les moyens technologiques pour la fabrication des intrants biologiques étaient plus ou moins connus selon les sites. Dès lors, la présente recherche a connu des succès et des échecs qu'il n'a pas toujours été facile d'anticiper ni de prévenir.

L'originalité de cette étude repose sur la mise en place d'expérimentations agronomiques en plein champ, où les agriculteurs sont eux-mêmes acteurs de la recherche et dont les résultats et les pratiques peuvent être appréciés, voire reproduits, par les autres producteurs environnants. En effet, les producteurs ont fabriqué les amendements tout au long de la recherche, collecté des données sur le terrain, participé à l'ajustement du protocole expérimental et nous ont fortement aidé lors de la collecte des échantillons. La culture du cacao présente comme particularité d'être pratiquée en grande majorité dans les pays du Sud et par des petits agriculteurs dont la situation socio-économique est précaire. De manière générale et spécialement dans les sites étudiés, ces petits producteurs résident et travaillent dans des zones isolées géographiquement, ont un niveau d'éducation peu élevé et sont responsables de familles nombreuses qu'ils doivent soutenir avec de faibles revenus (Wessel & Wessel, 2015 ; Tham-Agyekum et al., 2023 ; Barrera et al., 2019). Même si la magnitude de ces facteurs peut varier d'un agriculteur à un autre, il s'agit de

points communs et critiques à prendre en compte lors d'une expérimentation de terrain se déroulant en milieu paysan. Proposer des recommandations à partir des leçons apprises lors du déroulement de ce projet paraît essentiel pour les recherches participatives futures en contexte agricole. Des méthodologies sont actuellement accessibles pour la construction et le déroulement des recherches participatives agronomique, telles que ImpresS *ex ante* (Impact of Research in the South) développée par le CIRAD, et constituent un outil essentiel pour générer un maximum d'impact au terme d'une étude participative (Blundo Canto et al., 2020).

Nous proposons donc dans ce chapitre une discussion critique de la construction et du déroulement de cette recherche participative en soulignant les succès rencontrés mais aussi les points à améliorer pour d'éventuels futurs projets de recherche en agroécologie. Il est important de souligner que si la recherche participative relève d'efforts particuliers pour travailler en équipe de façon collective, le présent travail a été d'autant plus délicat à mener qu'il comprenait plusieurs projets de recherche participative impliquant certes des acteurs communs (IRD, ETHIQUABLE<sup>©</sup>) mais indépendants géographiquement et culturellement.

### 7.3. Les réussites de cette recherche participative agronomique

L'un des premiers objectifs que l'on peut considérer avoir atteint est d'avoir **apporté aux producteurs de nouvelles connaissances agroécologiques et de les avoir sensibilisés à l'importance des intrants biologiques dans la culture du cacao**. En amont de nos expérimentations, grâce aux formations proposées par Rémi Thinard (Symbiotik Agroécologie<sup>®</sup>) aux producteurs et coopératives, les agriculteurs ont pu acquérir plusieurs notions de base sur le fonctionnement des sols, l'impact des pratiques agricoles sur la santé de leur verger et l'importance de préserver les écosystèmes pour une production de cacao

durable et plus rémunératrice. L'une des connaissances les plus importantes auxquelles les producteurs ont eu accès a porté sur les recettes de fabrication des biofertilisants (en plus grand nombre que les produits utilisés dans la présente étude), leur mode de fabrication, l'acquisition des matières premières et l'intérêt de chaque biofertilisant pour la santé des sols et des plantes, ainsi que leurs modes d'application au sein des vergers. **Les formations** ont donc été construites autour de leçons théoriques ainsi que d'activités pratiques. Elles constituent un paramètre clé permettant aux producteurs de s'approprier certaines problématiques et sujets de réflexion mais surtout de comprendre l'intérêt des solutions proposées pour pouvoir y adhérer. Lors de ces formations, l'interaction entre le formateur et les agriculteurs a été indispensable pour ajuster au mieux les recettes à la disponibilité des ressources locales et aux moyens financiers des producteurs. Ces discussions ont été d'autant plus nécessaires que les recettes de fabrication des intrants biologiques étaient initialement prévues pour les pays latinoaméricains (où elles sont davantage répandues) et qu'il a fallu les adapter au contexte ivoirien. Les résultats bénéfiques de ces formations ont été rapidement observés, particulièrement en Côte d'Ivoire où les biofabriques ont été opérationnelles en quelques mois seulement sous la conduite d'un responsable de l'unité chargé de gérer les différentes étapes de la fabrication des produits jusqu'à leur livraison. Rapidement ces unités ont atteint une autonomie financière grâce à la commercialisation des intrants biologiques au sein de la coopérative mais aussi dans des organismes extérieurs tels que des Universités. Dans le cas de la CAMAYE, une antenne de la biofabrique centrale a été installée dans un village de producteurs de cacao afin d'optimiser la fabrication et surtout l'acheminement des produits vers les fermes. De nombreux producteurs désirent même fabriquer certains produits sur leurs propres exploitations, montrant par-là l'intérêt qu'ils portent à l'utilisation d'intrants biologiques et leur appropriation des recettes de fabrication. Ce dernier cas a dépassé nos attentes en termes de rapidité à laquelle les producteurs ont souhaité étendre l'utilisations d'intrants organiques et biologiques au-delà du cadre de l'étude. L'un des avantages de la recherche participative consiste aussi dans la possibilité offerte aux autres producteurs d'observer les expérimentations menées chez leurs voisins et de pouvoir apprécier par eux-mêmes les résultats obtenus. L'un des

exemples les plus remarquables en ce sens a été observé au sein de la coopérative SCEB où un producteur, en dehors du protocole de recherche, a appliqué de sa propre initiative une certaine dose de bokashi, ce qui lui a permis d'accroître fortement la productivité de ses arbres et d'augmenter ses revenus. Ce bénéfice, qu'il a pu investir dans l'amélioration de son logement, a suscité un fort intérêt chez les producteurs voisins qui ont par la suite voulu s'approvisionner en bokashi. Dans le secteur agricole la preuve par l'exemple est l'un des mécanismes forts pour l'adoption de « nouvelles » pratiques par les producteurs et la recherche participative joue activement sur ce levier. Ce dernier cas illustre l'importance de l'utilisation d'intrants agricoles efficaces, mais aussi accessibles et respectueux de l'environnement pour réduire la vulnérabilité sociale des producteurs et l'amélioration de leurs conditions de vie.

Un autre objectif de ce projet était de **créer du lien entre les différents acteurs de la cacaoculture**. A cet égard, nous avons constaté une forte entraide entre les producteurs dans la plupart des sites étudiés et en particulier dans les zones les plus isolées géographiquement. En Équateur, une fois autonomes dans l'utilisation des intrants biologiques, les producteurs se sont montrés particulièrement solidaires dans la fabrication et le transport des produits ainsi que pour leur application dans leurs exploitations respectives. En Côte d'Ivoire, cette solidarité était un peu moins visible du fait de l'éloignement des fermes les unes par rapport aux autres. Cette solidarité est un aspect clé des attendus de la recherche participative, et, plus globalement, pour la prospérité des activités agricoles durables. En effet, dans un contexte d'isolement géographique, il est indispensable de pouvoir s'appuyer sur la communauté pour la récolte des fruits, le prêt de matériel, la taille et bien d'autres activités qui, parfois, nécessitent beaucoup de main d'œuvre. En établissant ou favorisant les liens entre les différents acteurs de terrain, nous souhaitions que, dans le futur, les producteurs puissent mutualiser leurs efforts pour développer les biofabriques, innover quant aux produits utilisés et échanger leurs savoirs et expériences pour optimiser leur utilisation et les adapter à leur contexte agroécologique et économique.

En ce qui concerne les liens entre agriculteurs et chercheurs, nous avons également pu établir **une relation de confiance solide avec les producteurs**. Si certains cacaoculteurs restaient sur leur garde par rapport au domaine de la recherche, nous avons constaté une évolution positive de leur jugement et de leur attitude. Initialement, certains producteurs ne percevaient pas forcément les bénéfices qu'ils allaient pouvoir tirer de ce projet, certainement dû au fait qu'il était encore trop tôt pour en observer des résultats. Mais au fil des multiples rencontres entre chercheurs et producteurs à l'occasion de campagnes d'échantillonnages, de visites sur le terrain et de restitutions, les producteurs ont mieux pris conscience de leur place au sein de la recherche et des bénéfices qu'ils pourraient en tirer en cas de succès. Dès lors, nous sommes satisfaits d'avoir pu resserrer les liens entre les acteurs académiques et les acteurs locaux, liens qui sont parfois fragiles et entourés de préjugés de nature à déstabiliser la confiance entre les parties.

La **SCOP ETHIQUABLE®** a été un acteur indispensable pour établir cette relation de confiance. En effet, cette entreprise coopérative entretient historiquement des relations fortes avec les coopératives et les producteurs, dans le respect de ses valeurs et de ses engagements. Pour favoriser l'essor des petits producteurs, plusieurs leviers sont actionnés tel que le préfinancement des récoltes par ETHIQUABLE® et la garantie d'un prix d'achat des produits nettement supérieur à celui du marché (prime commerce équitable et agriculture biologique). D'après une étude réalisée auprès de 386 producteurs de cacao de la province de Manabí (Équateur), il ressort que les problèmes majeurs concernant la commercialisation de leur production sont la faiblesse des prix (pour 79 % des interviewés) et l'instabilité de ces derniers (Barrera et al., 2019). Une autre particularité de cette entreprise est l'investissement d'une partie de ses bénéfices dans des projets de développement rural destinés aux coopératives et/ou aux producteurs, ce qui a également permis de couvrir certaines dépenses générées par la présente étude. Dans notre cas particulier, la permanence de Nicolas Eberhart (Agronome chez ETHIQUABLE®) en Équateur et les relations étroites qu'il entretient avec les acteurs de terrain ont particulièrement facilité notre accueil par les producteurs locaux et fluidifié le travail sur le terrain. Ce travail

transdisciplinaire a permis de comprendre les enjeux et les contraintes de chacun pour mieux les intégrer aux problématiques de recherche tout au long du projet.

Enfin, en termes de résultats de recherche, malgré des différences non significatives dans la productivité des arbres avant et après l'application des différents traitements, nous avons toutefois reçu **des retours positifs de la part agriculteurs au terme de l'étude**. Plusieurs producteurs, et notamment ceux à la tête des fermes les moins productives, nous ont rapporté des améliorations observées en termes de rendements et de résistance aux maladies. Certains arbres qui ne produisaient plus depuis plusieurs années ont recommencé à produire suite à l'application des amendements organiques et des fertilisants liquides. Même si statistiquement les résultats ne sont pas concluants, nous pouvons espérer que ces producteurs poursuivront l'application d'intrants biologiques au sein de leur ferme et qu'ils seront suffisamment satisfaits de cette pratique pour vouloir l'étendre au-delà de leur propre exploitation. Il est essentiel de prendre en compte les observations effectuées par les producteurs car ceux-ci, confrontés quotidiennement aux réalités concrètes du terrain, sont les plus à même de rendre compte, à une échelle spatiale et temporelle fine, de l'évolution de certains paramètres ou variables clés (rendements, maladies, fertilité, climat).

## 7.4. Freins et limites à l'efficacité d'une telle étude

Ainsi que le soulignent Hainzelin et al. (2017), la communication entre l'ensemble des acteurs et la sensibilisation des producteurs aux bénéfices attendus conduit à une meilleure reconnaissance de l'engagement de chacun. Dans notre étude, certains producteurs n'ont pas pris conscience que, même si leur travail n'était pas rémunéré en termes d'heures, l'accompagnement technique, les bio-intrants et les formations leurs ont été financé, et qu'il s'agissait d'un projet dont ils tireraient eux-mêmes les bénéfices, bien avant les chercheurs qui le mettent en œuvre. Ce point doit être explicité lors de la co-construction de projets participatifs afin de définir clairement les enjeux de la recherche et

d'éviter ainsi un **manque de reconnaissance des bienfaits partagés pour l'ensemble des partenaires**. Le choix de non rémunération des producteurs a été adopté dans plusieurs études similaires à la nôtre, comme au Danemark, lors d'essais en plein-champs menées par Aare et al. (2021) et dans un contexte géographique, sociologique et économique bien différent de ceux étudiés dans notre recherche. Les chercheurs ont voulu s'assurer de l'intérêt des producteurs pour les pratiques expérimentées malgré leur charge de travail quotidienne, plutôt que de leur offrir une rémunération qui aurait fait passer au second plan le véritable enjeu des pratiques proposées. Dans le contexte de notre étude, dont il faut souligner qu'elle a débuté au début de la pandémie mondiale de Covid 19, le choix des producteurs fut assez limité, tout comme la communication et les déplacements. Si cette pandémie n'avait pas eu lieu, il aurait été possible de mieux connaître les producteurs pour s'assurer de leur engagement et d'éviter la perte d'intérêt, en cours de projet, comme ce fut le cas pour certains d'entre eux.

Par ailleurs, la présence physique des chercheurs et des partenaires commerciaux sur le terrain est essentielle pour consolider la confiance entre les parties, principalement entre les producteurs et les chercheurs. Même si plusieurs échantillonnages et visites ont été effectués au cours de l'étude, la **multiplicité des sites** n'a pas permis de passer suffisamment de temps sur place pour échanger, apprendre de chacun, ou de se rendre plus fréquemment sur le terrain. Cet éloignement a empêché de réagir rapidement à certains incidents, et a **créé de l'incompréhension et a limité les échanges**, d'autant plus que nous nous situions en milieu rural où la communication vers l'extérieur peut être très compliquée et limitée par des réseaux défaillants (pas de signal téléphonique dans plusieurs zones agricoles). Dans notre cas par exemple, des malentendus ont pu naître à propos des protocoles et n'ont pas pu être tous réglés à temps du fait de l'éloignement et parfois du manque de confiance entre les producteurs et les chercheurs, ingénieurs ou techniciens agricoles. A cela se sont ajoutées les difficultés générées par le **fort turn-over des techniciens agricoles responsables de chaque site d'étude** : impossibilité de faire la connaissance de tous et nécessité de réitérer les formations à chaque remplacement. Tout cela a eu pour conséquence de ralentir le déroulement du projet et d'ajouter des

incompréhensions auxquelles les chercheurs n'ont pas pu répondre rapidement. De plus, les travaux des différents acteurs s'inscrivent dans des espaces et des temporalités différentes. Le travail de laboratoire peut ainsi paraître abstrait, particulièrement aux producteurs, et trop loin de leurs problématiques de terrain quotidiennes. Les analyses peuvent prendre beaucoup de temps, notamment si la main-d'œuvre est limitée, tandis que les résultats sont attendus avec impatience. Dans ce type d'études, il serait peut-être plus judicieux de limiter le nombre de sites afin de privilégier la présence physique des chercheurs et techniciens, ce qui permettrait de renforcer le suivi des expérimentations et de mieux s'imprégner de la réalité du terrain.

En lien avec cet éloignement physique, notamment entre les chercheurs et les producteurs, **la transdisciplinarité et l'échange de savoirs entre les acteurs aurait pu aller plus loin**. Même si cette recherche a impliqué activement les producteurs qui ont mis à disposition leurs terres, fabriqué et appliqué les intrants organiques, collecté certaines données et participé aux échantillonnages, ceux-ci ont été cantonnés à des activités de terrain tandis que les chercheurs ont plutôt effectué des tâches de laboratoire. Ceci est un point à améliorer pour de futures études qui gagneraient à nouer des relations plus étroites entre les chercheurs et les producteurs pour atteindre un réel partage de connaissances et en faire peut-être émerger de nouvelles en suscitant un intérêt accru des producteurs pour la recherche.

Dans le même sens, une **meilleure connaissance préalable des relations sociales locales** aurait peut-être permis de détecter certaines tensions existantes entre les producteurs et les coopératives agricoles, particulièrement en Côte d'Ivoire. Certains **dysfonctionnement internes**, dont nous nous sommes rendus compte en cours de projet, ont conduit à une attitude réfractaire de plusieurs producteurs vis-à-vis des expérimentations, ce qui a donné lieu à des données incomplètes, parfois peu fiables et, finalement, à des pratiques agricoles non adoptées. Ceci révèle l'importance d'une bonne entente entre les parties pour mener à bien un tel projet et, pour cela, il faut que l'ensemble des acteurs mutualisent leurs efforts pour un intérêt commun qui était ici d'améliorer la santé des sols et des cacaoyers et garantir une meilleure productivité tout en offrant une

autonomie aux producteurs quant à la fabrication et l'utilisation d'intrants agricoles biologiques. Il est extrêmement dommage que, en raison d'intérêts divergents et de méconnaissance préalable du contexte social, les efforts des différents acteurs locaux n'aient pas pu être valorisés et se soient soldés par une perte d'argent, de temps et d'intérêt.

Sur le plan financier et plus particulièrement en Équateur, les coopératives où chaque biofabrique a été mise en place n'avaient pas les mêmes **moyens financiers et logistiques**. La méthodologie étant prévue comme identique pour chaque site, elle n'était finalement réellement bien adaptée à aucun. Par exemple, les outils nécessaires à la fabrication des amendements organiques n'avaient pas été pris en compte, ni le temps de travail nécessaire à la fabrication de la quantité déterminée dans les protocoles expérimentaux, ce qui a dû être ajusté au cours du déroulement de l'étude. Lorsque nous avions prévu de réaliser trois applications des traitements chaque année, il n'a été possible d'en appliquer que deux fois par manque de moyens, ce qui a peut-être pu modifier les résultats finaux. Ainsi, nous nous apercevons qu'il est réellement essentiel, en amont des expérimentations, d'investir du temps dans une étude préalable visant à mieux connaître les conditions locales financières, matérielles, logistiques et sociologiques afin de s'assurer que le protocole de recherche soit bien adapté et viable dans les sites étudiés.

## 7.5. Bilan

Au terme de ce travail de recherche agronomique participative, nous pouvons mettre en évidence plusieurs points clés à prendre en considération, tant lors de l'étape de conception d'un projet de ce type qu'au cours de son déroulement, pour mieux atteindre les objectifs fixés.

Premièrement il semble indispensable d'**investir du temps en amont du projet** pour rencontrer l'ensemble des parties prenantes, se rendre sur le terrain pour évaluer les conditions socio-économiques et environnementales locales et d'intégrer au mieux les singularités du lieu de travail. Ainsi, les protocoles expérimentaux pourront-ils être ajustés aux conditions de terrain. De ce point découle le **dimensionnement des projets** de recherche participative et, en fonction des moyens économiques et humains, il est parfois plus judicieux de privilégier le suivi des expériences, la présence sur le terrain et la cohésion des acteurs plutôt que la multiplicité des sites, afin de garantir des résultats robustes et de pérenniser l'adoption des dispositifs que l'on essaye de développer.

**Les relations humaines sont également au cœur du succès de la science participative.** Une bonne communication permet premièrement d'identifier et de mieux comprendre les besoins des producteurs, de prendre en compte leur vision des problèmes spécifiques auxquels ils sont confrontés (de productivité ou bien d'innocuité des fèves de cacao dans notre cas) puis de l'intégrer au sein de la problématique formulée par les chercheurs. De cette manière, il est possible d'identifier les conditions de travail et de vie ainsi que les leviers et les limites d'un projet de recherche participative dans ce domaine. De bonnes relations humaines permettent enfin de favoriser l'accord des producteurs pour s'investir dans un projet de ce type, effectuer un suivi assidu de l'étude en s'assurant que le travail est correctement effectué et de réagir rapidement en cas de besoin.

Nous pouvons conclure de cette étude suite à la mise en perspective des succès et des limités rencontrés, que **la fabrication et l'utilisation des intrants biologiques ont été majoritairement adoptées par les producteurs et les coopératives, dans les sites étudiés.**

Les bénéfices de ces pratiques ont été compris et elles continuent d'être mises en œuvre actuellement et semblent également avoir suscité de l'intérêt chez les producteurs à proximité. Ainsi que le soulignent Hainzelin et al. (2017), la recherche agricole est lente (plus de 20 ans) à générer des impacts tels que l'augmentation des revenus des producteurs ou encore la mise en place de nouvelles pratiques culturelles ou politiques publiques. C'est pourquoi nous pouvons considérer cette étude comme un travail préliminaire en vue d'une adoption généralisée d'intrants biologiques dans la culture de cacao, et qui doit être poursuivi afin d'atteindre complètement les objectifs initiaux.

# 8. Conclusion générale et perspectives

---

Dans une perspective de développement agricole durable, cette étude de doctorat en agronomie avait pour objectifs principaux **d'apporter des solutions agronomiques simples et facilement mises en place dans des pays du Sud pour 1) réduire les teneurs en Cd dans les fèves de cacao provenant de fermes équatoriennes et 2) améliorer la fertilité des sols, augmenter le rendement et réduire l'incidence des maladies des cacaoyères en Côte d'Ivoire**, l'ensemble des fermes étant en agriculture biologique et en agroforesterie. L'intérêt était également de rendre l'utilisation d'intrants organiques accessible et praticable pour les petits producteurs. Cette étude visait enfin à permettre aux agriculteurs de gagner en autonomie technique et financière, par la fertilisation de leurs cacaoyères.

Au terme de l'étude, nous pouvons conclure que les amendements organiques et les biofertilisants testés dans la présente étude (**biochar, bokashi et biofertilisants liquides**) **n'ont pas permis d'atteindre le premier objectif fixé, du moins dans la durée de temps impartie, mais ont permis de répondre au second objectif dans la majorité des fermes**. En effet, nous n'avons pas réussi à réduire significativement les teneurs de Cd dans le système sol-cacao après 2 ans et demi d'application d'intrants biologiques. Cependant, à la lecture d'études tout récemment publiées, nous savons désormais que les processus physico-chimiques responsables de l'absorption puis de la translocation du métal du sol vers les fèves de cacao n'étaient pas aussi linéaires que nous ne l'avions présumé. En effet, il s'avère que cette espèce a tendance à accumuler le Cd dans ses parties ligneuses et à le redistribuer vers les fèves au travers du mucilage, notamment. Ces dernières avancées indiquent que **la modification physico-chimique des sols n'aurait pas un effet immédiat sur les concentrations en Cd dans les fèves de cacao puisque les mécanismes physiologiques jouent un rôle clé dans la mobilité du métal au sein de la plante**. Ceci est corroboré par des **études qui, bien que très peu nombreuses en conditions réelles, montrent que**

l'application d'intrants organiques sur les sols n'ont pas d'effet au cours des 3 premières années, et nous n'avons pas de délai clairement établi à partir duquel un tel effet pourrait être observé. Ces derniers résultats indiquent donc qu'il serait nécessaire de **poursuivre ce type d'étude sur une durée plus longue et multiplier les contextes pédo climatiques impliqués**, lesquels peuvent faire varier la réponse des arbres à l'application d'intrants organiques. Il est important de rappeler que les cabosses de cacao mettent environ 6 mois à atteindre leur maturité, d'où un temps de réponse à l'application d'intrants agricoles sur les sols plutôt long. D'ailleurs, la poursuite des expérimentations dans la province de Guayas est prévue sur encore quelques années grâce à notre collaboration avec l'*Escuela Politécnica Superior del Litoral* (ESPOL) en Équateur, ce qui permettra de suivre les effets des amendements organiques et des biofertilisants sur les concentrations en Cd sur une durée plus importante. Cependant, celle-ci peut apparaître considérablement longue du point de vue d'un producteur ayant dans ses plantations des teneurs en Cd l'empêchant d'accéder à un marché de vente rémunératrice voire à un marché de vente tout court. De leur côté, les acheteurs peuvent mélanger plusieurs lots de cacao provenant de sites aux teneurs moins élevées en Cd afin d'obtenir une moyenne inférieure aux limites européennes. Cependant, ils ne seront pas forcément en mesure de conserver les pures origines géographiques du cacao, en lien avec un profil aromatique propre à un terroir très local. En ce sens, pour une réponse plus rapide, la recherche poursuit ses efforts dans le domaine de la génétique notamment, par exemple, en sélectionnant des **génotypes moins accumulateurs de Cd** dans leurs tissus, et en particulier dans leurs fèves. Si un producteur souhaite agrandir sa plantation, remplacer des arbres peu productifs voire même renouveler entièrement sa cacaoyère, il pourra donc utiliser des arbres accumulant moins de Cd tout en gardant à l'esprit que le cacao atteint l'étape productive en 3 ans approximativement.

Pour mieux comprendre la translocation du Cd *in planta* jusqu'aux fèves, il serait intéressant d'exploiter la technique de spectrométrie d'absorption des rayons X par rayonnement synchrotron et plus précisément la spectroscopie de structure près du front d'absorption de rayons X (**XANES**) qui permet d'imager la présence de Cd dans les différents

tissus et d'identifier ses espèces chimiques (spéciation). Cette technique a récemment été utilisée sur le cacao récemment par Blommaert et al. (2023 et 2024) et a permis d'apporter de nouvelles réponses en ce qui concerne la mobilité du Cd entre le tronc, les branches et les fèves en particulier. Les analyses de **fractionnements isotopiques de Cd dans les différents compartiments du système sol-plante** pourraient également permettre de mieux comprendre les processus de transfert et de translocation entre le sol et la plante ainsi que *in planta*. L'utilisation de cette dernière méthode était prévue au démarrage de cette thèse (en collaboration avec nos collègues de l'*Imperial College of London*, Mark Rekhamper et Rebekah Moore), mais des contraintes administratives ont malheureusement empêché la réalisation de ces expériences.

En ce qui concerne l'augmentation des rendements et la réduction de l'incidence des maladies, nous avons observé en Équateur, malgré un plan expérimental peu robuste pour ce type de suivi, **une augmentation significative de la productivité des parcelles T1 et T2 par rapport au témoin**. En Côte d'Ivoire, nous avons pu relever une tendance similaire pour les parcelles T1 et T2 qui ont produit jusqu'à 75 % de plus de cacao ha<sup>-1</sup> en moyenne que les parcelles témoins. **Ainsi, le bokashi et les biofertilisants liquides à faibles doses semblent favoriser la productivité du cacao**. Pour confirmer cette tendance, il serait fort intéressant de multiplier ce type d'étude sur des surfaces plus importantes (1 ha par parcelle, par exemple) et sur plus de 2 ans afin d'obtenir des résultats plus robustes et suivre sur le moyen terme l'efficacité de ces bio-intrants.

Enfin, il est important de mettre en évidence que, grâce à l'investissement de la SCOP ETHIQUABLE® et aux sessions de formations mises en place par notre collègue Rémi Thinard, nous avons **réussi à instaurer une démarche agroécologique dans les différentes coopératives partenaires au travers de l'installation de biofabriques**. En Côte d'Ivoire, leur fonctionnement est assuré par des techniciens ayant été formés et qualifiés, et par des producteurs désormais autonomes dans la fabrication et l'emploi des intrants organiques et biologiques en Équateur. Ces unités de production d'intrants ont été source d'emploi local et ont généré des liens avec les autres agriculteurs locaux (les éleveurs notamment pour récupérer le fumier ou les os d'animaux) et les commerces agricoles (pour

s'approvisionner en ingrédients). Nous souhaitons saluer l'implication des coopératives, de leurs techniciens et des producteurs dans la réalisation de la présente étude et d'avoir étendu ces pratiques au-delà des essais expérimentaux. Nous espérons vivement que l'adoption des intrants biologiques et organiques dans les cacaoyères sera motrice de meilleures conditions de travail et de vie pour les producteurs et leur famille. Nous aspirons également, par le biais de la 3<sup>ème</sup> phase, en cours de construction, du projet EQUITE et financé par l'AFD et le FFEM, à ce que davantage de producteurs bénéficient des techniques que nous avons testées et poursuivent la recherche de pratiques agricoles durables et adaptées à aux contextes agroenvironnementaux. Les résultats préliminaires obtenus au terme de notre propre étude sont en effet encourageants et de nature à orienter les producteurs vers des pratiques durables faisant un plus large usage de fertilisants organiques et biologiques. L'idéal serait qu'à terme les producteurs accèdent à leur autonomie et toute avancée en ce sens serait pour nous un immense motif de satisfaction.

# 9. Annexes

**Annexe 1:** Fiche synthétique du protocole du projet recherche-action en Côte d'Ivoire, délivrée aux producteurs pilotes et aux coopératives CAMAYE et SCEB.

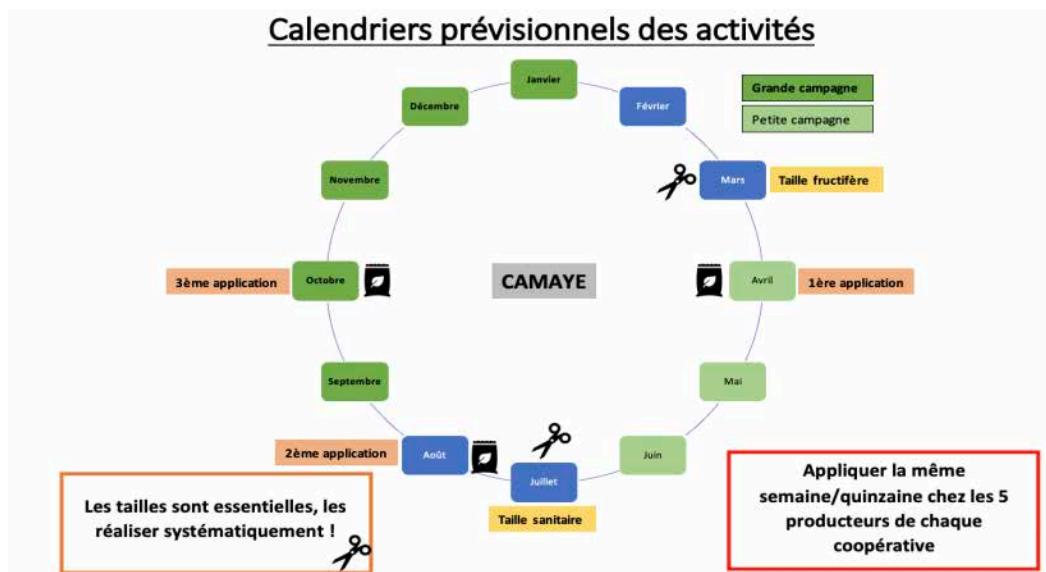


## FICHE SYNTHÉTIQUE PROJET RECHERCHE ACTION

### Objectif :

Mesurer les effets des bio-intrants sur les rendements et l'incidence des maladies et ravageurs lors de la production de cacao en agriculture biologique

L'intérêt de ce document est d'expliquer le déroulement des activités prévues dans le protocole de recherche et est destiné principalement à la direction des coopératives, coordinateurs de projet, techniciens et producteurs.



## Détail des applications (3 fois par an)

<b>B1</b> 1 kg de bokashi par arbre	<b>Application du bokashi</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Retirer la litière autour du pied de chaque arbre, à environ 1,5 m du tronc</li> <li>Verser sur cette zone la dose de bokashi à appliquer</li> <li>Recouvrir l'amendement avec la litière de feuilles</li> </ul>
<b>B2</b> 1 kg de bokashi par arbre 0,1 L biofertilisant par arbre 0,1 L MO Liquides par arbre	<b>Application des Biofertilisants et MO liquides</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>0,1 L / arbre = 5 L par parcelle.</li> <li>Diluer 2,5 L dans un pulvérisateur et appliquer sur le tronc et les feuilles des 49 arbres, puis recommencer l'opération en appliquant le produit au sol : 1 pulvérisateur pour les parties aériennes et 1 pulvérisateur pour le sol</li> <li>Utilisation d'un pulvérisateur manuel pour éviter l'effet de dérive !</li> </ul>
<b>B3</b> 2 kg de bokashi par arbre	<b>Biofertilisants</b> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>BIOFLORaison</b> : Application n°1 et n°3</li> <li><b>BIOFRUCTIFICATION</b> : Application n°2 (avant la grande récolte)</li> </ul>
<b>B4</b> 2 kg de bokashi par arbre 0,1 L biofertilisant par arbre 0,1 L MO Liquides par arbre	
<b>B5</b> 0,1 L biofertilisant par arbre 0,1 L MO Liquides par arbre	
<b>B6 (Témoin)</b> Pas d'application	

## Mesure des rendements

**Fréquence : Chaque mois et à partir de mars 2021**

- Chaque producteur récoltera les fruits de **chaque parcelle séparément** et les laissera entières (non ouvertes) sur la parcelle
- Les techniciens devront être prévenus une semaine à l'avance si possible afin qu'ils viennent effectuer les pesées de cacao frais pour **chaque parcelle**. La masse de cacao devra être notée et transmise à la doctorante mensuellement
- Deux fois par an, une fois en saison sèche et une fois en saison des pluies, il conviendra de calculer le **ratio de séchage** : chez un des 5 producteurs, prélever 1 kg de fèves fraîches de sa production et le sécher. Peser la masse de cacao sec obtenue afin de pouvoir convertir le rendement de cacao frais en rendement de cacao sec

## Mesure de l'incidence des ravageurs et maladies

**Fréquence : Chaque mois, lors de la mesure des rendements**

- Lors de la mesure des rendements, avant l'écabossage, compter le nombre de cabosses saines et le nombre de cabosses malades et noter les valeurs.
- Noter également la cause de l'endommagement des cabosses : attaque de mirides, rongeurs, maladies, etc.
- Rapporter ces données mensuellement à la doctorante afin de suivre les effets des bio-intrants sur ces variables.
- Exemple de tableau à remplir pour la mesure des incidences des maladies/ravageurs

Nom du producteur	Date de mesure	N° Parcelle	Nb cabosses totales	Nb cabosses malades	Maladies/ravageurs observés <i>(renseigner le nb de cabosses présentant chaque dégât)</i>

**Annexe 2:** Coefficients de variation (en %) inter et intra-ferme des paramètres physico-chimiques des sols pour les coopératives CAMAYE et SCEB

Paramètre	CV inter-ferme SCEB (n=30)	Min-Max CV intra-ferme SCEB (n=6)	CV inter- ferme CAMAYE (n=30)	Min-Max CV intra-ferme CAMAYE (n=6)
pH	8 %	5 – 12 %	6 %	2 – 8 %
CEC ( $C_{mol}^+$ / kg)	4 %	2 – 5 %	6 %	3 – 8 %
Argiles (%)	36 %	11 – 32 %	25 %	13 – 24 %
Limons (%)	9 %	3 – 9 %	8 %	1 – 3 %
Sables (%)	27 %	7 – 17 %	30 %	8 – 51 %
$C_{total}$ (%)	26 %	13 – 26 %	20 %	9 – 22 %
$C_{organique}$ (%)	27 %	10 – 21 %	17 %	11 – 19 %
$P_{organique}$ (mg/kg)	35 %	20 – 30 %	26 %	11 – 30 %
$N_{tot}$ (%)	27 %	7 – 19 %	16 %	9 – 17 %

<b>C/N</b>	5 %	2 – 5 %	5 %	1 – 6 %
<b>Mn total (mg/kg)</b>	32 %	5 – 26 %	25 %	14 – 33 %
<b>Mn disp. (mg/kg)</b>	29 %	6 – 32 %	50 %	14 – 43 %
<b>Co total (mg/kg)</b>	32 %	7 – 28 %	40 %	6 – 17 %
<b>Co disp. (mg/kg)</b>	29 %	13 – 38 %	78 %	26 – 40 %
<b>Ni total (mg/kg)</b>	27 %	4 – 27 %	22 %	4 – 32 %
<b>Ni disp. (mg/kg)</b>	25 %	10 – 22 %	45 %	15 – 25 %
<b>Cu total (mg/kg)</b>	27 %	6 – 21 %	19 %	6 – 29 %
<b>Cu disp. (mg/kg)</b>	36 %	12 – 42 %	35 %	12 – 43 %
<b>Cd total (mg/kg)</b>	31 %	14 – 29 %	20 %	4 – 34 %
<b>Cd disp. (mg/kg)</b>	30 %	14 – 25 %	28 %	9 – 36 %

<b>Pb total (mg/kg)</b>	36 %	4 – 19 %	36 %	3 – 52 %*
<b>Pb disp (mg/kg)</b>	31 %	7 – 21 %	104 %	10 – 132 %*
<b>Mg total (mg/kg)</b>	19 %	6 – 33 %	24 %	8 – 34 %
<b>Mg disp. (mg/kg)</b>	33 %	22 – 56 %	36 %	16 – 42 %
<b>K total (mg/kg)</b>	23 %	6 – 19 %	54 %	6 – 21 %
<b>K disp (mg/kg)</b>	36 %	21 – 44 %	51 %	26 – 61 %
<b>Ca total (mg/kg)</b>	73 %	24 – 91 %	29 %	17 – 52 %
<b>Ca disp. (mg/kg)</b>	53 %	24 – 79 %	38 %	23 – 46 %
<b>Al total (mg/kg)</b>	25 %	3 – 18 %	23 %	5 – 34 %
<b>Al disp. (mg/kg)</b>	41 %	15 – 30 %	39 %	9 – 32 %
<b>Fe total (mg/kg)</b>	31 %	8 – 34 %	24 %	8 -38 %

<b>Fe disp. (mg/kg)</b>	11 %	5 – 13 %	31 %	8 – 45 %
<b>Zn total (mg/kg)</b>	44 %	7 – 26 %	19 %	4 – 26 %
<b>As total (mg/kg)</b>	35 %	7 – 24 %	77 %	10 – 51 %
<b>As disp. (mg/kg)</b>			96 %	7 – 60 %
<b>Se total (mg/kg)</b>	25 %	6 – 25 %	21 %	6 – 33 %
<b>Se disp. (mg/kg)</b>	21 %	8 – 30 %	21 %	9 – 24 %
<b>Ba total (mg/kg)</b>	34 %	7 – 21 %	47 %	7 – 30 %
<b>Ba disp (mg/kg)</b>	44 %	14 – 28 %	37 %	11 – 44 %
<b>Cr total (mg/kg)</b>	38 %	7 – 36 %	18 %	9 – 27 %

---

**Annexe 3:** Concentrations en cadmium (en mg kg<sup>-1</sup> ± SD) aux mois 0, 12 et 30 dans les sols (fractions réactive et pseudo-totale), fèves de cacao, feuilles et litière, pour chaque traitement. Les valeurs correspondent aux moyennes des producteurs pour chaque provinces (n=5 à Manabí et Guayas, n=3 à Esmeraldas). L'étoile « \* » indique que la valeur excède la norme européenne pour le chocolat > 50 % de cacao, fixée à 0.8 mg Cd kg<sup>-1</sup> (CELEX, 2014) ou pour les sols agricoles à 0.5 mg kg<sup>-1</sup> (TULSMA, 2015). Le tiret “-” indique que le mois correspondant n'a pas été échantillonné ou analysé.

Matrix	Province	T1			T2			T3			T4			T5			CK		
		0	12	30	0	12	30	0	12	30	0	12	30	0	12	30	0	12	30
<b>Bean Cd</b>	Esmeraldas	4.60*	3.74*	3.56*	3.47*	3.18*	3.45*	3.45*	3.82*	5.03*	4.64*	4.99*	3.74*	3.99*	3.78*	4.34*	3.99*	3.85*	4.69*
		± 0.56	± 1.12	± 1.54	± 0.74	± 0.64	± 1.15	± 1.01	± 0.68	± 2.65	± 1.49	± 0.98	± 0.01	± 0.68	± 1.71	± 1.29	± 1.39	± 0.95	± 0.30
	Manabí	1.00*	1.11*	1.47*	1.02*	1.01*	0.88*	0.72	1.27*	1.08*	1.06*	1.00*	1.22*	1.35*	1.24*	1.60*	1.78*	1.06*	1.47*
		± 0.53	± 0.56	± 1.11	± 0.42	± 0.21	± 0.35	± 0.36	± 1.28	± 0.78	± 0.50	± 0.29	± 0.77	± 0.50	± 0.42	± 0.61	± 1.57	± 0.63	± 1.12
	Guayas	2.49*	2.14*	2.08* ±	2.16*	2.14*	2.24* ±	2.21*	2.17*	2.18* ±	2.35*	2.41*	2.44* ±	2.06*	2.02*	2.09* ±	1.74*	2.27*	2.31* ±
		± 0.25	± 0.58	0.76	± 0.32	± 0.88	0.40	± 0.65	± 0.88	0.34	± 0.93	± 0.95	0.76	± 0.85	± 0.46	0.44	± 0.46	± 0.47	0.69
<b>Leaf Cd</b>	Esmeraldas	5.92	-	6.95	6.14	-	6.46	5.78	-	8.23	8.09	-	8.04	4.75	-	7.68	8.29	-	7.87
		± 1.04		± 2.94	± 1.68		± 0.79	± 2.31		± 4.88	± 2.69		± 3.69	± 1.09		± 3.13	± 0.81		± 0.81
	Manabí	2.85	-	2.41	3.97	-	2.41	3.38	-	3.44	3.47	-	2.50	4.98	-	4.00	6.68	-	3.48
		± 1.35		± 2.15	± 1.69		± 0.75	± 2.53		± 2.58	± 1.76		± 1.88	± 2.40		± 1.77	± 5.86		± 2.91
	Guayas	3.74	3.62	3.85 ±	4.18	4.00	3.10 ±	3.96	4.10	3.42 ±	3.73	3.94	3.48 ±	3.58	3.98	3.75 ±	3.71	4.69	3.40 ±
		± 0.78	± 0.52	1.29	± 1.22	± 0.61	0.98	± 0.53	± 0.94	0.74	± 1.17	± 0.79	0.77	± 0.88	± 0.67	0.47	± 0.90	± 0.67	0.85
<b>Litter Cd</b>	Esmeraldas	12.39	-	9.78	10.18	-	6.88	10.93	-	7.81	10.31	-	7.74	9.30	-	8.35	11.66	-	7.06
		± 3.21		± 0.98	± 2.80		± 2.14	± 4.65		± 4.55	± 2.43		± 1.69	± 2.52		± 1.54	± 5.57		± 2.39
	Manabí	4.83	-	2.95	4.83	-	2.79	4.71	-	3.62	3.54	-	2.82	6.41	-	4.78	6.14	-	7.70
		± 2.73		± 1.90	± 2.35		± 0.94	± 3.43		± 2.39	± 2.03		± 1.61	± 4.53		± 2.74	± 4.59		± 6.51
	Guayas	5.24	5.76		4.68	5.21		5.47	5.59		4.75	5.75		4.70	5.52		4.96	6.18	
		± 1.38	± 1.26		± 1.72	± 1.32		± 1.31	± 0.79		± 0.91	± 1.72		± 1.00	± 1.16		± 1.64	± 1.52	
<b>Available Cd in soil</b>	Esmeraldas	0.35	0.26	0.33	0.34	0.34	0.27	0.33	0.25	0.26	0.29	0.25	0.31	0.27	0.18	0.29	0.26	0.17	0.15
		± 0.06	± 0.04	± 0.18	± 0.27	± 0.13	± 0.11	± 0.07	± 0.11	± 0.11	± 0.05	± 0.04	± 0.05	± 0.03	± 0.04	± 0.05	± 0.15	± 0.00	± 0.18

	Manabí	0.27	0.12	0.38	0.30	0.22	0.21	0.13	0.13	0.11	0.16	0.10	0.09	0.32	0.16	0.22	0.33	0.32	0.19
		± 0.21	± 0.06	± 0.57	± 0.10	± 0.05	± 0.11	± 0.03	± 0.06	± 0.07	± 0.08	± 0.05	± 0.20	± 0.21	± 0.05	± 0.20	± 0.16	± 0.26	± 0.06
	Guayas	0.58*	0.70*	0.78*	0.57*	0.68*	0.71*	0.46	0.61*	0.66*	0.51*	0.65*	0.85*	0.50*	0.61*	0.80*	0.48	0.50*	0.72*
		± 0.20	± 0.24	± 0.51	± 0.14	± 0.17	± 0.31	± 0.12	± 0.11	± 0.40	± 0.06	± 0.18	± 0.43	± 0.10	± 0.14	± 0.32	± 0.12	± 0.20	± 0.22
Pseudo total Cd in soil	Esmeraldas	0.76*	1.01*	1.15*	0.94*	1.12*	1.42*	0.95*	1.13*	1.59*	0.89*	1.05*	1.13*	1.21*	1.30*	1.77*	0.64*	0.86*	1.20*
		± 0.26	± 0.34	± 0.42	± 0.43	± 0.40	± 0.65	± 0.58	± 0.68	± 0.61	± 0.36	± 0.45	± 0.33	± 1.34	± 1.23	± 1.53	± 0.24	± 0.06	± 0.45

# 10. Références bibliographiques

---

- Aare, A. K., Lund, S., & Hauggaard-Nielsen, H. (2021). Exploring transitions towards sustainable farming practices through participatory research – The case of Danish farmers' use of species mixtures. *Agricultural Systems*, 189, 103053. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2021.103053>
- Abt, E., Fong Sam, J., Gray, P., & Robin, L. P. (2018). Cadmium and lead in cacao powder and chocolate products in the US Market. *Food Additives & Contaminants: Part B*, 11(2), 92-102. <https://doi.org/10.1080/19393210.2017.1420700>
- Adjaloo, M. K., 2012. Pollination ecology of upper amazon cacao and breeding substrates of cacao pollinators in the Ejisu- Juabeng district of the Ashanti region, Ghana. <https://ir.knust.edu.gh/bitstreams/29873b22-b62b-4b74-a637-d86e772da6a1/download>
- Agegnehu, G., Bass, A.M., Nelson, P.N., Bird, M.I., 2016. Benefits of biochar, compost and biochar-compost for soil quality, maize yield and greenhouse gas emissions in a tropical agricultural soil. *Science of The Total Environment* 543, 295–306. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.11.054>
- Alloway, B.J., 1995. Cadmium, in: Alloway, B.J. (Ed.), Heavy Metals in Soils. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 122–151. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-1344-1\\_6](https://doi.org/10.1007/978-94-011-1344-1_6)
- Amon-Armah, F., Domfeh, O., Baah, F., Owusu-Ansah, F., 2021. Farmers' adoption of preventive and treatment measures of cacao swollen shoot virus disease in Ghana. *Journal of Agriculture and Food Research* 3, 100112. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100112>
- Amos, T. T. (2007). An Analysis of Productivity and Technical Efficiency of Smallholder Cacao Farmers in Nigeria. *Journal of Social Sciences*, 15(2), 127-133. <https://doi.org/10.1080/09718923.2007.11892573>
- Andres, C., Blaser, W. J., Dzahini-Obiatey, H. K., Ameyaw, G. A., Domfeh, O. K., Awiagah, M. A., Gattinger, A., Schneider, M., Offei, S. K., & Six, J. (2018). Agroforestry systems can mitigate the severity of cacao swollen shoot virus disease. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 252, 83-92. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.09.031>
- Argüello, D., Chavez, E., Lauryssen, F., Vanderschueren, R., Smolders, E., Montalvo, D., 2019. Soil properties and agronomic factors affecting cadmium concentrations in cacao beans: A nationwide survey in Ecuador. *Science of The Total Environment* 649, 120–127. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.292>

Armengot, L., Barbieri, P., Andres, C., Milz, J., & Schneider, M. (2016). Cacao agroforestry systems have higher return on labor compared to full-sun monocultures. *Agronomy for Sustainable Development*, 36(4), 70. <https://doi.org/10.1007/s13593-016-0406-6>

Arvelo Sánchez, M. Á. (2017). *Estado actual sobre la producción, el comercio y cultivo del cacao en América*. IICA ; Colegio de Postgraduados : Fundación COLPOS.

Asitoakor, B.K., Vaast, P., Ræbild, A., Ravn, H.P., Eziah, V.Y., Owusu, K., Mensah, E.O., Asare, R., 2022. Selected shade tree species improved cacao yields in low-input agroforestry systems in Ghana. *Agricultural Systems* 202, 103476. <https://doi.org/10.1016/j.agrsy.2022.103476>

Baligar, V., & Bennett, O. ,1986. Outlook on fertilizer use efficiency in the tropics. *Fertilizer Research*, 10(1), 83-96. <https://doi.org/10.1007/BF01073907>

Barraza, F., Maurice, L., Uzu, G., Becerra, S., López, F., Ochoa-Herrera, V., Ruales, J., & Schreck, E. (2018). Distribution, contents and health risk assessment of metal(lloid)s in small-scale farms in the Ecuadorian Amazon: An insight into impacts of oil activities. *Science of The Total Environment*, 622-623, 106-120. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.246>

Barraza, F., Moore, R.E.T., Rehkämper, M., Schreck, E., Lefevre, G., Kreissig, K., Coles, B.J., Maurice, L., 2019. Cadmium isotope fractionation in the soil – cacao systems of Ecuador: a pilot field study. *RSC Adv.* 9, 34011–34022. <https://doi.org/10.1039/C9RA05516A>

Barraza, F., Schreck, E., Lévêque, T., Uzu, G., López, F., Ruales, J., Prunier, J., Marquet, A., & Maurice, L. (2017). Cadmium bioaccumulation and gastric bioaccessibility in cacao: A field study in areas impacted by oil activities in Ecuador. *Environmental Pollution*, 229, 950-963. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.07.080>

Barrera, V., Alwang, J., Casanova, T., Domínguez, J., Escudero, L., Loor, G., Peña, G., Párraga, J., Arévalo, J., Quiroz, J., Tarqui, O., Plaza, L., Sotomayor, I., Zambrano, F., Rodríguez, G., García, C., Racines, M., 2019. La cadena de valor del cacao y el bienestar de los productores en la provincia de Manabí-Ecuador. Quito, Ecuador. 204 pp. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5377>

Basak, B. B., Sarkar, B., Saha, A., Sarkar, A., Mandal, S., Biswas, J. K., Wang, H., & Bolan, N. S. (2022). Revamping highly weathered soils in the tropics with biochar application: What we know and what is needed. *Science of The Total Environment*, 822, 153461. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153461>

Bauters, M., Moonen, P., Summerauer, L., Doetterl, S., Wasner, D., Griepentrog, M., Mumbanza, F. M., Kearsley, E., Ewango, C., Boyemba, F., Six, J., Muys, B., Verbist, B., Boeckx, P., & Verheyen, K., 2021. Soil Nutrient Depletion and Tree Functional Composition Shift Following Repeated Clearing in Secondary Forests of the Congo Basin. *Ecosystems*, 24(6), 1422-1435. <https://doi.org/10.1007/s10021-020-00593-6>

Beer, J., Bonnemann, A., Chavez, W., Fassbender, H. W., Imbach, A. C., & Martel, I. (1990). Modelling agroforestry systems of cacao (*Theobroma cacao*) with laurel (*Cordia alliodora*) or poro (*Erythrina poeppigiana*) in Costa Rica: V. Productivity indices, organic material models and sustainability over ten years. *Agroforestry Systems*, 12(3), 229-249. <https://doi.org/10.1007/BF00137286>

Beg, M. S., Ahmad, S., Jan, K., & Bashir, K. (2017). Status, supply chain and processing of cacao—A review. *Trends in Food Science & Technology*, 66, 108-116.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.06.007>

Bentley, J. W., Boa, E., & Stonehouse, J. (2004). Neighbor Trees: Shade, Intercropping, and Cacao in Ecuador. *Human Ecology*, 32(2), 241-270. <https://doi.org/10.1023/B:HUEC.0000019759.46526.4d>  
Bertoldi, D., Barbero, A., Camin, F., Caligiani, A., & Larcher, R. (2016). Multielemental fingerprinting and geographic traceability of *Theobroma cacao* beans and cacao products. *Food Control*, 65, 46-53.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.01.013>

Blommaert, H., Aucour, A.-M., Wiggenhauser, M., Moens, C., Telouk, P., Campillo, S., Beauchêne, J., Landrot, G., Testemale, D., Pin, S., Lewis, C., Umaharan, P., Smolders, E., Sarret, G., 2022. From soil to cacao bean: Unravelling the pathways of cadmium translocation in a high Cd accumulating cultivar of *Theobroma cacao* L. *Front. Plant Sci.* 13, 1055912.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1055912>

Blundo Canto, G., De Romemont, A., Hainzelin, E., Faure, G., Monier, C., Triomphe, B., Barret, D., & Vall, E. (2020). *ImpresS ex ante. Démarche pour co-construire ex ante les chemins d'impact de la recherche pour le développement. Guide méthodologique ImpresS ex ante (Deuxième version)*. CIRAD. <https://doi.org/10.19182/agritrop/00142>

Boateng, K.O., Dankyi, E., Amponsah, I.K., Awudzi, G.K., Amponsah, E., Darko, G., 2023. Knowledge, perception, and pesticide application practices among smallholder cacao farmers in four Ghanaian cacao-growing regions. *Toxicology Reports* 10, 46–55.  
<https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2022.12.008>

Bustamante, D. E., Motilal, L. A., Calderon, M. S., Mahabir, A., & Oliva, M., 2022. Genetic diversity and population structure of fine aroma cacao (*Theobroma cacao* L.) from north Peru revealed by single nucleotide polymorphism (SNP) markers. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 10, 895056.  
<https://doi.org/10.3389/fevo.2022.895056>

Caicedo-Vargas, C., Pérez-Neira, D., Abad-González, J., Gallar, D., 2023. Agroecology as a means to improve energy metabolism and economic management in smallholder cacao farmers in the Ecuadorian Amazon. *Sustainable Production and Consumption* 41, 201–212.  
<https://doi.org/10.1016/j.spc.2023.08.005>

Cardoso, I., & Kuyper, T, 2006. Mycorrhizas and tropical soil fertility. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 116(1-2), 72-84. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.03.011>

- Carimentrand A. (2020) Cacao : État des lieux sur la déforestation et les standards de durabilité. Rapport d'étude du CIRAD. Commanditaire : CST Forêts de l'AFD, Juin 2020, 76p., Abidjan, Côte d'Ivoire.
- Cerda, R., Deheuvels, O., Calvache, D., Niehaus, L., Saenz, Y., Kent, J., Vilchez, S., Villota, A., Martinez, C., & Somarriba, E. (2014). Contribution of cacao agroforestry systems to family income and domestic consumption: Looking toward intensification. *Agroforestry Systems*, 88(6), 957-981. <https://doi.org/10.1007/s10457-014-9691-8>
- Charry, A.; Atkinson, R.; Junca, J.J.; Perea Ramirez, C.; Thomas, E.; Pulleman, M.M. (2023) Effects of the EU food safety regulation on cadmium on the cacao value chains of Colombia, Ecuador, and Peru. Briefing Note No. 4. Cali (Colombia): International Center for Tropical Agriculture (CIAT) 14 p. <https://hdl.handle.net/10568/130296>
- Chavez, E., He, Z.L., Stoffella, P.J., Mylavarapu, R., Li, Y., Baligar, V.C., 2016. Evaluation of soil amendments as a remediation alternative for cadmium-contaminated soils under cacao plantations. *Environ Sci Pollut Res* 23, 17571–17580. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6931-7>
- Ciesielski, H., Sterckeman, T., Santerne, M., & Willery, J. P. (1997). Determination of cation exchange capacity and exchangeable cations in soils by means of cobalt hexamine trichloride. Effects of experimental conditions. *Agronomie*, 17(1), 1-7. <https://doi.org/10.1051/agro:19970101>
- Cilas, C., & Bastide, P. (2020). Challenges to Cacao Production in the Face of Climate Change and the Spread of Pests and Diseases. *Agronomy*, 10(9), 1232. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091232>
- Claus, G., Vanhove, W., Van Damme, P., & Smagghe, G. (2018). Challenges in cacao pollination: The case of Côte d'Ivoire. *Pollination in plants*, 39.
- Clemens, S., 2006. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie* 88, 1707–1719. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.07.003>
- Correa, J.E., Ramírez, R., Ruíz, O., Leiva, E.I., 2021. Effect of soil characteristics on cadmium absorption and plant growth of *Theobroma cacao* L. seedlings. *J Sci Food Agric* 101, 5437–5445. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11192>
- De Sousa, K., Van Zonneveld, M., Holmgren, M., Kindt, R., & Ordoñez, J. C. (2019). The future of coffee and cacao agroforestry in a warmer Mesoamerica. *Scientific Reports*, 9(1), 8828. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45491-7>
- Delgado-Ospina, J., Molina-Hernández, J. B., Chaves-López, C., Romanazzi, G., & Paparella, A. (2021). The Role of Fungi in the Cacao Production Chain and the Challenge of Climate Change. *Journal of Fungi*, 7(3), 202. <https://doi.org/10.3390/jof7030202>
- Díaz-Montenegro, J., Varela, E., & Gil, J. M. (2018). Livelihood strategies of cacao producers in Ecuador: Effects of national policies to support cacao farmers and specialty cacao landraces. *Journal of Rural Studies*, 63, 141-156. <https://doi.org/10.1016/j.jrurstud.2018.08.004>

Engbersen, N., Gramlich, A., Lopez, M., Schwarz, G., Hattendorf, B., Gutierrez, O., & Schulin, R. (2019). Cadmium accumulation and allocation in different cacao cultivars. *Science of The Total Environment*, 678, 660-670. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.001>

Estrela Junior, A. D. S., Solís, K., Pimenta Neto, A. A., Vera, D. I., Garzón, I., Peñaherrera, S., Diorato, V. S., Gramacho, K. P., & Laranjeira, D. (2022). Effect of antagonistic yeasts from cacao tissues on controlling growth and sporulation of *Moniliophthora roreri*. *Biological Control*, 172, 104956. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.104956>

Ewel, J. J., Mazzarino, M. J., & Berish, C. W. (1991). Tropical Soil Fertility Changes Under Monocultures and Successional Communities of Different Structure. *Ecological Applications*, 1(3), 289-302. <https://doi.org/10.2307/1941758>

Food and Agriculture Organization. (2023). Biochar in sustainable soil management: potential and constraints. <https://www.fao.org/documents/card/en?details=CC8733EN>

Galliano, D., Lallau, B., & Touzard, J.-M. (2017). Coexistences et transitions dans l'agriculture : *Revue Française de Socio-Économie*, n° 18(1), 23-30. <https://doi.org/10.3917/rfse.018.0023>

Gockowski, J., & Sonwa, D. (2011). Cacao Intensification Scenarios and Their Predicted Impact on CO<sub>2</sub> Emissions, Biodiversity Conservation, and Rural Livelihoods in the Guinea Rain Forest of West Africa. *Environmental Management*, 48(2), 307-321. <https://doi.org/10.1007/s00267-010-9602-3>

Gómez, E. H., & Chico, T. (2015). Factores socioeconómicos y parasitológicos que limitan la producción del cacao en Chiapas, México.

Gramlich, A., Tandy, S., Gauggel, C., López, M., Perla, D., Gonzalez, V., Schulin, R., 2018. Soil cadmium uptake by cacao in Honduras. *Science of The Total Environment* 612, 370–378. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.145>

Guarín, D., Hamamura, N.R., Cortez, J.B., Benavides, J., Spargo, J., Guiltinan, M., Maximova, S., De La Cruz, O.A., Drohan, P.J., 2023. Cadmium contamination in cacao farms of Piura, North Peru: A comprehensive assessment of geogenic and anthropogenic sources and implications for future production. *Environmental Challenges* 13, 100765. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2023.100765>

Gyau, A., Smoot, K., Kouame, C., Diby, L., Kahia, J., & Ofori, D. (2014). Farmer attitudes and intentions towards trees in cacao (*Theobroma cacao* L.) farms in Côte d'Ivoire. *Agroforestry Systems*, 88(6), 1035-1045. <https://doi.org/10.1007/s10457-014-9677-6>

Hainzelin, E., Barret, D., Faure, G., Dabat, M.-H., & Triomphe, B. (2017). Recherche agricole dans les pays du Sud : Dépasser la promesse de l'impact pour piloter la recherche. <https://doi.org/10.18167/AGRITROP/00044>

Hartemink, A. E. (2005). Nutrient Stocks, Nutrient Cycling, and Soil Changes in Cacao Ecosystems: A Review. En *Advances in Agronomy* (Vol. 86, pp. 227-253). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(05\)86005-5](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(05)86005-5)

International Labour Organization. (2021). Financing responsibly the cacao supply chain in Côte d'Ivoire: the “leverage” role of the financial sector in eliminating child labour.  
[https://www.ilo.org/wcmsp5/groups/public/---africa/---ro-abidjan/documents/vacancynotice/wcms\\_811440.pdf](https://www.ilo.org/wcmsp5/groups/public/---africa/---ro-abidjan/documents/vacancynotice/wcms_811440.pdf)

Islam, K. R., & Weil, R. R. (2000). Land use effects on soil quality in a tropical forest ecosystem of Bangladesh. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 79(1), 9-16. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(99\)00145-0](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(99)00145-0)

Jiménez-Oyola, S., García-Martínez, M.-J., Ortega, M. F., Chavez, E., Romero, P., García-Garizabal, I., & Bolonio, D. (2021). Ecological and probabilistic human health risk assessment of heavy metal(loids) in river sediments affected by mining activities in Ecuador. *Environmental Geochemistry and Health*, 43(11), 4459-4474. <https://doi.org/10.1007/s10653-021-00935-w>

Khan, M.A., Khan, S., Khan, A., Alam, M., 2017. Soil contamination with cadmium, consequences and remediation using organic amendments. *Science of The Total Environment* 601–602, 1591–1605. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.030>

Kongor, J. E., De Steur, H., Van De Walle, D., Gellynck, X., Afoakwa, E. O., Boeckx, P., & Dewettinck, K. (2018). Constraints for future cacao production in Ghana. *Agroforestry Systems*, 92(5), 1373-1385. <https://doi.org/10.1007/s10457-017-0082-9>

Kouassi, J.-L., Diby, L., Konan, D., Kouassi, A., Bene, Y., Kouamé, C., 2023. Drivers of cacao agroforestry adoption by smallholder farmers around the Taï National Park in southwestern Côte d'Ivoire. *Sci Rep* 13, 14309. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-41593-5>

Kouassi, J.-L., Kouassi, A., Bene, Y., Konan, D., Tondoh, E.J., Kouame, C., 2021. Exploring Barriers to Agroforestry Adoption by Cacao Farmers in South-Western Côte d'Ivoire. *Sustainability* 13, 13075. <https://doi.org/10.3390/su132313075>

Krauss, U., & Soberanis, W. (2001). Biocontrol of Cacao Pod Diseases with Mycoparasite Mixtures. *Biological Control*, 22(2), 149-158. <https://doi.org/10.1006/bcon.2001.0956>

Leitenmaier, B., Küpper, H., 2013. Compartmentation and complexation of metals in hyperaccumulator plants. *Front. Plant Sci.* 4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00374>

Loor Solorzano Rey Gaston, « Contribution à l'étude de la domestication de la variété de cacaoyer Nacional d'Équateur : recherche de la variété native et de ses ancêtres sauvages. », Thèse sous la direction de C. Lanaud, Montpellier, École nationale supérieure agronomique de Montpellier, 2007, 201P.

- López, J. E., Arroyave, C., Aristizábal, A., Almeida, B., Builes, S., & Chavez, E. (2022). Reducing cadmium bioaccumulation in *Theobroma cacao* using biochar: Basis for scaling-up to field. *Helijon*, 8(6), e09790. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09790>
- Lu, S.G., Xu, Q.F., 2009. Competitive adsorption of Cd, Cu, Pb and Zn by different soils of Eastern China. *Environ Geol* 57, 685–693. <https://doi.org/10.1007/s00254-008-1347-4>
- Luo, Y., Gonzalez Lopez, J.B., Van Veelen, H.P.J., Sechi, V., Ter Heijne, A., Bezemer, T.M., Buisman, C.J.N., 2022. Bacterial and fungal co-occurrence patterns in agricultural soils amended with compost and bokashi. *Soil Biology and Biochemistry* 174, 108831. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2022.108831>
- Ma, Q., Han, L., Zhang, J., Zhang, Y., Lang, Q., Li, F., Han, A., Bao, Y., Li, K., & Alu, S. (2019). Environmental Risk Assessment of Metals in the Volcanic Soil of Changbai Mountain. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(11), 2047. <https://doi.org/10.3390/ijerph16112047>
- Marrocos, P.C.L., Loureiro, G.A.H.D.A., Araujo, Q.R.D., Sodré, George.A., Ahnert, D., Escalona-Valdez, R.A., Baligar, V.C., 2020. Mineral nutrition of cacao (*Theobroma cacao* L.): relationships between foliar concentrations of mineral nutrients and crop productivity. *Journal of Plant Nutrition* 43, 1498–1509. <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1739295>
- McLaughlin, M.J., Parker, D.R., Clarke, J.M., 1999. Metals and micronutrients – food safety issues. *Field Crops Research* 60, 143–163. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(98\)00137-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(98)00137-3)
- Melaku, S., Dams, R., & Moens, L. (2005). Determination of trace elements in agricultural soil samples by inductively coupled plasma-mass spectrometry: Microwave acid digestion versus aqua regia extraction. *Analytica Chimica Acta*, 543(1-2), 117-123. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.04.055>
- Memon, A.R., Schröder, P., 2009. Implications of metal accumulation mechanisms to phytoremediation. *Environ Sci Pollut Res* 16, 162–175. <https://doi.org/10.1007/s11356-008-0079-z>
- Mensah, E.O., Asare, R., Vaast, P., Amoatey, C.A., Markussen, B., Owusu, K., Asitoakor, B.K., Ræbild, A., 2022. Limited effects of shade on physiological performances of cacao (*Theobroma cacao* L.) under elevated temperature. *Environmental and Experimental Botany* 201, 104983. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.104983>
- Mensah, E.O., Ræbild, A., Asare, R., Amoatey, C.A., Markussen, B., Owusu, K., Asitoakor, B.K., Vaast, P., 2023. Combined effects of shade and drought on physiology, growth, and yield of mature cacao trees. *Science of The Total Environment* 899, 165657. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165657>
- Muda, B., Dandan, M., Awang, A., 2021. Effect of agricultural waste as organic fertilizer on yield and soil properties of cacao (*Theobroma cacao* L.). *Journal of Agricultural and Food Engineering*, 1(4), 1-4. <https://doi.org/10.37865/jafe.2021.0024>

Ndiaye, A., Diallo Diagne, N.H., Dieye, R.N., Tine, A., Badiane, A., Dorego, G.S., Gueye, M., Ciss, M., Deing, M., Ndiaye, M., Ndienor, M., Biteye, B., Loum, M., Bocoum, O., n.d. Analyse et cartographie des besoins en éléments nutritifs du sol pour une meilleure formulation des besoins en engrais au Sénégal (Rapport synthétique). Institut Sénégalais de Recherches Agricoles, Institut National de Pédologie, Centre de Suivi Ecologique.

Nelson, D. W., & Sommers, L. E. (2018). Total Carbon, Organic Carbon, and Organic Matter. En D. L. Sparks, A. L. Page, P. A. Helmke, R. H. Loepert, P. N. Soltanpour, M. A. Tabatabai, C. T. Johnston, & M. E. Sumner (Eds.), *SSSA Book Series* (pp. 961-1010). Soil Science Society of America, American Society of Agronomy. <https://doi.org/10.2136/sssabookser5.3.c34>

Nguyen, C., Roucou, A., Grignon, G., Cornu, J.-Y., & Méléard, B. (2021). Efficient models for predicting durum wheat grain Cd conformity using soil variables and cultivars. *Journal of Hazardous Materials*, 401, 123131. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123131>

Niether, W., Jacobi, J., Blaser, W. J., Andres, C., & Armengot, L. (2020). Cacao agroforestry systems versus monocultures : A multi-dimensional meta-analysis. *Environmental Research Letters*, 15(10), 104085. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/abb053>

Ollo, S., Hervé, B.D.B., Senan, S., Sylvain, T.B.C., 2022. Effect of shade on the diversity of termites (Isoptera) in different cacao agroforestry systems in the Nawa region (Côte d'Ivoire). *J. Entomol. Zool. Stud.* 10, 377–387. <https://doi.org/10.22271/j.ento.2022.v10.i1e.8957>

Owusu Ansah, K., Santo, K. G., Adjei, R. R., Ofosu-Bamfo, B., Addo-Fordjour, P., & Obeng-Ofori, D. (2023). Assessment of knowledge and patterns of weedicide and personal protective equipment usage among farmers in some cacao farming communities in Ghana. *Journal of Agriculture and Food Research*, 13, 100641. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100641>

Parra-Paitan, C., Zu Ermgassen, E.K.H.J., Meyfroidt, P., Verburg, P.H., 2023. Large gaps in voluntary sustainability commitments covering the global cacao trade. *Global Environmental Change* 81, 102696. <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2023.102696>

Paulin, D., Eskes, A.B., 1995. Le cacaoyer : stratégies de sélection  
[https://agritrop.cirad.fr/388091/1/document\\_388091.pdf](https://agritrop.cirad.fr/388091/1/document_388091.pdf)

Pérez-Neira, D., Schneider, M., Esche, L., & Armengot, L. (2023). Sustainability of food security in different cacao production systems: A land, labour, energy and food quality nexus approach. *Resources, Conservation and Recycling*, 190, 106874.  
<https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2023.106874>

Perez, M., Lopez-Yerena, A., Vallverdú-Queralt, A., 2022. Traceability, authenticity and sustainability of cacao and chocolate products: a challenge for the chocolate industry. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 62, 475–489. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1819769>

- Phillips-Mora, W., Castillo, J., Krauss, U., Rodríguez, E., & Wilkinson, M. J. (2005). Evaluation of cacao (*Theobroma cacao*) clones against seven Colombian isolates of *Moniliophthora roreri* from four pathogen genetic groups. *Plant Pathology*, 54(4), 483-490. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2005.01210.x>
- Quaye, A.K., Doe, E.K., Amon-Armah, F., Arthur, A., Dogbatse, J.A., Konlan, S., 2021. Predictors of integrated soil fertility management practice among cacao farmers in Ghana. *Journal of Agriculture and Food Research* 5, 100174. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100174>
- Quiroz, M., Céspedes, C., 2019. Bokashi as an Amendment and Source of Nitrogen in Sustainable Agricultural Systems: a Review. *J Soil Sci Plant Nutr* 19, 237–248. <https://doi.org/10.1007/s42729-019-0009-9>
- Ramtahal, G., Umaharan, P., Hanuman, A., Davis, C., & Ali, L. (2019). The effectiveness of soil amendments, biochar and lime, in mitigating cadmium bioaccumulation in *Theobroma cacao* L. *Science of The Total Environment*, 693, 133563. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.369>
- Reardon, T., Islam, N., & Benoit-Cattin, M. (1991). Questions de durabilité pour la recherche agricole en Afrique. *Les Cahiers de la Recherche Developpement*, (30), 28-45.
- Roberts, T. L. (2014). Cadmium and Phosphorous Fertilizers: The Issues and the Science. *Procedia Engineering*, 83, 52-59. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2014.09.012>
- Romero-Estévez, D., Yáñez-Jácome, G. S., & Navarrete, H. (2023). Non-essential metal contamination in Ecuadorian agricultural production: A critical review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 115, 104932. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104932>
- Roux, D. J., Stirzaker, R. J., Breen, C. M., Lefroy, E. C., & Cresswell, H. P. (2010). Framework for participative reflection on the accomplishment of transdisciplinary research programs. *Environmental Science & Policy*, 13(8), 733-741. <https://doi.org/10.1016/j.envsci.2010.08.002>
- Rusman, A., de Aldelhart Toorop, R., de Boer, J., de Groot Ruiz, A. (2018). Max Havelaar France®. Revenus des ménages chez les producteurs de cacao en Côte d'Ivoire et les stratégies d'amélioration. [https://maxhavelaarfrance.org/fileadmin/fairtrade/Etudes\\_impact/FR\\_Rapport\\_final\\_Fairtrade\\_cacao\\_producteurs\\_Revenus\\_FINAL.pdf](https://maxhavelaarfrance.org/fileadmin/fairtrade/Etudes_impact/FR_Rapport_final_Fairtrade_cacao_producteurs_Revenus_FINAL.pdf)
- Saj, S., Jagoret, P., Ngnogue, H.T., Tixier, P., 2023. Effect of neighbouring perennials on cacao tree pod production in complex agroforestry systems in Cameroon. *European Journal of Agronomy* 146, 126810. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2023.126810>
- Sakurai, M., Suwazono, Y., Nogawa, K., Watanabe, Y., Takami, M., Ogra, Y., Tanaka, Y.-K., Iwase, H., Tanaka, K., Ishizaki, M., Kido, T., & Nakagawa, H. (2023). Cadmium body burden and health effects

after restoration of cadmium-polluted soils in cadmium-polluted areas in the Jinzu River basin.  
*Environmental Health and Preventive Medicine*, 28, 49. <https://doi.org/10.1265/ehpm.23-00132>

Salazar, O.V., Latorre, S., Godoy, M.Z., Quelal-Váscone, M.A., 2023. The challenges of a sustainable cacao value chain: A study of traditional and “fine or flavour” cacao produced by the kichwas in the Ecuadorian Amazon region. *Journal of Rural Studies* 98, 92–100.  
<https://doi.org/10.1016/j.jrurstud.2023.01.015>

Sanial, E. (2019). *A la recherche de l'ombre, géographie des systèmes agroforestiers émergents en cacaoculture ivoirienne post-forestière* [PhD Thesis].  
<http://www.theses.fr/2019LYSE3058/document>

Saputra, D. D., Khasanah, N., Sari, R. R., & Van Noordwijk, M. (2024). Avoidance of tree-site mismatching of modelled cacao production systems across climatic zones: Roots for multifunctionality. *Agricultural Systems*, 216, 103895. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2024.103895>

Schroth, G., Läderach, P., Martinez-Valle, A. I., Bunn, C., & Jassogne, L. (2016). Vulnerability to climate change of cacao in West Africa: Patterns, opportunities and limits to adaptation. *Science of The Total Environment*, 556, 231-241. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.024>

Schroth, G., Läderach, P., Martinez-Valle, A.I., Bunn, C., Jassogne, L., 2016. Vulnerability to climate change of cacao in West Africa: Patterns, opportunities and limits to adaptation. *Science of The Total Environment* 556, 231–241. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.024>

Shahid, M., Dumat, C., Khalid, S., Niazi, N.K., Antunes, P.M.C., 2016. Cadmium Bioavailability, Uptake, Toxicity and Detoxification in Soil-Plant System, in: De Voogt, P. (Ed.), *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 241, Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Springer International Publishing, Cham, pp. 73–137.  
[https://doi.org/10.1007/398\\_2016\\_8](https://doi.org/10.1007/398_2016_8)

Smolders, E., 2001. CADMIUM UPTAKE BY PLANTS 14.

Snoeck, D., Koko, L., Joffre, J., Bastide, P., & Jagoret, P. (2016). Cacao Nutrition and Fertilization. En E. Lichtfouse (Ed.), *Sustainable Agriculture Reviews* (Vol. 19, pp. 155-202). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-26777-7\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-26777-7_4)

Somarriba, E., Cerda, R., Orozco, L., Cifuentes, M., Dávila, H., Espin, T., Mavisoy, H., Ávila, G., Alvarado, E., Poveda, V., Astorga, C., Say, E., Deheuvels, O., 2013. Carbon stocks and cacao yields in agroforestry systems of Central America. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 173, 46–57.  
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.04.013>

Suci, N.A., De Vivo, R., Rizzati, N., Capri, E., 2022. Cd content in phosphate fertilizer: Which potential risk for the environment and human health? *Current Opinion in Environmental Science & Health* 30, 100392. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2022.100392>

- Suh, N.N., Molua, E.L., 2022. Cacao production under climate variability and farm management challenges: Some farmers' perspective. *Journal of Agriculture and Food Research* 8, 100282. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100282>
- Šūmane, S., Kunda, I., Knickel, K., Strauss, A., Tisenkopfs, T., Rios, I. D. I., Rivera, M., Chebach, T., & Ashkenazy, A. (2018). Local and farmers' knowledge matters! How integrating informal and formal knowledge enhances sustainable and resilient agriculture. *Journal of Rural Studies*, 59, 232-241. <https://doi.org/10.1016/j.jrurstud.2017.01.020>
- Sumberg, J., Okali, C., & Reece, D. (2003). Agricultural research in the face of diversity, local knowledge and the participation imperative: Theoretical considerations. *Agricultural Systems*, 76(2), 739-753. [https://doi.org/10.1016/S0308-521X\(02\)00153-1](https://doi.org/10.1016/S0308-521X(02)00153-1)
- Takrama, J., Afrifa, A.A., Ofori-Frimpong, K., Jonfia-Essien, W.A., Galyuon, I., n.d. Cadmium contamination of cacao beans and cacao growing agricultural soils of Ghana: There is no cause for public alarm.
- Tamburini, G., Bommarco, R., Wanger, T. C., Kremen, C., Van Der Heijden, M. G. A., Liebman, M., & Hallin, S. (2020). Agricultural diversification promotes multiple ecosystem services without compromising yield. *Science Advances*, 6(45), eaba1715. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aba1715>
- Teague, M., 2022. Insights into the Cacao and Forests Initiative: Smallholder Engagement with Certification Programs and Agroforestry. *Society & Natural Resources* 35, 410–429. <https://doi.org/10.1080/08941920.2022.2045412>
- Tennhardt, L., Lazzarini, G., Weisshaidinger, R., Schader, C., 2022. Do environmentally-friendly cacao farms yield social and economic co-benefits? *Ecological Economics* 197, 107428. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2022.107428>
- Tham-Agyekum, E. K., Ntem, S., Sarbah, E., Anno-Baah, K., Asiedu, P., Bakang, J.-E. A., & Jones, E. O. (2023). Resilience against climate variability: The application of nature based solutions by cacao farmers in Ghana. *Environmental and Sustainability Indicators*, 20, 100310. <https://doi.org/10.1016/j.indic.2023.100310>
- Tham-Agyekum, E.K., Wongnaa, C.A., Kwapon, N.A., Boansi, D., Ankuyi, F., Prah, S., Andivi Bakang, J.-E., Okorley, E.L., Laten, E., 2023. Impact of children's appropriate work participation in cacao farms on household welfare: Evidence from Ghana. *Journal of Agriculture and Food Research* 14, 100901. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100901>
- Thomas, E., Loor, R., Argout, X., Fouet, O., Zambrano, F., Zhang, D., 2024. Diversidad genética de cacao en el Ecuador. [https://www.researchgate.net/publication/382129884\\_Diversidad\\_genetica\\_de\\_cacao\\_en\\_el\\_Ecuador](https://www.researchgate.net/publication/382129884_Diversidad_genetica_de_cacao_en_el_Ecuador)
- Thomas, E., Atkinson, R., Zavaleta, D., Rodriguez, C., Lastra, S., Yovera, F., Arango, K., Pezo, A., Aguilar, J., Tames, M., Ramos, A., Cruz, W., Cosme, R., Espinoza, E., Chavez, C.R., Ladd, B., 2023. The

- distribution of cadmium in soil and cacao beans in Peru. *Science of The Total Environment* 881, 163372. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163372>
- Toledo-Hernández, M., Wanger, T.C., Tscharntke, T., 2017. Neglected pollinators: Can enhanced pollination services improve cacao yields? A review. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 247, 137–148. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.05.021>
- Tondoh, J. E., Kouamé, F. N., Martinez Guéi, A., Sey, B., Wowo Koné, A., & Gnessougou, N. (2015). Ecological changes induced by full-sun cacao farming in Côte d'Ivoire. *Global Ecology and Conservation*, 3, 575-595. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2015.02.007>
- Useche, P., & Blare, T. (2013). Traditional vs. modern production systems: Price and nonmarket considerations of cacao producers in Northern Ecuador. *Ecological Economics*, 93, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2013.03.010>
- Utomo, B., Prawoto, A. A., Bonnet, S., Bangviwat, A., & Gheewala, S. H. (2016). Environmental performance of cacao production from monoculture and agroforestry systems in Indonesia. *Journal of Cleaner Production*, 134, 583-591. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.08.102>
- Vaast, P., & Somarriba, E. (2014). Trade-offs between crop intensification and ecosystem services: The role of agroforestry in cacao cultivation. *Agroforestry Systems*, 88(6), 947-956. <https://doi.org/10.1007/s10457-014-9762-x>
- Van Vliet, J. A., & Giller, K. E. (2017). Mineral Nutrition of Cacao. Advances in Agronomy (Vol. 141, pp. 185-270). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2016.10.017>
- Vanderschueren, R., Argüello, D., Blommaert, H., Montalvo, D., Barraza, F., Maurice, L., Schreck, E., Schulin, R., Lewis, C., Vazquez, J.L., Umaharan, P., Chavez, E., Sarret, G., Smolders, E., 2021. Mitigating the level of cadmium in cacao products: Reviewing the transfer of cadmium from soil to chocolate bar. *Science of The Total Environment* 781, 146779. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146779>
- Vanderschueren, R., Helsen, F., Doevenspeck, J., Delcour, J.A., Smolders, E., 2023. Incubation tests mimicking fermentation reveal that phytate breakdown is key to lower the cadmium concentrations in cacao nibs. *Food Chemistry* 398, 133899. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133899>
- Vandromme, M., Van De Sande, E., Pinceel, T., Vanhove, W., Trekels, H., & Vanschoenwinkel, B. (2023). Resolving the identity and breeding habitats of cryptic dipteran cacao flower visitors in a neotropical cacao agroforestry system. *Basic and Applied Ecology*, 68, 35-45. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2023.03.002>
- Vanhove, W., Vanhoudt, N., & Van Damme, P. (2016). Effect of shade tree planting and soil management on rehabilitation success of a 22-year-old degraded cacao (*Theobroma cacao* L.) plantation. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 219, 14-25. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.12.005>

Vessey, J.K., n.d. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers.

Wade, J., Ac-Pangan, M., Favoretto, V.R., Taylor, A.J., Engeseth, N., Margenot, A.J., 2022. Drivers of cadmium accumulation in *Theobroma cacao* L. beans: A quantitative synthesis of soil-plant relationships across the Cacao Belt. PLoS ONE 17, e0261989.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261989>

Wang, C., Xie, Y., & Tan, Z. (2024). Soil potassium depletion in global cereal croplands and its implications. *Science of The Total Environment*, 907, 167875.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167875>

Weber, K., & Quicker, P. (2018). Properties of biochar. *Fuel*, 217, 240-261.  
<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.12.054>

Wessel, M. (1971). *Fertilizer requirements of cacao (*Theobroma cacao* L.) in South-Western Nigeria* (Doctoral dissertation, Koninklijk Instituut voor de Tropen). <https://edepot.wur.nl/192240>

Wessel, M., & Quist-Wessel, P. M. F. (2015). Cacao production in West Africa, a review and analysis of recent developments. *NJAS: Wageningen Journal of Life Sciences*, 74-75(1), 1-7.  
<https://doi.org/10.1016/j.njas.2015.09.001>

Wibaux, T., Konan, D.-C., Snoeck, D., Jagoret, P., & Bastide, P. (2018). STUDY OF TREE-TO-TREE YIELD VARIABILITY AMONG SEEDLING-BASED CACAO POPULATIONS IN AN INDUSTRIAL PLANTATION IN CÔTE D'IVOIRE. *Experimental Agriculture*, 54(5), 719-730.  
<https://doi.org/10.1017/S0014479717000345>

**Titre :** Effet des intrants biologiques sur les rendements et le transfert du cadmium dans le système sol-plante lors de la production de cacao biologique en Équateur et Côte d'Ivoire

**Mots clés :** Theobroma cacao L., cadmium, amendements organiques, sol, Equateur, Côte d'Ivoire

**Résumé :** La production mondiale de cacao repose aujourd'hui sur 5 millions d'agriculteurs dont la plupart sont des petits producteurs dans des situations socioéconomiques précaires. Ces derniers font face à plusieurs enjeux qui limitent la commercialisation de leur production : en Amérique latine, la dernière régulation européenne sur les teneurs en cadmium (Cd) dans les produits chocolatés affecte une grande partie des fèves de cacao des pays andins, et en Afrique de l'Ouest, la faible productivité à l'hectare limite les revenus des producteurs. Pour répondre à cette double problématique, l'utilisation d'intrants organiques et biologiques couplée à de bonnes pratiques agricoles apparaissent comme des leviers nécessaires pour améliorer la fertilité des sols, immobiliser les éléments toxiques et réduire leur translocation vers les organes aériens mais aussi contrôler les maladies et les ravageurs du cacao.

C'est dans cette démarche agroécologique que nous avons conduit une recherche participative de terrain en Équateur et en Côte d'Ivoire, en collaboration avec la SCOP ETHIQUABLE® pour tester les effets du biochar, du bokashi (type de compost), de biofertilisants et de solutions de microorganismes pour améliorer la santé des cacaoyères. Pour cela, nous avons établi des essais agronomiques chez 25 producteurs répartis entre les deux pays, où nous avons régulièrement effectué des analyses physico-chimiques de sols, des fèves, des feuilles et de litière.

Au terme de 1 an et demi en Côte d'Ivoire et 2 ans et demi en Équateur, nous avons constaté que les intrants testés, dans le temps imparti, n'ont pas pu répondre à tous les objectifs. En Équateur, les concentrations en Cd dans les différentes matrices agronomiques sont extrêmement variables spatialement et les processus physiologiques de cette espèce cauliflore jouent un rôle clé dans la mobilité du Cd au sein de l'arbre, qui n'ont pas été modifiés par l'applications d'intrants organiques et biologiques. Ceci peut être partiellement expliqué par le fait que les paramètres physicochimiques des sols (CEC, Corganique, pH, nutriments, etc.) ont été influencés par la période d'échantillonnage plus que par les traitements et qu'ils sont supposés gouverner la biodisponibilité du Cd. Cependant, nous avons tout de même observé une tendance à l'amélioration des rendements en Côte d'Ivoire et en Équateur suite à l'application de bokashi ou de biochar avec un biofertilisant liquide et aux doses les plus faibles, ainsi qu'à la réduction des maladies (jusqu'à 900 kg ha<sup>-1</sup> de plus que les parcelles témoins). Il s'avère également que l'utilisation de bokashi et de biofertilisants était profitable pour les producteurs dans certains scénarios de prix et de rendements. Par cette étude, nous avons réussi à susciter un intérêt fort de la part des producteurs vis-à-vis de l'utilisation d'intrants organiques dans les cacaoyères, leur apportant plus d'autonomie financière ce qui est prometteur dans un contexte de transition agroécologique de la culture du cacao.

**Title:** Effect of organic inputs on yields and cadmium transfer in the soil-plant system in organic cocoa farming in Ecuador and Côte d'Ivoire

**Key words:** Theobroma cacao L., cadmium, organic amendments, soil, Ecuador, Côte d'Ivoire

**Abstract:** Worldwide cocoa production today relies on 5 million farmers, most of whom are small-scale producers in precarious socio-economic situations. In Latin America, the latest European regulation on cadmium (Cd) levels in chocolate products affects a large proportion of cocoa beans from Andean countries, while in West Africa, low productivity per hectare limits producers' income. In response to this dual problem, the use of organic and biological microbiological inputs coupled with good agricultural practices appear to be the necessary levers for improving soil fertility, immobilizing toxic elements and reducing their translocation to aerial organs, as well as controlling cocoa diseases and pests.

With this agroecological approach in mind, we conducted participatory field research in Ecuador and Côte d'Ivoire, in collaboration with SCOP ETHIQUABLE®, to test the effects of biochar, bokashi (a type of compost), biofertilizers and microorganism solutions to improve the health of cocoa plantations. To do this, we set up agronomic trials at 25 growers in the two countries, where we carried out regular physicochemical analyses of soil, beans, leaves and litter.

After 1.5 years in Côte d'Ivoire and 2.5 years in Ecuador, we found that, within the time available, the inputs tested were unable to meet all the objectives. In Ecuador, Cd concentrations in the various agronomic matrices are extremely variable spatially, and the physiological processes of this cauliflorous species play a key role in Cd mobility within the tree, which were not altered by the application of organic and biological inputs. This can be partly explained by the fact that soil physicochemical parameters (CEC, Organic, pH, nutrients, etc.) were influenced more by the sampling period than by the treatments and they are supposed to drive Cd bioavailability. However, we did observe a trend towards improved yields (up to 900 kg ha<sup>-1</sup> more than the control treatment) in Côte d'Ivoire and Ecuador following the application of bokashi or biochar with a liquid biofertilizer and at the lowest doses, as well as a reduction in disease. It also turns out that the use of bokashi and biofertilizers was profitable for growers in certain price and yield scenarios. Through this study, we have succeeded in arousing strong interest among growers in the use of artisanal organic inputs in cocoa farms, bringing them greater financial autonomy