



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO Y CRECIMIENTO EN MAÍZ (*Zea mays* L.) EXPUESTO A CADMIO
(Modalidad: Tesis de Grado)

NORYELING LUISANA LANZA LONGART

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA

CUMANÁ, 2018

BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO Y CRECIMIENTO EN MAÍZ (*Zea mays* L.) EXPUESTO A CADMIO

APROBADO POR:

Profa. Leida Marcano
Asesora

Prof. José Véliz
Co-Asesor

Jurado

Jurado

ÍNDICE

DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTOS	II
LISTA DE TABLAS	III
LISTA DE FIGURAS.....	IV
RESUMEN	V
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	6
Obtención del material biológico	6
Diseño experimental.....	6
Bioensayo de exposición de semillas de <i>Z. mays</i> a cadmio	6
Índices de germinación y desarrollo radicular	7
Bioensayo de exposición de plántulas de <i>Z. mays</i> a cadmio.....	7
Tasa relativa de crecimiento (TRC).....	8
Índice de tolerancia (IT)	9
Glutation reducido (GSH).....	9
Peroxidación de lípidos.....	10
Análisis estadísticos	10
RESULTADOS	11
Germinación y establecimiento de las plántulas <i>Z. mays</i>	11
Síntomas en plantas de <i>Z. mays</i>	11
Crecimiento de <i>Z. mays</i>	13
GSH.....	14
Estrés oxidativo: Peroxidación de lípidos	15
Índices de tolerancia.....	16
DISCUSIÓN	17
CONCLUSIONES	28
BIBLIOGRAFÍA	29
HOJA DE METADATOS	40

DEDICATORIA

A mis padres

A mis hermanas

A mi familia en general

Y a toda la comunidad científica de Venezuela que sigue haciendo investigación de calidad a pesar de las adversidades!

AGRADECIMIENTOS

A:

Dios padre por guiar cada uno de mis pasos y darme paciencia para seguir.

Mi Abuela Luisa Rojas, mis padres Noel y Yelipza y mis hermanas Noelieth y Oriana, quienes me apoyaron y animaron en todo momento. De manera primordial a mi madre por ser mi amiga y compañera en esta ciencia.

La profa. Leida Marcano por su tutoría, quien con su gran profesionalismo y paciencia logró asesorarme de la mejor manera en el desarrollo de esta investigación, además de brindarme conocimientos para mi formación profesional en general.

Los profesores José Véliz, José Imery y Elena Marcano, por su valiosa colaboración que me permitió culminar con éxito el desarrollo de mi tesis.

El prof. Ángel Fariña y todos los profesores que de cualquier manera con dedicación, formaron parte de mi preparación académica; muy especialmente al prof. Víctor por su cooperación y compromiso en la realización de mi investigación, además de sus enseñanzas de la vida y su apreciada amistad.

Mis grandes, queridos, apreciados y siempre recordados compañeros (as) y amigos (as), Arquímedes Contreras, Ángel Duran, Anna Rodríguez, Mario Cova, Yolanda Colón, quienes me ayudaron, animaron y colaboraron incondicionalmente para poder lograr este trabajo.

La Escuela de Ballet Clásico Nena Coronil y a mi maestra Carolina Carvajal por haber sido parte de mi formación en la vida a la par con mis estudios universitarios.

Finalmente quiero expresar un profundo agradecimiento a todas las personas que de una u otra manera contribuyeron en el desarrollo y culminación de este trabajo.

LISTA DE TABLAS

- Tabla 1. Índices de germinación y desarrollo temprano de plantas de *Z. mays* L. controles y expuestas durante nueve días a los distintos tratamientos con Cd: Porcentaje relativo de germinación (PRG), índice de germinación (IG) y crecimiento relativo de la radícula (CRR). T₀ = (control), T₁ = (5), T₂ = (25), T₃ = (50) μ M de Cd..... 11
- Tabla 2. Índices de Tolerancia de las plantas de *Z.mays* L. en desarrollo inicial (IT_I) y establecidas (IT_F) controles (T₀) y expuestas a 5 (T₁), 25 (T₂) y 50 (T₃) μ M de Cd. 16

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Síntomas en plantas de <i>Z. mays</i> L. tratadas durante 30 días con diferentes concentraciones de Cd (5, 25 y 50 μ M).....	12
Figura 2. Número de hojas (A) y longitud (cm) de láminas, tallos y raíces (B), en plantas de <i>Z. mays</i> L. controles y expuestas durante 30 días a Cd (5, 25 y 50 μ M).....	13
Figura 3. Tasa relativa de crecimiento (g/día) en plantas de <i>Z. mays</i> L. controles y expuestas durante 30 días a Cd (5, 25 y 50 μ M).....	14
Figura 4. Concentración de GSH (mg/g.m.h) en hojas y raíces de plantas de maíz (<i>Z. mays</i> L.) controles y expuestas a Cd (5, 25 y 50 μ M).....	15
Figura 5. Concentración de MDA (μ M/g.m.h), en hojas y raíces de plantas de maíz (<i>Z. mays</i> L.) controles y expuestas a Cd (5, 25 y 50 μ M).....	15

RESUMEN

Con el propósito de evaluar los efectos del Cd sobre la germinación, crecimiento, defensa antioxidante y estrés oxidativo en *Zea mays* L., se utilizaron diferentes respuestas fisiológicas y bioquímicas como biomarcadores (BM). En una primera fase del estudio, durante nueve días consecutivos, semillas desinfectadas de esta especie fueron colocadas en germinadores contentivos de papel absorbente humedecido ya sea en agua destilada, correspondiente al tratamiento control (T_0) o en soluciones de cadmio a concentraciones de 5 μM (T_1), 25 μM (T_2) y 50 μM (T_3). Finalizado el periodo de exposición, se estimó el porcentaje de germinación relativo (PGR), índice de germinación (IG), crecimiento relativo de la radícula (CRR) e índice de tolerancia de las plántulas de desarrollo inicial (IT_1). En la segunda fase, de las plántulas de crecimiento inicial obtenidas en la fase anterior, se seleccionaron 10 plántulas de apariencia saludable y tamaño homogéneo para ser expuestas durante 30 días a los mismos tratamientos con Cd en materos plásticos, contentivos de un sustrato orgánico natural, mezclado con agua (T_0) y las soluciones respectivas del metal. Durante el ensayo, se hicieron observaciones de la sintomatología de las plántulas y, como BMs de crecimiento se estimaron: la Tasa Relativa de Crecimiento (TCR), el número de hojas y las longitudes de la raíz, tallo y hojas; las concentraciones de glutatión reducido (GSH) y malondialdehído (MDA) en raíces y hojas fueron evaluadas como marcadores de defensa antioxidante y estrés oxidativo, respectivamente. Adicionalmente, al final de este ensayo se cuantificó el Índice de Tolerancia en estas plantas (IT_F). Ambos bioensayos se llevaron a cabo en condiciones naturales con temperatura y fotoperiodo de 28 ± 3 °C y 12/12 h luz indirecta/oscuridad, respectivamente. Los resultados del primer ensayo, revelaron una elevada tasa de germinación de las semillas de *Z. mays*, obteniéndose un PGR de 100 %; éste índice al igual que el IG no fueron afectados por la exposición al metal; sin embargo, el CRR decreció en T_2 y T_3 . Similarmente, el IT_1 fue afectado por el metal, pero sólo en T_3 . Los resultados del segundo ensayo evidenciaron que, los distintos tratamientos con Cd no afectaron el IT_F , ni el crecimiento de las plantas expuestas al metal por 30 días, en contraste, la concentración de GSH en raíces y hojas aumentó significativamente en T_1 ; mientras que, el nivel de MDA incrementó sólo en T_3 . Se concluye que, ninguna de las concentraciones de Cd afectaron la germinación; no obstante, la elongación radicular y desarrollo inicial de las plántulas fueron más sensibles a las dosis más altas del metal, inferencia sustentada además, por el descenso en el IT_1 a esa concentración. La estimulación de los niveles de GSH en hojas y raíces, revelan la importancia de esta molécula como defensa antioxidante y estrategia bioquímica que le permite tolerar las dosis bajas (5 y 25 μM Cd) y controlar la toxicidad del metal, evitando el desarrollo de estrés oxidativo en ambos tejidos; en cambio, a la dosis de Cd más alta (50 μM), se sobrepasa la capacidad de defensa, evidenciándose daños oxidativos asociados a incrementos de MDA. Los IT s corroboraron que 5 y 25 μM de Cd son dosis toleradas por la especie, pero 50 μM de Cd ya es perjudicial y afecta el crecimiento, al menos durante el desarrollo inicial de las plántulas de *Z. mays*.

INTRODUCCIÓN

Diversas sustancias químicas, derivadas principalmente de la actividad industrial, son continuamente liberadas al ambiente, en el que persisten por mucho tiempo y ponen en riesgo la salud del ser humano y la sustentabilidad de los ecosistemas. Por tal motivo, desde hace algunos años ha incrementado el interés científico por el desarrollo de protocolos metodológicos que permitan evaluar, monitorear y mitigar el impacto de tales sustancias, empleando distintas respuestas biológicas conocidas como biomarcadores (Ali y Naaz, 2013; Zapata-Vívenes *et al.*, 2015; Hernández *et al.*, 2016; Marcano *et al.*, 2017).

El término biomarcador (BM) se le asigna a cualquier respuesta frente a la exposición de un químico (o mezclas de ellos), estimada a distintos niveles de organización biológica, que da una medida de la exposición y, en ciertos casos, de los efectos que producen dichas sustancias (Depledge *et al.*, 1995). El uso de BMs en los programas de evaluación y monitoreo de la contaminación química, surge como un nuevo enfoque complementario al tradicional, basado en el análisis cuantitativo de los químicos en el medio, entre otras razones porque este último excluye aspectos fundamentales como: los efectos que generan las sustancias químicas sobre el componente biótico, efectos interactivos (sinergismo y antagonismo) entre los químicos y su biodisponibilidad (Schettino *et al.*, 2012).

A pesar de que los estudios sobre BMs a nivel de poblaciones y comunidades son de mayor relevancia desde el punto ecotoxicológico; por la participación e interacción de muchos factores físico-químicos y la falta de control de éstos, se hace muy complejo y difícil el desarrollo de investigaciones a estos niveles. En este sentido, la mayoría de las investigaciones se llevan a cabo en individuos y, los cambios moleculares, celulares, en procesos bioquímicos y fisiológicos, así como en el crecimiento y la reproducción son los BMs más frecuentemente utilizados (Calisi *et al.*, 2011). De especial importancia por su carácter predictivo son los BMs medidos a nivel bioquímico, ya que sirven como

señales de alerta temprana de daños causados por los contaminantes, siendo de mucha utilidad en la evaluación de riesgos de impacto ambiental en los ecosistemas (Pernía *et al.*, 2008; Fontanetti *et al.*, 2011).

Diversos grupos taxonómicos han sido empleados como biomonitores del estado de salud del suelo; entre ellos destacan, por su interacción directa con este medio, las lombrices de tierra (Marcano *et al.*, 2013; Cortesía *et al.*, 2015; Hernández *et al.*, 2016; Marcano *et al.*, 2017) y las plantas superiores (Fontanetti *et al.*, 2011; Rastgoo *et al.*, 2014; Kisa *et al.*, 2016). Particularmente, estas últimas son organismos de escasa movilidad y por lo tanto, testigos fieles de los contaminantes que continuamente ingresan al suelo. Son altamente sensibles a las variaciones medioambientales y reaccionan más rápido que otros organismos ante la presencia de sustancias tóxicas (Ojekunle *et al.*, 2014). Además, por ser la base de la cadena alimenticia, la absorción de contaminantes en plantas puede facilitar el ingreso y transferencia de éstos a niveles superiores en la trama trófica (proceso conocido como biomagnificación), poniendo en riesgo la salud de organismos animales, inclusive la del ser humano (Manara, 2012; Remon *et al.*, 2013).

Los metales pesados se incluyen dentro del grupo de contaminantes ambientales más tóxicos debido, entre otros aspectos, a su elevada persistencia en el ambiente, alto potencial de bioacumulación y baja tasa de excreción en los organismos; además, son fácilmente transportados por el viento y el agua a través de largas distancias, causando efectos adversos a la biota (Ramírez, 2002; Martínez *et al.*, 2013). La presencia de metales pesados en el suelo es un importante factor limitante del desarrollo y crecimiento de las plantas; elementos como el cobre (Cu) y zinc (Zn) a bajas concentraciones son micronutrientes esenciales; sin embargo, otros metales como el plomo (Pb), aluminio (Al) y cadmio (Cd) no tienen función biológica alguna y son conocidos por su elevada toxicidad (Hodson y Bryant, 2012).

En los últimos años, la contaminación de los suelos por Cd ha incrementado drásticamente convirtiéndose en un severo problema a nivel mundial (Yue *et al.*, 2016), en gran parte debido, a los múltiples usos de este metal en industria como, la textil, fabricación de pinturas, plásticos, vidrios, cauchos, tintas de impresión y pilas, además su larga vida media en el suelo (aproximadamente 300 años) impide el reciclaje continuo en el ambiente, por lo que se acumula progresivamente en el medio y en el componente biótico (Tran y Popova, 2013). En plantas, este metal es rápidamente absorbido y transportado a diferentes tejidos, hecho que podría explicar su elevada toxicidad aún a muy bajas concentraciones (Gallego *et al.*, 2012). Su acción perjudicial incluye, inhibición del crecimiento y desarrollo de la planta, alteración de la fotosíntesis y del balance hídrico y genotoxicidad. El Cd igualmente, altera el estado nutricional de la planta, afectando la absorción de iones metálicos esenciales y su metabolismo, e interfiere con las vías de transducción de señales (Kwankua, 2012; Gill *et al.*, 2012; Irfan *et al.*, 2014).

Además de su acción directa, interactuando con distintas macromoléculas (proteínas estructurales, enzimas, lípidos y ácidos nucleicos), la acción tóxica del Cd está relacionada con daños oxidativos, causados por una sobreproducción de especies reactivas del oxígeno (EROs); entre los que se incluyen, el anión superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo ($OH^\cdot$) y otros como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) que, aunque no es un oxiradical, su metabolismo puede inducir la formación del radical hidroxilo. (Ravindran *et al.*, 2013; Pérez-Chaca *et al.*, 2014). El control de concentraciones fisiológicamente apropiadas de las EROs está a cargo de enzimas como, la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), guayacol peroxidasa (POX), glutatión peroxidasa (GPX), ascorbato peroxidasa (APX), glutatión reductasa (GR) y polifenol oxidasa (PPO) y, moléculas no enzimáticas tales como, fitoquelatinas (FQ), carotenos (CAR), fenoles totales (FT), ascorbato (ASC) y el glutatión en su estado reducido (GSH) (Rastgoo *et al.*, 2014; Kisa *et al.*, 2016). De éstos, el tripéptido GSH es uno de los más abundantes y, junto con el ASC y las FQs constituyen la principal línea de defensa contra el estrés

oxidativo inducido por la exposición a metales, (Hodson y Bryant, 2012; Anjum *et al.*, 2015).

Ciertas patologías oxidativas se pueden desencadenar por la exposición a metales pesados cuando se sobrepasa la capacidad de defensa antioxidante celular y, uno de los blancos moleculares más sensibles al ataque de EROs son los lípidos de las membranas, los cuales son oxidados a radicales lipídicos e hidroperóxidos orgánicos formando malondialdehído (MDA) como producto. La peroxidación de lípidos es uno de los procesos que contribuye con la pérdida de la integridad estructural de las membranas y funcionalidad celular bajo situaciones de estrés oxidativo, por ello se emplea como marcador de este daño oxidativo en organismos expuestos a metales (Manara, 2012; Saidi *et al.*, 2013).

Existen muchos antecedentes sobre el uso de BMs en plantas que revelan la acción tóxica de muchos metales pesados. En relación al Cd, D'Souza y Devaraj (2013) observaron un incremento en las concentraciones de H₂O₂ y MDA, asociado con descenso de GSH en hojas y raíz del frijol *Lablab purpureus*. De la misma manera, en plantas de *Phaseolus vulgaris* se reportó un incremento en las concentraciones de H₂O₂, así como del contenido de lípidos peroxidados como resultado de la exposición de a este metal (Saidi *et al.*, 2013). La exposición de *Glicine max* a Cd produjo un aumento en la acumulación de EROs y óxido nítrico en las raíces, coincidente con incrementos en la actividad de enzimas antioxidante (Pérez- Chaca *et al.*, 2014).

El maíz, junto con el trigo y el arroz, es uno de los cereales de mayor importancia a nivel mundial, siendo un gran porcentaje de este cereal que se produce o importa en cada país, destinado al consumo humano. En este sentido, los cultivos de maíz son un factor de sobrevivencia para poblaciones que habitan en la mayoría de los países del continente americano (Serratos, 2009). Algunos estudios han revelado que el maíz exhibe una excepcional tolerancia al Cd, asociada con el desarrollo de estrategias bioquímicas que le permiten absorber y acumular en sus tejidos elevadas concentraciones de este metal (Anjum *et al.*, 2015). En este contexto, Telkiran y Ergün (2014), encontraron una

disminución en la biomasa de raíz y hojas, inverso a un aumento de las enzimas antioxidantes. Kisa *et al.*, (2016), evidenciaron un incremento en las concentraciones de los ácidos clorogénico y rutínico; ambos relacionados con funciones de defensa antioxidante y control de la toxicidad inducida por metales pesados. El análisis de la actividad de Cd en raíces, reveló que la auxina afecta la acumulación de este metal como un mecanismo de compensación al daño ocasionado (Yue *et al.*, 2016).

Como se evidencia, a nivel mundial, ha sido creciente el empleo de plantas como biomonitores en estudios de evaluación de toxicidad por metales pesados; sin embargo, en Venezuela es escasa la información en este sentido. A pesar de que existe una línea de investigación orientada a evaluar la acción perjudicial de estas sustancias químicas y su papel en el deterioro del ambiente, la mayoría de los estudios han utilizado modelos animales; principalmente invertebrados, tales como, el poliqueto *Eurythoe complanata* (Marcano *et al.*, 1996; 1997; Nusetti *et al.*, 1998; Zapata-Vívenes *et al.*, 2005), la ascidia *Pyura vittata* (Arredondo *et al.*, 2012), el mejillón *Perna viridis* (Lemus *et al.*, 2013; 2014) y las lombrices de tierra *Amyntas hawayanus* (Nusetti *et al.*, 1999) e *Eisenia* sp. (Marcano, 2006; Jiménez, 2009; Polo *et al.*, 2011; Hernández *et al.*, 2016; Marcano *et al.*, 2018). También en vertebrados como peces de río (Hermoso y Hernández, 2005) y el pez marino *Abudefduf saxatilis*, en el Parque Nacional Mochima (Pérez, 2012).

Tomando en cuenta la escasez de estudios ecotoxicológicos en plantas realizados en nuestro país y considerando que la eficiente acumulación de Cd en plantas como el maíz, particularmente en frutos comestibles, pone en riesgo la producción de estos cultivos y la seguridad alimentaria de la población, se consideró de gran importancia desde el punto de vista ambiental y de la salud pública, el desarrollo de la presente investigación, en la que se planteó como objetivo general: evaluar los efectos del Cd en *Zea mays* mediante biomarcadores indicativos del crecimiento y desarrollo de la planta, de las defensas antioxidantes y de estrés oxidativo.

METODOLOGÍA

Obtención del material biológico

Las semillas de maíz (*Zea mays*) que se emplearon en los bioensayos fueron adquiridas en un local comercial, ubicado en Cumaná, estado Sucre, Venezuela, y el sustrato orgánico fue suministrado por el laboratorio de investigación en genética vegetal y biotecnologías agrícolas de la Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

Diseño experimental

El bioensayo de exposición a Cd de las semillas y plántulas de *Z. mays* se llevó a cabo en condiciones de ambiente natural, utilizando un diseño completamente aleatorizado con cuatro tratamientos (control y tres concentraciones de Cd). Para el ensayo de germinación, se utilizaron 50 semillas por cada tratamiento, distribuidas en cinco réplicas (germinadores) de 10 semillas cada una y, para el ensayo de exposición de las plántulas al metal, se emplearon 40 plántulas, distribuidas en 10 réplicas por cada tratamiento; cada réplica estuvo conformada por una plántula sembrada individualmente en un recipiente plástico.

Bioensayo de exposición de semillas de *Z. mays* a cadmio

Siguiendo las recomendaciones de D'Souza y Dejarav (2013), previo al ensayo las semillas de *Z. mays*, fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio (4,5%) durante 3 min, lavadas con agua destilada estéril y luego sumergidas en agua destilada por 24 h a una temperatura de $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$ y condiciones naturales de luz y oscuridad. Seguidamente, se seleccionaron semillas de tamaño homogéneo y aspecto saludable para conformar los distintos tratamientos. Se utilizaron 200 semillas en total; 50 para cada uno de los grupos, distribuidas en cinco réplicas de 10 semillas cada una. Las semillas se colocaron en germinadores, preparados con recipientes de vidrio estériles (185 ml), contentivos de papel absorbente humedecido con 10 ml de agua destilada sin metal para el caso del tratamiento control (T_0) y 10 ml de la solución del metal, a concentraciones nominales

de 5 (T₁), 25 (T₂) y 50 (T₃) µM de Cd (CdCl₂, Sigma Co) para los tratamientos con el metal. El ensayo se llevó a cabo durante nueve días sujeto al fotoperiodo natural (12 h/12 h de luz y oscuridad, respectivamente) y temperatura ambiente (28 ± 3°C). Diariamente se hicieron riegos con 5 ml de agua sin metal para mantener la humedad del sistema. Durante los nueve días del bioensayo se hicieron conteos diarios del número de semillas germinadas y se tomaron medidas de la elongación de la raíz en todos los tratamientos, para determinar los índices de germinación y desarrollo de las plántulas. Adicionalmente, se estimó la biomasa seca de las plántulas de cada tratamiento para calcular el Índice de Tolerancia (IT).

Índices de germinación y desarrollo radicular

Se utilizó la metodología seguida por Tiquia (2000) para determinar el porcentaje de germinación relativo (PGR) y el crecimiento relativo de la radícula (CRR) y la de Liu *et al.* (2012) que toma en consideración lo sugerido por la Asociación Oficial de Analistas de Semillas (AOAS), para el índice de germinación (IG), aplicando las siguientes ecuaciones:

$$PGR = \frac{\text{Nº de semillas tratadas con Cd germinadas}}{\text{Nº de semillas controles germinadas}} \times 100$$

$$CRR = \frac{\text{Alargamiento de radícula tratadas con Cd}}{\text{Alargamiento de radícula control}} \times 100$$

$$IG = \sum (Gt/Dt)$$

Donde:

Gt: Cantidad de semillas germinadas

Dt: Tiempo de germinación

Bioensayo de exposición de plántulas de *Z. mays* a cadmio

Para este ensayo se emplearon 40 plántulas de tamaño homogéneo y de nueve días de germinadas, obtenidas del bioensayo realizado con semillas y descrito en el párrafo anterior. El grupo control consistió de 10 plantas, las cuales fueron sembradas

individualmente en recipientes plásticos (325 ml) contentivos de 150 g de un sustrato de humus de criaderos de *Eisenia andrei*, humedecido con 90 ml de agua destilada (T₀) y 90 ml de solución del metal, a concentraciones nominales de 5 (T₁), 25 (T₂) y 50 (T₃) µM de Cd (CdCl₂, Sigma Co) para los tratamientos con el metal. Los recipientes se mantuvieron durante 30 días en condiciones de ambiente natural; se hicieron riegos cada tres días con 50 ml de agua para mantener la humedad en los sustratos a valores cercanos al de la capacidad de campo (60%) y el fotoperiodo fue de 12 h/12 h de luz y oscuridad, respectivamente; así como también se hicieron registros diarios de la temperatura (28 ± 3 °C). Durante el transcurso del bioensayo se hicieron observaciones de algunos síntomas y, al término del periodo de exposición (30 días) para estimar los índices de crecimiento, a cada una de las plantas de los distintos tratamientos se les cuantificó el número de hojas, la longitud foliar, del tallo y de la raíz. Seguidamente, se tomaron muestras de la parte aérea y de la raíz para estimar la biomasa seca y calcular la tasa relativa de crecimiento (TRC) y el índice de tolerancia. Adicionalmente se tomaron muestras de tejido fresco (hojas y raíces) para evaluar los BMs bioquímicos (GSH y MDA).

Tasa relativa de crecimiento (TRC)

Para estimar la TRC, se cuantificó la biomasa seca de las partes aérea y radical de las plantas evaluadas. Para ello, cada parte vegetal fue pesada en fresco previamente en balanza analítica (Analytical Plus Ohaus) y sometida luego a un proceso de secado a 80 °C en estufa (Pselecta Fuse, A:15) hasta obtenerse un masa constante (48 h). Así, la sumatoria de las biomásas secas de ambas partes se usó para calcular la TRC (g/día), aplicando la fórmula sugerida por Blackman, modificada por Hunt (1978):

$$TRC \text{ (g/día)} = \frac{\ln BS \text{ al } T_f - \ln BS \text{ al } T_i}{t}$$

Donde:

ln: logaritmo neperiano

BS_{T_f}: Biomasa seca total a los 30 días

BST_i: Biomasa seca total al día 0

t: Tiempo final (30 días)

Índice de tolerancia (IT)

Para calcular el IT se siguió la propuesta de Orroño (2011), empleando la fórmula:

$$IT (\%) = \frac{\text{Peso seco promedio de plantas con Cd}}{\text{Peso seco promedio de plantas control}} \times 100$$

Glutation reducido (GSH)

Para la determinación de la concentración del tripéptido GSH se utilizó el método GSH-400 de Bioxytech® proporcionado por la casa comercial Oxis Research™; este método colorimétrico se basa en una reacción química de dos pasos; el primero lleva a la formación de productos de sustitución (tioéteres) entre el reactivo R1 (4-cloro-1-metil-7-trifluorometil-quinolina metilsulfato) y todos los mercaptanos (-SH) presentes en la muestra. El segundo paso es una reacción que tiene lugar en condiciones alcalinas, la cual es mediada por el reactivo R2 (NaOH 30 %) que transforma el producto del paso 1 (conjugado GSH-tioéter) en el producto final; una tiona que tiene absorbancia máxima a 400 nm (Blume *et al.*, 1975).

Se tomaron muestras de hojas y raíces de las plantas sometidas a los distintos tratamientos por 30 días; se pesó 0,1 g de cada tejido y se lavó con una solución salina (NaCl 0,9 %), seguidamente se preparó un macerado y se homogeneizó a 4 °C en 0,9 ml de ácido tricloroacético frío al 10%; el homogeneizado se centrifugó a 3000 *g* por 10 min a 4 °C. A continuación, se tomó una alícuota de 100 µl del sobrenadante y se mezcló con 700 µl de buffer fosfato 50 mmol/l (KH₂PO₄/K₂HPO₄, pH 7,0), 50 µl de R1 y 50 µl de R2, se agitó la mezcla y se incubó a 25 ± 2 °C por 10 min en la oscuridad para medir luego la absorbancia a 400 nm en un espectrofotómetro. Las concentraciones de GSH en las muestras fueron determinadas usando una curva de calibración preparada con GSH estándar (Sigma Co.), cuyas concentraciones oscilaron entre 0,2 y 0,9 mg/ml.

Peroxidación de lípidos

La peroxidación de lípidos en el tejido foliar y raíz de los distintos tratamientos se cuantificó mediante el método LPO-586TM (Bioxytech[®] LPO-586TM; Oxis ResearchTM), un ensayo colorimétrico, el cual se basa en la reacción de un reactivo cromogénico, N-metil-2-fenilindol (R1) con el malondialdehído (MDA), uno de los productos más comunes de la lipoperoxidación, a 45 °C, para formar un cromóforo estable que absorbe luz máxima a 586 nm (Esterbauer *et al.*, 1991). Para ello, se pesó 0,1 g de tejido, se homogeneizó en 0,9 ml de buffer fosfato 20 mmol/l, pH 7,4 y, justo antes de homogeneizar, se agregaron 10 µl de butilato hidroxitolueno (0,5 mol/l, diluido en acetonitrilo) por cada ml de homogeneizado. Luego de centrifugar a 4000 *g* a 4 °C por 15 min, se tomaron alícuotas de 200 µl del sobrenadante y se mezclaron con R1 y HCl, después de un período de incubación a 45 °C por 60 min, se midió la absorbancia a 586 nm (UV mini-1240, Japón). Las concentraciones de MDA se estimaron, utilizando una curva de calibración con MDA estándar (Acetal: 1,1,3-tetrametoxipropano) cuyas concentraciones oscilaron entre 0,5 y 4 µmol/ml.

Análisis estadísticos

A cada una de las variables evaluadas se le realizó la comprobación de los supuestos estadísticos (normalidad y homogeneidad de los datos), y se aplicó un ANOVA de una vía para determinar diferencias significativas entre las medias de los parámetros estudiados. Todos los datos se analizaron con el paquete estadístico Statgraphics Plus versión 5,1, con un nivel de significación de 95 %; y fueron reportados como la media $\pm$ error estándar (EE). Las diferencias significativas halladas en las variables medidas, se analizaron mediante la prueba *a posteriori* de Duncan, utilizando un nivel de significación de 95 %, según lo recomendado por Sokal y Rohlf (2012).

RESULTADOS

Germinación y establecimiento de las plántulas *Z. mays*

La tabla 1 muestra los resultados de los índices de germinación y desarrollo radicular de plántulas de *Z. mays* controles y tratadas con Cd. El PGR fue de 100 % en todos los tratamientos; mientras que los valores del IG para T₀ y T₁ fueron de 41,67, disminuyendo aproximadamente hasta 36 para T₂ y T₃; este descenso no fue estadísticamente significativo (Fs = 0,67; $p > 0,05$). En contraste, el CRR mostró un descenso significativo (Fs = 5,86; $p \leq 0,05$) de aproximadamente 50 % en los tratamientos T₂ y T₃.

Tabla 1. Índices de germinación y desarrollo temprano de plantas de *Z. mays* L. controles y expuestas durante nueve días a los distintos tratamientos con Cd: Porcentaje Relativo de Germinación (PRG), Índice de Germinación (IG) y Crecimiento Relativo de la Radícula (CRR). T₀ = (control), T₁ = (5), T₂ = (25), T₃ = (50) μ M de Cd.

	Tratamiento	PRG	IG	CRR	
	T ₀	100 $\pm$ 0,00	41,67 $\pm$ 0,00 a	100,0 $\pm$ 0,28 a	
	T ₁	100 $\pm$ 0,00	41,67 $\pm$ 0,00 a	91,50 $\pm$ 0,29 a	
	T ₂	100 $\pm$ 0,00	35,42 $\pm$ 4,42 a	50,96 $\pm$ 0,06 b	
Los valores en porcentajes representan la	T ₃	100 $\pm$ 0,00	36,11 $\pm$ 3,93 a	55,89 $\pm$ 0,17 b	están expresados (%) y media $\pm$ error
estándar: EE (n=10). Letras iguales no difieren significativamente según la prueba de rangos múltiples, Duncan a 95,0 % de confiabilidad.					

Síntomas en plantas de *Z. mays*

En la Figura 1 se muestran los rasgos morfológicos de láminas foliares de *Z. mays* controles y expuestas a Cd por 30 días. En comparación con las plantas de T₀, las cuales presentaron láminas firmes, completamente extendidas, coloración verde intensa y tallo estable (Figura 1, A1 y A2); las sujetas a los distintos tratamientos con el metal mostraron rasgos visibles de alteración (síntomas), tales como: láminas con bordes

ondulados, chamuscado de los ápices, manchas, clorosis y necrosis, los cuales se magnificaron con el incremento de la concentración del metal. Específicamente en el T₁, los síntomas se limitaron a unas pocas láminas que mostraron chamuscado de los ápices (Figura 1, B1) y clorosis tanto en las primeras hojas (viejas), como en otras menos desarrolladas (nuevas), en los bordes (Figura 1, B2) y en la base en forma de “v” (Figura 1, B3). En T₂, la clorosis se extendió al área central de las láminas (Figura 1, C1), observándose también manchas cloróticas en toda la lámina foliar de algunas plantas (Figura 1, C2). Adicional a los síntomas previamente mencionados, en T₃ las láminas presentaron deformaciones como "quebraduras" y enrollamientos (Figura 1, D1 y D2) y chamuscado avanzando y progresivo desde el ápice hasta la región media de la lámina (Figura 1, D3). En este último tratamiento se registró la muerte en una de las plantas (Figura 1, D4).

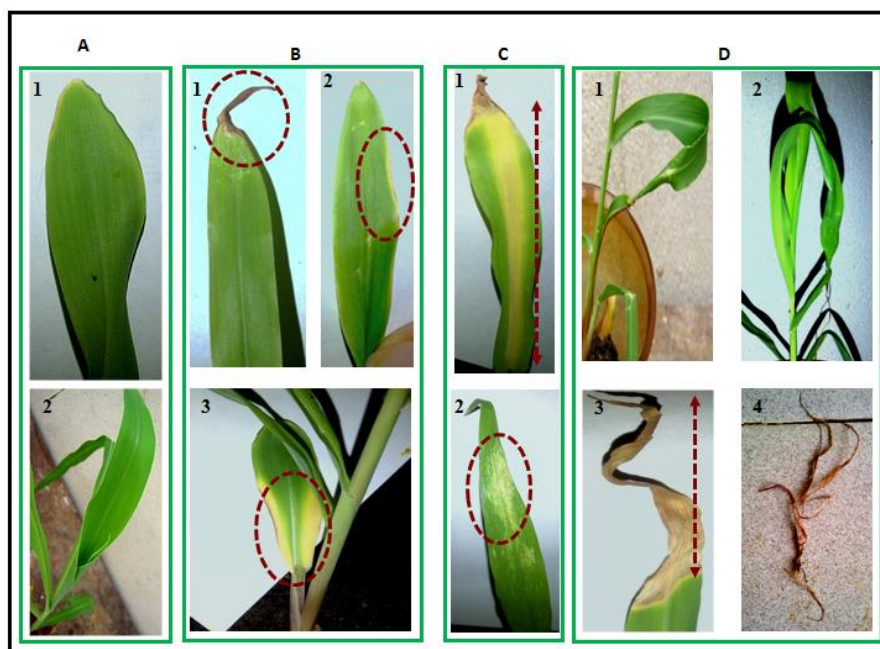


Figura 1. Síntomas en plantas de *Z. mays* L. tratadas durante 30 días con diferentes concentraciones de Cd. **A:** Controles; Lámina de planta control firme, con coloración verde intensa (A.1 y A.2). **B:** Láminas de plantas expuestas a 5 µM Cd; círculo de línea discontinua muestra necrosis apical (B.1), clorosis en el margen (B.2) y en la base de la lámina en forma de “v” (B.3). **C:** Láminas de plantas expuestas a 25 µM Cd; flecha de línea discontinua señala clorosis extendida en toda la lámina (C.1) y el círculo de línea discontinua evidencia manchas foliares (C.2). **D:** Láminas de plantas expuestas a 50 µM Cd; enrollamientos y/o quebraduras foliares (D.1 y D.2), flecha de línea discontinua indica chamuscamiento desde el ápice hasta la región media de la hoja (D.3), planta muerta (D.4).

Crecimiento de *Z. mays*

En la Figura 2 se muestran los resultados del crecimiento, medido a través del número total de hojas (Figura 2A) y la longitud de la raíz, tallo y hojas (Figura 2B) en las plantas de *Z. mays* sujetas a los tratamientos con Cd por 30 días. El número promedio de hojas en el grupo de plantas controles fue de $5,6 \pm 0,43$, el cual mostró un ligero aumento no significativo ($F_s = 1,40$; $p > 0,05$) hasta un valor promedio de $6,3 \pm 0,55$ en todos los tratamientos con Cd. Las láminas de las plantas controles exhibieron una longitud de $18,78 \pm 5,62$ cm que se mantuvo sin variaciones significativas en los tratamientos con Cd, ($F_s = 0,94$; $p > 0,05$). Similarmente, el Cd no tuvo un efecto sobre la longitud del tallo ($F_s = 0,71$; $p > 0,05$) ni en la longitud de la raíz ($F_s = 0,15$; $p > 0,05$).

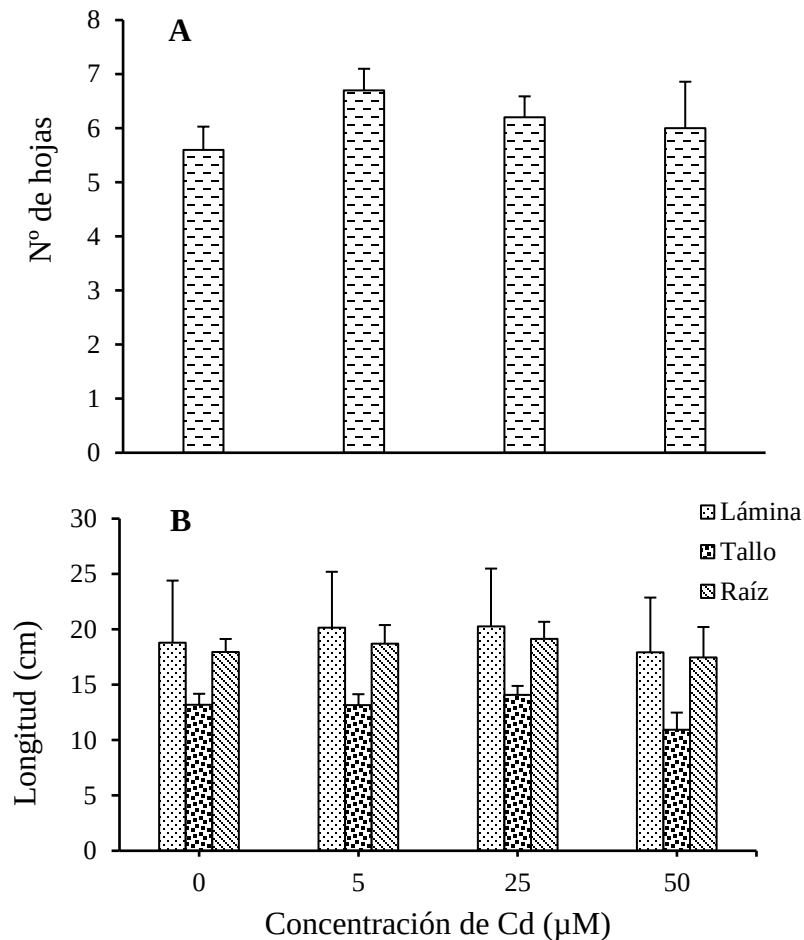


Figura 2. Número de hojas (A) y longitud (cm) de láminas, tallos y raíces (B), en plantas de *Z. mays* L. controles y expuestas durante 30 días a Cd (5, 25 y 50 μM). Las barras representan la media $\pm$ error estándar: EE (n= 10).

La Figura 3 muestra los resultados de la TRC en plantas de *Z. mays* controles y expuestas por 30 días a las distintas concentraciones de Cd. El análisis estadístico no reveló diferencias significativas ($F_s = 0,31$; $p > 0,05$) en esta variable entre los grupos control y expuestos al metal. La TRC promedio en el grupo de plantas controles fue de $0,0488 \pm 0,001$ g/día y en los grupos tratados con el metal, el valor promedio fue de $0,0524 \pm 0,011$ g/día.

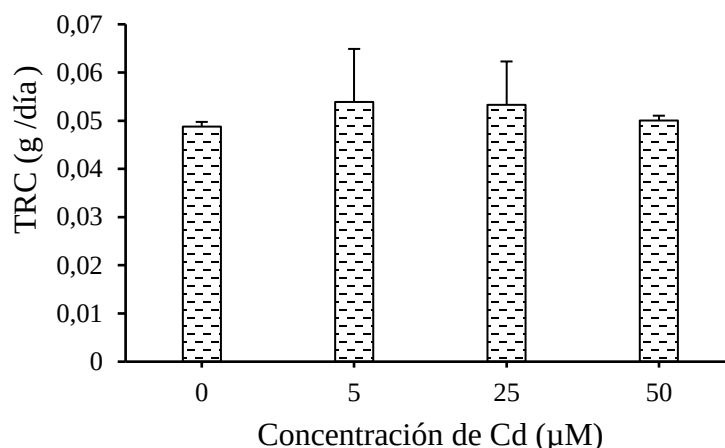


Figura 3. Tasa relativa de crecimiento (g/día) en plantas de *Z. mays* L. controles y expuestas durante 30 días a Cd (5, 25 y 50 μM). Las barras representan la media $\pm$ error estándar: EE (n= 10).

GSH

Las concentraciones de GSH en los tejidos de las plantas de *Z. mays* controles y expuestas por 30 días a los distintos tratamientos con Cd se muestran en la figura 4. En general, las hojas tuvieron mayores concentraciones de GSH que las raíces; siendo los valores promedios en T_0 igual a $239,35 \pm 16,52$ mg/g.m.h y $72,31 \pm 4,93$ mg/g.m.h, respectivamente. En ambos tejidos, en T_1 hubo un aumento significativo ($F_s = 4,69$; $p \leq 0,05$) hasta $347,00 \pm 24,57$ mg/g.m.h para el caso de las hojas y $121,87$ mg/g.m.h en las raíces ($F_s = 4,55$; $p \leq 0,05$).

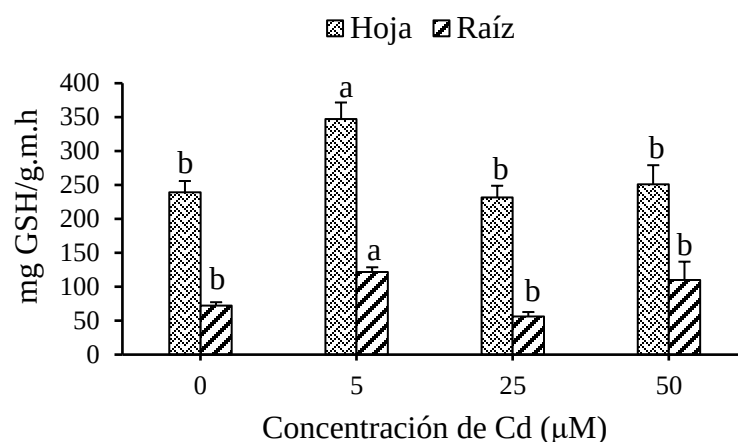


Figura 4. Concentración de GSH (mg/g.m.h) en hojas y raíces de plantas de maíz (*Z. mays* L.) controles y expuestas a Cd (5, 25 y 50 μM). Las barras representan la media ± error estándar: EE (n= 10). Letras diferentes denotan diferencias significativas (p<0.05) 95,0%.

Estrés oxidativo: Peroxidación de lípidos

En el tratamiento con la dosis de Cd más alta (T₃), el contenido de MDA en las hojas mostró un incremento significativo (Fs = 10,64; $p \leq 0,05$) hasta $132,30 \pm 15,90$ μM de MDA/g.m.h, con respecto al valor de T₀ ($78,43 \pm 10,42$ μM de MDA/g.m.h), al igual que en raíces (Fs = 4,92; $p \leq 0,05$), aumentando desde $16,32 \pm 5,24$ μM de MDA/g.m.h (T₀) hasta $85,87 \pm 21,18$ μM de MDA/g.m.h (Figura 5).

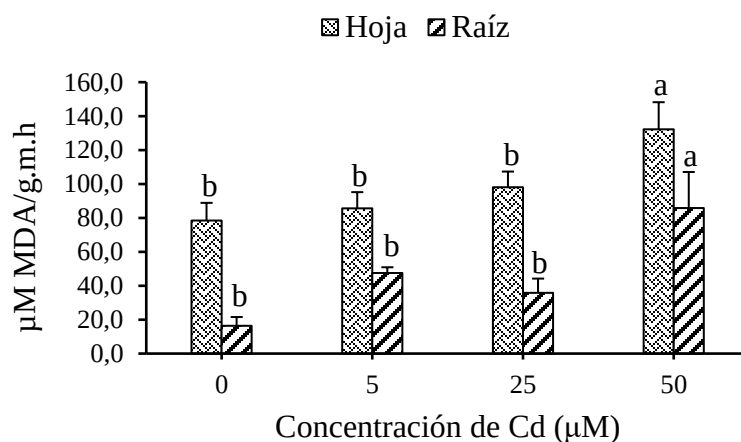


Figura 5. Concentración de MDA (μM/g.m.h), en hojas y raíces de plantas de maíz (*Z. mays* L.) controles y expuestas a Cd (5, 25 y 50 μM). Las barras representan la media ± EE (n= 10). Letras diferentes denotan diferencias significativas (p<0.05) 95,0%.

Índices de tolerancia

El índice de tolerancia de las plantas en desarrollo inicial (IT_i) de nueve días de germinadas en los tratamientos con Cd, tuvo un descenso significativo ($F_s = 2,98$; $p \leq 0,05$) en T_3 ; sin embargo, este índice en las plantas posteriormente expuestas por 30 días a los mismos tratamientos con el metal (IT_f) no varió significativamente ($F_s = 0,31$; $p > 0,05$) en todos los tratamientos (Tabla 2).

Tabla 2. Índices de Tolerancia de las plantas de *Z.mays* L. en desarrollo inicial (IT_i) y establecidas (IT_f) controles (T_0) y expuestas a 5 (T_1), 25 (T_2) y 50 (T_3) μM de Cd.

Cd (μM)	IT_i	IT_f
0	100,0 $\pm$ 0,00 a	100,0 $\pm$ 0,11 a
5	93,32 $\pm$ 0,01 a	108,86 $\pm$ 0,11 a
25	93,05 $\pm$ 0,01 a	96,71 $\pm$ 0,09 a
50	75,02 $\pm$ 0,00 b	85,96 $\pm$ 0,09 a

Los valores están expresados en porcentajes (%) y representan la media $\pm$ error estándar: EE (n=10). Letras iguales no difieren significativamente según la prueba de rangos múltiples, Duncan a 95,0 % de confiabilidad.

DISCUSIÓN

Germinación y desarrollo inicial de plantas de *Z. mays*

La germinación de las semillas de *Z. mays* estimada mediante los índices PGR y el IG no fue afectada por los tratamientos con Cd, sugiriendo que las dosis del metal empleadas, a pesar de exhibir toxicidad sobre la germinación de otras especies (Yang *et al.*, 2012; D' Souza y Devaraj, 2013), no alteraron este proceso en las plantas de maíz en este estudio. Siendo la germinación, un proceso que se inicia con la absorción de agua y culmina con la elongación del eje embrionario (Bewely, 1997), los resultados obtenidos ponen en evidencia que, la absorción de agua como paso inicial clave, transporte de oxígeno y, los subsecuentes eventos bioquímicos del proceso germinativo, no fueron sensibles a la acción perjudicial del metal, posiblemente esta respuesta esté asociada con la activación de estrategias moleculares que limitaron el ingreso del metal sin alterar el consumo de agua, y/o posterior a su absorción, intracelularmente éste pudo formar complejos orgánicos no tóxicos para acumularse en vacuolas citosólicas u otro compartimiento celular (Emamverdian *et al.*, 2015), limitando así, su toxicidad e interferencia con la germinación.

Coincidiendo con los resultados de la presente investigación, Agbadah *et al.* (2016) observó una respuesta similar en semillas de maíz y de garbanzo expuestas a una concentración mayor de Cd (100 μ M); los autores destacan lo poco sorprendente de este resultado ya que, en etapas tempranas de la germinación, el maíz carece de raíces prominentes lo que limita la absorción del metal y por lo tanto, evita su acción perjudicial. Courtis (2013) señaló que la presencia de un endosperma amiláceo en semillas de maíz, favorece la utilización de reservas endógenas que sostiene la germinación durante las primeras horas, evitando la imbibición de metales en solución presentes en el medio acuoso (Mahmood *et al.*, 2005). En el mismo contexto, la germinación de semillas de *Acacia farnesia* (huizache Yóndiro) no varió con tratamientos de Cd superiores (≤ 100 mg/kg) a los ensayado en este estudio (Alpizar y Cruz, 2012). Sin embargo, la inhibición del proceso germinativo es un efecto del Cd

frecuente en plantas (Kiran y Şahin, 2006), tal como lo evidenció Karahooagil (2002) en semillas de *Sorghum bicolor* y Liu *et al.* (2012) en semillas *Suaeda salsa*.

En contraste a lo observado con los índices de germinación, el CRR de *Z. mays* indicativo del establecimiento inicial de la planta, exhibió una mayor sensibilidad al Cd, mostrando un descenso aproximado al 50 % en los tratamientos T₂ y T₃, evidenciándose la acción perjudicial del metal sobre la elongación de la radícula y posteriores etapas del desarrollo de la plántula. La germinación y subsecuente desarrollo inicial son estadios importantes en el ciclo de vida de las plantas y altamente sensibles a Cd, debido a que la germinación de la semilla es la primera interfase de intercambio material entre la planta en desarrollo y el ambiente (Liu *et al.*, 2012). En este sentido, la radícula es el primer órgano de la planta en contacto con los metales y, por lo tanto, sensible a su acción tóxica sobre el crecimiento (Zheng *et al.*, 2010).

Las alteraciones inducidas por Cd que pueden ser causales del descenso en el crecimiento radicular son diversas; entre éstas: inhibición de la división celular en los meristemas por retardo mitótico (Casierra-Posada *et al.*, 2008), disminución en la síntesis de componentes de la pared celular, alteraciones en el aparato de Golgi, variaciones en el metabolismo de carbohidratos y reducción del tamaño en el espacio intercelular, debido al establecimiento de fuertes entrecruzamientos de las moléculas de pectina en la pared celular (Pal *et al.*, 2006). La incorporación de lignina en la pared celular que aumenta la rigidez y reduce su expansión, también resulta en inhibición del crecimiento de raíces en maíz (Degenhardt y Gimmler, 2000).

La reducción de la elongación de la radícula es uno de los primeros efectos evidentes de la toxicidad del Cd en plantas (Aiman *et al.*, 2009). Acorde con los resultados del estudio realizado, en varias especies de plantas (*Vigna radiata*, *V. angularis*, *Lablab purpureus* y *Dumasia vellosia*), se evidenció que el crecimiento de la radícula y del coleoptilo fueron índices más sensibles que la germinación para evaluar efectos tóxicos del Cd (Tao *et al.*, 2015). En plantas de canola y trigo, el tratamiento con Cd también

resultó en una inhibición de la elongación radicular (Moosavi *et al.*, 2012). Específicamente en maíz, la exposición a 1,0 μM de Cd por 24 horas redujo en un 30 % el crecimiento de la raíz, asociado con un descenso en la viabilidad de las células radiculares. Nocito *et al.* (2002), reportaron una reducción en la formación de raíces laterales, elongación del coleoptilo, acompañado de clorosis y necrosis en plantas de maíz expuestas a Cd.

Síntomas en plantas de *Z. mays*

El Cd es un elemento no esencial que es eficientemente absorbido por las plantas y se distribuye rápidamente a través del sistema vascular, ocasionando varios síntomas o anomalías morfológicas como consecuencia de la acción del metal (Pinto *et al.*, 2004). Acorde con esta propuesta, en esta investigación, los tratamientos de *Z. mays* con Cd provocaron alteraciones morfológicas (deformaciones en las láminas, chamuscado, manchas, clorosis y necrosis), dependientes de la concentración, que ponen en evidencia la acción perjudicial del metal, asociadas posiblemente con alteraciones de la homeostasis metabólica y fisiológica de la planta inducidas por la exposición al metal.

En el contexto anterior, un amplio rango de interacciones químicas a nivel celular podrían explicar los síntomas de toxicidad inducidos por metales pesados en plantas (Hall, 2002). De manera indirecta el Cd puede alterar la absorción de minerales por las raíces de la planta, afectando la disponibilidad de éstos en el suelo (Moreno *et al.*, 2009) y directamente, al interactuar con grupos funcionales de transportadores de membrana de micronutrientes esenciales (Ca, Mn, Zn, Fe y Cu), limita su absorción y translocación a los distintos órganos de la planta (Benavides *et al.*, 2005; Nazar *et al.*, 2012; Sun *et al.*, 2015). El bloqueo de ligandos moleculares específicos por su interacción con Cd, altera el balance hídrico y limita la absorción además de P, K, N y S, causando su deficiencia a nivel intracelular, lo cual genera el desarrollo de las alteraciones morfológicas en las partes aéreas de la planta (Adiloglu, 2006; Oporto *et al.*, 2009; Kudo *et al.*, 2011). De manera general se ha descrito en las plantas, reducción en el contenido de nitrógeno por efecto del Cd, debido a la disminución en la actividad de la enzima nitrato reductasa

(Gill *et al.*, 2012), así como también un descenso en el contenido de K^+ y una reducción en la translocación del P (López-Millán *et al.*, 2009). También se ha reportado variaciones en el contenido de S por efecto del Cd, asociado a cambios en la demanda de la planta para la producción de tioles (Astolfi *et al.*, 2004; Carvalho *et al.*, 2012). Especialmente la clorosis, síntoma mayormente observado en este estudio, en las plantas bajo los distintos tratamientos con Cd, puede aparecer por deficiencia en la absorción de Fe, fosfatos o reducción en el transporte de Mn (Aina *et al.*, 2007).

En concordancia con los resultados de este trabajo, algunos autores han señalado que, el enrollamiento de las hojas, clorosis, necrosis, entre otros, son síntomas comunes en plantas sujetas al tratamiento con Cd (Benavides *et al.*, 2005; Ling *et al.*, 2017). Particularmente en maíz, Wójcik y Tukendorf (2005), hallaron clorosis, necrosis y chamuscado en hojas jóvenes, expuestas a las mismas concentraciones de Cd empleadas en este estudio y a 400 μ M de Cd, además de necrosis, se observaron raíces con meristemas marrones y reducción del brote (Ling *et al.*, 2017). En el frijol *Lablab purpureus*, la exposición a concentraciones de Cd, equivalentes a las usadas en este estudio, produjo clorosis, pigmentación oscura y lesiones necróticas en hojas (D'Souza y Devaraj, 2013) y despigmentación en hojas de *Marsilea minuta* (Das *et al.*, 2014). En contraste a lo observado en el presente estudio, empleando las mismas dosis de Cd, Elloumi *et al.* (2007) no reportó síntomas visibles de toxicidad en plantas de almendras, revelando la existencia de diferencias interespecíficas en cuanto a la acción tóxica de este metal.

Crecimiento de plantas *Z. mays*

En este estudio, los parámetros de crecimiento (número de hojas y longitud de raíz, tallo y hojas) y la tasa relativa de crecimiento (TRC) en las plantas de maíz no se vieron afectados perjudicialmente por la exposición a las distintas concentraciones de Cd empleadas; por el contrario, a la dosis más baja (T_1) hubo una ligera estimulación en estas variables, aunque estadísticamente este aumento no fue significativo. Al respecto, es conocido que los organismos para mantener la homeostasis funcional pueden activar

una amplia gama de estrategias bioquímicas para enfrentar presiones ambientales como, la presencia de estresores químicos (Hediji *et al.*, 2010); entre ellos, metales pesados. Específicamente en el caso de maíz, son varios los antecedentes que revelan su elevado potencial de tolerancia a estos químicos, incluyendo el Cd (Chaffai *et al.*, 2006; Retamal-Salgado *et al.*, 2017). El incremento de GSH observado en hojas y raíces de *Z. mays* L. en las plantas sujetas a ese tratamiento (T1), reflejan la importancia de esta molécula como una de las estrategias bioquímicas que le confiere tolerancia y control de la toxicidad del metal, garantizando la homeostasis y el crecimiento a la especie.

En el contexto anterior, hormesis es una respuesta común en organismos expuestos a sustancias químicas; caracterizada por una estimulación de la respuesta a bajas concentraciones del químico y, un cambio posterior a la inhibición de ésta, con el aumento de la concentración y el tiempo de exposición al estresor químico (Kapoor, 2016). Por lo tanto, es frecuente encontrar que, a bajas concentraciones, los metales pesados puedan tener un efecto beneficioso (hormético) y estimulante del crecimiento de las plantas, el cual puede revertirse a perjudicial cuando las concentraciones del metal aumentan. La hormesis inducida por Cd ha sido bien documentada en plantas (Yang *et al.*, 2005; Cedergreen, 2008; Lian *et al.*, 2015).

Antecedentes sobre la acción del Cd sobre el crecimiento de plantas reportan diferentes patrones de respuestas, asociadas principalmente con la especie, la concentración y el tiempo de exposición al metal (Hediji *et al.*, 2010; Das *et al.*, 2014). Acorde con lo observado en este estudio, un patrón similar de respuesta al Cd fue evidenciado en *Elymus dahurico*, donde 50 μM de Cd no afectó la biomasa ni el crecimiento de hojas y raíces; sin embargo, concentraciones entre 100-300 μM de Cd tuvieron un efecto estimulante del crecimiento (Zhang *et al.*, 2012). En plantas de maíz, Ling *et al.* (2017) encontraron que concentraciones $\leq$ a 100 μM de Cd no causó variación alguna en la biomasa seca de hojas y raíces; sin embargo, durante las primeras horas del tratamiento de plantas de maíz con 4 y 20 μM de Cd, hubo un incremento en el crecimiento (Stingu *et al.*, 2011). Por otro lado, a diferencia de los resultados de este estudio, Sandalio *et al.*

(2001) demostraron una inhibición del desarrollo de hojas y raíces en plantas de guisantes expuestas a 50 μM de CdCl_2 , evidenciándose las diferencias interespecíficas e incluso, intraespecíficas que exhiben las plantas ante el estrés por metales pesados (Meng *et al.*, 2012; Akhter *et al.*, 2014).

Concentraciones de GSH en plántulas de *Z. mays*

Las concentraciones de GSH mostraron un patrón similar en hojas y raíces de *Z. mays* L. sujetas a los distintos tratamientos con Cd; observándose, al igual que en los BMs de crecimiento (TCR, longitud de raíz, tallo y hojas), un incremento significativo en T_1 ; mientras que, en T_2 y T_3 no hubo cambios en esta variable con respecto a T_0 (control). Tales resultados sugieren la importancia de este tripéptido como defensa antioxidante en ambos tejidos para controlar, a baja concentración, la toxicidad del metal y el desarrollo de estrés oxidativo; a pesar de la alta demanda para tal fin, la tasa de recambio de GSH no se vio afectada, posiblemente sostenida por una elevada actividad de las enzimas glutationa reductasa (GR) y γ -glutamylcisteinylglycine sintasa (Marmiroli *et al.*, 2014). La estimulación de esta respuesta bioquímica podría ser la razón por la que esa dosis del metal no afectó perjudicialmente el crecimiento de las plántulas y más bien, favoreció una ligera estimulación en los BMs de crecimiento.

GSH es ampliamente reconocido como uno de los antioxidantes celulares más importantes con función de defensa contra el estrés por Cd en la plantas (Mie *et al.*, 2017); éste puede formar complejos estables con metales pesados, actuar como coenzima de enzimas antioxidantes, precursor de la síntesis de FQs y, participar en la eliminación directa de EROs, de tal manera que, la estimulación del contenido de GSH y otras moléculas tioladas ha sido bien documentada en plantas como una respuesta ante la exposición a Cd y otros metales pesados (Nadgórska *et al.*, 2013; Anjum *et al.*, 2015; Nahar *et al.*, 2015). Específicamente en maíz, concentraciones de Cd (50 – 600 μM) estimularon la asimilación de azufre desde el suelo, asociada esta respuesta a la influencia del Cd sobre los transportadores de sulfato a nivel de la raíz, los cuales tienen una alta afinidad por el metal (Kapoor *et al.*, 2016).

Coincidente con los resultados de la investigación realizada, en la misma especie objeto de estudio, Rellán-Álvarez *et al.* (2006) demostraron el efecto estimulante de 6 μM de Cd sobre el contenido de GSH en raíz, e inhibitorio de una concentración mayor (30 μM) del mismo metal. La importancia de GSH en el control de la toxicidad del Cd en plantas de arroz, también se manifestó en un aumento de este tiol a bajas concentraciones de Cd ($\leq 10 \mu\text{M}$); mientras que, a 100 μM de Cd destacaron las FQs como principal defensa antioxidante (Aina *et al.*, 2007). Similarmente, el nivel de GSH incrementó a bajas concentraciones de Cd, seguido de un decrecimiento a elevadas concentraciones del metal en *Sesamum orientale* L. (Abdul y Kumaraswamy, 2016) y en plántulas de *Marsilea* (Das *et al.*, 2014).

Recientemente, en un ensayo en el que se evaluó la acción conjunta de GSH y Cd en *Z. mays* L., Mie *et al.* (2017) evidenciaron que GSH revirtió los efectos perjudiciales del Cd, ejercidos sobre el crecimiento, producción de hormonas y desarrollo de estomas, asociado el efecto protector del tripéptido, con una elevada regulación positiva de la transcripción de genes (proteínas similares a FQ sintetasa y los factores de transcripción MYB, WRKY y CYP450; entre otros), que le confieren el potencial de tolerancia exhibido por esta especie al metal. En general, los mecanismos de defensa inducidos por Cd que le confieren tolerancia a las plantas sin daño aparente incluyen, la formación de complejos intracelulares, compartimentación y desintoxicación del metal (Song *et al.*, 2017). La biosíntesis de moléculas con grupos funcionales sulfhidrilos (-SH), tales como cisteína, GSH y las FQs destacan como principal estrategia bioquímica para contrarrestar el estrés por Cd y otros metales (Emamverdian *et al.*, 2015). Los resultados de este estudio, corroboran lo anteriormente sustentado por otros investigadores y, al igual que en otras especies, en la tolerancia de *Z. mays* a Cd, GSH juega un rol preponderante.

Por otro lado, se conoce que el Cd también puede promover un agotamiento del contenido de GSH cuando la demanda de éste supera su tasa de biosíntesis, siendo esta respuesta también, muy frecuentemente observada en plantas y de mucha utilidad en la

detección temprana de daños oxidativos inducidos por el metal (Mendoza-Cozatl *et al.*, 2011; D´ Souza y Devaraj, 2013). En este contexto, Xu *et al.* (2014) evidenciaron la sorprendente tolerancia y potencial de adaptación que tiene *Z. mays* a bajas concentraciones de Cd, mediada por una alta utilización de GSH que produce descensos en su concentración en raíces, acompañado de aumentos en las actividades de SOD y CAT.

Concentraciones de MDA en plántulas de *Z. mays*

Uno de los efectos perjudiciales más frecuentes del Cd es la inducción de estrés oxidativo, mediado por un incremento en las reacciones de lipoperoxidación, indicativas de pérdida de la integridad estructural de las membranas celulares, oxidación de proteínas y daños a la estructura del ADN (Wang *et al.*, 2009). En este estudio fueron evaluadas las concentraciones de MDA, uno de los productos más comunes de las reacciones de lipoperoxidación (LPO), usado como un indicador de estrés oxidativo (Yadav y Singh, 2013), obteniéndose que, esta variable sólo exhibió un incremento significativo en hojas y raíces de *Z. mays* sujetas al T₃ (50 µM de Cd), indicando el desarrollo de daños oxidativos en ambos tejidos, causado posiblemente por un desbalance en la sobreproducción de EROs y las defensas antioxidantes.

En contraste a los metales redox-activos (Fe, Cr, Cu y Mn) que inducen estrés oxidativo por aumento de EROs vía reacciones de Haber-Weiss y de Fenton, los no redox-activos (Cd, Ni, Hg y Zn) indirectamente pueden propiciar un incremento de EROs, vía múltiples mecanismos; entre ellos, descensos en GSH, unión a grupos –SH de proteínas, inhibiendo enzimas antioxidantes o induciendo enzimas productoras de EROs, tales como NADPH oxidasas (Bielen *et al.*, 2013). En este contexto, se conoce que el Cd puede actuar como catalizador de reacciones de LPO, proteínas y ácidos nucleicos, estableciéndose así el estrés oxidativo, que interfiere con la homeostasis metabólica y afecta el funcionamiento normal de los organismos (Wu *et al.*, 2015). Los lípidos de las membranas celulares son blancos moleculares muy sensibles a la acción de las EROs y las reacciones en cadena de peroxidación de éstos es una respuesta común en

organismos sujetos al estrés por metales pesados, incluyendo al Cd (Agbadah *et al.*, 2016).

Muchos antecedentes apoyan la propuesta de que el estrés oxidativo manifestado por incrementos en LPO, es uno de los principales efectos del tratamiento con Cd en plantas; no obstante, se han publicado algunos datos contrarios a esta propuesta, sugiriendo que la respuesta depende en gran medida, de la especie, la concentración y el tiempo de exposición al metal (Romero-Puertas *et al.*, 2012). En raíces de soya (*Glycine max* L.) y *Brassica juncea* expuestas, respectivamente por 48 horas y siete días, a altas concentraciones de Cd no se observaron cambios en LPO (Mohamed *et al.*, 2012); sin embargo, en raíces de esta última especie y en *Arabidopsis* sp. expuestas por 24 horas a una concentración más baja del metal (10 μ M), la LPO aumentó (Cuypers *et al.*, 2011).

En muchas especies de plantas se ha revelado la toxicidad del Cd, mediada por estrés oxidativo (Gallego *et al.*, 2012). Similar a lo encontrado en este estudio, en plantas de *Lemna minor* L. sujetas a distintas concentraciones de Cd, se evidenció un aumento en las concentraciones de MDA sólo a concentraciones mayores de 10 μ M, incluyendo 50 μ M Cd; el estrés oxidativo inducido a estas dosis del metal se asoció con un descenso del contenido de GSH en la planta (Razinger *et al.*, 2008). También en alfalfa (*Medicago sativa*), el aumento de MDA en hojas y raíces fue proporcional al aumento de la concentración de Cd (Flores-Cáceres, 2013). La acción inductora de estrés oxidativo por Cd incluye además, plantas de tomate (Dong *et al.*, 2006; Smeets *et al.*, 2009), en *A. thaliana* (Smeets *et al.*, 2009), *Medicago truncatula* (Xu *et al.*, 2009), leguminosas (Rahoui *et al.*, 2010) y *Medicago sativa* (Cui y Zhao, 2013). Del mismo modo, Rellán-Álvarez *et al.* (2006) y Sun *et al.* (2015), encontraron una inducción de peroxidación lipídica y estrés oxidativo causado por Cd en *Z. mays* y *Cucumis sativus*, respectivamente.

En la presente investigación se cuantificaron mayores niveles de MDA en hojas que en raíces en todos los tratamientos, coincidiendo con lo reportado por Elloumi *et al.* (2007)

para plantas de *Prunus dulcis* tratadas con varias concentraciones de Cd (0,25, 50, 100 y 150 μM). Liu *et al.* (2011) en varias especies de sorgo y Saidi *et al.* (2013) en *Phaseolus vulgaris*. No obstante, en este estudio, el incremento en MDA observado en T₃ fue dos veces mayor en raíces que en hojas, indicando una mayor sensibilidad de la raíz al estrés oxidativo que la parte aérea de la planta. En este sentido, se conoce que la raíz juega un papel central como primera línea de defensa para contrarrestar la toxicidad de metales pesados, sitio de acumulación preferencial del Cd (Adeniji *et al.*, 2010).

En el contexto anterior, las estrategias desarrolladas a nivel radical, se basan en evitar o disminuir la absorción del metal y su posterior distribución a los tejidos aéreos de la planta (Pal *et al.*, 2006). Barreras físicas como el desarrollo de estructuras morfológicas; entre ellas, el desarrollo de gruesas capas de cutículas, presencia de tricomas, paredes celulares y la simbiosis con micorrizas, se incluyen dentro de estas estrategias adaptativas de las plantas para enfrentar el estrés por Cd y otros metales que su vez, le confieren tolerancia o resistencia a su acción perjudicial (Emamverdian *et al.*, 2015).

Índices de tolerancia en plántulas de *Z. mays*

En concordancia con los resultados de GSH observados en las plantas de *Z. mays* el cual fue estimulado, principalmente a bajas concentraciones de Cd (T₁ y T₂), los valores de los IT en esos tratamientos señalan que, tanto las plantas en desarrollo inicial (nueve días de germinadas), como las tratadas posteriormente por 30 días a los mismos tratamientos con el metal (39 días de germinadas), fueron tolerantes a 5 y 25 μM de Cd. No obstante, 50 μM de Cd afectó la tolerancia, sólo en las plantas de desarrollo inicial, en las que el IT tuvo un descenso del 25 % aproximadamente, evidenciándose el efecto tóxico de esta concentración sobre la biomasa y crecimiento de las plántulas en desarrollo inicial, al parecer más sensibles a la toxicidad del metal que las plantas con mayor tiempo de germinación.

Los índices de tolerancia (IT) son de mucha utilidad para caracterizar la resistencia de la plantas a la acción perjudicial de sustancias químicas (Audet y Charest, 2007).

Resultados similares a los de este estudio fueron reportados por Klaus *et al.* (2013), quienes observaron valores de IT entre 55 y 80 % en plantas de maíz sujetas al tratamiento con Cd. En tres especies del género *Pelargonium*, la tolerancia al Cd disminuyó, medida por un marcado descenso del 75 % en el IT comparado con el valor del control (Orroño, 2011). En contraste, Retamal-Salgado *et al.* (2017), encontraron que en diferentes partes de plantas de maíz, los IT no fueron afectados por concentraciones de Cd (0,1 y 2 mg/kg) superiores a la empleadas en esta investigación. En este sentido, es conocido que las especies vegetales e incluso, las variedades, difieren entre sí en su capacidad para absorber metales, translocarlos, acumularlos y tolerarlos, provocando limitaciones en la raíz (Angelova *et al.*, 2004; Yang *et al.*, 2014).

En este contexto, son varios los antecedentes que han revelado, el elevado potencial de tolerancia que exhibe el maíz a metales pesados, incluyendo al Cd (Chaffai y *et al.*, 2006; Tao *et al.*, 2015). En general, las plantas exhiben dos tipos de estrategias que le confieren resistencia a la acción tóxica de los metales pesados; algunas se basan en la exclusión del metal, evitando su absorción radicular limitando así, su ingreso y distribución en tejidos aéreos y, las otras, permiten la absorción, posterior compartimentación interna, acumulación e inmovilización del metal en forma de complejos orgánicos (con cisteína, GSH y FQs, entre otros) no tóxicos (Emamverdian *et al.*, 2015).

CONCLUSIONES

La germinación de las semillas de *Z. mays* no fue afectada por los tratamientos con Cd; sin embargo, el desarrollo inicial de las plántulas decreció a las concentraciones más altas.

Los efectos del Cd sobre la morfología de las hojas de *Z. mays* fueron dependientes de la concentración del metal y se manifestaron como: clorosis, chamuscado, necrosis y enrollamiento.

El crecimiento de las plantas de *Z. mays* (TRC, número de hojas y longitud de la lámina, tallos y raíces) no fueron afectados por la exposición al metal.

Las concentraciones de GSH en hojas y raíces de *Z. mays* forman parte de las defensas antioxidantes que le confieren tolerancia al Cd, a bajas concentraciones, evitando el desarrollo de patologías oxidativas.

El tratamiento con Cd (50 μM) incrementó los niveles de MDA en raíces y hojas de *Z. mays*, reflejando aumento de lipoperoxidación y estrés oxidativo en ambos tejidos.

Los índices de tolerancia corroboraron que 5 y 25 μM de Cd son dosis toleradas por la especie, pero 50 μM de Cd ya es perjudicial y afecta el desarrollo inicial de las plántulas de *Z. mays*.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdul, L. y Kumaraswamy, M. Reactive oxygen species and ascorbate–glutathione interplay in signaling and stress responses in *Sesamum orientale* L. against *Alternaria sesami* (Kawamura) Mohanty and Behera. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 15: 48-56.
- Adeniji, B.; Budimir-Hussey, M. y Macfie, S. 2010. Production of organic acids and adsorption of Cd on roots of durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. durum). *Acta Physiologiae of Plantarum*, 32: 1063-1072.
- Adiloglu, S. 2006. The effect of increasing nitrogen and zinc doses on the iron, copper and manganese contents of maize plant in calcareous and zinc deficient soils. *Asian Journal of Plant Sciences*, 5 (3): 504-507.
- Agbadah, E.; Nwachukwu, K. y Okoh, M. 2016. Biochemical effects of ethylene diamine tetra-acetic acid (EDTA) on cadmium treated maize (*Zea mays* L.) and cowpea (*Vigna unguiculata* L.) *African Journal of Biotechnology*, 15 (15): 503-600.
- Aiman, H.; Fariduddin, Q.; Sayat, B. y Ahmad, A. 2009. Cadmium: toxicity and tolerance in plants. *Journal Environmental of Biology*, 30: 165.
- Aina, R.; Labra, M.; Fumagalli, P.; Vannini, C.; Marsoni, M.; Cucchi, U.; Marcella, B.; Sgorbati, S. y Citterio, S. 2007. Thiol-peptide level and proteomic changes in response to cadmium toxicity in *Oryza sativa* L. roots. *Environmental and Experimental Botany*, 59: 381-392.
- Akhter, M.; Omelon, C.; Gordon, R.; Moser, D. y Macfie, S. 2014. Localization and chemical speciation of cadmium in the roots of barley and lettuce. *Environmental and Experimental Botany*, 100: 10-19.
- Ali, A. y Naaz, I. 2013. Earthworm biomarkers: The new tools of environmental impact assessment. *Bioscience Biotechnology Research Communications*, 6 (2): 163-169.
- Alpizar, A. y Cruz, G. 2012. Evaluación de la toxicidad de cadmio en las semillas de huizache yóndiro (*Acacia farnesiana*) recolectadas en jales mineros. *Memoria de Veranos de la Investigación Científica*, 12: 338-343.
- Angelova, V.; Ivanova, R.; Delibaltova; V. e Ivanov, K. 2004. Bio-accumulation and distribution of heavy metals in fibre crops (flax, cotton and hemp). *Industrial Crops and Products*, 19: 197.
- Anjum, N.; Hasanuzzaman, M.; Hossain, M.; Thangavel, P.; Roychoudhury, A.; Gill, S.; Merlos, M.; Adam, V.; Fujita, M.; Kizek, R.; Duarte, A.; Pereira, E. y Ahmad, I. 2015. Jacks of metal/metalloid chelation trade in plants—an overview. *Frontiers in Plant Science*, 6: 192.
- Arredondo, L.; Benítez, R. y Lemus, M. 2012. Efecto del cadmio sobre la respuesta celular celómica de *Pyura vittata* (Stimpson, 1852). *Revista de Ecotoxicología en*

línea (RETEL), 1-16.

- Astolfi, S.; Zuchi, S. y Passera, C. 2004. Role of sulphur availability on cadmium-induced changes of nitrogen and sulphur metabolism in maize (*Zea mays* L.) leaves. *Journal of Plant Physiology*, 161:795-802.
- Audet, P. y Charest, C. 2007. Heavy metal phytoremediation from a meta-analysis perspective. *Environment Pollution*, 147: 231-237.
- Benavides, M.; Gallego, S. y Tomaro, M. 2005. Cadmium toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17: 21-34.
- Bewley, J. 1997. Seed: germination and dormancy. *Plant Cell*, 9 (7): 1055-1066.
- Bielen, A.; Remans, T.; Vangronsveld, J. y Cuypers, A. 2013. "The influence of metal stress on the availability and redox state of ascorbate, and possible interference with its cellular functions". *International Journal of Molecular Sciences*, 14(3): 6382-6413.
- Blume, K.; Paniker, N. y Beutler, E. 1975. Glutathione. En: Flohé, L.; Benöhr, H.; Sies H.; Waller, H. y Wendel, A. (eds), Academic Press, New York, pp:157-165.
- Calisi, A.; Lionetto, M. y Schettino, T. 2011. Biomarker responses in the earthworm *Lumbricus terrestris* exposed to chemical pollutants. *Science of the Total Environment*, 409: 4456-4464.
- Carvalho, B.; Cannata, M.; Carvalho, R.; Ribeiro, B.; Puggina, F. y Dos Santos, A. 2012. *Lycopersicum esculentum* submitted to Cd-stressful conditions in nutrition solution: Nutrient contents and translocation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 86: 176-181.
- Casierra-Posada, F.; Cárdenas, J. y Roa, H. 2008. Efecto del aluminio sobre la germinación de semillas de trigo (*Triticum aestivum* L.) y de maíz (*Zea mays* L.) *Orinoquia*, 12: 45-56.
- Cedergreen, N. 2008. Is the growth stimulation by low doses of glyphosate sustained overtime. *Environmental Pollution*, 156: 1099-1104.
- Chaffai, R.; Tekitek, A. y El Ferjani, E. 2006. A comparative study on the organic acid content and exudation in maize (*Zea mays* L.) seedlings under conditions of copper and cadmium stress. *Asian Journal of Plant Sciences*, 5 (4): 598-606.
- Cortés, C.; Marcano, L.; Marcano, L. y Zapata-Vívenes, E. 2015. Inmunotoxicidad de malatión y clorpirifos en la lombriz de tierra *Eisenia* sp. (Annelida: Oligochaeta). *Saber*, 27 (4): 530-536.
- Courtis, A. 2013. *Germinación de semillas. Cátedra de fisiología vegetal*. Editorial Facena.
- Cui, Y. y Zhao, N. 2013. Oxidative stress and change in plant metabolism of *Medicago sativa* growing in contaminated soil with elemental sulfur and toxic effect of zinc. *Plant Soil Environment*, 57: 34-39.

- Cuypers, A.; Smeets, K.; Ruytinx, J.; Opdenakker, K.; Keunen, E.; Remans, T. y Vangronsveld, J. 2011. The cellular redox state as a modulator in cadmium and copper responses in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 168: 309-316.
- D'Souza, M. y Devaraj, V. 2013. Oxidative stress biomarkers and metabolic changes associated with cadmium stress in hyacinth bean (*Lablab purpureus*). *African Journal of Biotechnology*, 12 (29): 4670-4682.
- Das, K.; Mandal, C.; Ghosh, N.; Dey, N. y Kumar, M. 2014. Responses of *Marsilea minuta* L. to Cadmium Stress and Assessment of Some Oxidative Biomarkers. *American Journal of Plant Sciences*, 5: 1467-1476.
- Degenhardt, B. y Gimmler, H. 2000 Cell wall adaptations to multiple environmental stresses in maize roots. *Journal Experimental of Botany*, 51: 595-603.
- Depledge, M.; Aagaard, A. y Gyorkos, P. 1995. Assessment of trace metal toxicity using molecular, physiological and behavioral biomarkers. *Marine Pollution Bulletin*, 21: 19-27.
- Dong, J; Wu, F. y Zhang, G. 2006. Influence of cadmium on antioxidant capacity and four microelement concentrations in tomato seedlings (*Lycopersicon esculentum*). *Chemosphere*, 64: 1659-1666.
- Elloumi, N.; Ben, A.; Rhouma, A.; Ben, R.; Mezghani, I. y Boukhris, M. 2007. Cadmium-induced growth inhibition and alteration of biochemical parameters in almond seedlings grown in solution culture. *Acta Physiologiae of Plantarum*, 29: 57-62.
- Emamverdian, A.; Ding, Y.; Mokhberdoran, F. y Xie, Y. 2015. Heavy Metal Stress and Some Mechanisms of Plant Defense Response. *The Scientific World Journal*, 2015: 18.
- Esterbauer, H.; Shaur, R. y Zollner, H. 1991. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radical Biology & Medicine*, 11: 81-128.
- Flores-Cáceres, M. 2013. Caracterización de los mecanismos de respuesta antioxidante de *Medicago sativa* a metales pesados. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Madrid.
- Fontanetti, C.; Nogarol, L.; De Souza, R.; Perez, D. y Maziviero, G. 2011. Bioindicators and Biomarkers in the Assessment of Soil Toxicity. En: Soil contamination. Pascucci, S. (ed.), InTech, Rio Claro, Brazil.
- Gallego, S.; Pena, L.; Barcia, R.; Azpilicueta, C.; Iannone, M.; Rosales, E.; Zawoznik, M.; Groppa, M. y Benavides, M. 2012. Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: Insight into regulatory mechanisms. *Environmental and Experimental Botany*, 83: 33-46.
- Gill, S.; Khan, N. y Tuteja, N. 2012. Cadmium at high dose pertubs growth,

- photosynthesis and nitrogen metabolism while at low dose it up regulates sulfur assimilation and antioxidant machinery in garden cress (*Lepidium sativum* L.). *Plant Science*, 182: 112-120.
- Hall, J. 2002. "Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance," *Journal of Experimental Botany*, 53 (366): 1-11.
- Hediji, H. ; Djebali, W. ; Cabasson, C. ; Maucourt, M.; Baldet, P.; Bertrand, A.; Zoghlami, L.; Deborde, C.; Moing, A.; Brouquisse, R.; Chaibi, W. y Gallusci, P. 2010. Effects of long-term cadmium exposure on growth and metabolomic profile of tomato plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73: 1965-1974.
- Hermoso, D. y Hernández, M. 2005. Evaluación de las concentraciones de metales pesados en tejido de peces del río Catatumbo y sus afluentes. Trabajo de Grado. Escuela de ingeniería química, Facultad de Ingeniería, Universidad Rafael Urdaneta.
- Hernández, J.; Zapata-Vívenes, E.; Marcano, L.; Marcano, E. y Nusetti, O. 2016. Respuestas bioquímicas en la lombriz de tierra *Eisenia andrei* expuesta a cadmio. *Saber*, 28 (3): 536-545.
- Hodson, M. y Bryant, J. 2012. *Functional Biology of Plants*, Wiley-Blackwell, Chichester.
- Hunt, R. 1978. Plant growth analysis. *Studies in biology* N° 96. Edward Arnold Ltd.
- Irfan, M.; Ahmad, A. y Hayat, S. 2014. Effect of cadmium on the growth and antioxidant enzymes in two varieties of *Brassica juncea*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21: 125-131.
- Jimenez, Z. 2009. Respuestas inmunológicas en la lombriz de tierra *Eisenia* sp. (Annelida: Oligochaeta) expuesta a cadmio. Cumaná, Venezuela. Trabajo de Grado. Escuela de Ciencias, Departamento de Biología, Universidad de Oriente.
- Kapoor, D.; Rattan, A.; Bhardwaj, R. y Kaur, S. 2016. Photosynthetic efficiency, ion analysis and carbohydrate metabolism in *Brassica juncea* Plants under cadmium stress. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5 (3): 279-286.
- Karahooagil, P., 2002. *Agricultural Economics Research Institute*, 1:5, Ankara.
- Kiran, Y.; Şahin, A. 2006. "The effects of cadmium on seed germination, root development and mitotic of root tip cells of Lentil (*Lens culinaris* Medik)". *World Journal of Agriculture Science*, 2: 196-200.
- Kısa, D.; Elmastas, M.; O' ztu'rk1, L y Kayır, O". 2016. Responses of the phenolic compounds of *Zea mays* under heavy metal stress. *Applied Biological Chemistry*, 59 (6): 813-820.
- Klaus, A.; Lysenko, E.; Kholodova, V. 2013. Maize plant growth and accumulation of photosynthetic pigments at short- and long-term exposure to cadmium. *Russian Journal of Plant Physiology*, 60: 250-259.

- Kudo, H.; Kudo, K.; Ambo, H.; Uemura, M. y Kawai, S. 2011. Cadmium sorption to plasma membrane isolated from barley roots is impeded by copper association onto membranes. *Plant of Science*, 180: 300-305.
- Kwankua, W.; Sengsai, S.; Muangphra, P. y Euawong, N. 2012. Screening for Plants Sensitive to Heavy Metals Using Cytotoxic and Genotoxic Biomarkers. *Natural Sciences*, 46: 10-23.
- Lemus, M.; Evaristo, E.; Salazar-Lugo, R. y Chung, K. 2014. Modulación de la Síntesis de Metalotioninas en *Perna Viridis* preexpuestos a cobre y expuestos a cadmio. *Saber*, 26: 10-17.
- Lemus, M.; Rojas, N.; Rojas-Astudillo, L. Chung, K. 2013. Metalotioninas en *Perna viridis* (Bivalvia: Mytilidae): variación estacional y su relación con la biología reproductiva. *Revista de Biología Tropical*, 61 (2): 701-709.
- Lian, J.; Zhouli, L.; Wei, C.; Yin, Y.; Shuai, Y. y Xingyuan, H. 2015. Hormesis effects induced by cadmium on growth and photosynthetic performance in a hyperaccumulator, *Lonicera japonica* Thunb. *Journal of Plant Growth Regulation*, 34: 13-21.
- Ling, T.; Gao, Q.; Du, H.; Zhao, Q. y Ren, J. 2017. Growing, physiological responses and Cd uptake of Corn (*Zea mays* L.) under different Cd supply. *Chemical Speciation & Bioavailability*, 29 (1): 216-221.
- Liu, D.; Hu, K.; Ma, J.; Qiu, W.; Wang, X. y Zhang, S. 2011. Effects of cadmium on the growth and physiological characteristics of sorghum plants. *African Journal of Biotechnology*, 10 (70): 15770-15776.
- Liu, S.; Yang, C.; Xie, W.; Xia, C. y Fan, P. 2012. The effects of cadmium on germination and seedling growth of *Suaeda salsa*. *Procedia Environmental Sciences*, 16: 293-298.
- López-Millán, A.; Sagardoy, R.; Solanas, M.; Abadía, A., Abadía, J., 2009: Cadmium Toxicity in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants grown in hydroponics. *Environmental and Experimental Botany*, 65: 376-385.
- Mahmood, S.; Hussain, A.; Saeed, Z. y Athar, M. 2005. Germination and seedling growth of corn (*Zea mays* L.) under varying levels of copper and zinc. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2 (3): 269-274.
- Manara, A. 2012. Plant Responses to Heavy Metal Toxicity. En: *Plants and Heavy Metals*. Furini, A (ed.), SpringerBriefs in Biometals.
- Marcano, E. 2006. Efectos del cadmio sobre los niveles de glutatión reducido (GSH) y actividades de enzimas antioxidantes en relación con la peroxidación de lípidos en la lombriz de tierra *Eisenia foetida*. Cumaná, Venezuela. Trabajo de Grado. Escuela de Ciencias, Departamento de Biología, Universidad de Oriente.
- Marcano, E.; Marciano, L.; Cortesía, A. y Nusetti, S. 2013. Efectos citotóxicos de clorpirifos y malation en la lombriz de tierra *Eisenia* sp. (Annelida: Oligochaeta).

Ecotoxicología y Contaminación Ambiental, 4 (1):156-166.

- Marcano, L.; León, A.; Dwight, A. y Zapata-Vívenes, E. 2018. Toxicidad del cadmio en celomocitos de la lombriz de tierra *Eisenia* sp.: Ensayo in vitro. (en prensa).
- Marcano, L.; Hernández, J.; Zapata-Vívenes, E. y León, A. 2017. Effects of contaminated natural soil by Glyphosan SL on biochemical responses of the earthworm *Eisenia* sp. *Journal of toxicology and environmental health sciences*, 9 (10): 92-97.
- Marcano, L.; Nusetti, O.; Rodríguez-Grau, J. y Vilas, J. 1996. Uptake and Depuration of Copper and Zinc in Relation to metal- Binding protein in the polychaete *Eurythoe complanata*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 114 (3): 179-184.
- Marcano, L.; Nusetti, O.; Rodríguez- Grau, J. y Vila, J. 1997. Coelomic fluid lysozyme activity induction in the polychaete *Eurythoe complanata* as a biomarker of heavy metal toxicity. *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology*, 59: 22-28.
- Marmioli, M.; Pighi, V.; Savo-Sardaro, M. y Marmioli, N. 2014. The effect of silicon on the uptake and translocation of arsenic in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 99: 9-17.
- Martínez, K.; Souza, V.; Bucio, L.; Gómez, L. y Gutiérrez, M. 2013. Cadmio: efectos sobre la salud. Respuesta celular y molecular. *Acta de Toxicología Argentina.*, 21: 33-49.
- Mendoza-Cozatl, D.; Jobe, T.; Hauser, F. y Schroeder, J. 2011. Long-distance transport, vacuolar sequestration, tolerance, and transcriptional responses induced by cadmium and arsenic. *Current Opinion in Plant Biology*, 14: 554 - 562.
- Meng, H.; Hua, S.; Shamsi, I.; Jilani, G.; Li, Y. y Jiang, L. 2012. Cadmium-induced stress on the seed germination and seedling growth of *Brassica napus* L. and its alleviation through exogenous plant growth regulators. *Journal of Plant Growth Regulation*, 58: 47-59.
- Mie, L.; Pengfei, H. y Fangbin, C. 2017. Glutathione-induced alleviation of cadmium toxicity in *Zea mays*. *Plant physiology and Biochemistry*, 119: 240-249.
- Mohamed, A.; Castagna, A.; Ranieri, A. y Sanità diToppi, L. 2012. Cadmium tolerance in *Brassica juncea* roots and shoots is affected by antioxidant status and phytochelatin biosynthesis. *Plant Physiology and Biochemistry*, 57: 15-22.
- Moosavi, S.; Gharineh, M.; Afshari, R. y Ebrahimi, A. 2012. Effects of some heavy metals on seed germination characteristics of canola (*Barassica napus*), wheat (*Triticum aestivum*) and safflower (*Carthamus tinctorious*) to evaluate phytoremediation potential of these crops. *The Journal of Agricultural Science*, 4 (9): 11.
- Moreno, J.; Hernández, T. y García, C. 2009. Effects of a cadmium-contaminated

- sewage sludge compost on dynamics of organic matter and microbial activity in an arid soil. *Biology and Fertility of Soils*, 28: 230-237.
- Nadgórska, A.; Kafel, A.; Kandziora-Ciupa, M.; Gospodarek, J. y Zawisza-Raszka, A. 2013. Accumulation of heavy metals and antioxidant responses in *Vicia faba* plants grown on monometallic contaminated soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 20:1124-1134.
- Nahar, K.; Hasanuzzaman, M. Alam. M. y Fujita, M. 2015. Exogenous glutathione confers high temperatura stress tolerance in mung bean (*Vigna radiata* L.) by modulating antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system. *Environmental and Experimental Botany*, 112: 44-54.
- Nazar, R.; Iqbal, N.; Masood, A.; Iqbal, M.; Syeed, S. y Khan, N. 2012. Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation. *American Journal of Plant Sciences*, 3: 1476-1489.
- Nocito, F.; Pirovano, L.; Cocucci, M. y Sacchi, G. 2002: Cadmium-induced sulphate uptake in maize roots. *Plant of Physiology*, 129: 1872-1879.
- Nusetti, O.; Parejo, M.; Esclapés, M.; Rodríguez-Grau, J. y Marcato, L. 1999. Acute-Sblethal Copper Effects on phagocytosis and lysozyme activity in the earthworm *Amyntas hawayanus*. *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology*, 63: 350-356.
- Nusetti, O.; Salazar-Lugo, R.; Rodríguez-Grau, J. y Vilas, J. 1998. Inmune y biochemical responses of the polychaeta *Eurythoe complanata* exposed to sublethal concentration of cooper. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 119: 177-183.
- Ojekunle, Z.; Adeboje, M.; Taiwo, A.; Sangowusi, R.; Taiwo, A. y Ojekunle, V. 2014. Tree Leaves as Bioindicator of Heavy Metal Pollution in Mechanic Village, Ogun State. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 18 (4): 649-644.
- Oporto, C.; Smolders, E.; Degryse, F.; Verheyen, L. y Vandecasteele, C. 2009. DGT-measured fluxes explain the chloride-enhanced cadmium uptake by plants at low but not at high Cd supply. *Plant and Soil*, 318: 127-135.
- Orroño, D. 2011. *Acumulación de metales (cadmio, zinc, cobre, cromo, níquel y plomo) en especies del género Pelargonium: suministro desde el suelo, ubicación en la planta y toxicidad*. Trabajo Grado. Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Argentina.
- Pal, M.; Horvath, E.; Janda, T.; Paldi, E. y Szalai, G. 2006. Physiological changes and defense mechanisms induced by cadmium stress in maize. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 169: 239-246.
- Perez, O. 2012. Metales pesados en *Abudedefduf saxatilis* del Parque Nacional Mochima e Isla La Tortuga, Venezuela. Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Venezuela.

- Pérez-Chaca, M.; Rodríguez-Serrano, M.; Molina, A.; Pedranzani, H.; Zirulnik, F.; Sandalio, L. y Romero-Puertas, M. 2014. Cadmium induces two waves of reactive oxygen species in *Glycine max* (L.) roots. *Plant, Cell and Environmental*, 37: 1672-1687.
- Pernía, B.; De Sousa, A.; Reyes, R. y Castrillo, M. 2008. Biomarcadores de contaminación por cadmio en las plantas. *Interciencia*, 33 (2): 152-189.
- Pinto, A.; Mota, A.; De Varennes, A. y Pinto, F. 2004. Influence of organic matter on the uptake of cadmium, zinc, copper and iron by sorghum plants. *Sciences of the Total Environmental*, 326: 239-247.
- Polo, A.; Marcano, L.; Granadillo, M.; Marcano, E.; Cortesía, C. y Hernández, J. 2011. Crecimiento y reproducción de la roja californiana (*Eisenia andrei*) en sustratos con cadmio. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*, 45 (2): 119-130.
- Rahoui, S.; Chaoui, A. y El Ferjani, E. 2010. Membrane damage and solute leakage from germinating pea seed under cadmium stress. *Journal of Hazardous Materials*, 178: 1128-1131.
- Ramírez, A. 2002. Toxicología del cadmio conceptos actuales para evaluar exposición ambiental u ocupacional con indicadores biológicos. *Anales de la Facultad de Medicina*, 63.
- Rastgoo, L.; Alemzadeh, A.; Mohammad, A.; Esmaeili, S. y Eslamzadeh, T. 2014. Effects of copper, nickel and zinc on biochemical parameters and metal accumulation in gouan, *Aeluropus littoralis*. *Australian Journal of Crop Science*, 5 (4): 375-383.
- Ravindran, A.; DeGheselle, O.; Smeets, K.; Van Kerkhove, E. y Cuypers, A. 2013. Cadmium-Induced Pathologies: Where Is the Oxidative Balance Lost (or Not)? *International Journal of Molecular Sciences*, 14: 6116-6143.
- Razinger, J.; Dermastia, M.; Dolenc, J. y Zrimec, A. 2008. Oxidative stress in duckweed (*Lemna minor* L.) caused by short-term cadmium exposure. *Environmental Pollution*, 153: 687-694.
- Remon, E.; Bouchardon, J.; Le Guédard, M.; Bessoule, J.; Conord, C. y Faure, O. 2013. Are plants useful as accumulation indicators of metal bioavailability? *Environmental Pollution*, 175:1-7.
- Retamal-Salgado, J.; Hirzel, J.; Walter, I. y Matus, I. 2017. Bioabsorption and Bioaccumulation of Cadmium in the Straw and Grain of Maize (*Zea mays* L.) in Growing Soils Contaminated with Cadmium in Different Environment. *International Journal Environmental Research and Public Health*, 14: 1399.
- Rellán-Álvarez, R.; Ortega-Villasante, C.; Álvarez-Fernández, A.; Campo, F. y Hernández, L. 2006. "Stress responses of *Zea mays* to cadmium and mercury," *Plant and Soil*, 279: 4-150.
- Romero-Puertas, M.; Ortega-Galisteo, A.; Rodríguez-Serrano, M. y Sandalio, L. 2012.

- Insights into cadmium toxicity: reactive oxygen and nitrogen species function. En: *Metal Toxicity in Plants: Perception, Signaling and Remediation*. Gupta, D. y Sandalio, L. (eds). Págs. 91-117.
- Saidi, I.; Ayouni, M.; Dhieb, A.; Chtourou, Y.; Chaïbi, W. y Djebali, W. 2013. Oxidative damages induced by short-term exposure to cadmium in bean plants: Protective role of salicylic acid. *South African Journal of Botany*, 85: 32-38.
- Sandalio, L.; Dalurzo, H.; Gomez, M.; Romero-Puertas, M. y Del Rio, L. 2001. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. *Journal of Experimental Botany*, 52: 2115-2126.
- Schettino, T.; Caricato, A.; Calisi, M.; Giordano, E. y Lionetto, M. 2012. Biomarker Approach in Marine Monitoring and Assessment: New Insights and Perspectives. *Open Environmental Sciences*, 6: 20-27.
- Serratos, J. 2009. *El origen y la diversidad del maíz en el continente americano*. Editorial Review. México.
- Smeets, K.; Opdenakker, K.; Remans, T.; Sanden, S.; Belleghem, F.; Semane, B. y Cuypers, A. 2009. Oxidative stress-related responses at transcriptional and enzymatic levels after exposure to Cd or Cu in a multipollution context. *Journal of Plant Physiology*, 166: 1982-1992.
- Sokal R, Rohlf, J. 2012. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. Fourth edition. WH Freeman and Company. San Francisco.
- Song, J.; Jun, S.; Chen, J.; Ting, W. y Yang, Z. A cadmium stress-responsive gene AtFC1 confers plant tolerance to cadmium toxicity. 2017. *BMC Plant Biology*, 17: 187.
- Stingu, A.; Stanescu, I.; Volf, I y Popa, V. 2011. Hyperaccumulation of cadmium in maize plant (*Zea Mays*). *Cellulose chemistry and technology*, 45 (3-4): 287-290.
- Sun, S.; Li, M.; Zuo, J.; Jiang, W. y Liu D. 2015. Cadmium effects on mineral accumulation, antioxidant defense system and gas exchange in cucumber. *Zemdirbyste-Agriculture*, 102 (2): 193-200.
- Tao, L.; Guo, M. y Ren, J. 2015. Effects of Cadmium on Seed Germination, Coleoptile Growth, and Root Elongation of Six Pulses. *Polish Journal Environmental Studies*, 24: 295-299.
- Telkiran, E. y Ergün, N. 2014. Effects of cadmium and zinc interactions on growth parameters and activities of ascorbate peroxidase on maize (*Zea mays* L. MAT 97). *Europa Journal Experimental Biology*, 4 (1): 288-295.
- Tiquia, S. 2000. Evaluating phytotoxicity of pig manure from the pig on litter system. En: *Proceedings of the international composting symposium*. Warman, P. y Taylor, B. (eds.), CBA Press Inc. Truro. Nueva Escocia, Canadá. pp: 625-647.
- Tran, T. y Popova, L. 2013. Functions and toxicity of cadmium in plants: recent advances and future prospects. *Turkish Journal of Botany*, 37: 1-13.

- Wang, F.; Zeng, B.; Sun, Z. y Zhu, C. 2009. "Relationship between proline and Hg^{2+} -induced oxidative stress in a tolerant rice mutant," *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 56 (4): 723-731.
- Wójcik, M. y Tukendorf, A. 2005. Cd-tolerance of maize, rye and wheat seedlings. *Acta Physiologiae of Plantarum*, 21: 99-107.
- Wu, Q.; Chen, Q.; Shen, W.; Shen, Z.; Xia, Y. y Cui, J. 2015. Cadmium-Induced Hydrogen Accumulation Is Involved in Cadmium Tolerance in *Brassica campestris* by Reestablishment of Reduced Glutathione Homeostasis. *PLoS ONE*, 10 (10): 1-21.
- Xu, X.; Liu, C.; Zhao, X.; Li, R y Deng, W. 2014. Involvement of an antioxidant defense system in the adaptive response to cadmium in maize seedlings (*Zea mays* L.). *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology*, 93 (5): 618-240.
- Xu, J.; Yin, H. y Li, X. 2009. Protective effects of proline against cadmium toxicity in micropropagated hyperaccumulator, *M. truncatula*. *Plant Cell Reports*, 28: 325-333.
- Yadav, K. y Singh, N. 2013. Effect of benzoic acid and cadmium toxicity on wheat seedlings. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 3 (2): 168-174.
- Yang, S.; Xie, J. y Li, Q. 2012. Oxidative response and antioxidant mechanism in germinating soybean seeds exposed to cadmium. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 9: 2827-2838.
- Yang, X.; Feng, Y.; He, Z. y Stoffella, P. J. 2005. Molecular mechanisms of heavy metal tolerance/hyperaccumulation in plants. *Journal International of Plant Biology*, 47:1025-1035.
- Yang, Y.; Nan, Z. y Zhao, Z. 2014. Bioaccumulation and translocation of cadmium in wheat (*Triticum aestivum* L.) and maize (*Zea mays* L.) from the polluted oasis soil of *Chemical Speciation and Bioavailability*, 26: 43-51.
- Yue, R.; Lu, C.; Qi, J.; Han, X.; Yan, S.; Guo, S.; Liu, L.; Fu, X.; Chen, N.; Yin, H.; Chi, H. y Tie, S. 2016. Transcriptome Analysis of Cadmium-Treated Roots in Maize (*Zea mays* L.). *Frontier in Plant Science*, 7: 1298.
- Zapata-Vívenes, E.; Nusetti, O.; Marcano, L.; Escaplés, M. y Arredondo, L. 2005. Immunological responses and wound healing in the polychaete *Eurythoe complanata* (Annelida: Amphinomidae) exposed to cooper. *Ciencias Marinas*, 31: 1-9.
- Zapata-Vívenes, E.; Sánchez, G. y Marcano, L. 2015. Reservas energéticas e índices moleculares de condición en *Lima (Ctenoides) scabra* expuesta a lubricantes usados de motores de automóviles. *Zootecnia Tropical*, 33 (1): 37-45.
- Zhang, X.; Li, C. y Nan, Z. 2012. Effects of cadmium stress on seed germination and seedling growth of *Elymus dahuricus* infected with the Neotyphodium

endophyte. *Sci China Life Sciences*, 55 (9): 793-9.

Zheng, G.; Lv, H.; Gao, S. y Wang, S. 2010. Effects of cadmium on growth and antioxidant responses in *Glycyrrhiza uralensis* seedlings. *Plant soil environment*, 56 (11): 508-515.

HOJA DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

Título	BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO Y CRECIMIENTO EN MAÍZ (<i>Zea mays</i> L.) EXPUESTO A CADMIO
Subtítulo	

Autor (es):

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Lanza L. Noryeling L.	CVLAC	25 101 107
	e-mail	<i>noryelinglanzal@gmail.com</i>

Palabras o frases claves:

Biomarcadores
<i>Zea mays</i>
Cadmio
Glutación reducido (GSH)
Malondialdehído (MDA)
Estrés oxidativo

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Biología

Resumen (abstract):

Con el propósito de evaluar los efectos del Cd sobre la germinación, crecimiento, defensa antioxidante y estrés oxidativo en *Zea mays* L., se utilizaron diferentes respuestas fisiológicas y bioquímicas como biomarcadores (BMs). En una primera fase del estudio, durante nueve días consecutivos, semillas desinfectadas de esta especie fueron colocadas en germinadores contentivos de papel absorbente humedecido ya sea en agua destilada, correspondiente al tratamiento control (T_0) o en soluciones de cadmio a concentraciones de 5 μM (T_1), 25 μM (T_2) y 50 μM (T_3). Finalizado el periodo de exposición, se estimó el porcentaje de germinación relativo (PGR), índice de germinación (IG), crecimiento relativo de la radícula (CRR) e índice de tolerancia de las plántulas de desarrollo inicial (IT_1). En la segunda fase, de las plántulas de crecimiento inicial obtenidas en la fase anterior, se seleccionaron 10 plántulas de apariencia saludable y tamaño homogéneo para ser expuestas durante 30 días a los mismos tratamientos con Cd en materos plásticos, contentivos de un sustrato orgánico natural, mezclado con agua (T_0) y las soluciones respectivas del metal. Durante el ensayo, se hicieron observaciones de la sintomatología de las plántulas y, como BMs de crecimiento se estimaron: la Tasa Relativa de Crecimiento (TCR), el número de hojas y las longitudes de la raíz, tallo y hojas; las concentraciones de glutatión reducido (GSH) y malondialdehído (MDA) en raíces y hojas fueron evaluadas como marcadores de defensa antioxidante y estrés oxidativo, respectivamente. Adicionalmente, al final de este ensayo se cuantificó el Índice de Tolerancia en estas plantas (IT_F). Ambos bioensayos se llevaron a cabo en condiciones naturales con temperatura y fotoperiodo de 28 ± 3 °C y 12/12 h luz indirecta/oscuridad, respectivamente. Los resultados del primer ensayo, revelaron una elevada tasa de germinación de las semillas de *Z. mays*, obteniéndose un PGR de 100 %; éste índice al igual que el IG no fueron afectados por la exposición al metal; sin embargo, el CRR decreció en T_2 y T_3 . Similarmente, el IT_1 fue afectado por el metal, pero sólo en T_3 . Los resultados del segundo ensayo evidenciaron que, los distintos tratamientos con Cd no afectaron el IT_F , ni el crecimiento de las plantas expuestas al metal por 30 días, en contraste, la concentración de GSH en raíces y hojas aumentó significativamente en T_1 ; mientras que, el nivel de MDA incrementó sólo en T_3 . Se concluye que, ninguna de las concentraciones de Cd afectaron la germinación; no obstante, la elongación radicular y desarrollo inicial de las plántulas fueron más sensibles a las dosis más altas del metal, inferencia sustentada además, por el descenso en el IT_1 a esa concentración. La estimulación de los niveles de GSH en hojas y raíces, revelan la importancia de esta molécula como defensa antioxidante y estrategia bioquímica que le permite tolerar las dosis bajas (5 y 25 μM Cd) y controlar la toxicidad del metal, evitando el desarrollo de estrés oxidativo en ambos tejidos; en cambio, a la dosis de Cd más alta (50 μM), se sobrepasa la capacidad de defensa, evidenciándose daños oxidativos asociados a incrementos de MDA. Los IT s corroboraron que 5 y 25 μM de Cd son dosis toleradas por la especie, pero 50 μM de Cd ya es perjudicial y afecta el crecimiento, al menos durante el desarrollo inicial de las plántulas de *Z. mays*.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Leida Marcano	ROL	CA ☐ AS ☒ TU ☐ JU ☐
	CVLAC	8 219 437
	e-mail	<i>Leimar0501@gmail.com</i>
José A. Véliz	ROL	CA ☒ AS ☐ TU ☐ JU ☐
	CVLAC	7 711 312
	e-mail	<i>vélizja@gmail.com</i>
José Imery Buiza	ROL	CA ☐ AS ☐ TU ☐ JU ☒
	CVLAC	
	e-mail	<i>joseimery@gmail.com</i>
Edgar Zapata Vívenes	ROL	CA ☐ AS ☐ TU ☐ JU ☒
	CVLAC	12 269 219
	e-mail	<i>ezapata@sucre.udo.edu.ve</i>

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2018	07	18

Lenguaje: spa

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

Archivo (s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis-LanzaN.doc	Aplication/Word

Alcance:

Espacial: Nacional (Opcional)

Temporal: Temporal (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo:

Licenciado en Biología

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciado

Área de Estudio: Biología

Institución (es) que garantiza (n) el Título o grado:

UNIVERSIDAD DE ORIENTE, NÚCLEO DE SUCRE, CUMANÁ



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN° 0975

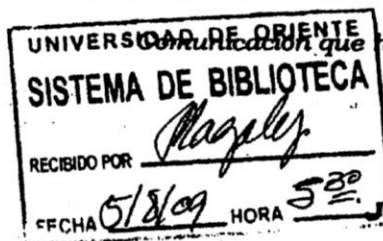
Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.



Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

JUAN A. BOLANOS CUNDE
Secretario

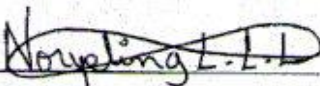


C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/marija

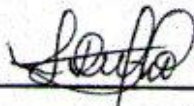
Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 6/6

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009): “Los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y sólo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización”.



Noryeling L. Lanza L.

AUTORA



Leida del V. Marciano.

ASESOR



José Véliz.

CO-ASESOR