

Sistemas antioxidantes del cultivo de *Cicer Arietinum* L bajo condiciones de estrés abiótico: Revisión de literatura

MIRELES-ARRIAGA, Ana Isabel, RUIZ-NIETO, Jorge Eric, MARÍN-HERNÁNDEZ, José Antonio, HERNÁNDEZ-RUIZ, Jesús y MONTERO, Víctor

A. Mireles`, J. Ruiz`, J. Marín`, J. Hernández` y V. Montero``

` Departamento de Agronomía, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato Campus Irapuato-Salamanca, Ex Hacienda El Copal, Km. 9 Carretera Irapuato-Silao A.P. 311 C.P. 36500. Irapuato, Gto.

`` Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo experimental Bajío, km 6.5 carretera Celaya San Miguel de Allende, Celaya Guanajuato C.P. 38010
ana.mireles@ugto.mx

F. Pérez, E. Figueroa, L. Godínez, J. Rocha (eds.) Ciencias de la Química y Agronomía. Handbook T-I.-©ECORFAN, Texcoco de Mora, México, 2017.

Abstract

The exposure of plants to unfavorable environmental conditions (abiotic stress) affecting their development by increasing the generation of reactive oxygen species (ROS), that can be capable to affect cellular functions. However, plants have enzymes and derived from secondary metabolism compounds that can act synergistically for prevent oxidative damage. This system can contribute to prevent low production yields affectations under abiotic stress in crops with economic and nutrimental interest as chickpea (*Cicer arietinum*). Given the importance of this crop in Mexico and the constant change on field conditions; this review proposes a general overview of the scientific work in order to understand the antioxidant response on chickpea crop.

10 Introducción

La exposición de las plantas a condiciones ambientales desfavorables es decir a estrés abiótico como temperaturas extremas, metales pesados, sequía, limitación en la disponibilidad de agua, contaminantes en el aire, deficiencias nutrimentales o estrés salino genera estrés en las plantas. El efecto primario del estrés abiótico es el desbalance hiperosmótico, que da como resultado la acumulación de especies reactivas del oxígeno ROS (por Reactive Oxygen Species) que en altas concentraciones resultan dañinas (Ahmad *et al.*, 2009) afectando las funciones celulares mediante la oxidación de proteínas, peroxidación de lípidos, dañando membranas y ácidos nucleicos lo cual al final resulta en la muerte celular, debido a esto, el estrés oxidativo es considerado una de las principales causas en las pérdidas de producción (Gill y Tuteja, 2010).

Para protegerse contra los radicales, las plantas pueden responder a un nivel morfológico, anatómico o celular con modificaciones que permiten que la planta para evite el estrés o aumentar su tolerancia (Sohrabi *et al.*, 2012). A un nivel celular, el sistema antioxidante de las plantas está formado principalmente por enzimas como la super oxidodismutasa (SOD), catalasa (CAT), polifenol oxidasa (PPO), peroxidasa (POD) ascorbato peroxidasa (AOX), peroxidasa (POD) reductasa, etc; así como metabolitos derivados del metabolismo secundario como el ácido ascórbico, compuestos fenólicos, alcaloides, tocoferoles, etc. (Gill y Tuteja, 2010). Este es el mecanismo más común para la desintoxicación de los ROS sintetizados durante el estrés. Por ejemplo; la inactivación del radical H_2O_2 es esencial para la célula, a fin de evitar la inhibición de enzimas que controlan el ciclo de Calvin en el cloroplasto, el H_2O_2 producido se puede inactivar mediante la enzima CAT (EC 1.11.1.6), POX (EC 1.11.1.7) o mediante su inactivación por compuestos antioxidantes. (Sohrabi *et al.*, 2012).

La sinergia entre enzimas y compuestos antioxidantes como defensa ante el estrés abiótico ha sido referenciada en diversos cultivos de importancia económica y nutrimental como lo reportado por Chang-Quan y Rui-Chang, (2008) en *Trifolium repens* L., Pan *et al.*, (2006) en *Glycyrrhiza uralensis* Fisch, Zlatev *et al.*, (2006) en *Phaseolus vulgaris* y Shankar *et al.*, (2016) en (*Cicer arietinum*).

El garbanzo (*Cicer arietinum*) un cultivo miembro de la familia fabácea originario de del sureste de Turquía y Syria. Es de gran importancia a nivel mundial, ya que es una excelente fuente de proteínas para consumo animal y humano, en especial en países en vías de desarrollo (Sharma *et al.*, 2013). Además de sus características nutrimentales, esta leguminosa, juega un papel importante en la sostenibilidad agrícola, ya que se utiliza como cultivo de rotación, debido a que permite la fijación de N_2 en el suelo. Dado que esta planta es cultivada en zonas con problemas agroecológicos severos (Kashiwagi *et al.*, 2015), es de suma importancia evaluar variedades capaces de tolerar el estrés abiótico, ya sea por medios fisiológicos o mediante sistemas como el antioxidante endógeno de la planta.

El presente trabajo se enfoca primordialmente en la revisión de los trabajos que han realizado la evaluación de la respuesta del sistema antioxidante enzimático y no enzimático del cultivo de garbanzo generadas bajo condiciones de estrés abiótico.

10.1 Generalidades del garbanzo (*Cicer arietinum*)

El garbanzo (*Cicer arietinum*) es un cultivo miembro de la familia fabácea que se originó y domesticó hace 12000-10000 años en la región del sureste de Turquía y áreas cercanas de Siria (Aliu *et al.*, 2016). La evidencia reciente sugiere que esto ocurrió como un evento único debido a la distribución geográfica limitada de las especies silvestres y la baja variación genética de la planta ya cultivada. Hace 4000-5000 años aprox., las formas domesticadas, inicialmente de tipos desi, fueron introducidas al sur de Europa y al norte de África mediante las rutas comerciales hacia el Mediterráneo. Los tipos kabuli llegaron después (hace 300 años aprox).

La importancia de Kabul en la ruta de la seda sugiere la introducción por tierra y el origen de la palabra 'kabuli'. En el siglo XVI, los viajeros españoles y portugueses llevaron tipos kabuli al Sur y América central en el que llegó a ser conocido por su nombre español 'garbanzo' (Maesen, 1987)

En la actualidad existe una creciente demanda de garbanzos debido a su valor nutricional, para consumo animal (Bampidis y Christodoulou 2011) y para consumo humano, en las zonas tropicales semiáridas esta leguminosa es un componente importante de la dieta ya que es considerado un sustituto de la proteína cárnica. Además es un producto libre de colesterol y es una buena fuente de fibra dietética, vitaminas y minerales (Jukanti *et al.*, 2012) (Tabla 10).

Tabla 10 Composición química de algunas leguminosas Leguminosa

Leguminosa	Proteína*	Lípidos*	Carbohidratos*	Fibra*	Minerales*
Frijol negro	26.9	1.6	66.9	1.0	3.6
Judía mungo	26.7	2.3	64	7.2	3.6
Garbanzo	22.7	5.0	66.3	3.0	3.0
Alubias	24.1	1.8	65.2	4.5	4.4
Chícharos	27.4	1.3	66.6	0.9	3.8
Lentejas	28.6	0.8	67.3	0.8	2.4
Chícharo seco	25.7	1.6	68.6	1.6	3.0

*Cantidades expresadas en porcentaje (%) b.s. Fuente: tomado de (Vélez-Ruiz y F, 2013)

Dada su importancia nutrimental, hoy en día el cultivo de garbanzo está ampliamente distribuido en todo el mundo, sin embargo, la mayor parte se produce en entornos donde las condiciones no siempre resultan favorables como (a) Sistemas de suelos húmedos en el sur de Asia, (b) precipitaciones intensas durante la temporada en el Mediterráneo, (c) arenas alcalinas en el norte de la India (d) suelos aluviales en el noroeste de la India y Nepal y (e) poca retención de humedad en los suelos de Australia (Kashiwagi *et al.*, 2015).

Aunado a esto, los constantes cambios climáticos actuales intensifican los eventos que desencadenan el estrés abiótico en las plantas, afectando el rendimiento final (Leport *et al.*, 2006)(Wang *et al.*, 2006). Si bien el componente climático no es el único factor involucrado en el desarrollo del cultivo de garbanzo, se ha reportado que el estrés generado estos factores abióticos afecta la floración y el llenado de semillas, generando una pérdida importante en la producción final del cultivo (Mohammadi *et al.*, 2011).

10.2 Producción y daños producidos por ROS

Cuando las plantas son sometidas a estrés por factores abióticos ambientales (sequía, luminosidad, temperatura, salinidad y metales) suceden cambios que afectan su desarrollo estructural, fisiológico y procesos bioquímicos (Ahmad *et al.*, 2010). El efecto primario del estrés, es la ruptura del balance osmótico que desencadena la generación de especies reactivas del oxígeno (ROS) que son un grupo de radicales libres, iones moléculas y moléculas reactivas que incluyen el oxígeno singulete ($^1\text{O}_2$), radicales superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) y peróxido de hidrogeno (H_2O_2), por mencionar algunos (Tabla 10.1) (Roldán-Arjona y Ariza 2009).

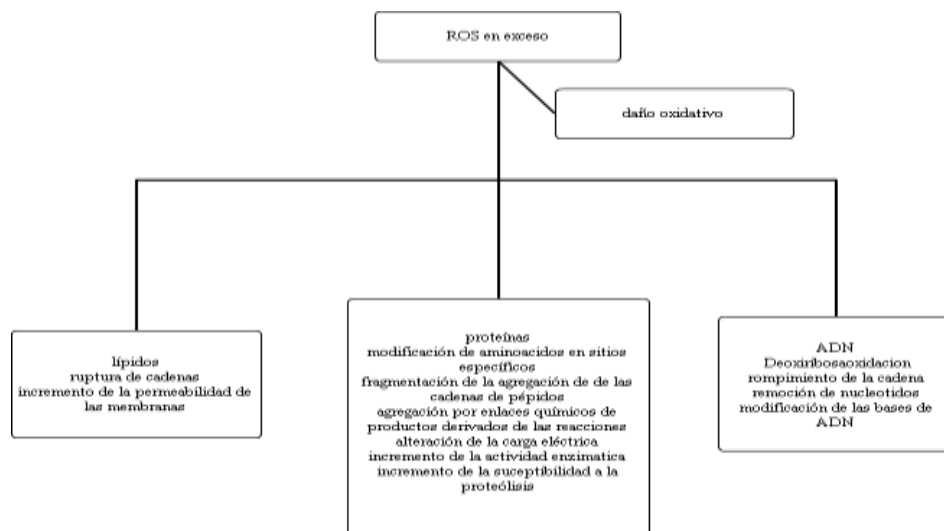
Tabla 10.1 Principales especies reactivas del oxígeno en plantas

ROS	T1/2	Fuentes	Modo de acción	Reacción con DNA	Reacción con proteína
Superoxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$)	1-4 μs	Membranas cloroplastos mitocondria	Reacciona con complejos que contiene dobles enlaces como proteínas Fe-S	Muy baja	Con el centro Fe
Radial hidroxilo (OH^{\cdot})	1 μs	Membranas cloroplastos mitocondria	Extremadamente reactivo con todas las biomoléculas	Rápida	Rápida
Peróxido de hidrogeno (H_2O_2)	1ms	Membranas cloroplastos mitocondria peroxisomas	Oxida proteínas y formas de OH vía O_2	baja	Ataca residuos Cys
Oxigeno singulete ($^1\text{O}_2$)	1-4 μs	Membranas cloroplastos mitocondria	Oxida proteínas PUFAs y ADN	Reacciona con residuos G	Ataca residuos de Trp, Tyr, Met y Cys

Fuente: Adaptado de Kaushik y Roychoudhury (2014)

Se ha estimado que cerca del 1% del oxígeno consumido por las plantas se transforma en ROS en varios compartimentos de la célula vegetal, no obstante, aun cuando estas moléculas juegan un papel beneficioso (en bajas concentraciones actúan como segundo mensajero en la señalización) (Choudhury *et al.*, 2013; Sharma *et al.*, 2012), en altas concentraciones causan daños en proteínas, lípidos, proteínas, carbohidratos y DNA (Figura 10) que culmina en la muerte celular (Ahmad *et al.*, 2009).

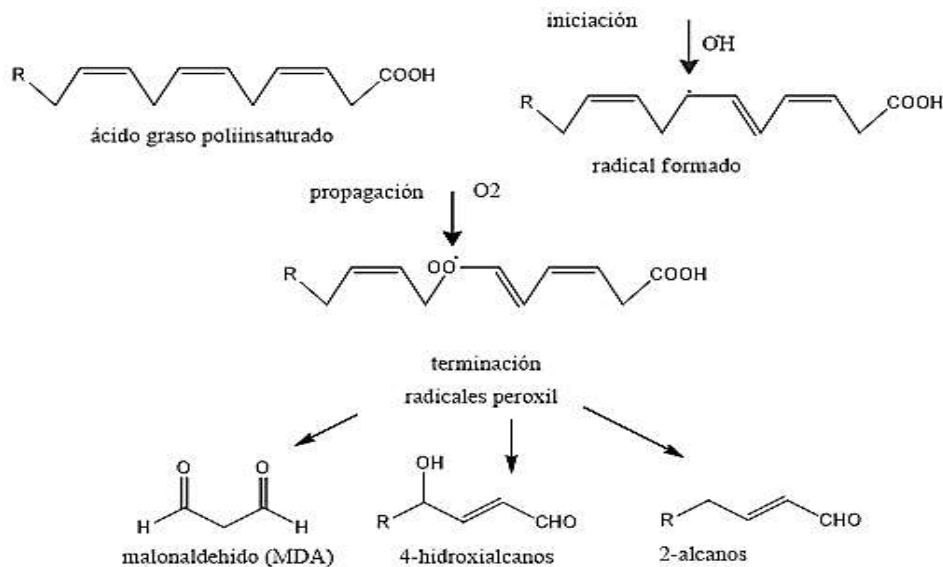
Figura 10 Daños provocados por ROS en células vegetales



Fuente: Adaptado de Sharma *et al.*, 2012

Las principales moléculas atacadas por las especies reactivas son los lípidos y las proteínas y algunos carbohidratos libres. Los lípidos vegetales incluyen grasas, ceras, esteroides, fosfolípidos, hidrocarburos ácidos grasos libres y lípidos de membrana constituyen un componente químico importante de todas las membranas celulares y están representados principalmente por fosfolípidos (la más abundante) y esteroides (en particular, estigmasterol) (Anjum *et al.*, 2015). La peroxidación de los lípidos (POL) es considerado como el proceso más dañino generado en los tejidos vivos, ya que se asocia a la oxidación lipídica y con la programación de la muerte celular (Farmer y Mueller 2013). De hecho, la medición de los derivados de la peroxidación lipídica resulta ser un indicador confiable de la presencia de ROS (Figura 10.1). Durante la POL, los productos se forman a partir de precursores de ácidos grasos poliinsaturados dando como resultado incluyen pequeños fragmentos de hidrocarburos tales como cetonas, malonaldehído (MDA) y compuestos relacionados con ellos, estas moléculas son altamente reactivas (Gill y Tuteja 2010) iniciando la cadena de oxidación de otros lípidos o bien daños a otras macromoléculas como las proteínas.

Figura 10.1 Generación de lipoperóxidos



Fuente: (Mimica-Dukić *et al.*, 2012)

La oxidación de proteínas se define como la modificación covalente inducida por los ROS o subproductos del estrés oxidativo. La mayoría de los tipos de oxidaciones de proteínas son esencialmente irreversible, mientras que, algunas pocas que involucran aminoácidos que contienen azufre son reversibles (Ahmad *et al.*, 2010). La oxidación proteica puede utilizarse como marcador para diagnosticar el estrés en plantas, el daño más común es dado a los residuos Cys, Met, Arg, Pro y Trp, (Møller *et al.*, 2007), a las formas mtADN nADN o bien con la formación de complejos con productos derivados de la oxidación de lípidos generando modificaciones del ADN o conduciendo a cambios en la metilación de las citosinas, lo cual, es importante para la regulación de la expresión génica (Ahmad *et al.*, 2009).

En el caso de la oxidación de los carbohidratos, resulta menor en comparación con la oxidación de lípidos y proteínas, generalmente los polisacáridos de la pared celular, azúcares y polioles son susceptibles a la oxidación mediante radicales $\text{HO}\cdot$ cuya acción está involucrada en la debilitación de la pared celular durante la maduración y senescencia de las frutas (Møller *et al.*, 2007).

Para aliviar el exceso de ROS, las plantas han desarrollado diversos mecanismos que incluyen antioxidantes de carácter enzimático (Gill y Tuteja 2010) y no enzimático que son derivados del metabolismo secundario de la plantas, entre los que se destaca los compuestos polifenólicos, carotenoides y diversos ácidos orgánicos (Wanasundara y Shahidi 2005).

10.3 Sistema antioxidante

Los antioxidantes (enzimáticos y no enzimáticos) juegan un rol crítico en la eliminación de ROS y su actividad generalmente se correlaciona con la defensa ante el estrés abiótico y el desarrollo de las plantas. La supervivencia en el medio ambiente requiere de un estado redox estable, que necesita vías antioxidantes eficaces para restaurar el balance de la producción de ROS y el estado homeostático celular, previniendo así la muerte de la misma (Choudhury *et al.*, 2013). Los antioxidantes más comunes y la forma en la que contribuyen a la inactivación de moléculas reactivas son mencionados en la Tabla 10.2.

Tabla 10.2 Diferentes antioxidantes con capacidad de inactivar ROS

Antioxidante	código	Mayor reacción catalizada	Sitio de reacción
SOD (superóxido dismutasa)	EC 1.15.1.1	$2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$	Chl, Cyt, Apo, Mit, Per
CAT (catalase)	EC 1.11.1.6	$H_2O_2 \rightarrow H_2O + \frac{1}{2}O_2$	Per, Chl, Mit
APX (ascorbate peroxidasa)	EC 1.11.1.11	$H_2O_2 + 2AsA \rightarrow 2H_2O + 2MDHA$	Chl, Cyt, Apo, Mit, Per
MDHAR (monodehidro ascorbato reductasa)	EC 1.6.5.4	$NADH + H^+ + 2MDHA \rightarrow 2AsA + NADP^+$	Chl, Cyt, Mit
DHAR (Dehidroascorbato reductasa)	EC 1.8.5.1	$DHA + 2GSH \rightarrow AsA + GSSG$	Chl, Cyt, Mit
GR (glutathione reductase)	EC 1.6.4.2	$NADPH + H^+ + GSSG \rightarrow 2GSH + NADP^+$	Chl, Mit, Cyt
GPX (glutathione peroxidasa)	EC 1.11.1.9	$2GSH + ROOH(H_2O_2) \rightarrow GSSG + ROH + H_2O(2H_2O)$	Cyt, Mit
GST (glutathione transferase)	EC 2.5.1.18	$H_2O_2 + 2GSH \rightarrow 2H_2O + GSSG + RX$ $+ GSH \rightarrow HX + GS - R$	Chl, Cyt, Mit
AsA	-	<i>inactiva</i> O_2^- , H_2O_2 , 1O_2	Chl, Cyt, Apo, Mit, Per
GSH	-	<i>inactiva</i> H_2O_2 , $OH\bullet$, 1O_2	Chl, Cyt, Apo, Mit, Per
POD	(EC 1.11.1.7)	$2RH + H_2O_2 \rightarrow 2R\bullet + 2H_2O$	Membranas
PPX	EC 1.14.18.1		
Compuestos polifenolicos	-	$ROO\bullet + PhOH \rightarrow ROOH + PhO\bullet$	-
Tocoferoles	-	<i>inactiva</i> 1O_2 , $OH\bullet$, $ROO\bullet$, $ROOH$	Membrana

Chl cloroplastos, Cyt: citosol, Mit mitochondria, PhOH: antioxidante fenólico Apo: apoplasto, Per: peroxisome, R: pueden ser grupos alifáticos aromáticos o hereociclicos, X: pueden ser grupos sulfato nitrito o haluro

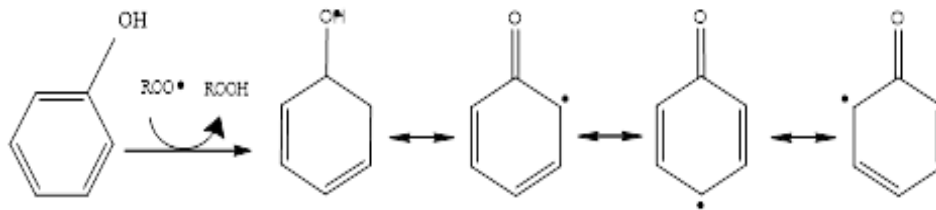
Fuente: Hasanuzzaman *et al.*, (2012); Awad *et al.*, (2011); Amahad *et al.*, (2010); Almagro *et al.*, (2009)

10.4 Inactivación de ROS

Cada enzima y/o metabolito secundario actúa de manera distinta al captar, o inactivar radicales libres, un antioxidante se define como una sustancia o compuesto que cuando se encuentra en baja concentración en comparación con un sustrato oxidable, es capaz de retrasar o detener las reacciones de oxidación, ya sea en sistemas biológicos o no biológicos susceptibles de sufrir daños por esa causa (Moon y Shibamoto 2009).

Uno de los principales antioxidantes presentes en las plantas son los compuestos polifenólicos que constituyen el grupo de metabolitos secundarios más abundantes en las plantas. Sus propiedades antioxidantes están relacionadas con su estructura química como los anillos fenólicos, enlaces de hidrógeno y resonancia, mismas que pueden facilitar la captación de radicales peróxido (ROO^\bullet) en moléculas más estables (Wanasundara y Shahidi 2005), su habilidad para donar hidrógeno o electrones, así como por la habilidad del radical polifenólico de estabilizar y deslocalizar el electrón impar (ruptura de cadena de oxidación) (Ahmad *et al.*, 2010), es decir; la donación de un átomo de Hidrógeno al radical peroxi formando un radical peróxido, el radical nuevo exhibe menor energía lo que asegura su menor reactividad para catalizar la oxidación de otras moléculas, este nuevo radical es estabilizado mediante la delocalización del electrón impar próximo al anillo fenólico para formar un híbrido de resonancia estable (Figura 10.2). A este tipo de mecanismo se le conoce como “ruptura de la cadena de oxidación” (Ahmad *et al.*, 2010).

Tabla 10.2 Híbridos con resonancia estable de derivados de antioxidante fenólicos



Fuente: (Shahidi, 2005)

Aquellos antioxidantes que no interrumpen directamente la cadena de oxidación son conocidos como antioxidantes secundarios y pueden actuar mediante otros mecanismos como la quelación de iones metálicos, oxígeno, descomposición de hidroperóxidos, absorbiendo radiación UV y desactivando el oxígeno singulete. En esta clasificación encontramos a las enzimas antioxidantes que comprenden la superóxido dismutasa (SOD) que descompone $\text{O}_2^{\bullet-}$ a O_2 y H_2O_2 que se oxida después a oxígeno molecular y H_2O por peroxidasa (POX), catalasa (CAT) y enzimas de la ruta ascorbato-glutatión, tales como ascorbato peroxidasa (APX) y la glutatión reductasa (GR) (Ardic *et al.*, 2009) que actúan al inactivar el radical H_2O_2 presente en los cloroplastos y mitocondrias. Los otros antioxidantes enzimáticos, catalasa (CAT) y peroxidasa (POX), son capaces de eliminar H_2O_2 , neutralizar o eliminar los radicales y oxintermedios libres tal como se muestra en la Tabla 10.3 (Jaleel *et al.*, 2009).

El sistema de defensa antioxidante, actúa de manera sinérgica para controlar la de oxidación y así proteger a las células vegetales (Gill y Tuteja 2010). Estos sistemas se encuentran en casi todos los compartimentos celulares, lo que demuestra la importancia de la desintoxicación de los ROS para la supervivencia celular (Hasanuzzaman *et al.*, 2012). Una vez que las plantas se someten a factores que generan ROS, las células vegetales reaccionan de distinta manera dependiendo del factor de estrés, tiempo de exposición, variedad genética y periodos previos (Møller *et al.*, 2007). Si bien la evaluación de cultivos durante periodos o factores de estrés es algo bien documentado (Jenks, 2007), la descripción de la respuesta antioxidante después de periodos de estrés abiótico es algo poco estudiado, en el cultivo de garbanzo, ya que la mayor parte de las investigaciones relativas a este tipo de estrés se centra en la búsqueda de marcadores genéticos o en la fisiología y rendimiento del cultivo (Peng *et al.*, 2009; Molina *et al.*, 2008; Leport *et al.*, 2006; Srinivasan *et al.*, 1999).

En los trabajos de investigación donde se evalúa la respuesta antioxidante ante el estrés abiótico, generalmente se busca la actividad enzimática y la producción de MDA como índice de oxidación, la comprensión de estas respuestas en el cultivo de garbanzo bajo factores de estrés abiótico, puede ayudar en la comprensión global de la tolerancia del cultivo ante dichos factores o bien contribuir al monitoreo y control previo al estrés, ya que los cambios en la producción de ROS y la respuesta antioxidante son detectables antes de identificar cualquier cambio morfológico a nivel visual (Nazari *et al.*, 2012).

10.5 Sistema antioxidante de (*Cicer arietinum*) bajo condiciones de estrés

La sequía, salinidad, frío y altas temperaturas son considerados los mayores factores de estrés abiótico (Grant, 2012), sin embargo existen otros factores como metales pesados, aleloquímicos (herbicidas) y exposición a rayos UV que pueden generar estrés (El-Soud *et al.*, 2013; Gunes *et al.*, 2009). La sequía y la salinidad son los factores abióticos más estudiados en el cultivo de garbanzo debido a que la mayor parte de la producción mundial se cultiva en regiones semiáridas (Sohrabi *et al.*, 2012). Si bien los trabajos sobre la identificación de variedades tolerantes a factores abióticos en garbanzo son abundantes, la mayoría se enfoca en la identificación de marcadores genéticos (Sharma *et al.*, 2013), dejando la búsqueda de la actividad antioxidante enzimática y no enzimática como un método más sencillo y menos costoso para lograr dicha identificación.

10.6 Sequía

En el trabajo reportado por Mohammadi *et al.*, (2011) se evaluaron tres variedades de garbanzo (Jam, ILC 482 y Bivanij), bajo condiciones de estrés por sequía con la adición de selenio. Para la actividad SOD se reporta un incremento de actividad de 709 u/g proteína a 1127 u/g proteína, no se reporta diferencia entre variedades pero sí entre la adición de selenio, en cuanto a la actividad la actividad CAT reporta un incremento de 59.95 u/g proteína a 103.84 μ /g proteína, al igual que la actividad SOD no reporta interacción respecto a las variedades. La actividad GPX se distingue el incremento de la actividad en condiciones de sequía e interacciones entre la adición de selenio, siendo la variedad Bivaniji y Jam las que reportan mejor actividad. Si bien este trabajo no reporta compuestos no enzimáticos, sí refiere el incremento de la producción de MDA (derivado de la oxidación lipídica), como indicativo principal de las variedades tolerantes. Por su parte Pradeep *et al.* (2011) evaluaron, las variedades Tyson, ICC 4958, JG 315 y DCP 92-3 con tratamiento de estrés por sequía con la adición de ácido salicílico (AS), durante dos estadios críticos distintos (pre y post anthesis). En este trabajo se observó reducción de las lesiones relativas a la oxidación en las plantas sometidas al estrés tratadas con AS a 1,5 mM en comparación con las plantas control. La actividad POL, CAT, POX, SOD, y APX, fue diferente entre variedades de garbanzo y entre los periodos de estrés. Las variedades identificadas como tolerantes fueron Tyson e ICC-4958. Adicionalmente, se indica la posible eficiencia superior de la actividad POX comparada con la actividad CAT en la detoxificación del radical H₂O₂, así como la interacción positiva de la actividad SOD con la adición de AS.

10.7 Salinidad

Rasool *et al.*, (2013) evaluó ocho variedades de garbanzo en distintos niveles de salinidad, El aumento de la concentración de sal aumenta la actividad de las enzimas antioxidantes como la SOD, CAT, APX y GR en todos los genotipos de garbanzo. Sin embargo, no se observan los mismos cambios en todas las variedades con actividad máxima en las variedades SKUA-06 y SKUA-07. Aunado a esto, se analizaron los genotipos de variedades tolerantes y sensibles a la sal, mediante PCR en tiempo real, que reveló que la expresión de los genes de SOD, APX y CAT se incrementó en presencia de NaCl en las variedades tolerante.

10.8 Temperatura

Kaushal *et al.*, (2011) evaluaron tratamientos de estrés por temperatura, con la adición de prolina, en la variedad GPF2, en este estudio demostraron que las plantas que crecen en la presencia de prolina adicionada acumulando hasta 63 mmol g^{-1} (base seca), mostraron menos daño a las membranas, además, observó una mejora significativa en las actividades de las enzimas del metabolismo del carbono, y en SOD, CAT, APX, así como en el ácido ascórbico, glutatona y prolina, no obstante el aumento de la actividad solo se observó a $40/35 \text{ }^\circ\text{C}$, ya que a mayores temperaturas $45/40 \text{ }^\circ\text{C}$ se mostró una disminución en comparación con los controles, los autores atribuyen dicha respuesta, puede deberse a la desnaturalización por la temperatura. Caso contrario se observó con la producción de MDA cuyo valor se vio disminuido aun a altas temperaturas en parte por la prolina añadida.

En el caso de estrés provocado por frío Kaur *et al.*, (2009) evaluaron ocho variedades de garbanzo ICCV 96029, ICCV 96030, 5008, 5012, 5014, 5018, 5039 y 5078 ante bajas temperaturas durante la etapa reproductiva demostrando que la actividad enzimática CAT, GSH y GR aumento considerablemente en las variedades tolerantes. La actividad GR fue mayor en las paredes de líneas tolerantes puede deberse a un aumento de la translocación de GSH de las paredes a las semillas, que podrían contribuir a aumentar la quelación de los ROS, proporcionando tolerancia a la pared de las vainas contra las bajas temperaturas. En comparación con los controles, también se detectó que las actividades específicas CAT y APX son mayores en las paredes de las variedades tolerantes. Existen otros trabajos como el reportado por Erdal *et al.*, (2015), donde además de las enzimas comúnmente identificadas (SOD, APX, CAT y GR), se evaluó la respuesta de la enzima guaiacol peroxidasa (GPX) y la AOX denominada oxidasa alternativa, (la cual se sigue que se activa solo en condiciones de estrés) y algunos compuestos antioxidantes como el ácido ascórbico y la glutatona, en semillas de garbanzo variedad Müfitbey tratadas con ácido salicilhidroxámico (SHAM) piruvato y antimicina A durante el estrés por frío. El estrés por frío aumentó notablemente la actividad de las enzimas antioxidantes en comparación con el control. La adición de piruvato y antimicina aumentaron significativamente la actividad antioxidante, disminuyendo en las semillas tratadas con SHAM. De igual manera los niveles de POL se redujeron significativamente en presencia de piruvato y antimicina A, aumentando en el tratamiento de SHAM.

10.9 Otros

Ardic *et al.*, (2009) evaluaron la respuesta antioxidante en las variedades Küsmen y Gökce ante el estrés provocado por Boro (B). En el estudio se encontraron aumentos significativos en la actividad SOD total en los brotes de ambas variedades en dosis de 1,6 y 6,4 mm de B, exhibiendo bandas de actividad, identificados como MnSOD y Cu/ZnSOD, (mitocondrial y cobre/zinc dependiente) En comparación con el grupo de control, todas las actividades de enzimas (excepto APX y SOD) disminuyeron con 1,6 mm de B. la actividad GR disminuyó, mientras que las actividades de CAT, POX y APX no cambiaron con 6,4 mm B para la variedad Küsmen. Por otra parte, las actividades de CAT, APX y SOD aumentaron en la variedad Gökce a ambos niveles de B. Además, la peroxidación lipídica fue mayor en Küsmen que en Gökce, lo que indica más daño que la variedad Gökce es más tolerante que Küsmen ante el estrés generado por B, dado que su sistema antioxidantes actúa disminuyendo la producción de MDA protegiendo a las membranas. En el trabajo realizado por Ceylan *et al.*, (2013), probaron la adición de coronatina (COR) ante el estrés osmótico generado por polietilenglicol (PEG), temperatura y la combinación de ambos factores en la raíz de la variedad ICC 4958. En este estudio se destaca el incremento de la actividad de enzimas quelantes de H_2O_2 en las plantas tratadas con COR bajo estrés por temperatura, así como de las enzimas APX en estrés por PEG y las enzimas CAT y POX en la combinación de ambos tipos de estrés. La adición de COR aumenta la actividad enzimática promoviendo la disminución del MDA y del H_2O_2 y con ello la protección de las membranas.

Similar a lo realizado por Ceylan *et al.*, (2013), el trabajo de El-Soud *et al.*, (2013) evaluó la capacidad de la adición de ácido elágico para detener el estrés osmótico generado por PEG a (0, -0.2, -0.4, -0.6 y -0.8 MPa) durante la germinación de garbanzo. Las plántulas tratadas mostraron menores niveles de POL. La (GSH), flavonoides (CAT), (POX), (SOD), y (GR), así como las enzimas de la vía del ácido shikímico (fenilalanina amonio liasa y la chalcona sintasa) mostraron un notable incremento con el tratamiento previo de ácido elágico en comparación con plántulas no tratadas, especialmente bajo estrés osmótico en valores bajos (-0,2 y -0.4MPa). Estos resultados sugieren que el tratamiento con ácido elágico podría conferir una mayor tolerancia de las plántulas de garbanzo a estrés osmótico, a través de la reducción de los niveles de H₂O₂ mediante el aumento de los compuestos antioxidantes y de actividad enzimática antioxidante.

10.10 Conclusiones

La mayoría de los trabajos refiere la actividad SOD y CAT seguido del a actividad GR y APX, en cuanto a los compuestos no enzimáticos son relativamente pocos aquellos estudios que evalúan dichos compuestos en condiciones de estrés. Generalmente los compuestos fenolicos en garbanzo se evalúan en semilla para calidad tecnológica, sin embargo la producción del radical MDA funge como indicativo confiable de la presencia de daños por oxidación en las membranas en los cultivos sujetos a estrés.

Exceptuando el caso del estrés por temperatura alta, donde las enzimas parecen desnaturalizarse, resulta factible la medición de la actividad enzimática como criterio que facilite la identificación de variedades tolerantes, además, existe la posibilidad de que la adición de otros de cofactores como el COR y el ácido elágico pueden contribuir potencializando la actividad de las enzimas antioxidantes. De manera natural existen iones y otros compuestos que coadyuvan la catálisis enzimática, quizá resulte conveniente evaluar su adición, dosis y cómo influye en la respuesta antioxidante ante distintos factores de estrés, a fin de encontrar nuevos procedimientos que puedan minimizar los daños oxidativos y con ello garantiza de cierto modo la producción agrícola de este cultivo.

10.11 Referencias

- Ahmad, P., Jaeel, C., Azooz, M., y Nabi, G. (2009). Generation of ROS and non-enzymatic antioxidants during abiotic stress in plants. *Botany Research International*, 2(November), 11–20.
- Ahmad, P., Jaleel, C. A., Salem, M. A, Nabi, G., y Sharma, S. (2010). Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Critical reviews in biotechnology*, 30(3), 161–175.
- Aliu, s., Kaul, H., Rusinovci, I., Shala-Mayrhofer, V., Fetahu, S., y Zeka, D. (2016). Genetic Diversity for Some Nutritive Traits of chickpea (*Cicer arietinum L.*) From different regions in Kosova. *Turkish Journal of Field Crops*, 21(1), 154.
- Almagro, L., Gómez R, L., Belchi-Navarro, S., Bru, R., Ros-Barceló, A., y Pedreño, M. A. (2009). Class III peroxidases in plant defence reactions. *Journal of Experimental Botany*, 60(2), 377–390.
- Anjum, N. A., Sofó, A., Scopa, A., Roychoudhury, A., Gill, S. S., Iqbal, M., Ahmad, I. (2015). Lipids and proteins—major targets of oxidative modifications in abiotic stressed plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(6), 4099–4121.

- Ardic, M., Sekmen, A., Tokur, S., Ozdemir, F., y Turkan, I. (2009). Antioxidant responses of chickpea plants subjected to boron toxicity. *Plant Biology*, 11(3), 328–338.
- Awad, M., Al-Qurashi, A., y Mohamed, S. (2011). Antioxidant capacity, antioxidant compounds and antioxidant enzyme activities in five date cultivars during development and ripening. *Scientia Horticulturae*, 129(4), 688–693. Bampidis, V. A., y Christodoulou, V. (2011). Chickpeas (*Cicer arietinum* L.) in animal nutrition: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 168(1-2), 1–20.
- Ceylan, H., Türkan, I., y Sekmen, A. (2013). Effect of Coronatine on Antioxidant Enzyme Response of Chickpea Roots to Combination of PEG-Induced Osmotic Stress and Heat Stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32(1), 72–82.
- Chang-Quan, W., y Rui-Chang, L. (2008). Enhancement of superoxide dismutase activity in the leaves of white clover (*Trifolium repens* L.) in response to polyethylene glycol-induced water stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30(6), 841–847.
- Choudhury, S., Panda, P., Sahoo, L., y Panda, S. K. (2013). Reactive oxygen species signaling in plants under abiotic stress. *Plant Signaling and Behavior*, 8(4), e23681.
- El-Soud, W, Hegab, M., Elgawad, H., Zinta, G., y Asard, H. (2013). Ability of ellagic acid to alleviate osmotic stress on chickpea seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 71, 173–183.
- Erdal, S., Genisel, M., Turk, H., Dumlupinar, R., y Demir, Y. (2015). Modulation of alternative oxidase to enhance tolerance against cold stress of chickpea by chemical treatments. *Journal of Plant Physiology*.
- Farmer, E., y Mueller, M. (2013). ROS-Mediated Lipid Peroxidation and RES-Activated Signaling. *Annual Review of Plant Biology*, 64(1), 429–450.
- Gill, S. S., y Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12), 909–930.
- Grant, O. (2012). Abiotic Stress Responses in Plants. *Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability*, 89–104.
- Gunes, A., Pilbeam, D. J., y Inal, A. (2009). Effect of arsenic-phosphorus interaction on arsenic-induced oxidative stress in chickpea plants. *Plant and Soil*, 314(1-2), 211–220.
- Hasanuzzaman, M., Hossain, M. A., da Silva, J. A. T., y Fujita, M. (2012). Plant response and tolerance to abiotic oxidative stress: antioxidant defense is a key factor. In *Crop stress and its management: Perspectives and strategies* (pp. 261-315). Springer Netherlands.
- Hudson, B. J. (1990). *Food antioxidants*. London, (Ed.). Elsevier applied science.
- Jaleel, C., Riadh, K., Gopi, R., Manivannan, P., Al-Juburi, H. J., Panneerselvam, R. (2009). Antioxidant defense responses: Physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31(3), 427–436.
- Jenks, M. (2007). *Plant Abiotic Stress*. Blacwell Science (Vol. 43).

- Jukanti, A., Gaur, P., Gowda, C., y Chibbar, R. (2012). Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review. *British Journal of Nutrition*, 108(S1), S11–S26.
- Kashiwagi, J., Krishnamurthy, L., Purushothaman, R., Upadhyaya, H., Gaur, P., Gowda, C., Varshney, R. (2015). Scope for improvement of yield under drought through the root traits in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Field Crops Research*, 170, 47–54.
- Kaur, S., Gupta, A., Kaur, N., Sandhu, J., y Gupta, S. (2009). Antioxidative enzymes and sucrose synthase contribute to cold stress tolerance in chickpea. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 195(5), 393–397.
- Kaushal, N., Gupta, K., Bhandhari, K., Kumar, S., Thakur, P., y Nayyar, H. (2011). Proline induces heat tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.) plants by protecting vital enzymes of carbon and antioxidative metabolism. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 17(3), 203–213.
- Kaushik, D., y Roychoudhury, A. (2014). Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*, 2(December), 53 (1–13).
- Leport, L., Turner, N., Davies, S., y Siddique, K. (2006). Variation in pod production and abortion among chickpea cultivars under terminal drought. *European Journal of Agronomy*, 24(3), 236–246.
- Maesen, L. J. G. (1987). Origin, history and taxonomy of the chickpea.
- Mimica-Dukić, N., Simin, N., Svirčev, E., Orčić, D., Beara, I., Lesjak, M., y Božin, B. (2012). The effect of plant secondary metabolites on lipid peroxidation and eicosanoid pathway. *Lipid Peroxidation*, 193–210, book edited by Angel Catala, ISBN 978-953-51-0716-3, Published: August 29, 2012 under CC BY 3.0
- Mohammadi, A., Habibi, D., Rohami, M., y Mafakheri, S. (2011). Effect of Drought Stress on Antioxidant Enzymes Activity of Some Chickpea Cultivars. *American-Eurasian J. Agric. y Environ. Sci.*, 11(6), 782–785.
- Molina, C., Rotter, B., Horres, R., Udupa, S. M., Besser, B., Bellarmino, L., Winter, P. (2008). SuperSAGE: the drought stress-responsive transcriptome of chickpea roots. *BMC genomics*, 9,
- Møller, I., Jensen, P., y Hansson, A. (2007). Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annual review of plant biology*, 58, 459–81.
- Moon, J., y Shibamoto, T. (2009). Antioxidant assays for plant and food components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1655–1666.
- Nazari, M., Maali Amiri, R., Mehraban, F. H., y Khaneghah, H. Z. (2012). Change in antioxidant responses against oxidative damage in black chickpea following cold acclimation. *Russian Journal of Plant Physiology*, 59(2), 183–189. <http://doi.org/10.1134/S102144371201013X>
- Pan, Y., Wu, L. J., y Yu, Z. L. (2006). Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). *Plant Growth Regulatin*, 49(2-3), 157–165.

- Peng, H., Cheng, H. Y., Yu, X. W., Shi, Q. H., Zhang, H., Li, J. G., y Ma, H. (2009). Characterization of a chickpea (*Cicer arietinum* L.) NAC family gene, CarNAC5, which is both developmentally- and stress-regulated. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47(11-12), 1037–1045.
- Pradeep, P., Hemantaranjan, A., Sarma, B., y Singh, R. (2011). Growth and antioxidant system under drought stress in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) as sustained by salicylic acid. *Growth and antioxidant system under drought stress in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) as sustained by salicylic acid*, 7(4), 130–144.
- Rasool, S., Ahmad, A., Siddiqi, T. O., y Ahmad, P. (2013). Changes in growth, lipid peroxidation and some key antioxidant enzymes in chickpea genotypes under salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(4), 1039–1050.
- Roldán-Arjona, T., y Ariza, R. (2009). Repair and tolerance of oxidative DNA damage in plants. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research*, 681(2-3), 169–179.
- Shankar, V., Kumar, D., y Agrawal, V. (2016). Assessment of Antioxidant Enzyme Activity and Mineral Nutrients in Response to NaCl Stress and its Amelioration Through Glutathione in Chickpea. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 178(2), 267–284.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., y Pessarakli, M. (2012). Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany*, 2012, 1–26. <http://doi.org/10.1155/2012/217037>
- Sharma, S., Upadhyaya, H., Roorkiwal, M., Varshney, R., y Gowda, C. (2013). Chickpea. Genetic and Genomic Resources of Grain Legume Improvement. Elsevier Inc.
- Sohrabi, Y., Heidari, G., Weisany, W., Golezani, K., y Mohammadi, K. (2012). Changes of antioxidative enzymes, lipid peroxidation and chlorophyll content in chickpea types colonized by different *Glomus* species under drought stress. *Symbiosis*, 56(1), 5–18.
- Varshney, R. K., y Gowda, C. L. (2013). Shivali Sharma, Hari D. Upadhyaya, Manish Roorkiwal. Genetic and Genomic Resources of Grain Legume Improvement, 8
- Vélez-ruiz, V. G., y F, A. J. (2013). Propiedades nutricionales y funcionales del garbanzo (*Cicer arietinum* L.). *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 7, 25–34.
- Wanasundara, P., y Shahidi, F. (2005). Antioxidants: Science, Technology, and Applications. En F. Shahidi. (Ed.), *Bailey's Industrial Oil and Fat Products* (sixth, pp. 431–489). John Wiley y Sons, Inc.
- Wang, J., Gan, Y. T., Clarke, F., y McDonald, C. L. (2006). Response of chickpea yield to high temperature stress during reproductive development. *Crop Science*, 46(5), 2171–2178.
- Zlatev, Z. S., Lidon, F. C., Ramalho, J. C., y Yordanov, I. T. (2006). Comparison of resistance to drought of three bean cultivars. *Biologia Plantarum*, 50(3), 389-394.