

Cadmio y fosfito en crecimiento de plántulas de tomate

CASASOLA-ELIZONDO, César Antonio, TREJO-TÉLLEZ, Libia Iris, ALCÁNTAR-GONZÁLEZ, Gabriel, GÓMEZ-MERINO, Fernando Carlos y GARCÍA-MORALES, Soledad

C. Casasola, L. Trejo, G. Alcántar, F. Gómez y S. García

Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Estado de México. C. P. 56230

Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Carretera Federal Córdoba-Veracruz km 348, Congregación Manuel León, Amatlán de los Reyes, Veracruz. C. P. 94946
tlibia@colpos.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

We evaluated the main and interactive effects of cadmium (Cd) and phosphite (Phi) added to the nutrient solution on growth of tomato seedlings. Cd levels evaluated were 0, 10 and 20 μM , while Phi levels were 0 and 0.0375 $\text{mol}_{(+)} \text{m}^{-3}$, resulting in six treatments. Cd significantly reduced the growth of seedlings. On the other hand, Phi slightly increased the values of leaf area, dry biomass of leaves and stems in the presence of 10 and 20 μM of Cd in the nutrient solution, though these effects were not statistically different. In the treatments without Cd significant increases in these variables were observed as result as the addition of Phi. In particular, the Phi increased the root dry biomass in all treatments (with and without Cd), which may suggest a deficient supply of phosphorus as phosphate.

4 Introducción

La producción de cultivos como tomate depende en gran medida del ambiente en el que se desarrolla. El entorno natural de las plantas se compone de un conjunto complejo de factores tanto estimulantes como estresantes (Cramer *et al.*, 2011). El término estrés se refiere un factor desfavorable del medio ambiente para un determinado organismo vivo. En consecuencia, la capacidad de un organismo para sobrevivir a un factor desfavorable ha sido llamada “resistencia al estrés” (Gaspar *et al.*, 2002).

El estrés se clasifica en dos tipos: biótico y abiótico; el estrés biótico es causado por la acción de seres vivos (animales, otras plantas, microorganismos, y agentes fitopatógenos) (Azcón-Bieto y Talón, 2008); el abiótico es definido como cualquier otro factor que ejerce el medio ambiente (no vivo) en el óptimo funcionamiento de un organismo (Ortbauer, 2013).

De acuerdo con Cramer *et al.* (2011), diferentes factores de estrés abiótico afectan más del 96% de las tierras cultivadas alrededor del mundo. En particular, entre los factores de estrés relacionados con la química del suelo destacan la deficiencia nutrimental o baja fertilidad, la salinidad y la toxicidad de algunos elementos.

La bioacumulación y biomagnificación sin precedentes de metales pesados en el medio ambiente se ha convertido en un dilema para todos los organismos vivos, incluyendo las plantas (Emamverdian *et al.*, 2015). Elementos como el zinc, hierro y cobre son esenciales para las plantas superiores dado que son requeridos en una amplia diversidad de procesos fisiológicos en todos los órganos de las plantas para las actividades de enzimas dependientes de metales. Empero, éstos pueden ser tóxicos a concentraciones altas. Por otro lado, metales como arsénico, mercurio, cadmio y plomo no son esenciales pero si presentar alto potencial tóxico. Una vez que la concentración de un metal en el citosol de una célula vegetal sale de control, la fitotoxicidad de los metales pesados inhibe la transpiración y la fotosíntesis, perturba el metabolismo de los carbohidratos e impulsa los esfuerzos secundarios como el estrés nutrimental y el estrés oxidativo que afectan el crecimiento y desarrollo de la planta (Zhao y Chu, 2011).

Los metales bioactivos, basados en sus propiedades físico-químicas son divididos en dos grupos: metales con actividad redox tales como el Cr, Cu, Mn y Fe y en los metales no redox, tales como el Cd, Ni, Hg, Zn y Al. Los metales redox pueden generar directamente daño oxidativo a través de las reacciones de Haber-Weiss y de Fenton, lo que conduce a la producción de radicales libres de oxígeno y que ocasiona la interrupción de la homeostasis celular, la rotura de la cadena de ADN, la desfragmentación de proteínas o de la membrana celular y el daño a los pigmentos fotosintéticos que pueden desencadenar la muerte celular.

Por el contrario, los metales activos no redox causan estrés oxidativo indirectamente a través de múltiples mecanismos, entre ellos la depleción del glutatión, unión a grupos sulfidrilos de las proteínas, inhibición de enzimas antioxidantes inducir enzimas que producen radicales libres de oxígeno como la NADPH oxidasa (Emamverdian *et al.*, 2015).

Entre los metales pesados, el Cd es considerado uno de los más tóxicos debido a su alta solubilidad en agua, lo que permite que sea absorbido por las plantas y esto representa la principal ruta de entrada en la cadena alimenticia; también causa serios problemas a la salud humana. Incluso a bajas concentraciones, la absorción por raíces y el transporte a órganos vegetativos y reproductivos tiene un efecto negativo en la nutrición mineral y en la homeostasis de la parte aérea de la planta y en el crecimiento y desarrollo de las raíces (DalCorso *et al.*, 2010).

El efecto del Cd en la ruta de asimilación de N y S ha sido estudiado en algunas especies, y se ha mostrado una inhibición en la tasa de absorción de nitrato y en la actividad de enzimas involucradas en la ruta de asimilación del nitrato. Se ha reportado que la exposición a metales conduce también a una alteración significativa de la ruta de asimilación del S en planta (Gill y Tuteja, 2011).

Por otra parte, el fosfito es una forma reducida del fosfato, que es ampliamente usada en la agricultura, a pesar de que sus efectos aún no son completamente entendidos. Es una molécula que forma parte activa de varios fungicidas, y ha demostrado que no solo influye en el metabolismo fúngico sino también en el desarrollo de deficiencia de P en las plantas (Danova-Alt *et al.*, 2008).

Recientemente Gómez-Merino y Trejo-Téllez (2015) han reportado una amplia variedad de efectos benéficos atribuidos al fosfito en cultivos agrícolas entre los que se encuentran el incremento en el rendimiento; el aumento en el área foliar y en el contenido de P; el incremento en biomasa seca; la mejora en el tamaño y en el rendimiento de chile y cebolla; el aumento en los contenidos de fitoalexinas y quitinasa en papa; el incremento en la calidad de fruto en fresa; entre otros.

Oyarburo *et al.* (2015) mostraron que el pretratamiento de hojas de papa (*Solanum tuberosum* L.) con fosfito de potasio tuvo un efecto beneficioso en parámetros fotosintéticos cuando éstas se expusieron a estrés por luz UV-B; también se observó disminución en la acumulación de peróxido de hidrógeno en hojas y aumento en las actividades de las enzimas guayacol peroxidasa (POD) y la superóxido dismutasa (SOD).

En el contexto anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del fosfito en parámetros de crecimiento de plántulas de tomate sometidas a estrés por Cd.

4.1 Materiales y métodos

4.1.1 Material vegetal

Se usaron plántulas de tomate (*Solanum lycopersicon* L.) de 30 d de edad, establecidas en recipientes de plástico de 60 mL de capacidad, conteniendo perlita como sustrato.

4.1.2 Tratamientos y diseño experimental

Se evaluaron tres concentraciones de Cd a partir de $3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ en la solución nutritiva de Steiner (Steiner, 1984) a una concentración de 25%, con y sin fosfito. El pH de las soluciones nutritivas fue ajustado a 5.5 usando H_2SO_4 0.5 N.

En la Tabla 4 se presentan los tratamientos de Cd y fosfito (suministrado a partir de ácido fosforoso), evaluados en este experimento. La concentración de ácido fosforoso adicionado representa el 15% respecto a la concentración de fósforo suministrado como fosfato en las soluciones nutritivas.

Tabla 4 Tratamientos con diferentes concentraciones de Cd en la solución nutritiva con y sin suministro de fosfito como ácido fosforoso

Tratamiento	Concentración de Cd en \square M (nivel)	Concentración de la solución nutritiva de Steiner en %	Ácido fosforoso en $\text{mol}_{(+)} \text{m}^{-3}$
1	0 (nulo)	25	0.0000
2	0 (nulo)	25	0.0375
3	10 (medio)	25	0.0000
4	10 (medio)	25	0.0375
5	20 (alto)	25	0.0000
6	20 (alto)	25	0.0375

Se condujo un experimento factorial 3 x 2, donde el número 3 representa los niveles ensayados de Cd; el número 2 corresponde a los dos niveles de fosfito. Cada tratamiento tuvo 15 repeticiones. La unidad experimental consistió en un contenedor de 60 mL con perlita conteniendo una plántula.

4.1.3 Variables evaluadas

Después de 30 d del inicio de la aplicación de tratamientos se evaluaron algunos parámetros de crecimiento en las plántulas. En primer término las plantas fueron sacadas de los recipientes. Las raíces fueron lavadas con agua destilada para eliminar la perlita en ellas. Posteriormente las plantas fueron seccionadas en hojas, tallos y raíces. Con las hojas se determinó el área foliar por plántula, empleando un integrador de área foliar (LI-300, LI-COR; Lincoln, NE, EEUU).

Las muestras de hojas, tallos y raíces fueron colocadas en una estufa de aire forzado (Riossa, HCF-125D; Guadalajara, Jalisco, México) durante 40 h a 72 °C. Después del secado se determinó el peso de la biomasa seca de cada órgano usando una balanza analítica (Adventurer Pro AV213C, Ohaus; Parsippany, NJ, EEUU).

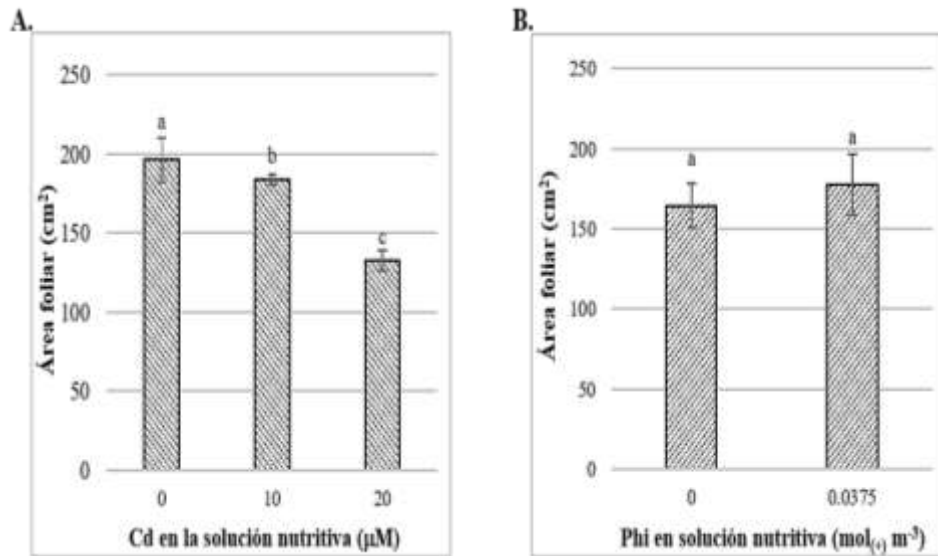
4.1.4 Análisis estadístico

Se realizó análisis de varianza para un experimento factorial y las medias fueron comparadas por la prueba de Duncan ($\alpha=0.05$), con el software SAS (SAS, 2011).

4.2 Resultados

4.2.1 Área foliar

El área foliar guardó una relación negativa con la concentración de Cd en la solución nutritiva (Gráfico 4A), con reducciones de 9.6 y 32.5% en comparación con el testigo con el suministro de 10 y 20 \square M de Cd, respectivamente. Por otro lado, el efecto principal del Phi no influyó de manera significativa el área foliar (Gráfico 4B).

Gráfico 4 Área foliar de plántulas de tomate tratadas con Cd (A) y fosfito (B) en la solución nutritiva

Medias \pm DE con letras distintas en cada subgráfico indican que existen diferencias estadísticas significativas (Duncan, $P \leq 0.05$)

Se ha observado que el Cd tiene efectos detrimentales en el crecimiento de cultivos. Dado que altera el transporte de electrones en la cadena respiratoria, uno de los principales efectos negativos de este elemento es el estrés oxidativo (Benavides *et al.*, 2005), que a su vez causa deterioro en el crecimiento vegetal.

Al observar los efectos de la interacción de los factores de estudio, se observa que solo en ausencia de Cd en la solución nutritiva, la adición de Phi incrementó de manera significativa el área foliar. Si bien en los tratamientos con Cd, la adición de fosfito también incrementó ligeramente el área foliar (2.5 y 3.5% para 10 y 20 μM Cd, respectivamente, en comparación con los tratamientos con la misma dosis de Cd y sin Phi), estos aumentos no son significativos (Tabla 4.1).

Tabla 4.1 Área foliar de plántulas de tomate tratadas con Cd y fosfito en la solución nutritiva

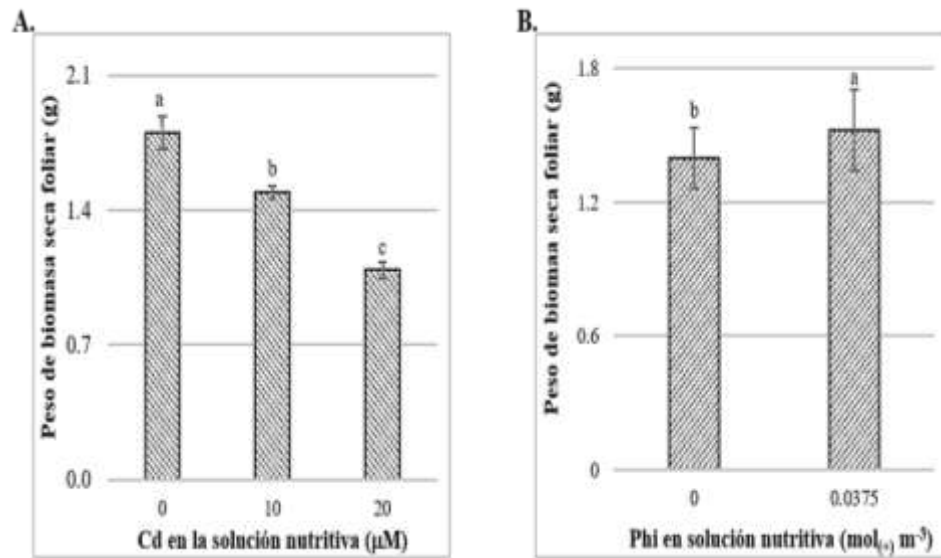
Cd en la solución nutritiva (μM)	Phi en la solución nutritiva ($\text{mol}_{(+)} \text{m}^{-3}$)	Área foliar (cm^2)
0	0.0000	180.91 \pm 4.94 b
0	0.0375	211.96 \pm 16.44 a
10	0.0000	181.47 \pm 2.46 b
10	0.0375	185.93 \pm 4.01 b
20	0.0000	130.32 \pm 9.30 c
20	0.0375	134.93 \pm 1.80 c

Medias \pm DE con letras iguales indican que no existen diferencias estadísticas significativas (Duncan, $P \leq 0.05$)

4.2.2 Biomasa seca de hojas

Los efectos principales del Cd y del Phi en la biomasa seca foliar se presentan en la Gráfico 4.1.

Gráfico 4.1 Peso de biomasa seca foliar de plántulas de tomate tratadas con Cd (A) y fosfito (B) en la solución nutritiva



Medias \pm DE con letras distintas en cada subgráfico indican que existen diferencias estadísticas significativas (Duncan, $P \leq 0.05$)

De la misma manera que en la variable área foliar, se observan decrementos significativos en la biomasa seca foliar a medida que la concentración de Cd aumenta en la solución nutritiva (Gráfico 4.1 A). El Phi por su parte, tiene un efecto positivo en la acumulación de materia seca de hojas (Gráfico 4.1 B). La adición de Phi incrementó de manera ligera el peso de biomasa seca de hojas de plántulas tratadas con Cd; sin embargo, estos incrementos no son significativos. De manera importante, se observa que existe efecto positivo de la adición de Phi en esta variable cuando a la solución nutritiva no se le adicionó Cd (Tabla 4.2).

Tabla 4.2 Peso de biomasa seca foliar de plántulas de tomate tratadas con Cd y fosfito en la solución nutritiva

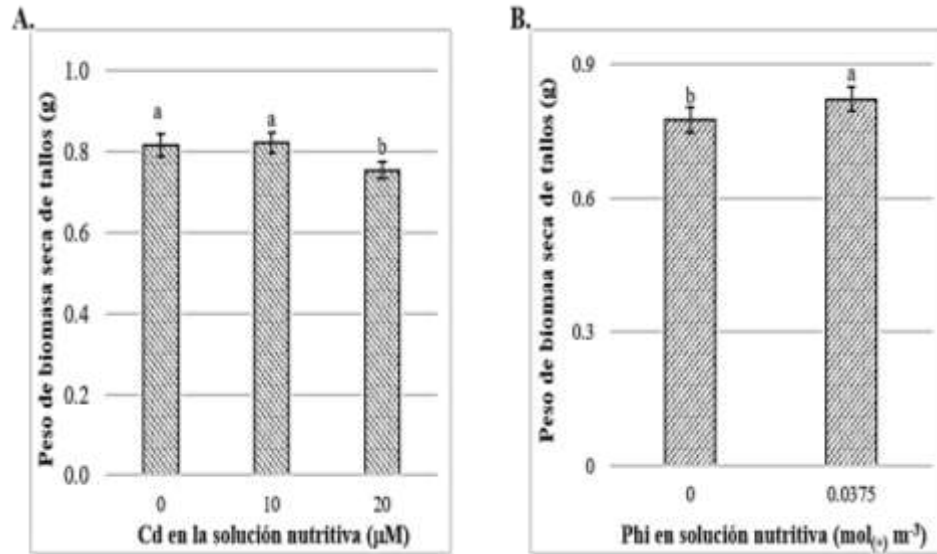
Cd en la solución nutritiva (μM)	Phi en la solución nutritiva ($\text{mol}_{(+)} \text{m}^{-3}$)	Peso de biomasa seca de hojas (g)
0	0.0000	1.66 ± 0.05 b
0	0.0375	1.94 ± 0.05 a
10	0.0000	1.47 ± 0.03 c
10	0.0375	1.51 ± 0.04 c
20	0.0000	1.06 ± 0.05 d
20	0.0375	1.12 ± 0.04 d

Medias \pm DE con letras distintas indican que existen diferencias estadísticas significativas (Duncan, $P \leq 0.05$).

4.2.3 Biomasa seca de tallos

El peso de la biomasa seca de tallo solo fue reducido significativamente con la concentración de Cd de 20 μM en comparación con el testigo. Esta reducción fue del orden de 7.6% (Gráfico 4.2 A). Por otra parte, el efecto principal del Phi fue positivo en el peso de biomasa seca de tallos, con incrementos del 6.1% en comparación con el testigo (Gráfico 4.2 B).

Gráfico 4.2 Peso de biomasa seca de tallos de plántulas de tomate tratadas con Cd (A) y fosfito (B) en la solución nutritiva



Medias \pm DE con letras distintas en cada subgráfico indican que existen diferencias estadísticas significativas (Duncan, $P \leq 0.05$)

Los efectos de la interacción de Cd y Phi en la solución nutritiva en el peso seco de tallos de plántulas, son significativos; se observa una influencia positiva del Phi, particularmente con la dosis alta de Cd evaluada, donde el tratamiento con Phi superó en 9.58% al tratamiento sin Phi. Este efecto positivo del Phi también es evidente en ausencia de Cd en la solución nutritiva (Tabla 4.4).

Tabla 4.3 Peso de biomasa seca de tallos de plántulas de tomate tratadas con Cd y fosfito en la solución nutritiva

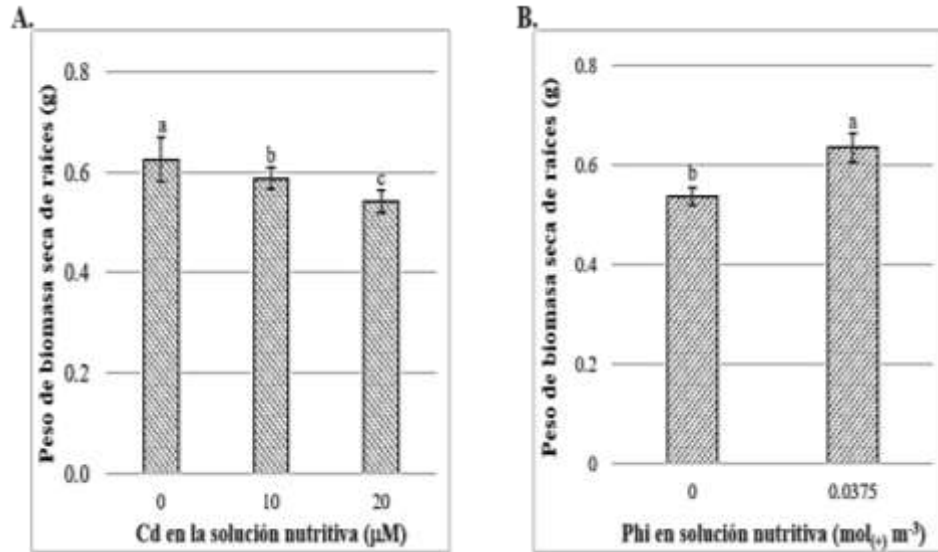
Cd en la solución nutritiva (μM)	Phi en la solución nutritiva ($\text{mol}_{(+)} \text{m}^{-3}$)	Peso de biomasa seca de tallos (g)
0	0.0000	0.776 ± 0.003 bc
0	0.0375	0.858 ± 0.028 a
10	0.0000	0.828 ± 0.027 ab
10	0.0375	0.818 ± 0.028 ab
20	0.0000	0.720 ± 0.011 c
20	0.0375	0.789 ± 0.010 b

Medias \pm DE con letras distintas indican que existen diferencias estadísticas significativas (Duncan, $P \leq 0.05$).

4.2.4 Biomasa seca de raíces

En raíces, los efectos principales del Cd siguen la misma tendencia que en las variables anteriormente expuestas; es decir, incrementos en la concentración de Cd reducen el peso de biomasa seca de raíces (Gráfico 4.3 A). Por el contrario, el Phi incrementa significativamente la biomasa seca de raíces (Gráfico 4.3 B).

Gráfico 4.3 Peso de biomasa seca de raíces de plántulas de tomate tratadas con Cd (A) y fosfito (B) en la solución nutritiva



Medias \pm DE con letras distintas en cada subgráfico indican que existen diferencias estadísticas significativas (Duncan, $P \leq 0.05$)

En los efectos de interacción de los factores de estudio es evidente que, de manera independiente a la concentración de Cd en la solución nutritiva, en todos los casos, el Phi incrementó de manera significativa la biomasa seca de raíces (Tabla 4.4).

Tabla 4.4 Peso de biomasa seca de raíces de plántulas de tomate tratadas con Cd y fosfito en la solución nutritiva

Cd en la solución nutritiva (\square M)	Phi en la solución nutritiva (mol ₍₊₎ m ⁻³)	Peso de biomasa seca de raíces (g)
0	0.0000	0.554 \pm 0.017 c
0	0.0375	0.698 \pm 0.024 a
10	0.0000	0.552 \pm 0.015 c
10	0.0375	0.624 \pm 0.005 b
20	0.0000	0.503 \pm 0.011 d
20	0.0375	0.581 \pm 0.011 bc

Medias \pm DE con letras distintas indican que existen diferencias estadísticas significativas (Duncan, $P \leq 0.05$)

Las variables evaluadas fueron afectadas negativamente cuando se adicionó Cd en la solución nutritiva. Estos resultados coinciden con los reportados en otras especies. En caña de azúcar, el Cd (1 mM en la solución nutritiva), induce cambios en las concentraciones nutrimentales; la concentración de N fue afectada negativamente; mientras que las concentraciones de P, Mg, Zn y B fueron superiores en plantas tratadas con Cd en comparación con el testigo (Trejo-Téllez *et al.*, 2014). En plántulas de pimiento morrón, Hernández-Bautista *et al.* (2015) reportaron que concentraciones de 15 y 30 \square M de Cd en la solución nutritiva, reducen significativamente la altura de planta, el área foliar y los contenidos de clorofilas, asimismo disminuyen la acumulación de N, P y K *in planta*.

Si bien, el fosfito ha mostrado ser eficaz contra factores de estrés biótico, y recientemente se ha propuesto que también puede actuar en el incremento de la tolerancia a diferentes factores de estrés abiótico, en esta investigación los efectos positivos del Phi solo son significativos cuando no se adiciona Cd a la solución nutritiva; con excepción de la variable biomasa seca de raíces, donde el Phi incrementa siempre su valor. Al ser absorbidos fosfato y fosfito por los mismos transportadores de raíz, existe antagonismos entre estos aniones; por tanto, el incremento en la biomasa seca de raíces puede interpretarse como un síntoma de deficiencia de fósforo (Gómez-Merino y Trejo-Téllez, 2015).

4.3 Conclusión

El Phi tiene un efecto positivo en las variables de crecimiento de tomate evaluadas en fase de plántulas, siendo éste estadísticamente significativo en ausencia de Cd. Si bien el Phi también incrementa parámetros de crecimiento en plántulas tratadas con Cd, éstos no son significativos.

4.4 Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca de posgrado otorgada a CACE. A la LGAC Nutrición Vegetal del Postgrado en Edafología del Campus Montecillo del Colegio de Postgraduados por las facilidades brindadas para el desarrollo de esta investigación.

4.5 Referencias

- Azcón-Bieto, J. & Talón, M. (2008). *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. 2da Ed. McGraw-Hill Interamericana de España. Universidad de Barcelona. 651 p.
- Benavides, M. P., Gallego, S. M., & Tomaro, M. I. 2005. Cadmium toxicity in plants. *Toxic Metals in Plants. Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17, 21-34.
- Cramer, G. R., Urano, K., Delrot, S., Pezzotti, M., & Shinozaki, K. (2011). Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. *BMC Plant Biology*, 11, 163.
- DalCorso, G., Farinati, S., & Furini, A. (2010). Regulatory networks of cadmium stress in plants. *Plant Signaling and Behavior*, 5, 663-667.
- Danova-Alt, R., Dijkema, C., De Waard, P., & Köck, M. (2008). Transport and compartmentation of phosphite in higher plant cells - kinetic and ^{31}P nuclear magnetic. *Plant, Cell and Environment*, 31, 1510-1521.
- Emamverdian, A., Ding, Y., Mokhberdoran, F., & Xie, Y. (2015). Heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response. *The Scientific World Journal*, 2015, 756120.
- Gaspar, T., Franck, T., Bibis, B., Kevers, C., Jouve, L., Hausman, J. F., & Domme, J. (2002). Concepts in plant stress physiology. Application to plant tissue cultures. *Plant Growth Regulation*, 37, 263-285.
- Gill, S. S. & Tuteja, N. (2011). Cadmium stress tolerance in crop plants. *Plant Signaling and Behavior*, 6, 215-222.
- Gómez-Merino, F. C. & Trejo-Téllez, L. I. (2015). Biostimulant activity of phosphite in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 82-90.

- Hernández-Bautista, L., Trejo-Téllez, L. I., Gómez-Merino, F. C., García-Morales, S., & Tejeda-Sartorius, O. (2015). Physiological and nutrient changes in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings caused by cadmium. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 31, 389-396.
- Ortbauer, M. (2013). Abiotic Stress Adaptation: Protein Folding Stability and Dynamics. En Kourosh, V. & Charles, L. (Eds.). *Abiotic Stress - Plant Responses and Applications in Agriculture*, ISBN 978-953-51-1024-8. InTech, Recuperado el 26 de julio de 2016, de <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/43216.pdf>. doi: 10.5772/45842
- Oyarburo, N. S., Machinandiarena, M. F., Feldman, M. L., Daleo, G. R., Andreu, A. B., & Olivieri, F. P. (2015). Potassium phosphite increases tolerance to UV-B in potato. *Plant Physiology and Biochemistry*, 88, 1-8.
- SAS Institute Inc. (2011). *SAS/STAT Users Guide. Version 9.3*. SAS Institute Inc., Cary, N. C., USA.
- Steiner, A. (1984). The universal nutrient solution. En *Proceedings 6th International Congress on Soilless Culture*. (pp. 633-649).The Netherlands.
- Trejo-Téllez, L. I., Gómez-Merino, F. C., Rivera-Olivares, L. Y., & Tejeda-Sartorius, O. (2014). Cadmium-induced changes in leaf nutrient concentrations in sugarcane. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 12, 879-885.
- Zhao, Y. & Chu, C. (2011). Towards Understanding Plant Response to Heavy Metal Stress. En Shancer, A. (Ed.). *Abiotic Stress in Plants - Mechanisms and Adaptations*. ISBN: 978-953-307-394-1, InTech, Recuperado el 28 de julio de 2016, de <http://www.intechopen.com/books/abiotic-stress-in-plants-mechanisms-andadaptations/towards-understanding-plant-response-to-heavy-metal-stress>