



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
FISIOLOGÍA VEGETAL

**RESPUESTAS FISIOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS DE PLÁNTULAS DE  
PIMIENTO MORRÓN (*Capsicum annum* L.) A FACTORES DE  
ESTRÉS ABIÓTICO**

**LEONEL HERNÁNDEZ BAUTISTA**

T E S I S  
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO**

2013

La presente tesis titulada **Respuestas fisiológicas y bioquímicas de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) a factores de estrés abiótico**, realizada por el alumno **Leonel Hernández Bautista**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

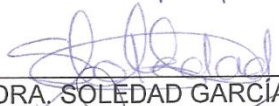
MAESTRO EN CIENCIAS  
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
FISIOLOGÍA VEGETAL

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO

  
\_\_\_\_\_  
DRA. LÍBIA IRIS TREJO-TÉLLEZ

ASESORA

  
\_\_\_\_\_  
DRA. SOLEDAD GARCÍA MORALES

ASESORA

  
\_\_\_\_\_  
DRA. OLGA TEJEDA SARTORIUS

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Diciembre del 2013

# RESPUESTAS FISIOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS DE PLÁNTULAS DE PIMIENTO MORRÓN (*Capsicum annuum* L.) A FACTORES DE ESTRÉS ABIÓTICO

Leonel Hernández Bautista, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2013

En la presente investigación se realizaron dos experimentos con el objetivo de evaluar el efecto de cloruro de sodio (NaCl) y cadmio (Cd) en variables de crecimiento, fisiológicas y bioquímicas de plántulas de pimiento morrón variedad Yolo Wonder. Ambos experimentos fueron conducidos bajo condiciones de invernadero, en cultivo hidropónico en placas flotantes en contenedores de 3 L de capacidad, utilizando la solución nutritiva Steiner al 50%.

En el primer experimento se trataron las plántulas de pimiento durante 30 días con diferentes concentraciones de NaCl (0, 25 y 50 mM), posteriormente se evaluaron parámetros de crecimiento, variables fisiológicas y acumulación de macro y micronutrientes. La adición de 25 y 50 mM de NaCl disminuyen significativamente la producción de biomasa seca en hojas, tallos, raíces y total, la concentración de proteínas y de clorofilas, y así como la acumulación de macro y micronutrientes en hojas, tallos y raíces. Asimismo, las tasas netas de asimilación neta de CO<sub>2</sub> y la conductancia estomática se redujeron en forma significativa en presencia de NaCl. Por el contrario, las concentraciones de aminoácidos totales, prolina y azúcares totales fueron mayores con el bajo nivel de NaCl evaluado (25 mM) NaCl.

En el segundo experimento se evaluaron plántulas de pimiento morrón expuestas por 15 días a diferentes niveles de cadmio (0, 15 y 30 µM) en la solución nutritiva. Con la adición de Cd en ambas concentraciones, el crecimiento de las plantas se redujo significativamente, así como las concentraciones de clorofilas, aminoácidos y proteínas, y la acumulación de macro y micronutrientes en hojas, tallos y raíces. De la misma manera, la producción de biomasa seca de hojas, tallos, raíces y total disminuyen significativamente cuando son tratadas con Cd, en tanto que la concentración de prolina no presentó diferencias estadísticas significativas entre tratamientos. Se registró una relación positiva entre la concentración de Cd adicionada en la solución nutritiva y la concentración de azúcares totales en hoja.

Los resultados obtenidos permiten afirmar que el pimiento variedad Yolo Wonder es altamente sensible a los factores de estrés abiótico evaluados.

**Palabras clave:** *Yolo Wonder, cloruro de sodio, cadmio, crecimiento, biomasa, variables fisiológicas.*

# PHYSIOLOGICAL AND BICHEMICAL RESPONSES OF BELL PEPPER SEEDLINGS (*Capsicum annuum* L.) TO ABIOTIC STRESS FACTORS

Leonel Hernández Bautista, M. Sc.

Colegio de Postgraduados, 2013.

In this study, two experiments were conducted to evaluate the effect of sodium chloride (NaCl) and cadmium (Cd) on physiological and biochemical variables in seedlings of the Yolo Wonder bell pepper variety. Both experiments were conducted under greenhouse conditions in hydroponics floating plates, using 3 L container and the Steiner nutrient solution at 50%.

In the first experiment pepper seedlings were treated for 30 days with different concentrations of NaCl (0, 25 and 50 mM), then growth parameters, physiological variables and accumulation of macro and micronutrients were evaluated. The addition of 25 and 50 mM NaCl significantly decrease the production of dry biomass in leaves, stems, roots and total protein concentration and chlorophyll. Similarly, accumulation of macro and micronutrients in leaves, stems and roots decreased, as well as net rates of net CO<sub>2</sub> assimilation and stomatal conductance, although treatments with 25 mM NaCl increased the content of total amino acids, proline and total sugars.

In the second experiment bell pepper seedlings were exposed to different levels of cadmium (0, 15 and 30 mM) in the nutrient solution for 15 days. When adding both Cd concentrations significant reductions were observed in plant growth, concentrations of chlorophyll, amino acids and proteins, as well as macronutrients and micronutrients accumulation in leaves, stems and roots, and biomass production dried leaves, stems, roots, while the concentration of proline showed no significant differences between treatments. There was a positive relationship between the concentration of added Cd in the nutrient solution and the concentration of total sugars in leaf.

Therefore, experimental data demonstrates that the Yolo Wonder pepper variety is highly sensitive to abiotic stress factors under our experimental conditions.

**Key words:** *Yolo Wonder, sodium chloride, cadmium, growth, biomass, physiological variables.*

## *DEDICATORIA*

### **A mis padres: Sofía Bautista Nicolás y Demetrio Hernández Cruz**

Por darme la vida, por su apoyo, consejos y cariño para realizarme como una persona de bien, les agradezco de todo corazón el que estén a mi lado. Gracias por todo papás. En todo momento los llevo conmigo.

### **A mis hermanas: Andrea, Maribel y Griselda.**

Porque siempre he contado con ustedes para todo, gracias por la compañía, apoyo y confianza que me han brindado. Este triunfo lo comparto con ustedes, las quiero mucho.

### **A mi sobrinito Jonathan Uriel.**

A una mujer especial, mi novia y compañera **Aguedita** por tu apoyo y comprensión en todos los momentos.

**A mis tíos y a mis primos** Por contar con su apoyo en todos los momentos.

**A mis compañeros:** Nadia, Lupita, Cesar, Elías, Hermes, Emmanuel, gracias por su amistad.

Gracias a todos!

**Sinceramente**  
Leonel Hernández Bautista.

## *AGRADECIMIENTOS*

Agradezco primeramente a **Dios** por iluminarme el camino a seguir y que siempre está conmigo en los buenos y sobre todo en los malos momentos y no dejarme caer nunca.

Al **CONACYT** y al **Colegio de Postgraduados**, por brindarme esta oportunidad para mi formación profesional.

A la **Dra. Libia Iris Trejo-Téllez** por su gran apoyo, amistad y dedicación al haber guiado el desarrollo de este trabajo y llegar a la culminación del mismo.

A la **Dra. Soledad García Morales** por la asesoría brindada en la conducción y realización del presente trabajo.

A la **Dra. Olga Tejeda Sartorius** por su apoyo y disposición prestada para la revisión de este trabajo.

Al **Dr. Fernando Carlos Gómez Merino** por su apoyo y buenos deseos en el escrito final.

Y a todos aquellos que contribuyeron mi formación profesional.

## CONTENIDO

	Página
<b>RESUMEN</b> .....	ii
<b>SUMMARY</b> .....	xi
<b>DEDICATORIA</b> .....	iv
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	¡Error! Marcador no definido.
<b>CONTENIDO</b> .....	vi
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b> .....	x
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	xi
<b>CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL</b> .....	1
1.1 Concepto de estrés en plantas.....	1
1.2 Factores que causan estrés en plantas superiores.....	2
1.2.1 Mecanismos de respuesta de las plantas a la salinidad.....	3
1.2.2 El cadmio en el desarrollo de las plantas.....	3
1.3 Respuestas adaptativas de las plantas a la salinidad y al cadmio.....	3
1.4 Justificación de la investigación.....	4
1.5 Literatura citada.....	5
<b>CAPÍTULO II. TOLERANCIA A ESTRÉS SALINO EN PLÁNTULAS DE PIMIENTO MORRÓN (<i>Capsicum annuum</i> L.)</b> .....	7
2.1 INTRODUCCIÓN.....	7
2.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
2.2.1 Ubicación del experimento.....	9
2.2.2 Material vegetal .....	9
2.2.3 Producción de plántula .....	9

2.2.4 Contenedores .....	9
2.2.5 Tratamientos probados .....	10
2.2.6 Manejo del experimento.....	10
2.2.6.1 Nutrición.....	10
2.2.7 Diseño experimental .....	11
2.2.8 Variables evaluadas .....	11
2.2.8.1 Crecimiento.....	11
2.2.8.2 Materia seca .....	11
2.2.8.3 Acumulación nutrimental.....	11
2.2.8.4 Clorofila a, b y total .....	12
2.2.8.5 Azúcares totales .....	12
2.2.8.6 Aminoácidos libres totales .....	13
2.2.8.7 Prolina.....	13
2.2.8.8 Proteína .....	13
2.2.8.9 Tasa de asimilación de CO <sub>2</sub> y conductancia estomática .....	14
2.2.9 Análisis estadístico .....	14
2.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	14
2.3.1 Crecimiento .....	14
2.3.2 Materia seca .....	18
2.3.3 Concentración de clorofilas.....	19
2.3.4 Concentración de aminoácidos y proteínas .....	21
2.3.5 Prolina y azúcares totales.....	23
2.3.6 Tasa de asimilación de CO <sub>2</sub> y conductancia estomática .....	24
2.3.7 Acumulación de macronutrientes .....	26
2.3.8 Acumulación de micronutrientes y sodio .....	28



2.4 CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....	29
2.5 LITERATURA CITADA.....	30
<b>CAPÍTULO III. TOLERANCIA A CADMIO EN PLÁNTULAS DE PIMIENTO MORRÓN (<i>Capsicum annuum</i> L.).....</b>	<b>35</b>
3.1 INTRODUCCIÓN .....	35
3.1.1 El pimiento .....	38
3.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	39
3.2.1 Ubicación del experimento.....	39
3.2.2 Material vegetal .....	39
3.2.3 Producción de plántula .....	39
3.2.4 Contenedores .....	39
3.2.5 Tratamientos evaluados .....	40
3.2.6 Nutrición.....	40
3.2.7 Manejo del experimento.....	40
3.2.8 Variables evaluadas .....	41
3.2.8.1 Tasa de asimilación de CO <sub>2</sub> y conductancia estomática.....	41
3.2.8.2 Lecturas SPAD .....	41
3.2.8.3 Crecimiento.....	41
3.2.8.4 Materia seca .....	41
3.2.8.5 Acumulación nutrimental.....	42
3.2.8.6 Aminoácidos libres totales, clorofila a, b y total .....	42
3.2.8.7 Azúcares totales .....	43
3.2.8.8 Prolina.....	43
3.2.8.9 Proteína .....	43
3.2.9 Análisis estadístico .....	44

3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	44
3.3.1 Tasa de asimilación de CO <sub>2</sub> y conductancia estomática.....	44
3.3.2 Lecturas SPAD .....	45
3.3.3 Parámetros de crecimiento .....	46
3.3.4 Materia seca .....	49
3.3.5 Variables fisiológicas .....	50
3.3.5.1 Concentración de clorofilas.....	50
3.3.5.2 Concentración de aminoácidos y proteínas.....	52
3.3.5.3 Prolina y azúcares totales.....	53
3.3.6 Análisis químico de hojas, tallos y raíces .....	54
3.3.6.1 Acumulación de macronutrientes en hojas .....	54
3.3.6.2 Acumulación de micronutrientes y Cd en hojas .....	56
3.3.6.3 Acumulación de macronutrientes en tallos .....	57
3.3.6.4 Acumulación de micronutrientes y Cd en tallos .....	59
3.3.6.5 Acumulación de macronutrientes en raíces .....	61
3.3.6.6 Acumulación de micronutrientes y Cd en raíces.....	63
3.4 CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....	65
3.5 LITERATURA CITADA.....	66

## ÍNDICE DE CUADROS

Página

### CAPÍTULO II

**Cuadro 1.** Fuentes de macronutrientes para la solución nutritiva de Steiner (Steiner, 1984).....10

**Cuadro 2.** Acumulación de macronutrientes en hojas, tallos y raíces de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) sometidas a distintas concentraciones de NaCl en la solución nutritiva Steiner por 30 días.....26

**Cuadro 3.** Acumulación de micronutrientes y sodio en hojas, tallos y raíces de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) sometidas a distintas concentraciones de NaCl en la solución nutritiva Steiner por 30 días.....28

### CAPÍTULO III

**Cuadro 1.** Concentración de la solución nutritiva de Steiner al 50% (Steiner, 1984)....40

## ÍNDICE DE FIGURAS

### CAPÍTULO II

#### Página

- Figura 1.** Altura de planta(A) y diámetro de tallo (B) de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas con distintas concentraciones de NaCl en la solución nutritiva Steiner por 30 días. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 12$ ).....15
- Figura 2.** Número de hojas (A) y área foliar (B) de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas con distintas concentraciones de NaCl en la solución nutritiva Steiner por 30 días. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 12$ ).....16
- Figura 3.** Longitud de raíz principal (A) y volumen radical (B) de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas con distintas concentraciones de NaCl en la solución nutritiva Steiner por 30 días. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 12$ ).....17
- Figura 4.** Efecto de crecimiento ocasionado por NaCl en pimiento morrón, 30 días después de la aplicación de tratamientos.....18
- Figura 5.** Materia seca total (A), de hojas (B), de tallos (C) y de raíces (D) de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva Steiner por 30 días. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 12$ ).....19
- Figura 6.** Concentración de clorofila a (A), b (B) y total (C) en hojas de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas con distintas concentraciones de NaCl en la solución nutritiva Steiner por 30 días. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 12$ ). PF= peso fresco.....20
- Figura 7.** Concentración de aminoácidos (A) y proteínas (B) en hojas de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas con distintas concentraciones de NaCl en la solución nutritiva Steiner por 30 días. Medias  $\pm$  DE, con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 12$ ). PF=peso fresco.....22

**Figura 8.** Concentración de prolina (A) y azúcares totales (B) en hojas de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas con distintas concentraciones de NaCl en la solución nutritiva Steiner por 30 días.  $\pm$  DE, Medias con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 12$ ). PF=peso fresco.....23

**Figura 9.** Tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> (A) y conductancia estomática (B) en hojas de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas con distintas concentraciones de NaCl en la solución nutritiva Steiner por 30 días.  $\pm$  DE, Medias con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 85$ ).....25

### CAPÍTULO III

**Figura 1.** Conductancia estomática (A), tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> (B) y transpiración (C) en hojas de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas durante 15 días con distintas concentraciones de cadmio en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 36$ ).....45

**Figura 2.** Lecturas SPAD en hojas de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas con diferentes concentraciones de cadmio por 15 días en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 48$ ).....46

**Figura 3.** Altura (A) y diámetro de tallo (B) de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas con distintas concentraciones de cadmio en la solución nutritiva por 15 días. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 48$ ).....47

**Figura 4.** Efecto de crecimiento ocasionado por Cd en pimiento morrón, 15 días después de la aplicación de tratamientos.....47

**Figura 5.** Número de hojas (A) y área foliar (B) de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas con distintas concentraciones de cadmio en la solución nutritiva, durante 15 días. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 48$ ).....48

**Figura 6.** Longitud de raíz principal (A) y volumen radical (B) de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas por 15 días con distintas concentraciones de cadmio en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 48$ ).....49

**Figura 7.** Biomasa seca total (A), de hojas (B), tallos (C) y raíces (D) de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas por 15 días con distintas concentraciones de cadmio en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada subfigura, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 12$ ).....50

**Figura 8.** Concentración de clorofila a (A), b (B) y total (C) en hojas de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas con distintas concentraciones de cadmio en la solución nutritiva, por 15 días. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 5$ ).....51

**Figura 9.** Concentración de aminoácidos (A) y proteínas (B) en hojas de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas por 15 días con distintas concentraciones de cadmio en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 5$ ).....52

**Figura 10.** Concentración de prolina (A) y azúcares totales (B) en hojas de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas por 15 días con distintas concentraciones de cadmio en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 5$ ).....53

**Figura 11.** Acumulación de macro nutrientes en hojas de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas por 15 días con distintas concentraciones de cadmio en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada subfigura, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 5$ ).....55

**Figura 12.** Acumulación de micronutrientos y Cd en hojas de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) sometidas a distintas concentraciones de cadmio por 15 días, en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada subfigura, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 5$ ).....57

**Figura 13.** Acumulación de macronutrientos en tallos de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) sometidas a distintas concentraciones de cadmio por 15 días en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada subfigura, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 5$ ).....58

**Figura 14.** Acumulación de micronutrientos y Cadmio en tallos de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas por 15 días, con distintas concentraciones de cadmio en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada subfigura, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 5$ ).....60

**Figura 15.** Acumulación de macronutrientos en raíces de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) sometidas a distintas concentraciones de cadmio en la solución nutritiva por 15 días. Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada subfigura, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 5$ ).....62

**Figura 16.** Acumulación de micronutrientos y cadmio en raíces de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) sometidas a distintas concentraciones de cadmio en la solución nutritiva por 15 días. Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada subfigura, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 5$ ).....64

# CAPÍTULO I.INTRODUCCIÓN GENERAL

## 1.1 Concepto de estrés en plantas

El estrés es toda condición que ocasiona un desequilibrio en la homeostasis de la planta debido a factores adversos, los cuales pueden ser de naturaleza biótica (plagas, herbívoros, microorganismos infecciosos, entre otros) como abiótica (altas temperaturas, deficiencia de agua, heladas, salinidad, deficiencia o toxicidad de elementos minerales en el suelo, etc.) (Lemoine *et al.*, 2013).

El estrés ambiental representa una fuerte restricción para la productividad de los cultivos y el aprovechamiento de los recursos naturales. Se estima que únicamente un 10% de la superficie de la tierra arable se encuentra libre de algún tipo de estrés (Basurto-Sotelo *et al.*, 2008). Además, los desafíos del cambio ambiental global (el calentamiento climático, la pérdida de los ecosistemas naturales, la diversidad biológica que contienen y los servicios ambientales que nos brindan), exacerbando los problemas nacionales como la pobreza y la desigualdad económica y social, esto nos lleva a afrontar los desafíos de la conservación y el manejo sustentable del capital natural exige tener conocimiento científico confiable y de calidad acerca del mismo (Sarukhán *et al.*, 2012; Benitez-Cevallos, 2012).

Para sobrevivir e incluso producir en condiciones de estrés, las plantas han desarrollado mecanismos anatómicos, fisiológicos, bioquímicos y moleculares que les confieren capacidad para resistir, evitar y escapar a los estímulos ambientales negativos o poder permanecer bajo un estado particular de estrés sin que su metabolismo se vea afectado drásticamente. Estos mecanismos varían de acuerdo al genotipo y se han encontrado respuestas diferenciales no solo entre géneros y especies, sino también entre ecotipos y variedades, por lo que es necesario conocer las respuestas de un cultivo en particular (Duque *et al.*, 2013).



## 1.2 Factores que causan estrés en plantas superiores

En la agricultura, los factores abióticos que más afectan la productividad de los cultivos tienen que ver con la salinidad, contaminantes en suelos y aguas, sequía y temperaturas extremas ([Martínez-Ballesta et al., 2009](#)).

Los factores ambientales han mostrado un grado de transformación tal, que ponen en peligro la capacidad de equilibrio que permita el sostenimiento de la propia vida en el planeta y se estima que cerca del 20% de la tierra presenta algún tipo de deficiencia o toxicidad mineral, un 26% es afectada por estrés de sequía, alrededor de un 15% por temperatura extremas y hasta un 50% de las superficies bajo riego pueden estar afectadas por problemas de salinidad, entre otros factores adversos ([Basurto-Sotelo et al., 2008](#); [FAO, 2002](#)).

La sequía, salinidad, temperaturas extremas y otros factores abióticos reducen el crecimiento de la planta, por lo cual estas para adaptarse a condiciones adversas provocan respuestas de defensa que son los mecanismos fisiológicos y bioquímicos, El estrés abiótico representa limitaciones de productividad alrededor de 50% de pérdidas en rendimiento en el mundo.

La salinidad afecta alrededor del 6% de la superficie terrestre, una gran parte de estos con importancia agrícola. Más de 800 millones de hectáreas de tierra en todo el mundo es salada afectados ya sea por la salinidad o asociado en condiciones de sodicidad, la mayor parte de estas es natural, sin embargo una proporción de tierra agrícola se ha convertido en solución salina debido a la tala de árboles o por riegos. Del total de 230 millones de hectáreas de tierras de riego, 45 millones de hectáreas están afectadas por sal. Del total de la superficie cultivada sólo el 15% es de riego, de este al menos se tiene el doble de la productividad que las tierras sin riego, bajo esta condición se produce un tercio de alimentos en el mundo ([Sunkar, 2010](#)).

### **1.2.1 Mecanismos de respuesta de las plantas a la salinidad**

La presencia de sales en el medio produce un desequilibrio en la planta, que afecta la absorción de agua. La planta, en condiciones de salinidad, disminuye su potencial hídrico haciendo más negativo su potencial osmótico para poder mantener el turgor. Además para prevenir la deshidratación de la planta a causa del estrés salino, la planta cierra los estomas para evitar la pérdida de agua por transpiración (Zhu, 2001).

### **1.2.2 El cadmio en el desarrollo de las plantas**

Por otro lado, la contaminación de suelos y aguas para uso agrícola puede ocasionar no solo afectaciones negativas en las plantas, sino que los contaminantes pueden ser incorporados a las cadenas tróficas y causar severos problemas de salud pública. En el caso específico del cadmio, México produce unas 1600 toneladas anuales de este metal pesado y no existe un plan estructurado para su manejo (Lango-Reynoso *et al.*, 2010), por lo que la agricultura, a través del uso de fertilizantes que contienen este metal, es severamente afectada, por lo que existe la imperiosa necesidad de llevar a cabo investigaciones profundas sobre los efectos de este factor contaminante en diversos aspectos de la producción agrícola, desde la germinación de semillas hasta la cosecha.

### **1.3. Respuestas adaptativas de las plantas a la salinidad y al cadmio**

La tolerancia de las plantas a la salinidad se puede definir como la capacidad de éstas para crecer y completar su ciclo de vida en un sustrato que contiene altas concentraciones de sal soluble (Parida y Das, 2005).

Lee y van Iersel (2008) reportaron que plantas de crisantemo tratadas con 9 g L<sup>-1</sup> de NaCl, presentaron una reducción del 76% en peso seco de los brotes, una reducción del 90% en la conductancia estomática, y un retraso de cuatro días en la floración, en comparación con el testigo, en tanto que plantas que recibieron 1 g L<sup>-1</sup> de NaCl, tenían una reducción de 4 cm de altura, con sólo una pequeña reducción en el peso seco de los brotes, concluyendo que esta especie puede tolerar bajos niveles de NaCl en el

agua de riego ( $1 \text{ g L}^{-1}$ ), sin mostrar impactos negativos en la calidad de la planta. En pepino, [García-Morales et al. \(2012\)](#) mostraron que los cultivares AF-1661 y Slice Max) responden diferencialmente a NaCl en la solución nutritiva, siendo el cultivar AF-1661 el más sensible a 150 y 200 mM NaCl, aunque en ambos cultivares hubo reducción significativa de P, K, Ca, Mg y N tanto en hojas como en tallos.

Los mecanismos fisiológicos y moleculares de tolerancia a los componentes osmótico e iónico del estrés por salinidad se dan a nivel de célula, órgano e individuo en dos fases: primero, una fase osmótica rápida que inhibe el crecimiento de hojas jóvenes, y luego, una fase iónica lenta que acelera la senescencia de hojas maduras. Las respuestas adaptativas de las plantas al estrés salino son de tres tipos: tolerancia al estrés osmótico, exclusión de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$ , y adaptación de los tejidos a la acumulación de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  ([Munns y Tester, 2008](#)).

Entre los metales pesados, el Cd resulta tóxico para las plantas, y es absorbido rápidamente por las raíces y acumulado en varios tejidos, lo que perjudica el crecimiento y la productividad de los cultivos. Las plantas han desarrollado varias estrategias para contrarrestar los efectos inhibitorios del Cd, entre los cuales el manejo de los nutrientes resulta una de las más promisorias, principalmente relacionados con el metabolismo del azufre ([Gill y Tuteja, 2011](#)).

#### **1.4. Justificación de la investigación**

En México, los problemas de salinidad en suelos y aguas se han incrementado en los últimos años ([CONAGUA, 2011](#)), lo que hace necesario estudiar las respuestas de las plantas a este factor de estrés con la finalidad de diseñar mejores estrategias de manejo que permitan lograr crecimiento y producción. Así también, la contaminación de suelos y aguas por metales pesados es un problema que rebasa incluso el ámbito agronómico, y en el caso del cadmio se ha convertido en un problema de salud pública ([Godoy, 2011](#)), por lo que conocer los mecanismos que las plantas utilizan para sobrevivir a este factor de estrés resulta también prioritario. En la presente investigación se busca identificar las respuestas adaptativas de plántulas de pimiento

morrón (*Capsicum annuum* L.) como modelo que permita explicar los diferentes mecanismos fisiológicos y bioquímicos que son afectados por cloruro de sodio y cadmio en esta especie.

La tesis se divide en tres capítulos. En el primero, intitulado “Introducción General” se abordan aspectos generales sobre la importancia del estudio de la salinidad y el cadmio en plantas, así como las respuestas adaptativas de las plantas para crecer y completar su ciclo de vida a este tipo de factores de estrés ambiental. En el segundo capítulo se aborda el efecto del cloruro de sodio en diferentes variables fisiológicas y bioquímicas de plántulas de pimiento morrón. Por último, en el tercer capítulo se reportan los resultados relacionados con los efectos fisiológicos y bioquímicos en plántulas de pimiento morrón expuestas a diferentes niveles de cadmio en la solución nutritiva. En cada capítulo se presenta la literatura consultada correspondiente.

### **1.5 Literatura citada**

Benítez-Cevallos W. P. 2012. Aclimatación de 18 cultivares de col (*Brassica oleracea* L. var. Capitata), en el cantón Riobamba, provincia de Chimborazo. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba-Ecuador. 103 p.

Basurto-Sotelo M., Núñez-Barrios A., Pérez-Leal R. R., Hernández-Rodríguez R. 2008. Fisiología del estrés ambiental en plantas. Aventuras del Pensamiento 48: 1-5.

CONAGUA. 2011. Estadísticas del agua en México-Edición 2011. Comisión Nacional del Agua. SEMARNAT. México, D. F. 181 p.  
<http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/SGP-1-11-EAM2011.PDF>

Duque A. S., Martinho de A. A., Bernardes da S. A., Marques da S. J., Farinha A. P., Santos D., Fevereiro P. and De Sousa A. S. 2013. Abiotic stress responses in plants: unraveling the complexity of genes and networks to survive. INTECH. Open Science. Chapter 3.

- FAO. 2002. World agriculture: towards 2015/2030. Summary report. Food and Agriculture Organization, Rome, Italy. <http://www.fao.org/docrep/004/y3557e/y3557e00.htm>
- García-Morales S., Trejo-Téllez L. I., Gómez-Merino F. C., Espinosa-Victoria D. 2012. Growth inhibition and changes in nutrient accumulation in cucumber plants under salinity conditions. *Acta Horticulturae* 947: 83-90.
- Gill S. S., Tuteja N. 2011. Cadmium stress tolerance in crop plants. Probing the role of sulfur. *Plant Signaling and Behavior* 6: 215-222.
- Godoy E. 2011. Mexico hides cadmium under the rug. Inter Press Service. November 3, 2011. <http://www.ipsnews.net/2011/11/mexico-hides-cadmium-under-the-rug/>
- Lango-Reynoso F., Landeros-Sánchez C., Castañeda-Chávez M. R. 2010. Bioaccumulation of cadmium (Cd), lead (Pb) and arsenic (As) in *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1971), from Tamiahua lagoon system, Veracruz, Mexico. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 26: 201-210.
- Lee M. K., van Iersel M. W. 2008. Sodium chloride effects on growth, morphology, and physiology of chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium*). *HortScience* 43: 1888-1891.
- Martínez-Ballesta M. C., López-Pérez L., Muries B., Muñoz-Azcarate O., Carvajal M. 2009. Climate change and plant water balance. The role of aquaporins. *Sustainable Agricultural Reviews*. E. Lichtfouse (ed.), pp. 71-89.
- Munns R., Tester M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59:651-681.
- Parida A.K., Das A.B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60: 324-349.
- Sunkar R. 2010 Plant Stress Tolerance. Department of Biochemistry & Molecular Biology, Oklahoma State University. USA. 386 p.
- Sarukhán J., Carabias J., Koleff P., Urquiza-Haas T. 2012. Capital natural de México: Acciones estratégicas para su valoración, preservación y recuperación. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México, D. F. [http://www.biodiversidad.gob.mx/pais/pdf/AccionesEstrategicas\\_web.pdf](http://www.biodiversidad.gob.mx/pais/pdf/AccionesEstrategicas_web.pdf)
- Zhu J. K. 2001. Plant salt tolerance. *Trends Plant Sci.* 6: 66-71.

## **CAPÍTULO II. TOLERANCIA A ESTRÉS SALINO EN PLÁNTULAS DE PIMIENTO MORRÓN (*Capsicum annuum* L.)**

### **2.1 INTRODUCCIÓN**

A nivel mundial la salinidad del suelo es uno de los principales factores de estrés abiótico en la agricultura y se calcula que afecta más de 800 millones de hectáreas, lo que representa más del 6% de la tierra arable en todo el mundo ([Munns y Tester, 2008](#)), en tanto que la FAO estima que hasta un 50% de los terrenos bajo riego son afectados por este factor ([FAO, 2002](#)). En México, el 7.3% de los acuíferos presentan problemas de salinidad y se estima que el problema tiende a incrementarse ([CONAGUA, 2011](#)).

La salinidad afecta los procesos biológicos de la plantas de dos maneras. Por un lado, altas concentraciones de sal endurecen el suelo y dificultan la extracción de agua por las raíces (debido a que la estructura del suelo se degrada, lo que reduce la porosidad y la permeabilidad al agua), mientras que en la planta las sales ocasionan efectos tóxicos a diferentes niveles. En el exterior de la raíz, la salinidad afecta de manera inmediata el crecimiento y el metabolismo asociado, en tanto que la acumulación de sal en el interior de la célula es un proceso que toma más tiempo antes de afectar funciones biológicas ([Munns y Tester, 2008](#)), incluyendo un efecto negativo de los iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en los cloroplastos, lo que inhibe la fotosíntesis ([Taiz y Zeiger, 2010](#)).

En los híbridos Sonar y Lamuyo de pimiento, [Chartzoulakis y Klapaki \(2000\)](#) reportaron que la adición de 50 mM NaCl en la solución nutritiva de Hoagland retardó la germinación, pero el porcentaje de semillas germinadas fue aceptable siendo un 98.2% y 100% respectivamente, mientras que al aumentar la concentración de sal a 100 y 150 mM, se presentó una reducción de germinación en ambos híbridos. A concentraciones superiores a 25 mM NaCl en solución, se observaron efectos negativos en la altura, área foliar y peso seco en ambos híbridos. En raíz se observaron mayores concentraciones de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en comparación con hojas y el rendimiento fue afectado a partir de 10 mM NaCl en solución, llegando a un 95% de reducción en rendimiento con 150 mM NaCl.

En pimiento cv. Cho Jinda, [Chookhampaeng \(2011\)](#) reportó que la exposición a 50 mM NaCl no afectó el crecimiento del cultivar, pero las concentraciones de 100 y 200 mM afectaron significativamente crecimiento, contenido de clorofila, acumulación de prolina y la actividad de la enzima catalasa en brotes y raíces.

[López et al. \(2012\)](#), adicionaron diferentes concentraciones de NaCl (0, 50, 100, 200 y 300 mM) a la solución nutritiva de Hoagland en chiltepín (*Capsicum annuum* var. glabriusculum) y chile poblano (*Capsicum annuum* var. annuum), y reportaron que las concentraciones de Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> aumentan en tallos y raíces, mientras que las de K<sup>+</sup> disminuyen en tallos en ambas especies, y se concluyó que el chiltepín fue más tolerante a la salinidad que el chile poblano.

[Huez-López et al. \(2011a\)](#) observaron que la salinidad (6.5 dS m<sup>-1</sup>) redujo la biomasa seca, área foliar, tasa de crecimiento relativo y tasa de asimilación neta en pimiento cv. Sandia. Además, la fertilización orgánica con 200 kg N ha<sup>-1</sup> aumentó el rendimiento de frutos aún en condiciones de alta salinidad.

Por otra parte, el uso de fuentes de N orgánico incrementó el contenido de cationes (Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup>) en hojas y vástagos y aumentó la tasa de absorción y translocación de cationes al vástago en comparación con la fertilización inorgánica en plantas de pimiento morrón crecidas en suelos irrigados con soluciones salinas (1.5, 4.5 y 6.5 dS m<sup>-1</sup>) por 72 días. Además, la concentración de Cl<sup>-</sup> en raíces y vástagos, tasas de absorción y transporte de este elemento de raíces a vástagos se incrementaron al aumentar el nivel de salinidad, y de forma paralela disminuyeron los niveles de N tanto en raíces como en vástagos ([Huez-López et al., 2011b](#)).

México es el principal productor de chiles a nivel mundial con poco más de 2 millones de toneladas cosechadas en 146 mil ha; de esta producción, el pimiento morrón ocupa el 8%, con más de 162 mil toneladas producidas anualmente, principalmente en los estados de Chihuahua, Sinaloa, Zacatecas y San Luis Potosí ([InfoRural, 2010](#)).

Debido a que en México se han acrecentado los problemas de salinidad en suelos y aguas en los últimos años, y los principales estados productores de pimiento morrón

conjuntan 21 de los 32 acuíferos bajo fenómenos de salinización (CONAGUA, 2011), el objetivo de este trabajo fue investigar las respuestas fisiológicas y bioquímicas de plántulas de pimiento morrón var. Yolo Wonder crecidas a concentraciones de 0, 25 y 50 mM de NaCl en la solución nutritiva de riego.

## **2.2 MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.2.1 Ubicación del experimento**

El experimento se llevó a cabo en un invernadero tipo cenital cubierto con plástico blanco lechoso en Montecillo, Texcoco, Estado de México, a una altitud de 2250 m, 19° 29' LN y 98° 54' LW.

### **2.2.2 Material vegetal**

Se utilizaron plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) Yolo Wonder (fruto color verde oscuro), la altura y número de hojas promedio de plántulas al momento de trasplante fue de 6.5 cm y 6 respectivamente.

### **2.2.3 Producción de plántula**

La germinación de semillas se efectuó en charolas de unisel de 200 cavidades y como sustrato se utilizó turba canadiense (peat moss sunshine®). Una vez que emergieron las plántulas se aplicó fungicida preventivo Previcur® N (i. a. Propamocarb clorhidrato) a una dosis 0.7 mL L<sup>-1</sup>. Los riegos se aplicaron en función a la demanda. Una vez emergido el primer par de hojas verdaderas se inició la aplicación de la solución Steiner al 15%, y a los 15 días posteriores se aplicó al 25% hasta al momento del trasplante.

### **2.2.4 Contenedores**

El experimento fue establecido en placas flotantes, para lo cual se utilizaron cubetas de plástico con una capacidad de 3 L, provistas con tapas, las cuales fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio (1 mL L<sup>-1</sup>) y enjuagadas tres veces con agua potable para eliminar residuos de sodio y cloro. Posteriormente se realizó el llenado de las cubetas con la solución nutritiva de Steiner al 25%.



## 2.2.5 Tratamientos probados

Las plántulas de pimiento morrón de 15 días de edad fueron expuestas a tres dosis de cloruro de sodio (NaCl) en la solución nutritiva: 0, 25 y 50 mM. Para esta fase la solución nutritiva tuvo una concentración de 50%, y se mantuvo a un pH de 5.3

## 2.2.6 Manejo del experimento

### 2.2.6.1 Nutrición

Durante la fase experimental, las plántulas fueron nutridas con la solución nutritiva de Steiner al 50%, la cual tiene la composición descrita en el **Cuadro 1**.

**Cuadro 1.** Fuentes de macronutrientes para la solución nutritiva de Steiner (Steiner, 1984).

	$\text{NO}_3^-$	$\text{H}_2\text{PO}_4^-$	$\text{SO}_4^{2-}$	$\text{K}^+$	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{Mg}^{2+}$
$\text{mol}_e \text{ m}^{-3}$	1.2	0.1	0.7	0.7	0.9	0.5

La solución nutritiva fue elaborada a partir de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{KNO}_3$ , sales grado reactivo de la marca J. T. Baker. La formulación presentada en el **Cuadro 1** fue complementada con 0.067 g de micronutrientes (Tradecorp®AZ) por cada litro de solución nutritiva.

La aplicación de tratamientos se inició 8 días después de transferir las plantas a la solución nutritiva, donde se agregó 25 y 50 mM de NaCl, esto se mantuvo 30 días hasta el momento de la cosecha de plantas, así también la solución se manejó al 50% de la solución nutritiva Steiner. Las plántulas del tratamiento testigo (0Mm de NaCl) fueron crecidas al mismo tiempo.

La solución nutritiva fue renovada cada 8 días, por la transpiración de las plántulas se reponía el agua perdida cada 3 días y se ajustaba el pH a 5.3

### **2.2.7 Diseño experimental**

El estudio tuvo un diseño experimental en bloques al azar, con 24 repeticiones. La unidad experimental estuvo constituida por tres plántulas de pimiento morrón contenidas en cubetas con capacidad de 3 L, como se describió previamente.

### **2.2.8 Variables evaluadas**

En este estudio se evaluaron las siguientes variables:

#### **2.2.8.1 Crecimiento**

Al momento de la cosecha del experimento se registraron altura de planta, diámetro de tallo, número de hojas, área foliar, longitud y volumen de raíz.

#### **2.2.8.2 Materia seca**

Las plantas fueron separadas en hojas, tallos y raíces, las muestras fueron secadas a 70 °C en una estufa de convección forzada (marca Riossa modelo HCF-125D; Monterrey, N. L., México) durante 72 h. Una vez que el material estuvo seco, se pesó cada órgano de la planta de manera individual.

#### **2.2.8.3 Acumulación nutrimental**

Las concentraciones de nutrimentos y de Na fueron determinadas en hojas, tallos y raíces.

La concentración de nitrógeno total se determinó con el método Semimicro-Kjeldhal ([Bremner, 1965](#)) utilizando una mezcla catalizadora, adicionando ácido sulfúrico-salicílico para su digestión. La determinación de concentraciones de P, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, B y Na, se realizó mediante el método de digestión húmeda del material seco adicionando ácido perclórico y nítrico ([Alcántar y Sandoval, 1999](#)). Las lecturas fueron hechas en un equipo de espectroscopía de emisión atómica de inducción por plasma acoplado (ICP-VARIAN 725-ES).

Con los valores de concentración de cada elemento y los pesos de materia seca en cada órgano, se estimó la acumulación nutrimental.

#### 2.2.8.4 Clorofila a, b y total

Se determinó en hojas frescas por el método de [Harborne \(1973\)](#). Se trituroó 1 g de tejido foliar y se adicionaron 10 mL de acetona al 80% y se dejó reposar 24 en refrigeración y oscuridad, al día siguiente se maceró y se filtró, finalmente las lecturas de las muestras se realizaron en un espectrofotómetro (Spectronic, Genesis™ serie 10. EU) a 663 y 645 nm de longitud de onda. La concentración de clorofila se estimó mediante las siguientes ecuaciones:

$$\text{Clorofila a} = \frac{(12.7 (A_{663}) - 2.59(A_{645})) * V}{1000 * P}$$

$$\text{Clorofila b} = \frac{(22.9 (A_{645}) - 4.70(A_{663})) * V}{1000 * P}$$

$$\text{Clorofila total} = \frac{(8.20(A_{663}) + 20.2(A_{645})) * V}{1000 * P}$$

**Donde:**

**A** = Absorbancia, los subíndices indican la longitud de onda (645 y 663 nm).

**C** = Concentración (mg g<sup>-1</sup> PF)

**V** = Volumen aforado (mL)

**P** = peso de muestra (g)

**1000** = Factor de conversión

#### 2.2.8.5 Azúcares totales

Se determinó en hojas frescas por el método de antrona descrito por [Southgate \(1976\)](#): para la solución madre se trituroó 1 g de material vegetal, se le agregó 50 mL de etanol (80%), y se colocó en ebullición (15-20 min). Se tomó 1 mL de esta solución para ser evaporada en baño maría, posteriormente se diluyó en agua destilada (20mL). En tubos de ensayo se colocó 1 mL de esta dilución se adicionó 2 mL de agua destilada y 6 mL de la solución de antrona. Posteriormente los tubos se colocaron en baño maría

en ebullición por 3 minutos, se colocaron en agua fría y se leyó a 600 nm en espectrofotómetro (Spectronic, Genesis™ serie 10. EU), usando una curva estándar de glucosa como referencia

#### **2.2.8.6 Aminoácidos libres totales**

La determinación de aminoácidos libres fue en hojas frescas mediante una triple extracción etanólica descrita por [Geiger et al. \(1998\)](#). Se trituraron 20 mg de material vegetal en mortero previamente enfriado, el material macerado se colocó en tubos de reacción para las extracciones etanólicas. Las extracciones etanólicas se realizaron incubando las muestras en baño maría durante 20 min a 80 °C; agregando 500µL de etanol 80%, 300 µL de etanol al 80% y 500 µL de etanol al 50%, respectivamente. La separación de fases se realizó por centrifugación (14,000 rpm, 5min, 4 °C), y los sobrenadantes o extractos obtenidos se juntaron para los análisis. Posteriormente los extractos fueron leídos en espectrofotómetro (Spectronic, Genesis™ serie 10. EU) a una longitud de onda de 570 nm empleando el método de la ninhidrina ([Moore y Stein, 1954](#)). Se utilizó leucina para la elaboración de la curva patrón.

#### **2.2.8.7 Prolina**

Se determinó en hojas de acuerdo a lo descrito por [Bates et al. \(1973\)](#). Se maceró 0.01 g de material vegetal liofilizado y homogenizado con ácido sulfusalicílico al 3%, posteriormente se filtró para eliminar los residuos, y una alícuota de 2 mL del filtrado se le adicionaron con 2 mL de ácido acético glacial y 2 mL de ninhidrina ácida incubándose 100 °C en baño maría por una hora. La reacción fue detenida en baño con hielo. Se adicionaron 4 mL de tolueno, se homogenizó y se extrajo la fase orgánica para la cuantificación a 520 nm en un espectrofotómetro, usando L-prolina para la curva de calibración.

#### **2.2.8.8 Proteína**

La extracción de proteínas fue en hojas de acuerdo a lo descrito por [Höfner et al. \(1989\)](#). La cuantificación se hizo en 0.5 g de material foliar con solución de amino, la lectura de las muestras se realizó en un espectrofotómetro con una absorbancia de 640

nm (Spectronic, Genesis™ serie 10. EU). Se utilizó albúmina de suero de bovino para la elaboración de la curva estándar.

### **2.2.8.9 Tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> y conductancia estomática**

Treinta días después de la aplicación de los tratamientos, entre las 9 y 12 de la mañana, se determinaron la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> ( $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) y la conductancia estomática ( $\text{mmoles m}^{-1} \text{s}^{-1}$ ). Para ello, se usó un sistema abierto y portátil de análisis de gases en el espectro infrarrojo (marca Li-Cor, modelo LI-6400XT Portable Photosynthesis System; Lincoln, NE, Estados Unidos). Para estas mediciones se seleccionaron dos hojas completamente maduras expuestas a la radiación solar de 8 repeticiones por tratamiento y se tomaron las lecturas con las hojas orientadas en forma perpendicular a los rayos solares.

### **2.2.9 Análisis estadístico**

Se realizó un análisis de varianza y comparación de medias Tukey ( $P \leq 0.05$ ), utilizando el procedimiento PROC ANOVA para un experimento completamente al azar, empleando el programa estadístico SAS ([SAS Institute, 2011](#)) versión 9.3.

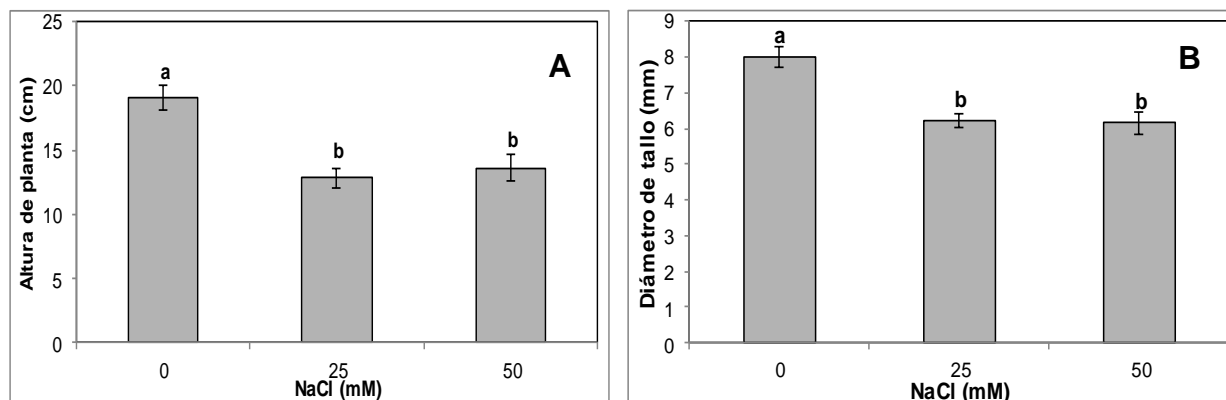
## **2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **2.3.1 Crecimiento**

La tolerancia a la salinidad es considerada como la capacidad de algunas plantas para crecer y completar su ciclo de vida en un sustrato conteniendo altas concentraciones de sales solubles ([Parida y Das, 2005](#)). En esta investigación es evidente el efecto detrimental de la adición de NaCl a la solución nutritiva en los parámetros del crecimiento ([Figuras 1, 2 y 3](#)).

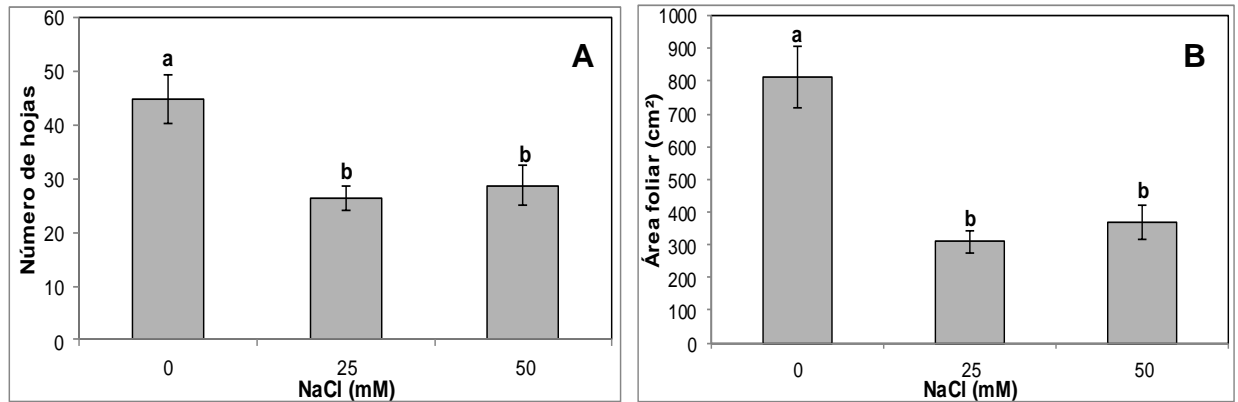
La altura de planta se redujo en 32.84 y 28.68% con la adición de 25 y 50 mM de NaCl a la solución nutritiva en comparación con el testigo ([Figura 1A](#)). Resultados similares sobre la alta sensibilidad del pimiento a la salinidad, son reportados por [Chartzoulakis y Klapaki \(2000\)](#), donde la adición de 50 mmol L<sup>-1</sup> de NaCl inhibió el crecimiento del vástago, donde la altura de planta tuvo una reducción del 49% comparado con el tratamiento testigo. Asimismo, el NaCl redujo significativamente el diámetro de tallo

(Figura 1B). Si bien, la mayoría de reportes indican reducción de parámetros de crecimiento bajo condiciones de salinidad, Uras y Sonmez (2011), por el contrario, en pimiento morrón reportan incrementos en el diámetro de tallo a medida que la conductividad eléctrica del agua usada para el riego incrementa, esto indica que algunos cultivares son tolerantes a la salinidad.



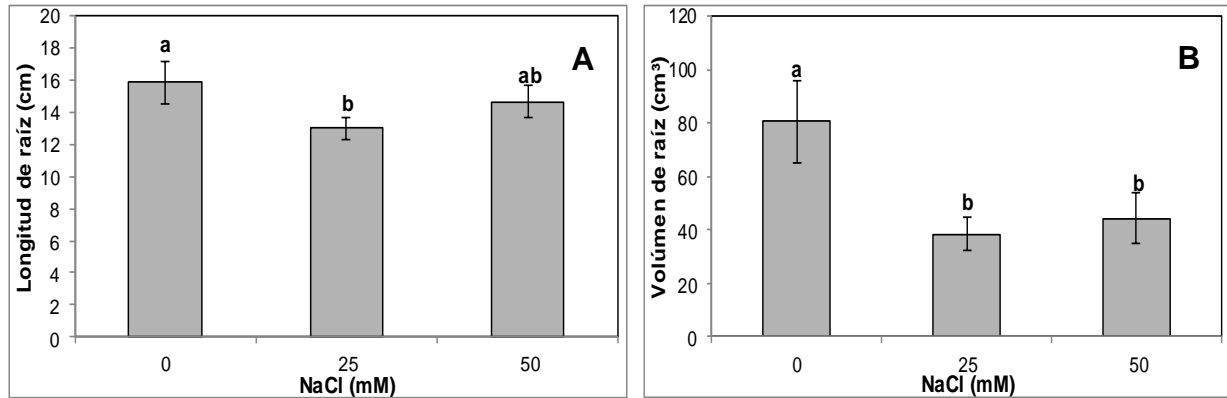
**Figura 1.** Altura de planta(A) y diámetro de tallo (B) de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas con distintas concentraciones de NaCl en la solución nutritiva Steiner por 30 días. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 12$ ).

De la misma manera que en altura y diámetro de tallo, el número de hojas (Figura 2A) y el área foliar (Figura 2B) fueron significativamente reducidos por la presencia de NaCl en el medio de crecimiento; asimismo tuvieron una tendencia similar estas variables. De Pascale *et al.* (2003) reportan en plantas de pimiento morrón sometidas durante tres meses a dos concentraciones de sales con conductividad eléctrica de 4.4 y 8.5  $\text{dS m}^{-1}$ , en comparación con el testigo control (0.5  $\text{dS m}^{-1}$ ), observaron que la reducción en el área foliar es debida principalmente al menor número de éstas y no en la disminución de su tamaño.



**Figura 2.** Número de hojas (A) y área foliar (B) de plántulas de pimiento Morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas con distintas concentraciones de NaCl en la solución nutritiva Steiner por 30 días. Medias  $\pm$  DE, con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 12$ ).

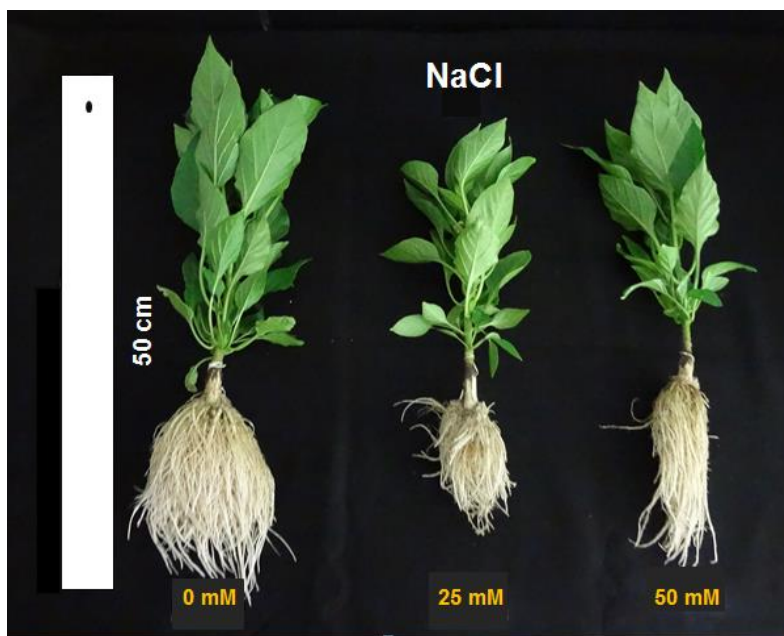
El crecimiento y morfología de la raíz son parámetros influenciados por la condición de salinidad, aún en plantas halófitas, por ejemplo en *Plantago maritima* L., la exposición a 200 mM de NaCl redujo el crecimiento de raíces en 25%; asimismo esta concentración redujo severamente el patrón de ramificación de raíces, reduciendo el número de raíces laterales de primer, segundo y tercer orden (Rubinigg *et al.*, 2004). Los resultados aquí obtenidos muestran que la adición de 25 mM de NaCl redujo significativamente la longitud de raíz principal en comparación con el testigo (Figura 3A); mientras que, ambas concentraciones de NaCl redujeron significativamente el volumen radical, respecto al testigo (Figura 3B).



**Figura 3.** Longitud de raíz principal (A) y volumen radical (B) de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas con distintas concentraciones de NaCl en la solución nutritiva Steiner por 30 días. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 12$ ).

Munns (2002) explica las alteraciones en el crecimiento de plantas sometidas a salinidad a través del tiempo; de manera inicial, las células se deshidratan y contraen, pero horas más tarde recuperan sus volúmenes originales. No obstante, a esta recuperación en volumen, en menor medida se reduce la elongación y división celular dando lugar a menores tasas de crecimiento de raíces y hojas. Durante los días siguientes, la reducción en elongación y división celular se traducen en una lenta aparición de hojas y en la disminución del tamaño de éstas. Así, plantas sometidas a estrés salino severo, desarrollan sintomatología visual de toxicidad. Después de varias semanas, el desarrollo de brotes laterales se ve también afectado y después de meses, se observan claras diferencias en el crecimiento (Figura 4).





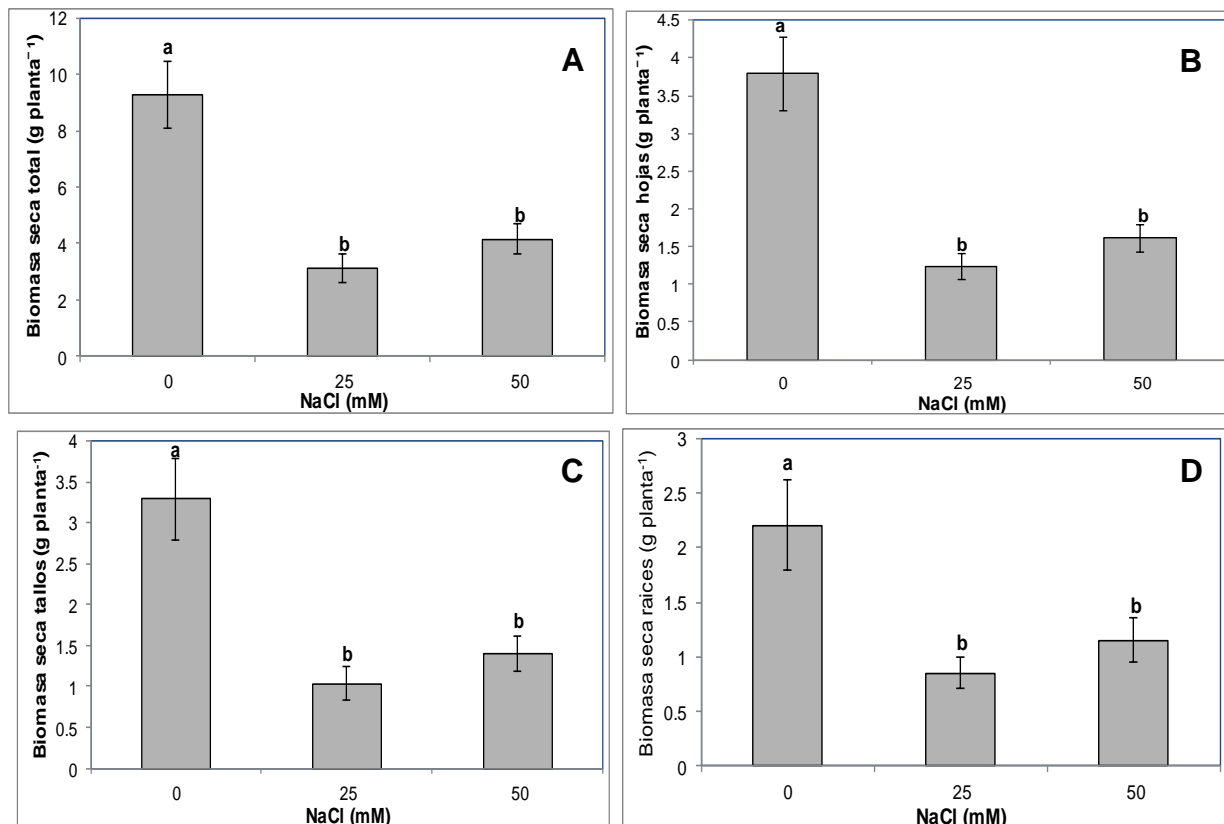
**Figura 4.** Efecto de la adición de NaCl a la solución nutritiva durante 30 días, en el crecimiento de pimiento morrón.

### 2.3.2 Materia seca

La adición de NaCl a la solución nutritiva de Steiner redujo significativamente ( $P \leq 0.05$ ) el peso de la materia seca, incluso a partir de 25 mM (Figura 5). De manera similar, Huez-López *et al.* (2011a) observaron efectos detrimentales en plantas chile verde tratadas con  $6.5 \text{ dS m}^{-1}$ . De hecho, el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, 1990) clasifica a la especie *Capsicum annuum* como moderadamente sensible a la salinidad, y establece el umbral de tolerancia a partir de  $1.5 \text{ dS m}^{-1}$ , aunque De Pascale *et al.* (2003) estiman que es posible observar respuestas diferenciales por efecto de las condiciones imperantes de clima y tiempo, tipo de suelo o sustrato, especie o cultivar, etapa fenológica, sistema de riego, intervalo entre riegos, cantidad de agua suministrada y tiempo de exposición al agua salina de riego, lo que sugiere que tanto el genotipo como el ambiente determinan las respuestas de un determinado cultivo al estrés salino.

Por su parte, Siddikee *et al.* (2011) demostraron que las especies *Brevibacterium iodinum*, *Bacillus licheniformis* y *Zhihengliuella alba*, bacterias tolerantes a sales capaces de producir ácido 1-aminoáciclopropano-1-carboxílico (ACC) desaminasas,

mitigan los efectos del estrés salino al reducir la síntesis de etileno y promover el crecimiento en pimiento rojo, lo que representa una alternativa de manejo para lidiar con este factor de estrés.

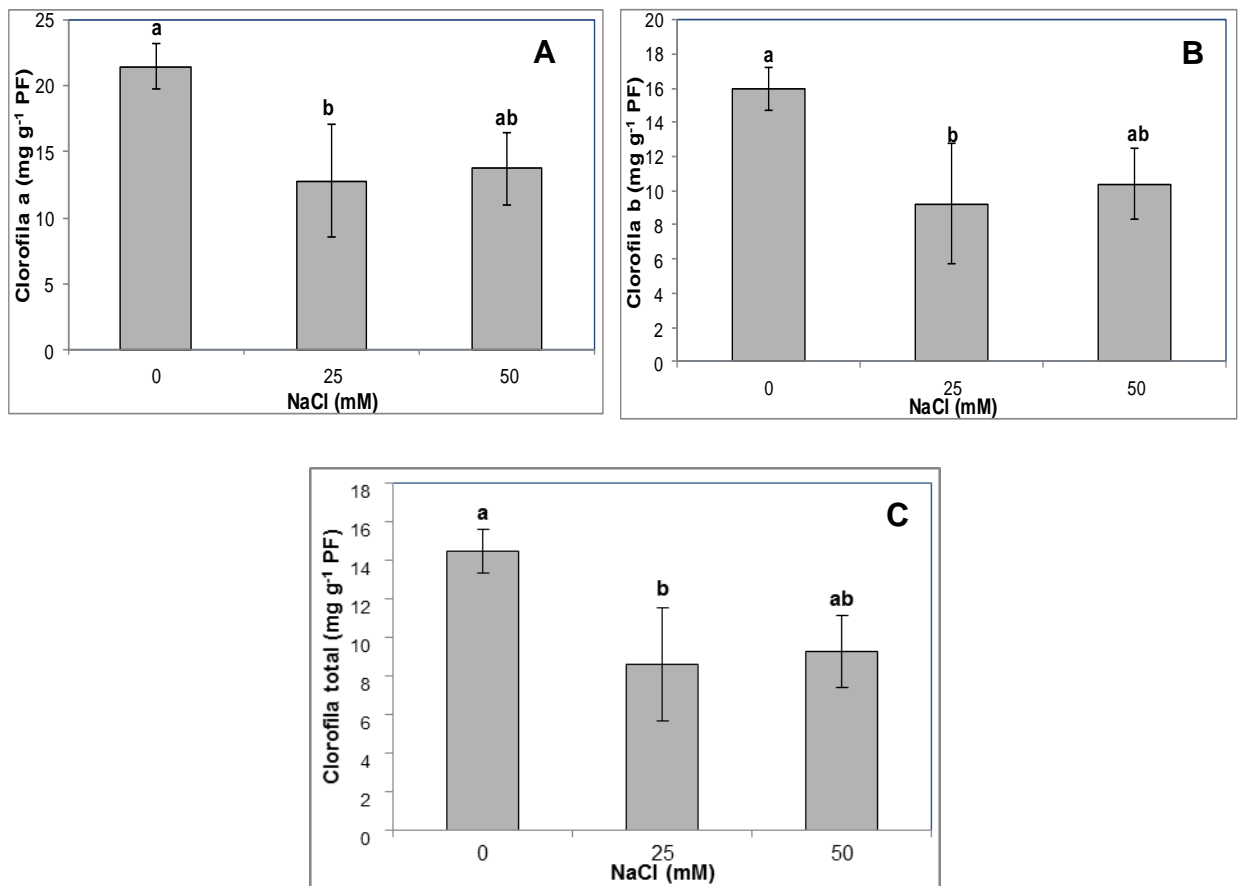


**Figura 5.** Materia seca total (A), de hojas (B), de tallos (C) y de raíces (D) de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva Steiner por 30 días. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 12$ ).

### 2.3.3 Concentración de clorofilas

Las clorofilas son pigmentos que tienden a degradarse como efecto del estrés por salinidad, de ahí que sean indicadores de la tolerancia de las plantas a este tipo de factores. En esta investigación, se observó un decremento cercano al 54% en plantas tratadas con 25 mM NaCl en comparación con plantas testigo, efectivamente es curioso que este efecto se presente en casi todas las variedades que hasta este momento se han presentado (**Figura 6**), lo que puede ser indicativo de la activación de algún

mecanismo bioquímico de tolerancia en este cultivar. En el cultivar Solan Bharpur' de esta misma especie, [Sikha et al. \(2013\)](#) reportaron una mayor degradación de clorofilas por efecto del estrés osmótico ocasionado por polietilenglicol (PEG) en comparación con NaCl, en tanto que la peroxidación lipídica medida a través de la acumulación de malondialdehído (MDA) aumentó significativamente en hojas en ambos tratamientos (PEG y NaCl). El incremento en el contenido de MDA puede ser debido a un aumento en la actividad de la enzima monodehidroascorbato reductasa (MDHAR), única enzima que utiliza un radical orgánico (MDA) como sustrato, con capacidad de reducir radicales fenoxilos y se encuentra ampliamente distribuida en el reino vegetal, principalmente en cloroplastos, citosol y peroxisomas ([Sharma et al., 2012](#)).

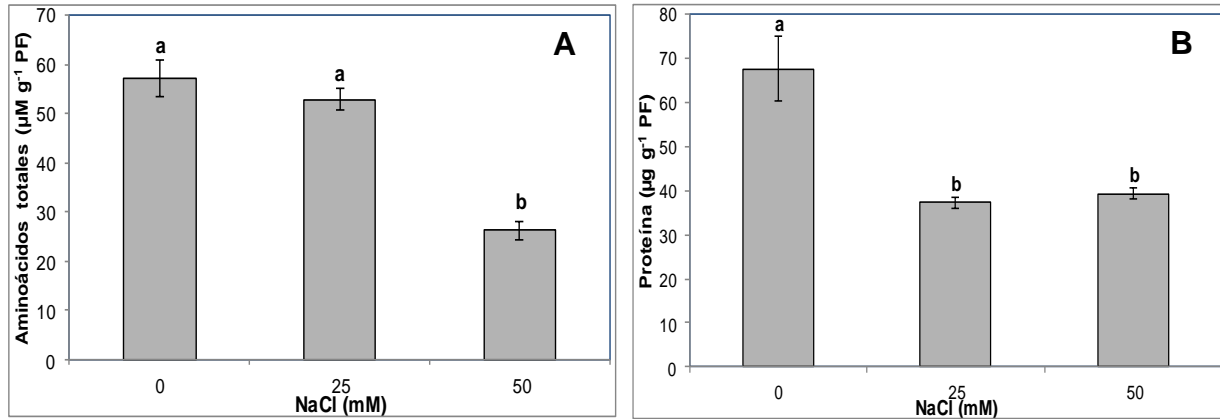


**Figura 6.** Concentración de clorofila a (A), b (B) y total (C) en hojas de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas con distintas concentraciones de NaCl en la solución nutritiva Steiner por 30 días. Medias ± DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 12$ ). PF= peso fresco.

El daño ocasionado por la salinidad en el aparato fotosintético es de naturaleza iónica y está relacionado con la acumulación de sales en hojas maduras en concentraciones tóxicas que les ocasiona la muerte (que ya no se expanden y por lo tanto no diluyen la concentración de sal que llega a ellas, como en el caso de las hojas jóvenes). Si la tasa a la que las hojas maduras mueren es mayor a la que se generan hojas jóvenes, el aparato fotosintético de la planta no estará en capacidad de abastecer carbohidratos y por lo tanto, dará lugar a un desequilibrio en el intercambio de gases y la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS, del inglés reactive oxygen species) (Sharma *et al.*, 2012), lo que ocasiona cambios en la composición bioquímica de la planta, incluyendo degradación de clorofilas, como los que se observan en la presente investigación.

#### **2.3.4 Concentraciones de aminoácidos y proteínas**

A diferencia de las variables mostradas con anterioridad, la concentración de aminoácidos se vio afectada de manera significativa solamente con la concentración de 50 mM de NaCl en la solución nutritiva (Figura 7A), mostrando una reducción superior al 43% en comparación con plantas testigo. Sin embargo, el contenido de proteínas totales se vio afectado negativamente en plantas tratadas desde los 25 mM de NaCl (Figura 7B), lo que significa una posible degradación de las mismas por efecto de la salinidad.



**Figura 7.** Concentración de aminoácidos (A) y proteínas (B) en hojas de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas con distintas concentraciones de NaCl en la solución nutritiva Steiner por 30 días. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 12$ ). PF=peso fresco.

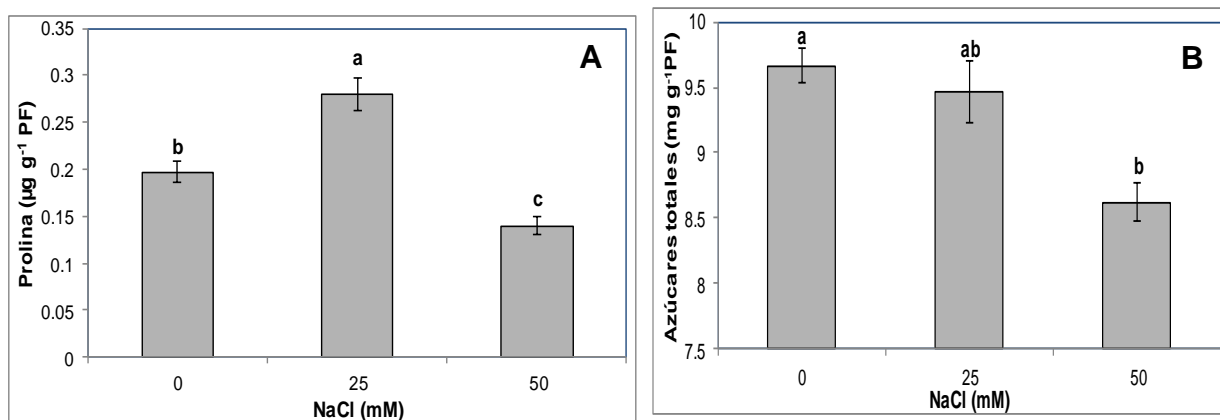
Cuando el estrés salino irrumpe los mecanismos homeostáticos de la célula, las sales se pueden acumular en el apoplasto y deshidratar la célula; también pueden concentrarse en el citoplasma e inhibir la enzimas involucradas en el metabolismo de los carbohidratos; o en los cloroplastos y afectar negativamente el proceso fotosintético (Munns y Tester, 2008). La reducción de la tasa fotosintética incrementa la producción de ROS y activa enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) o ascorbato peroxidasa (APX), entre otras. En caso de que el sistema antioxidante funcione debidamente, la planta podrá superar la situación de estrés, pero en caso contrario, se desencadenarán procesos que tienden a degradar componentes estructurales y funcionales de la célula, y en caso extremo, activar senescencia y muerte celular programada (Gill y Tuteja, 2010). En el caso de la presente investigación, es evidente que el nivel más alto de sal inhibió la biosíntesis de proteínas o activó procesos degradativos de estas moléculas y de aminoácidos.

Recientemente, Ratnakar y Rai (2013) mostraron que algunos reguladores del crecimiento vegetal como ácido giberélico (GA3), 6-furfuriladenina (Kinetin) y benziladenina (BA) estimulan la síntesis de proteínas en plantas de *Spinacia oleracea* L. var. All Green cultivadas bajo estrés salino (60 mM de NaCl), lo cual resulta de sumo

interés para futuras investigaciones tendientes a la búsqueda de mecanismos de tolerancia a este factor de estrés en diferentes genotipos de plantas cultivadas como el pimiento morrón.

### 2.3.5 Prolina y azúcares totales

La concentración de prolina aumentó en plantas expuestas a 25 mM NaCl, pero disminuyó cuando el nivel de NaCl se incrementó a 50 mM NaCl en la solución nutritiva (Figura 8A). Por su parte, los azúcares totales se mantuvieron relativamente sin cambio a 25 mM, pero disminuyeron significativamente en plantas tratadas con 50 mM de NaCl (Figura 8B).



**Figura 8.** Concentración de prolina (A) y azúcares totales (B) en hojas de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas con distintas concentraciones de NaCl en la solución nutritiva Steiner por 30 días. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 12$ ). PF=peso fresco.

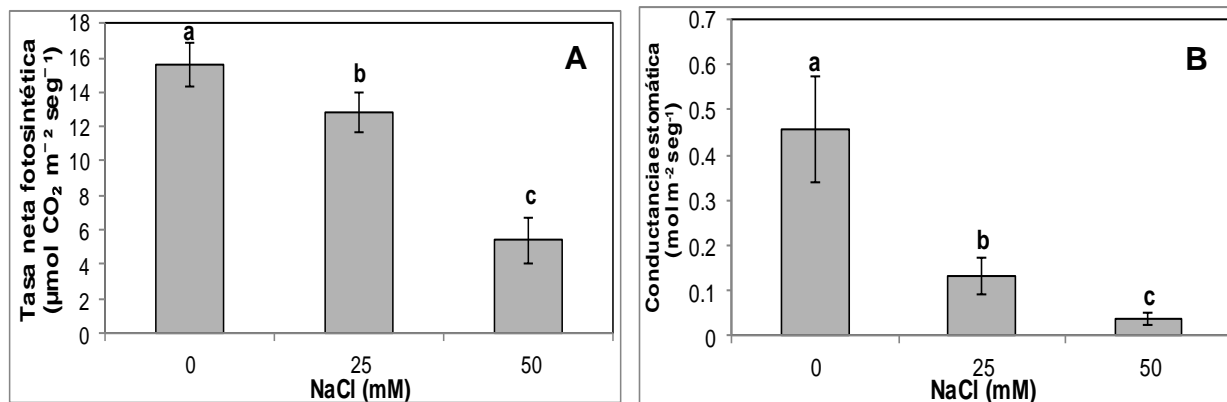
Tanto prolina como azúcares pueden actuar como osmoprotectantes. De manera similar a lo encontrado en la presente investigación, [Ratnakar y Rai \(2013\)](#) observaron un incremento en el contenido de prolina en plantas de espinaca tratadas con 60 mM de NaCl, contenido que disminuyó en plantas tratadas con GA3, kinetina y BA. La acumulación de osmolitos como prolina son benéficos para plantas en condiciones de

estrés dado que reducen el potencial hídrico dentro de la célula y previenen la pérdida de agua (Mahajan y Tuteja, 2005).

En cuanto a azúcares el tratamiento con 25 mM de NaCl no muestra diferencias estadísticas con el testigo ni con el tratamiento de 50 mM de NaCl, mientras tanto que el testigo fue estadísticamente superior al tratamiento con 50 mM de NaCl con. En plantas de espinaca tratadas con 60 mM NaCl, Ratnakar y Rai (2013) reportaron que el contenido de azúcares tanto reductores como no reductores se incrementó con la salinidad. Es común que plantas expuestas a estrés salino acumulen azúcares y polisacáridos de reserva (Siringam *et al.*, 2011), y dicha acumulación está relacionada con una mayor concentración de sodio. En este caso, los azúcares pueden funcionar como osmoprotectores y ayudan a mantener un uso eficiente del agua, lo cual es mejorado con la aplicación de algunos reguladores de crecimiento en semillas (Jat y Sharma, 2006; Niazi *et al.*, 2005; Ratnakar y Rai (2013).

### **2.3.6 Tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> y conductancia estomática**

La concentración de NaCl en la solución nutritiva, se relaciona de manera negativa con la tasa de asimilación neta de CO<sub>2</sub> (Figura 9A) y con la conductancia estomática (Figura 9B). Así, la adición de NaCl en ambas concentraciones evaluadas, redujeron las tasas netas de asimilación neta de CO<sub>2</sub> y los valores de conductancia estomática en forma significativa en comparación con el tratamiento testigo, y entre sí.



**Figura 9.** Tasa de asimilación de  $\text{CO}_2$  (A) y conductancia estomática (B) en hojas de plántulas de pimienta morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas con distintas concentraciones de NaCl en la solución nutritiva Steiner por 30 días. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 85$ ).

Bayuelo-Jiménez *et al.* (2012) al evaluar concentraciones de 0, 60 y 90 mM de NaCl en especies de frijol sensibles, medianamente tolerantes y tolerantes a salinidad, reportan que solo en las especies sensibles a la salinidad, concentraciones crecientes de NaCl causaron una disminución gradual en la tasa fotosintética y en la conductancia estomática.

Jamil *et al.* (2007) reportaron reducción en la capacidad fotosintética en plantas de rábano sometidas a estrés salino; concluyendo que dicha reducción es causada por la disminución en el contenido de clorofila. De manera coincidente, en esta investigación se observa reducción en el contenido de clorofilas a, b y totales a medida que incrementa la concentración de NaCl en la solución nutritiva (Figura 6); asimismo, las concentraciones de clorofilas se relacionan de manera positiva con la tasa de asimilación de  $\text{CO}_2$ .

Por otra parte, una ligera disminución en la conductancia estomática bajo situaciones leves de estrés osmótico, tiene efectos protectores al permitir el ahorro de agua de la planta y al mejorar la eficiencia en el uso del agua (Chaves *et al.*, 2009). En esta investigación, la reducción de la conductancia estomatal por efecto de la adición de NaCl, fue significativa; lo cual, se traduce en reducción en el  $\text{CO}_2$  disponible para carboxilación.



### 2.3.7 Acumulación de macronutrientos

En el **Cuadro 2** se muestran los niveles de acumulación de los macronutrientos N, P, K, Ca y Mg en hojas, tallos y raíces de plántulas de pimiento morrón tratadas con 0, 25 y 50 mM de NaCl en la solución nutritiva.

**Cuadro 2.** Acumulación de macronutrientos en hojas, tallos y raíces de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) sometidas a distintas concentraciones de NaCl en la solución nutritiva Steiner por 30 días.

Tejido	NaCl (mM)	Acumulación (mg tejido <sup>-1</sup> )				
		N	P	K	Ca	Mg
Hojas	0	159.6±27.9a	12.6±1.4a	96.3±19.9a	52.7±3.8a	22.5±2.6a
	25	52.7±9.9b	3.7±0.5c	17.1±2.9b	10.6±1.3c	4.6±0.8b
	50	62.2±11.5b	6.1±0.3b	20.6±2.8b	14.3±0.4b	6.3±0.3b
Tallos	0	101.8±24.8a	16.9±3.3a	115.1±25.1a	39.2±6.9a	20.3±4.3a
	25	26.4±6.2b	4.7±1.0b	19.3±3.1b	13.8±2.8b	6.4±1.4b
	50	36.4±8.9b	6.6±1.7b	22.1±3.3b	16.3±3.7b	7.9±2.1b
Raíces	0	109.1±34.8a	21.5±5.9a	76.6±28.0a	12.3±2.1a	10.4±2.6a
	25	35.0±6.1b	7.4±1.6b	20.6±7.5b	3.7±0.8b	5.1±1.2b
	50	49.9±18.0b	10.9±2.3b	22.4±2.3b	4.9±1.0b	7.3±1.5b

Medias ± DE con letras distintas en cada columna por órgano, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 4$ ).

Es evidente que en todos los casos, el estrés osmótico e iónico causado por NaCl en la solución nutritiva causó menor acumulación de macronutrientos en hojas de pimiento morrón. De manera semejante, Huez-López *et al.* (2011c) reportaron que en plantas de chile verde regadas con agua salina, el uso eficiente del N se redujo significativamente, en 97.7 (32%) y 61.8 kg kg<sup>-1</sup> (57%) con moderada (4.5 dS m<sup>-1</sup>) y alta salinidad (6.5 dS m<sup>-1</sup>), respectivamente.

Cabañero *et al.* (2004) observaron que en raíces de plantas de pimiento tratadas con NaCl (50 mM) + CaCl<sub>2</sub> (10 mM) la concentración de Ca disminuyó significativamente. Los altos niveles de Na en el suelo o el agua de riego pueden tener efectos adversos en la absorción de Ca, por lo que al incrementarse la salinidad se disminuye la absorción de este elemento por las raíces, y su transporte al vástago como

consecuencia de una relación Na/Ca alta en la solución del suelo o el medio de cultivo. Otra consecuencia de esta alta relación Na/Ca es la reducción del contenido de K en plantas expuestas a altos niveles de salinidad (Huez-López *et al.*, 2011c). En esta investigación, tanto Ca como K decrecieron en hojas de pimiento expuestas a niveles crecientes de sal en la solución nutritiva.

Ca y K compiten fuertemente con Mg por sitios de unión en la membrana plasmática. Sin embargo, Flores *et al.* (2001) encontraron que la concentración de Mg en plantas de tomate expuestas a estrés salino no fueron afectadas al incrementar los niveles de sal en solución, lo cual coincide con los reportes de Fernández-García *et al.* (2004) al incrementar los niveles de sal en la solución nutritiva a 5.3 dS m<sup>-1</sup>, pero los niveles de este elemento (Mg) disminuyeron significativamente al aumentar la salinidad a 8.3 dS m<sup>-1</sup>.

Gómez *et al.* (1996) reportaron que plantas de chile expuestas a estrés salino y fertilizadas con 2 meq L<sup>-1</sup> N disminuyeron el contenido de K. Así también, Günes *et al.* (1996) encontraron que el contenido de K en tallos de pimiento morrón se redujo significativamente al aumentar el nivel de salinidad de 2.1 a 9.5 dS m<sup>-1</sup>. En ambientes salinos, las plantas tienden a absorber cantidades excesivas de Na en lugar de K, lo que inhibe el crecimiento vegetal al disminuir la capacidad de ajuste osmótico y de mantenimiento de la turgencia en hojas (Rengel, 1992; Tester y Davenport, 2003).

Al igual que en el caso de los macronutrientes en hojas, la concentración de macronutrientes tallos disminuyó significativamente tanto con 25 como con 50 mM NaCl en la solución nutritiva (Cuadro 2).

Las acumulaciones de los macronutrientes en raíces también disminuyeron en plantas tratadas tanto con 25 como con 50 mM NaCl en la solución nutritiva (Cuadro 2).

### 2.3.8 Acumulación de micronutrientos y sodio

En el **Cuadro 3** se muestran los niveles de acumulación de los micronutrientos Fe, Cu, Zn, Mn y B, así como Na en hojas de plántulas de pimiento morrón tratadas con 0, 25 y 50 mM NaCl en la solución nutritiva.

Al igual que en el caso de los macronutrientos, la concentración de micronutrientos en hojas disminuyó significativamente tanto con 25 como con 50 mM NaCl en la solución nutritiva. Por el contrario, los niveles de sodio en hoja aumentaron de manera significativa al incrementarse el nivel de salinidad en la solución nutritiva (**Cuadro 3**).

**Cuadro 3.** Acumulación de micronutrientos y sodio en hojas, tallos y raíces de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) sometidas a distintas concentraciones de NaCl en la solución nutritiva Steiner por 30 días.

Tejido	NaCl (mM)	Acumulación ( $\mu\text{g tejido}^{-1}$ )					
		Fe	Cu	Zn	Mn	B	Na
Hojas	0	488.0 $\pm$ 16.7a	30.6 $\pm$ 6.1a	396.8 $\pm$ 27.9a	1555.6 $\pm$ 94.1a	414.7 $\pm$ 45.2a	1106.3 $\pm$ 97.8c
	25	164.9 $\pm$ 19.5c	11.5 $\pm$ 2.2c	142.6 $\pm$ 15.9c	393.1 $\pm$ 47.1c	119.1 $\pm$ 21.1c	19143.0 $\pm$ 4244.9b
	50	293.6 $\pm$ 15.6b	20.5 $\pm$ 3.2b	249.9 $\pm$ 8.6b	524.7 $\pm$ 22.1b	192.7 $\pm$ 10.9b	42564.3 $\pm$ 7207.8a
Tallos	0	248.1 $\pm$ 44.0a	33.4 $\pm$ 6.4a	141.9 $\pm$ 16.3a	927.6 $\pm$ 105.7a	432.2 $\pm$ 89.2a	3373.8 $\pm$ 772.4c
	25	107.6 $\pm$ 25.1b	12.2 $\pm$ 1.9b	64.1 $\pm$ 14.2c	423.1 $\pm$ 88.0c	129.6 $\pm$ 31.2b	22765.3 $\pm$ 4823.9b
	50	148.2 $\pm$ 31.1b	13.9 $\pm$ 3.0b	90.4 $\pm$ 19.9b	625.7 $\pm$ 143.3b	170.8 $\pm$ 41.1b	35711.1 $\pm$ 6508.4a
Raíces	0	2940.1 $\pm$ 559.4a	177.3 $\pm$ 39.4a	613.7 $\pm$ 104.1a	2110.5 $\pm$ 397.3a	256.4 $\pm$ 67.0a	1554.1 $\pm$ 500.4c
	25	1142.5 $\pm$ 231.9b	103.2 $\pm$ 27.1b	227.3 $\pm$ 47.7c	447.6 $\pm$ 91.4b	83.5 $\pm$ 18.7b	20639.1 $\pm$ 6153.1b
	50	1368.3 $\pm$ 357.1b	145.8 $\pm$ 28.1ab	376.2 $\pm$ 82.3b	751.8 $\pm$ 157.0b	125.3 $\pm$ 25.9b	36398.6 $\pm$ 5902.9a

Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada columna por órgano, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 4$ ).

De la misma manera que en el caso de los micronutrientos en hojas, la concentración de micronutrientos tallos disminuyó significativamente tanto con 25 como con 50 mM NaCl en la solución nutritiva (**Cuadro 3**), en tanto que el sodio se incrementó a medida que se incrementó el nivel de NaCl en la solución nutritiva.

Al igual que en los tejidos foliares y en vástagos, en raíces se observó un efecto similar del NaCl sobre la acumulación de micronutrientos y sodio, con la excepción del cobre, el cual mostró diferencia significativa con el testigo solamente en plantas

tratadas con 25 mM NaCl y aumentó al incrementar la concentración de sal a 50 mM. A este respecto, [Tunçtürk et al. \(2011\)](#) encontraron que las concentraciones de Fe, Mn, Cu and Zn fueron mayores en raíces de plantas de diferentes variedades de canola tratadas con 150 mM NaCl en comparación con las observadas en hojas y tallos, y que los contenidos de micronutrientes variaron de acuerdo a los genotipos, aunque en general, los de Fe, Mn y Cu se incrementaron en plantas expuestas a estrés salino, mientras el de Zn no fue afectado significativamente. [Turhana y Erisb \(2005\)](#) reportaron que los contenidos de Fe y Mn se incrementaron en plantas expuestas a estrés salino, en tanto que el de Cu no cambió en la parte aérea de plantas de fresa. En raíces de plantas tratadas con sal, los contenidos de Fe, Zn, Mn no cambiaron significativamente, aunque el de Cu se incrementó en presencia de NaCl a 2000 mg L<sup>-1</sup>. Respuestas similares relacionadas con los contenidos de Cu, también han sido reportadas en arroz, trigo y tomate ([Alpaslan et al., 1998](#); [Martínez et al., 1987](#)), lo cual también coincide con lo encontrado en la presente investigación.

## **2.4 CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS**

Con este estudio se pudo comprobar que el pimiento morrón es un cultivo moderadamente susceptible a la salinidad ya que la adición de 25 y 50 mM de NaCl en la solución nutritiva, disminuyen significativamente la producción de biomasa seca en hojas, tallos, raíces y total, así como el contenido de proteínas, las concentraciones de clorofilas y acumulación de macro y micronutrientes en hojas, tallos y raíces. Por el contrario, con 25 mM NaCl en la solución nutritiva generan incrementos en los contenidos de aminoácidos totales, prolina y azúcares totales, en tanto que la acumulación de Cu incrementa con 50 mM NaCl en el medio de cultivo, lo cual puede indicar el tipo de mecanismos fisiológicos y bioquímicos de esta especie para tolerar niveles crecientes de sal en el medio de crecimiento. En futuras investigaciones será necesario comparar el comportamiento de diferentes genotipos a diferentes fuentes y niveles de sal tanto en la solución nutritiva como en el agua de riego en plantas establecidas en suelo.

## 2.5 LITERATURA CITADA

- Alcántar G.G., Sandoval V.M. 1999. Manual de análisis químico de tejido vegetal. Guía de muestreo, preparación, análisis e interpretación. Publicación Especial No. 10. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. Chapingo, México.
- Alpaslan M., Günes A., Taban S., Erdal I., Tarakcioglu C. 1998. Variations in calcium, phosphorus, iron, copper, zinc and manganese contents wheat and rice varieties under salt stress. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 22: 227-233.
- Bates L. S., R. P. Waldren and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and soil, 39:205-207.
- Bayuelo-Jiménez J. S., Jasso-Plata N., Ochoa I. 2012. Growth and Physiological Responses of *Phaseolus* Species to Salinity Stress. Int. J. Agron. 2012: 1-13.
- Bremner J.M. 1965. Total nitrogen. In: Methods of soil analysis. Part 2. Agronomy 9. Black C. A. (ed.). pp. 1149-1178. American Society of Agronomy. Madison, WI, USA.
- Cabañero F. J., Martínez V., Carvajal M. 2004. Does calcium determine water uptake under saline conditions in pepper plants, or is it water flux which determines calcium uptake? Plant Science 166: 443-450.
- CONAGUA. 2011. Estadísticas del agua en México-Edición 2011. Comisión Nacional del Agua. SEMARNAT. México, D. F. 181 p. <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/SGP-1-11-EAM2011.PDF>
- Chartzoulakis K., Klapaki G. 2000. Response of two greenhouse pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages. Scientia Horticulturae. 86: 247-260.
- Chaves M. M., Flexas J., Pinheiro C. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. Ann. Bot. 103(4): 551-560.
- Chookhampaeng S. 2011. The effect of salt stress on growth, chlorophyll content, proline content and antioxidative enzymes of pepper (*Capsicum annuum* L.) seedling. European Journal of Scientific Research 49: 103-109.

- De Pascale E., Ruggiero C., Barbieri G., Maggio A. 2003. Physiological responses of pepper to salinity and drought. *Journal of the American Society of Horticultural Science*. 128: 48-54.
- FAO. 2002. World agriculture: towards 2015/2030. Summary report. Food and Agriculture Organization, Rome, Italy. <http://www.fao.org/docrep/004/y3557e/y3557e00.htm>
- Fernández-García N., Martínez V., Carvajal M. 2004. Effect of salinity on growth, mineral composition, and water relations of grafted tomato plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 167: 616-622.
- Flores P., Carvajal M., Cerdá A., Martínez V. 2001. Salinity and ammonium/nitrate interactions on tomato plant development, nutrition, and metabolites. *Journal of Plant Nutrition*. 24: 1561-1573.
- Gill S.S., Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 48: 909-930.
- Geiger, M., Walch-Liu P., Engels C., Harnecker J., Schulze E.-D., Ludewig F., Sonnewald U., Scheible W.-R., Stitt M. 1998. Enhanced carbon dioxide leads to a modified diurnal rhythm of nitrate reductase activity in older plants, and a large stimulation of nitrate reductase activity and higher levels of amino acids in young tobacco plants. *Plant Cell Environ.* 21: 253-268.
- Gómez I., Navarro-Pedrero J., Moral R., Iborra M.R., Palacios G., Mataix J. 1996. Salinity and nitrogen fertilization affecting the macronutrient content and yield of sweet pepper. *Journal of Plant Nutrition* 19: 353-359.
- Günes A., Inal A., Alpasian M. 1996. Effect of salinity on stomatal resistance, proline, and mineral composition of pepper. *Journal of Plant Nutrition* 19: 389-396.
- Harborne J.B. 1973. Chlorophyll extraction. In: *Phytochemical Methods. Recommended technique*. Pp. 205-207. Harborne J. B. (ed.). Hapman and Hall. London, UK.
- Höfner, R., L. Vázquez-Moreno, A.A. Abou-Mandour, H.J. Bohnert y J.M. Schmitt. 1989. Two isoforms of phosphoenolpyruvate carboxylase in the facultative CAM plant *Mesembryanthemum crystallinum*. *Plant Physiol. Biochem.* 27: 803-810.
- Huez-López M.A., Ulery A.L., Samani Z., Picchioni G. and Flynn R. P. 2011a. Response of chile pepper (*Capsicum annuum* L.) to salt stress and organic and Inorganic

- nitrogen sources: I. Growth and yield. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 14: 137-147.
- Huez-López M.A., Ulery A.L., Samani Z., Picchioni G. and Flynn R.P. 2011b. Response of chile pepper (*Capsicum annuum* L.) To salt stress and organic and inorganic nitrogen sources: III. Ion uptake and translocation. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 14: 765-776
- Huez-López M.A., Ulery A.L., Samani Z., Picchioni G. and Flynn R. P. 2011c. Response of chile pepper (*Capsicum annuum* L.) to salt stress and organic and inorganic nitrogen sources: II. Nitrogen and water use efficiencies, and salt toleranc. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 14: 137-147.
- InfoRural. 2010. México: primer lugar mundial en producción de chile verde y sexto en la de chile seco. Análisis 6 de julio 2010. <http://www.inforural.com.mx/spip.php?article61383>.
- Jamil M., Rehman S.U., Lee K. J., Kim J. M., Kim H.-S., Rha E. S. 2007. Salinity reduced growth PS2 photochemistry and chlorophyll content in radish. *Sci. Agric.* 64: 111-118.
- Jat N.K., Sharma V. 2006. The interactive effect of salinity and PGR on certain biochemical parameters in wheat seedlings. *American Journal of Plant Physiology*1:132-141.
- Lemoine R., La Camera S., Atanassova R., Dédaldéchamp F., Allario T., Pourtau N., Bonnemain J. L., Laloi M., Coutos-Thévenot P., Maurousset L., Faucher M., Girousse C., Lemonnier P., Parrilla J. and Durand M. 2013. Source-to-sink transport of sugar and regulation by environmental factors. *Front Plant Sci.* 2013; 4: 272.
- López-Aguilar R., Medina-Hernández D., Ascencio-Valle F., Troyo-Diequez E., Nieto-Garibay A., Arce-Montoya M., Larrinaga-Mayoral J.A. and Gómez-Anduro G.A. 2012. Differential responses of chiltepin (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) and poblano (*Capsicum annuum* var. *annuum*) hot peppers to salinity at the plantlet stage. *African Journal of Biotechnology* 11: 2642-2653.
- Mahajan S., Tuteja N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 444: 139-158.

- Martínez V., Cerdá A., Fernández G.A. 1987. Salt tolerance of four tomato hybrids. *Plant and Soil* 97: 233-242.
- Moore, S. y W.H. Stein. 1954. A modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and related compounds. *J. Biol. Chem.* 211: 907-913.
- Munns R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ.* 25: 239–250.
- Munns R. Tester M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59:651-681.
- Naizi, B. H., J. Rozema, M. Atahr, 2005. Effect of pre-germination and post-germination treatment with growth hormones (kinetine and abscisic acid) on ion concentration and biochemical content of fodderbeet and seabeeet under saline conditions. *Gen. Applied Plant Physiol.*, 31: 89–104.
- Parida A. K., Das A. B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60: 324-349.
- Ratnakar A., Rai A. 2013. Alleviation of the effects of NaCl salinity in spinach (*Spinacia oleracea* L.) var. All Green using plant growth regulators. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry* 9: 122-128.
- Rengel Z. 1992. The role of calcium in toxicity. *Plant and Cell Environment* 15: 625-632.
- Rubinigg M., Wenisch J., Elzenga J. T. M., Stulen I. 2004. NaCl salinity affects lateral root development in *Plantago maritime*. *Functional Plant Biology* 31(8): 775-780
- SAS Institute Inc. 2011. SAS/STAT® 9.3 User's Guide. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.
- Sharma, P., Jha A.B., Dubey R.S., Pessarakli M. 2012. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany* 2012: doi:10.1155/2012/217037
- Siddikee M.A., Glick B.R., Chauhan P.S., Yim W.J, Sa T. 2011. Enhancement of growth and salt tolerance of red pepper seedlings (*Capsicum annuum* L.) by regulating stress ethylene synthesis with halotolerant bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase activity. *Plant Physiol Biochem.* 49: 427-434.



- Sikha S., Sunil P., Arti J., Sujata B. 2013. Impact of water-deficit and salinity stress on seed germination and seedling growth of *Capsicum annuum* 'Solan Bharpur'. International Research Journal of Biological Sciences 2: 9-15.
- Siringam K., Juntawong N., Cha-Um S., Kirdmanee C. 2011. Salt stress induced ion accumulation, ion homeostasis, membrane injury and sugar contents in salt-sensitive rice (*Oryza sativa* L. spp. *indica*) roots under isosmotic conditions. African Journal of Biotechnology 10: 1340-1346.
- Southgate D A (1976) Determination of Food Carbohydrates. Applied Science Publishers. LTD. London. 105 p.
- Steiner, A. A. (1984). The Universal Nutrient Solution. In: Proceedings of IWOSC 1984 6<sup>th</sup> International Congress on Soilless Culture, pp. 633-650, ISSN 9070976048. Wageningen, The Netherlands, Apr 29-May 5, 1984.
- Taiz L., Zeiger E. 2010. Plant Physiology. Fifth edition. Sinauer Associates Inc., Publishers. Sunderland, Massachusetts, USA. 782 p.
- Tester M., Davenport R. 2003. Na<sup>+</sup> tolerance and Na<sup>+</sup> transport in higher plants. Annals of Botany 91: 503-527.
- Turhana E., Erisb A. 2005. Changes of micronutrients, dry weight, and chlorophyll contents in strawberry plants under salt stress conditions. Communications in Soil Science and Plant Analysis 36: 1021-1028.
- Tunçtürk M., Tunçtürk R., Yildirim B., Çiftç V. 2011. Changes of micronutrients, dry weight and plant development in canola (*Brassica napus* L.) cultivars under salt stress. African Journal of Biotechnology 10: 3726-3730.
- Uras D. S., Sonmez S. 2011. Effect of changes in salt levels of irrigation water to some physical properties of pepper plants (*Capsicum annuum* L.) grown on various soil textures. J. Food, Agric. Environ 9 (2): 686-688.
- USDA. 1990. Relative salt tolerance of herbaceous crops. United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service.  
<http://www.usssl.ars.usda.gov/pls/caliche/SALTT42C>

## CAPÍTULO III. TOLERANCIA A CADMIO EN PLÁNTULAS DE PIMIENTO MORRÓN (*Capsicum annuum* L.)

### 3.1 INTRODUCCIÓN

El cadmio (Cd) es un metal tóxico para los seres vivos cuando se rebasan ciertos límites en células y tejidos. Una vez que este metal se acumula en tejidos vegetales a niveles tóxicos, puede inducir desórdenes de índole molecular, bioquímico y fisiológico, incluyendo desequilibrios en la absorción y transporte de nutrimentos, los cuales finalmente ocasionan inhibición del crecimiento y reducción del rendimiento. Dado que muestra una alta movilidad y baja afinidad por los coloides del suelo ([Akoumianakis et al., 2008](#); [Erdem et al., 2012](#)), este metal entra con facilidad en las cadenas tróficas y se le ha implicado en serios problemas de salud humana incluyendo anemia, edema pulmonar, daños en hígado, nervios y cerebro, cáncer e incluso causar la muerte ([ATSDR, 2012](#)). De hecho, el Cd representa el metal de mayor peligro dado que es el único elemento que puede dañar células animales y humanas a concentraciones que en plantas no son identificadas como fitotóxicas ([Peijnenburg et al., 2000](#); [Peralta-Videa et al., 2009](#)).

A pesar del peligro que el cadmio representa para la salud humana, en México no se cuenta con un plan o estrategia para su manejo ni para reducir el uso de este metal en la manufactura de juguetes y productos industriales como baterías y fertilizantes ([Godoy, 2011](#)). Además, el país produce más de 1,600 toneladas anuales de cadmio y exporta fertilizantes, productos químicos, plásticos y anticorrosivos que contienen este metal. México también importa cantidades considerables de acumuladores que usan cadmio y níquel en su funcionamiento y que son desechados una vez que no se usan, lo que agrava la contaminación ambiental. De ahí que en estudios recientes se haya encontrado presencia de este metal en algunos alimentos, en concentraciones que por mucho exceden los niveles permitidos para el consumo humano por estándares internacionales, lo cual representa un enorme riesgo de salud pública ([Gama-Flores et al., 2007](#); [Godoy, 2011](#); [Lango-Reynoso et al., 2010](#); [Peralta-Videa et al., 2009](#)) y en consecuencia, algunos grupos de investigación en el país han enfocado su atención en su estudio a mayor detalle.

En plantas, el cadmio interacciona con elementos esenciales, y su toxicidad puede ocasionar desequilibrios en el metabolismo celular como consecuencia del desorden en la absorción y el transporte de algunos nutrimentos. Puede competir por los mismos transportadores con otros nutrimentos, y por lo tanto el Cd presente en el suelo puede ocasionar deficiencias nutrimentales. En soya por ejemplo, la exposición a 1 mM Cd redujo la concentración de todos los nutrimentos esenciales medidos (Nazar *et al.*, 2012). En tabaco, Erdem *et al.* (2012) reportaron que la acumulación de Cd posiblemente se asocie con un decremento en material seca inducido por deficiencia en la absorción de nutrimentos. En plantas de *Capsicum annuum* (L.) var. Vellayani Athulya, Ramachandran y Vincent (2013) reportaron incrementos significativos en la actividad de las enzimas SOD y POX, y decrementos en la actividad enzimática de CAT y GSH con 30 mM Cd en la solución aplicada, aunque al incrementarse a 40 mM Cd se observó inactividad del sistema antioxidante. La síntesis de malondialdehído, un indicador de peroxidación lipídica, mostró el mismo patrón de comportamiento que el sistema antioxidante en tanto que el daño al DNA aumentó al incrementarse los niveles de Cd en el medio de crecimiento de las plantas.

La habilidad para absorber metales difiere entre especies e incluso entre cultivares (Liu *et al.*, 2010; Reza *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2012), razón por la que dentro del género *Capsicum*, el cual presenta una enorme variación de especies y variedades, se esperarían también respuestas diferenciales respecto a otros cultivares o variedades evaluados.

Las plantas han desarrollado distintas estrategias para evitar la toxicidad de metales pesados, entre estos se encuentra la raíz que constituye una de las principales barreras de defensa mediante la inmovilización del cadmio por pectinas de la pared celular, los carbohidratos extracelulares (mucílago y calosa) de la raíz también intervienen en la inmovilización del cadmio, así como la acumulación del metal en los tricomas de la superficie foliar también es un mecanismo de inmovilización y defensa celular, otro mecanismo es en la reducción del transporte o aumento de la extrusión del metal por transportadores de cationes de la membrana plasmática (Benavides *et al.*, 2005; Salt *et al.*, 1995; Thomine *et al.*, 2000).

Por su parte [Benavides et al. \(2005\)](#) señala que las plantas poseen mecanismos homeostáticos celulares para regular la concentración de iones metálicos dentro de la célula para reducir al mínimo el daño potencial que podría resultar de la exposición a iones de metales no esenciales. El conocimiento sobre la toxicidad de metales, incluidos los mecanismos de homeostasis de cadmio, absorción, transporte y acumulación son evaluados. El papel de la pared celular, la membrana plasmática y las micorrizas, son las principales barreras en la entrada de cadmio a la célula.

[Nazar et al. \(2012\)](#), mencionan que el Cd es un metal tóxico que entra al medio ambiente a través de fuentes antropogénicas, inhibe el desarrollo y crecimiento vegetal. La toxicidad de este metal puede derivarse de perturbaciones en el metabolismo de la planta, como consecuencia se presenta disminución en la absorción y translocación de nutrientes, esto implica una deficiencia nutrimental en plantas.

[Hasan et al. \(2009\)](#) menciona que de todos los metales pesados no esenciales, Cd es el metal que ha llamado la atención en la ciencia del suelo y nutrición de las plantas, debido a su potencial toxicidad a seres humanos por la ingesta de plantas contaminadas por este metal, así como su movilidad relativa en el sistema suelo-planta. Los síntomas tóxicos de cadmio en plantas son: retraso del crecimiento, alteraciones de la fotosíntesis, actividades enzimáticas, apertura de estomas, transpiración, la interferencia con la absorción de minerales, metabolismo de las proteínas, alteraciones en el funcionamiento de las membrana plasmática, etc.

El cadmio es uno de los metales pesados altamente tóxicos en los suelos agrícolas. Los efectos de este metal sobre el crecimiento de plantas han sido reportados por varios autores, [Gozubenli \(2010\)](#) realizó un estudio para evaluar el efecto en diferentes concentraciones de cadmio (0, 10, 20, 40 y 60 mg kg<sup>-1</sup>) en respuesta al vigor de las semillas de maíz, la germinación y la vigorosidad de plántulas disminuyeron con el aumento de concentraciones de cadmio, la alta germinación y mayor vigorosidad de plántulas fueron en suelos no contaminados.

[Chen et al. \(2010\)](#) investigaron el efecto del Zn<sup>2+</sup> en concentraciones de (0, 100, 200, 400 y 600 µM L<sup>-1</sup>) sobre el crecimiento de plantas de chile (*Capsicum annuum* L.), así como la actividad de enzimas antioxidantes, contenidos en clorofila a y b, la acumulación y forma química del Cd<sup>2+</sup>. En presencia de Zn<sup>2+</sup> en concentraciones de

100 a 400  $\mu\text{M L}^{-1}$ , se incrementaron los pesos secos de hojas, tallos, frutos y raíz, así como los contenidos de clorofila a y b, a concentraciones superiores de Zn ( $> 400 \mu\text{M L}^{-1}$ ) se incrementó la actividad de las enzimas superóxido dismutasa y catalasa. Las concentraciones de cadmio disminuyen en tallo, fruto y raíz en presencia de  $\text{Zn}^{2+}$ . Por su parte, [Jidesh y Kurumthottical \(2000\)](#) reportan la acumulación de cadmio en partes aéreas de plantas de Chile, seguido de raíces y la menor acumulación en frutos. Se reporta que la aplicación de materia orgánica en combinación con una dosis alta de este metal en el suelo resulta en el incremento de la absorción de cadmio en toda la planta.

### 3.1.1 El pimiento

El pimiento es una planta originaria de América que fue posiblemente domesticada antes del 8,000 A.C. En la actualidad este cultivo está presente prácticamente en la totalidad de las zonas templadas y cálidas del mundo, lo que les ha permitido trascender para formar parte del grupo de los principales productos hortícolas exportados ([Nuez et al., 1998](#)). El pimiento (*Capsicum annuum* L.) es una dicotiledónea pertenece a la familia *Solanaceae* y al género *Capsicum* ([Antonio, 2000](#))

La temperatura adecuada para la producción va de 21 a 30°C, a pesar de 18°C o menos la planta detiene su crecimiento, pero en climas muy fríos debajo de 8°C estas no vegetan, lo cual conlleva un exceso de frutos pequeños y de mala calidad. También las altas temperaturas provocan abortos de flores disminuyen la calidad del fruto, pierden tamaño y color ([SIAP-SAGARPA, 2010](#)).

Según los datos estadísticos de la [FAOSTAT \(2009\)](#) los principales países productores de pimiento morrón en el mundo son: China en primer lugar con 14, 520, 301 toneladas, seguido de México con 1, 941, 560 toneladas y Turquía con 1, 837, 000 toneladas. En el año 2004 en México se sembraron alrededor de 1, 630 hectáreas con una producción de 64, 872.73 toneladas, la principal zona productora tanto a campo abierto como en invernadero en el noroeste del país siendo los estados productores más importantes de esta hortaliza Baja California, Baja California Sur y Sinaloa ([SIAP-SAGARPA, 2005](#)).

El objetivo de esta investigación fue analizar las respuestas fisiológicas y bioquímicas de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) a diferentes concentraciones de Cd en la solución nutritiva y valorar su impacto en la nutrición de las plántulas.

## **3.2 MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.2.1 Ubicación del experimento**

El experimento se realizó en un invernadero tipo cenital cubierto con plástico blanco lechoso en Montecillo, Estado de México, a una altitud de 2250 m, 19° 29' LN y 98° 54' LW.

### **3.2.2 Material vegetal**

Se utilizaron plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) de la variedad Yolo Wonder (fruto color verde a la madurez), mismas que al momento del trasplante una altura y número de hojas promedios de 7 cm y 10 respectivamente.

### **3.2.3 Producción de plántula**

La germinación de semillas se hizo en charolas de unicel de 200 cavidades y como sustrato se utilizó turba canadiense (peat moss Sunshise®). Una vez emergidas las plántulas, se aplicó fungicida preventivo Previcur® N (i. a. Propamocarb clorhidrato) a una dosis 0.7 mL L<sup>-1</sup>. Los riegos se aplicaron en función a la demanda. Una vez emergido el primer par de hojas verdaderas se inició la aplicación de la solución Steiner al 15%, y a los 15 días posteriores se aplicó al 25% hasta al momento del trasplante.

### **3.2.4 Contenedores**

Las plántulas fueron establecidas en placas flotantes, para lo cual se utilizaron cubetas de plástico con una capacidad de 3 L, provistas con tapas, las cuales fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio (1 mL L<sup>-1</sup>) y enjuagadas tres veces con agua potable para eliminar residuos de Na y Cl. Posteriormente se realizó el llenado de las cubetas con la solución nutritiva de Steiner al 25%.

### 3.2.5 Tratamientos evaluados

Las plántulas de pimiento morrón de 20 días de edad fueron expuestas a dos dosis de Cd en la solución nutritiva: 15 y 30  $\mu\text{M}$ , empleando como fuente de este elemento  $3\text{Cd}(\text{SO}_4) \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ . Como tratamiento testigo, se utilizó la solución nutritiva sin Cd. En esta fase, la solución nutritiva tuvo una concentración de 50% (la cual se describe en el apartado siguiente), y se mantuvo a un pH de 5.3

### 3.2.6 Nutrición

Durante la fase experimental, las plántulas fueron nutridas con la solución nutritiva de Steiner al 50%, la cual tiene la composición descrita en el **Cuadro 1**.

**Cuadro 1.** Concentración de la solución nutritiva de Steiner al 50% (Steiner, 1984).

	$\text{NO}_3^-$	$\text{H}_2\text{PO}_4^-$	$\text{SO}_4^{2-}$	$\text{K}^+$	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{Mg}^{2+}$
$\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$	6.0	0.5	3.5	3.5	4.5	2.0

La solución nutritiva fue elaborada a partir de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{KNO}_3$ , sales grado reactivo de la marca J. T. Baker. La formulación presentada en el **Cuadro 1** fue complementada con 0.067 g de micronutrientes (Tradecorp<sup>®</sup>AZ) por cada litro de solución nutritiva.

### 3.2.7 Manejo del experimento

La aplicación de tratamientos se inició 8 días después de transferir las plantas a la solución nutritiva, donde se adicionaron las concentraciones de Cd antes referidas (15 y 30  $\mu\text{M}$ ) y 0 mM como testigo.

El tratamiento con Cd se realizó por 15 días, realizándose cambios de solución nutritiva cada 7 días, asimismo cada 48 h se reponía el agua evapotranspirada y se ajustaba el valor del pH a 5.3.

La solución nutritiva fue oxigenada usando bombas de pecera y temporizadores programados para activarse cada 3 h y proporcionar aireación durante 15 min.

Asimismo, se colocó una malla que proporcionaba un sombreado de 35%.

### **3.2.8 Variables evaluadas**

En este estudio se evaluaron las siguientes variables:

#### **3.2.8.1 Tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> y conductancia estomática**

Quince días después de la aplicación de los tratamientos, entre las 9 y 12 de la mañana, se determinaron la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> ( $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) y la conductancia estomática ( $\text{mmoles m}^{-1} \text{s}^{-1}$ ). Para ello, se usó un sistema abierto y portátil de análisis de gases en el espectro infrarrojo (marca Li-Cor, modelo LI-6400XT Portable Photosynthesis System; Lincoln, NE, Estados Unidos). Para estas mediciones se seleccionaron dos hojas completamente maduras expuestas a la radiación solar de 8 repeticiones por tratamiento y se tomaron las lecturas con las hojas orientadas en forma perpendicular a los rayos solares.

#### **3.2.8.2 Lecturas SPAD**

Para estas lecturas se utilizó el medidor portátil Minolta SPAD<sup>®</sup>-510, fue a los quince después de la aplicación de tratamientos, se seleccionaron dos hojas recientemente maduras de cada planta, evitando la interferencia con las nervaduras, de cada hoja se tomaron tres lecturas para considerar el promedio.

#### **3.2.8.3 Crecimiento**

Al momento de la cosecha del experimento (15 días de tratamiento) se registraron altura de planta, diámetro de tallo, número de hojas, área foliar, longitud y volumen de raíz.

#### **3.2.8.4 Materia seca**

Las plantas fueron separadas en hojas, tallos y raíces, las muestras fueron secadas a 70 °C en una estufa de convección forzada (marca Riossa modelo HCF-125D; Monterrey, N. L., México) durante 72 h. Una vez que el material estuvo seco, se pesó cada órgano de la planta de manera individual.



### 3.2.8.5 Acumulación nutrimental

Las concentraciones de nutrimentos y de Cd fueron determinadas en hojas, tallos y raíces.

La concentración de nitrógeno total se determinó con el método Semimicro-Kjeldhal (Bremner, 1965) utilizando una mezcla catalizadora, adicionando ácido sulfúrico-salicílico para su digestión. La determinación de concentraciones de P, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, B, Na y Cd, se realizó mediante el método de digestión húmeda del material seco adicionando ácido perclórico y nítrico (Alcántar y Sandoval, 1999). Las lecturas fueron hechas en un equipo de espectroscopía de emisión atómica de inducción por plasma acoplado (marca Varian modelo Liberty II; Mulgrave, Australia).

Con los valores de concentración de cada elemento y los pesos de materia seca en cada órgano, se estimó la acumulación nutrimental.

### 3.2.8.6 Aminoácidos libres totales, Clorofila a, b y total

La determinación de aminoácidos libres fue en hojas mediante una triple extracción etanólica descrita por Geiger *et al.* (1998). Se trituraron 40 mg de material vegetal en mortero previamente enfriado, el material macerado se colocó en tubos de reacción para las extracciones etanólicas. Las extracciones etanólicas se realizaron incubando las muestras en baño maría durante 20 min a 80°C; agregando 1mL de etanol 80%, 600 µL de etanol al 80% y 1mL de etanol al 50%, respectivamente. La separación de fases se realizó por centrifugación (14,000 rpm, 5 min, 4 °C), y los sobrenadantes o extractos obtenidos se juntaron para los análisis posteriores.

La concentración de aminoácidos libres se determinó empleando el método de la ninhidrina (Moore y Stein, 1954), las muestras fueron leídas en espectrofotómetro (Spectronic, Genesis™ serie 10. EU) a una longitud de onda de 570 nm. Se utilizó leucina para la elaboración de la curva patrón.

La determinación de clorofilas se realizó por el método de Quick *et al.* (1991) utilizando etanol 80%, las lecturas de las muestras se realizaron en un espectrofotómetro (Spectronic, Genesis™ serie 10. EU) a longitudes de onda de 665 y 645 nm. La concentración de clorofila se estimó mediante las siguientes ecuaciones:

$$\text{Clorofila a} = ((5.48(A_{665}) - (2.16(A_{645})))$$

$$\text{Clorofila b} = ((9.67(A_{645}) - (3.04(A_{665})))$$

$$\text{Clorofila total} = \text{Clorofila a} + \text{clorofila b}$$

### 3.2.8.7 Azúcares totales

Se determinó en hojas por el método de antrona descrito por [Southgate \(1976\)](#): para la solución madre se trituró 1 g de material vegetal, se le agregó 50 mL de etanol (80%), y se colocó en ebullición (15-20 min). Se tomó 1 mL de esta solución para ser evaporada en baño maría, posteriormente se diluyó en agua destilada (20 mL). En tubos de ensayo se colocaron 1 mL de esta dilución se adicionó 2 mL de agua destilada y 6 mL de la solución de antrona, posteriormente los tubos se colocaron en baño maría en ebullición por 3 min, se colocaron en agua fría y se leyó a 600 nm en espectrofotómetro (Spectronic, Genesis™ serie 10. EU), usando una curva estándar de glucosa como referencia.

### 3.2.8.8 Prolina

Se determinó en hojas de acuerdo a lo descrito por [Bates et al. \(1973\)](#). Se maceró 0.01 g de material vegetal liofilizado y homogenizado con ácido sulfusalicílico al 3%, posteriormente se filtró para eliminar los residuos, y una alícuota de 2 mL del filtrado se le adicionaron con 2 mL de ácido acético glacial y 2 mL de ninhidrina ácida incubándose 100 °C en baño maría por una hora. La reacción fue detenida en baño con hielo. Se adicionaron 4 mL de tolueno, se homogenizó y se extrajo la fase orgánica para la cuantificación a 520 nm en un espectrofotómetro, usando L-prolina para la curva de calibración.

### 3.2.8.9 Proteína

La extracción de proteínas fue en hojas de acuerdo a lo descrito por [Höfner et al. \(1989\)](#). La cuantificación se hizo en 0.5 g de material foliar con solución de negro amino, la lectura de las muestras se realizó en un espectrofotómetro con una absorbancia de 640 nm (Spectronic, Genesis™ serie 10. EU). Se utilizó albúmina de suero de bovino para la elaboración de la curva estándar.

### 3.2.9 Análisis estadístico

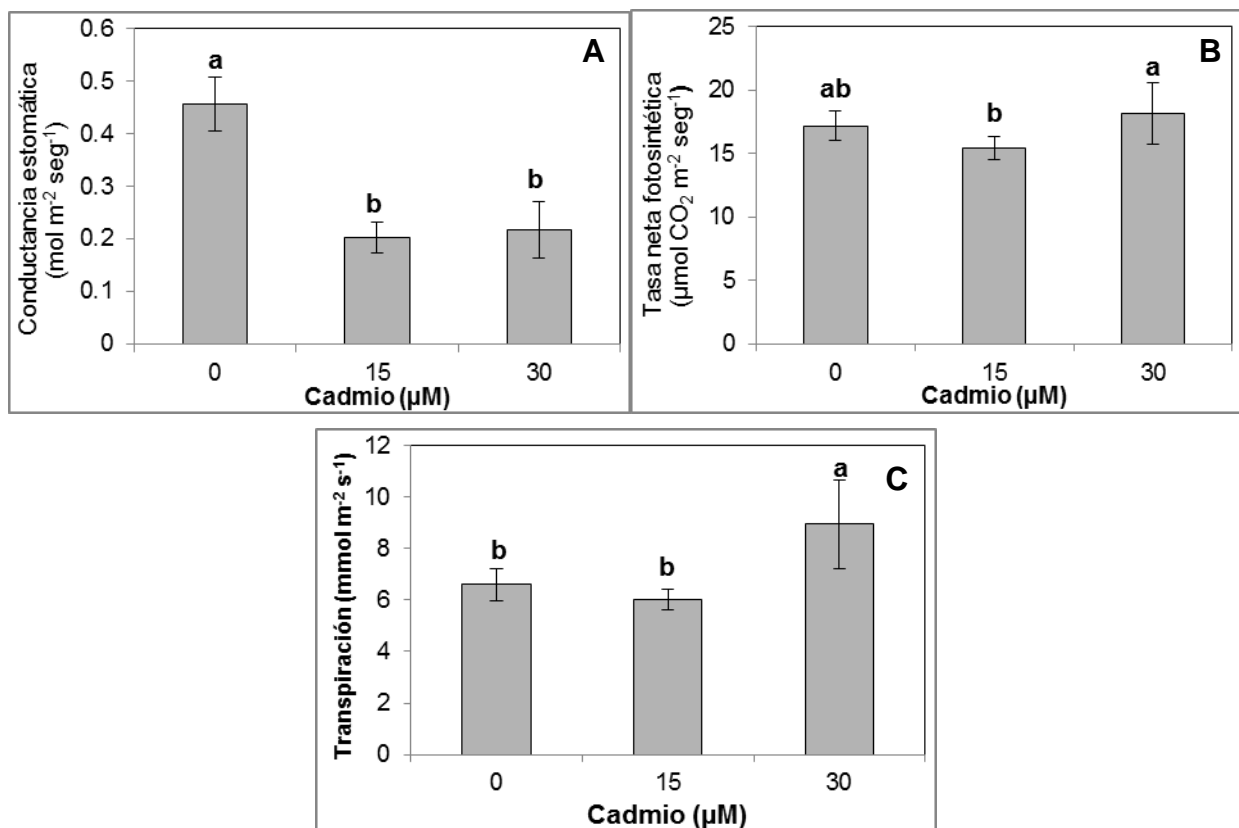
Se realizó un análisis de varianza y comparación de medias Tukey ( $P \leq 0.005$ ), utilizando el procedimiento PROC ANOVA para un experimento completamente al azar, empleando el programa estadístico SAS versión 9.3 ([SAS Institute, 2011](#)).

## 3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.3.1 Tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> y conductancia estomática

La adición de Cd a la solución nutritiva (15 y 30  $\mu\text{M}$ ) se relacionaron de manera negativa con la conductancia estomática ([Figura 1A](#)). Por su parte, la tasa de asimilación neta de CO<sub>2</sub> ([Figura 1B](#)), no muestra una tendencia en función de la concentración de Cd, observándose que no existen diferencias estadísticas significativas entre el tratamiento testigo y el consistente en la adición de 30  $\mu\text{M}$  de Cd. Bajo estrés por Cd, las plantas tienen como principal factor que limita su crecimiento, la deficiencia en la tasa fotosintética; en álamo, por ejemplo, este decremento en la tasa fotosintética es atribuido a la disminución en el contenido de clorofila ([Nikolić \*et al.\*, 2008](#)); asimismo en fresa, se reporta decrementos en la tasa fotosintética y en la conductancia estomatal como resultado de incrementos ligeros en la concentración de Cd ([Zhang y Huang, 2007](#)).

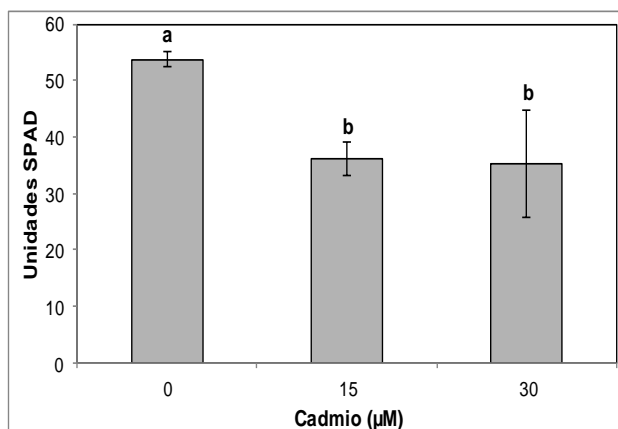
La transpiración fue mayor a medida que se incrementa la concentración de Cd en la solución nutritiva ([Figura 1C](#)). Contrario a los resultados aquí obtenidos, [Zhang y Huang \(2007\)](#) reportan decrementos en la tasa transpiratoria con el incremento ligero en la concentración de Cd suministrada; no obstante, la disminución en la concentración intercelular de CO<sub>2</sub> fue relativamente menor.



**Figura 1.** Conductancia estomática (A), tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> (B) y transpiración (C) en hojas de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas durante 15 días con distintas concentraciones de cadmio en la solución nutritiva. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 36$ ).

### 3.3.2 Lecturas SPAD

Ling *et al.* (2011), indican que el SPAD-502 es un dispositivo de mano que se utiliza ampliamente para la medición rápida, precisa y no destructiva de las concentraciones de clorofila en hojas de plantas. La presencia de clorofila en las hojas está relacionada con las condiciones nutricionales de la planta, ésta se incrementa proporcionalmente a la cantidad de nitrógeno presente en la hoja y viceversa. Así, en esta investigación, la concentración de Cd en la solución nutritiva, se relaciona de manera negativa con las lecturas SPAD (**Figura 2**); por tanto, el Cd reduce significativamente las cantidades de clorofila en hoja.

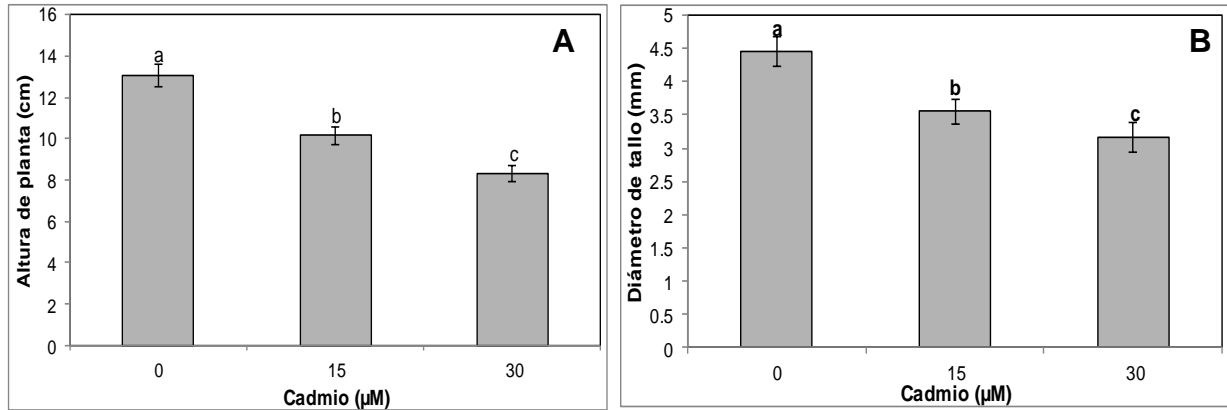


**Figura 2.** Lecturas SPAD en hojas de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas con diferentes concentraciones de cadmio por 15 días en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 48$ ).

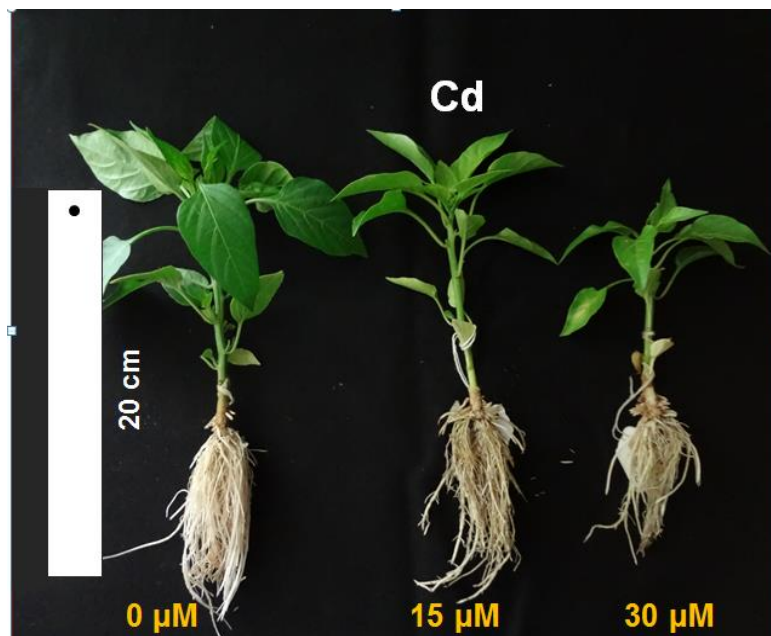
### 3.3.3 Parámetros de crecimiento

Las plantas superiores son muy sensibles a los metales tóxicos en el crecimiento y desarrollo. El Cd es un metal no esencial para las plantas, ya que a altas concentraciones inhibe el crecimiento de las plantas e incluso a concentraciones relativamente bajas altera el metabolismo de éstas (Benavides *et al.*, 2005; Latif y Jung, 2013). En este trabajo se observó que a medida que la concentración de Cd en la solución nutritiva se incrementó, se redujo de manera gradual el crecimiento y el diámetro de tallo (Figura 3).

La altura de la planta se redujo en 22.43 y 36.24% con la aplicación de 15 y 30  $\mu\text{M}$  de  $3\text{Cd}(\text{SO}_4)_8\text{H}_2\text{O}$  a la solución nutritiva, respectivamente (Figura 3A). Chen *et al.* (2011), mencionan reducciones graduales en el crecimiento y desarrollo en mostaza (*Sinapis alba*) y col china (*Brassica rapa* L. var. *rosularis*) tratadas con adición de Cd al suelo en concentraciones de 0 a 24  $\text{mg kg}^{-1}$ , conforme la concentración de Cd aumentó las plantas redujeron su tamaño.



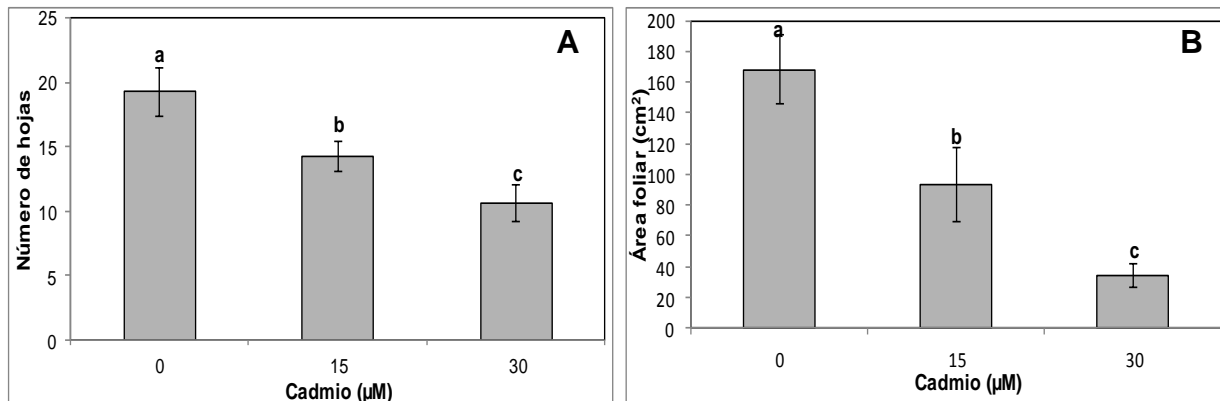
**Figura 3.** Altura (A) y diámetro de tallo (B) de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas con distintas concentraciones de cadmio en la solución nutritiva por 15 días. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 48$ ).



**Figura 4.** Efecto de la adición de Cd a la solución nutritiva durante 15 días, en el crecimiento de pimiento morrón.

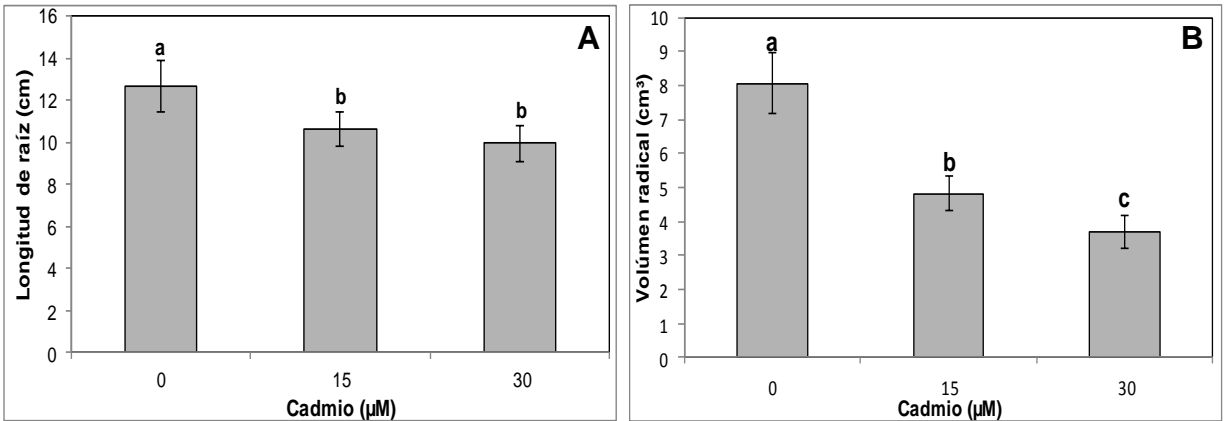
En la **Figura 5A** se observa que las plantas crecidas en solución nutritiva conteniendo Cd tuvieron menor número de hojas, y el tamaño de éstas fue menor (**Figura 4**), lo que

se reflejó en la disminución del área foliar (**Figura 5B**). Por su parte [Blum \(1997\)](#), menciona que la reducción de la superficie foliar es considerada como un mecanismo de evasión que permite minimizar la pérdida de agua bajo condiciones de estrés por metales tóxicos.



**Figura 5.** Número de hojas (A) y área foliar (B) de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas con distintas concentraciones de cadmio en la solución nutritiva, durante 15 días. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 48$ ).

La aplicación de Cd en las dos concentraciones evaluadas (15 y 30  $\mu\text{M}$ ) redujo de manera significativa la longitud de la raíz (**Figura 6A**), y el volumen radical (**Figura 6B**). En sorgo, [Liu et al. \(2011\)](#) observaron disminución en la actividad de la raíz cuando se adicionó al suelo Cd en concentraciones de 50 y 100  $\text{mg kg}^{-1}$ , concluyendo que el Cd disminuye la elongación de la raíz principal y el crecimiento de raíces laterales. Por su parte en dos cultivares de tomate [Dong et al. \(2005\)](#) mencionan que el tratamiento con dos niveles de cadmio en solución nutritiva (1 y 10  $\text{mmol L}^{-1}$ ), disminuyeron la altura de planta en 18.9 y 46.4%, respectivamente; asimismo redujeron la longitud de raíz en 25.8 y 41.1 %, respectivamente; y el volumen radical en 45.2 y 63.7%, respectivamente.



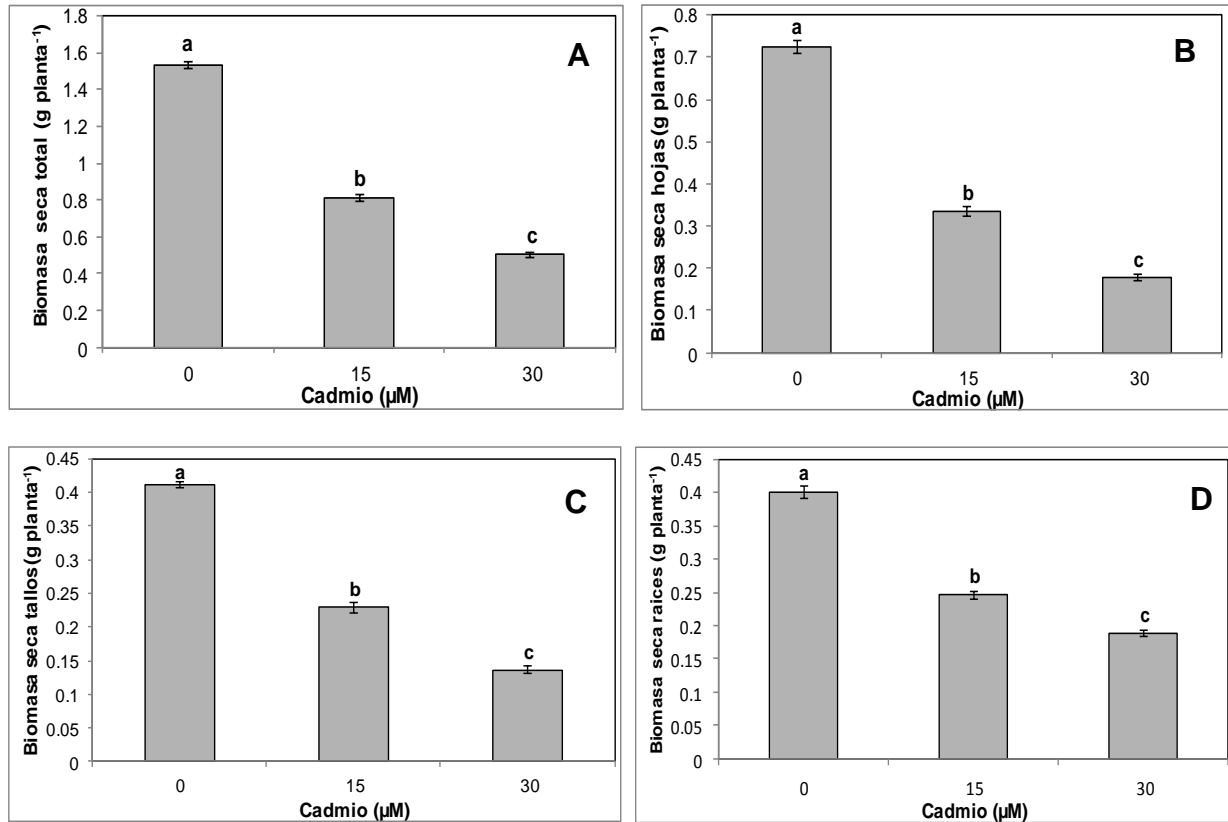
**Figura 6.** Longitud de raíz principal (A) y volumen radical (B) de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas por 15 días con distintas concentraciones de cadmio en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 48$ ).

### 3.3.4 Materia seca

La adición de Cd a la solución nutritiva de Steiner provocó una reducción significativa en el peso de la materia seca total y de cada uno de los órganos analizados ( $P \leq 0.05$ ); incluso a partir del nivel más bajo suministrado (15 µM) (Figura 7). Erdem *et al.* (2012) reportaron que la acumulación de Cd se asocia con un decremento en material seca, probablemente inducido por la deficiente absorción de nutrientes.

Thiebeauld *et al.* (2005) evaluaron el efecto de Cd en parámetros de crecimiento en plántulas de uchuva, pepino, pimiento y tomate; en uchuva evaluaron concentraciones de Cd de 0 a 500 mg L<sup>-1</sup> de solución nutritiva; mientras que, en el resto de las especies referidas evaluaron concentraciones de Cd de 0 a 200 mg L<sup>-1</sup>. En todos los cultivos, se observaron reducciones graduales en el crecimiento de raíces, tallos y hojas, así como en el peso de materia seca y la concentración de clorofila, a medida que la dosis de Cd se incrementó en el medio.





**Figura 7.** Biomasa seca total (A), de hojas (B), tallos (C) y raíces (D) de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas por 15 días con distintas concentraciones de cadmio en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada subfigura, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 12$ ).

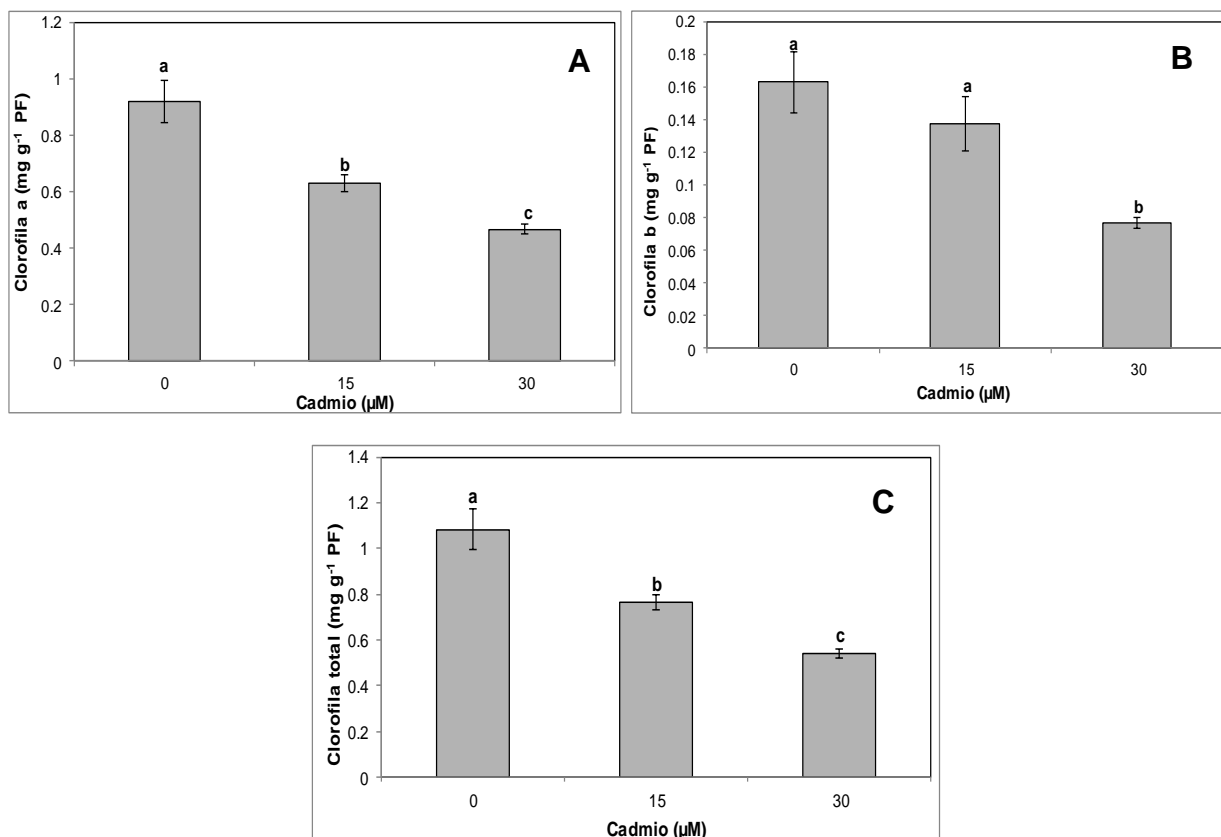
### 3.3.5 Variables fisiológicas

#### 3.3.5.1 Concentración de clorofila

La adición de Cd a la solución nutritiva en las dos concentraciones evaluadas, redujo significativamente las concentraciones foliares de clorofilas *a*, *b* y total; lo anterior, respecto al tratamiento testigo (**Figura 8**). [Chen et al. \(2011\)](#) reportan en hortalizas consideradas como tolerantes a metales tóxicos como mostaza (*Sinapis alba*) y col (*Brassica rapa* L. var. *rosularis*), que a concentraciones de Cd en el suelo de  $24 \text{ mg kg}^{-1}$  redujeron en forma significativa los contenidos de clorofila *a* y de clorofila *b* en comparación con el control ( $0 \text{ mg kg}^{-1}$ ); la clorofila *a* disminuyó en 32.29 y 20.56% en

col y mostaza, respectivamente; mientras que las reducciones en la clorofila *b* fueron de 21.54 y 21.55%, respectivamente.

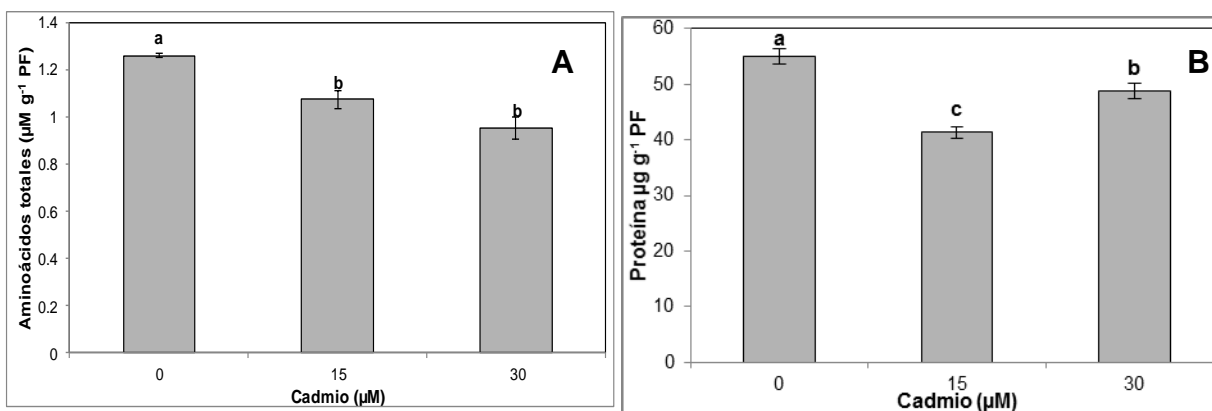
Astolfi *et al.* (2005) mencionan que el tratamiento con Cd, produce en plantas una inhibición en la actividad de la ATPasa de la membrana plasmática; por su parte, Ali *et al.* (2000) y Maksymiec *et al.* (2007), señalan que como consecuencia de la presencia de Cd en la planta, se observan desequilibrios en el metabolismo de los cloroplastos, inhibiéndose con ello la síntesis de clorofila y reduciéndose la actividad de enzimas implicadas en la fijación de CO<sub>2</sub>.



**Figura 8.** Concentración de clorofila a (A), b (B) y total (C) en hojas de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas con distintas concentraciones de cadmio en la solución nutritiva, por 15 días. Medias ± DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 5$ ).

### 3.3.5.2 Concentración de aminoácidos y proteínas

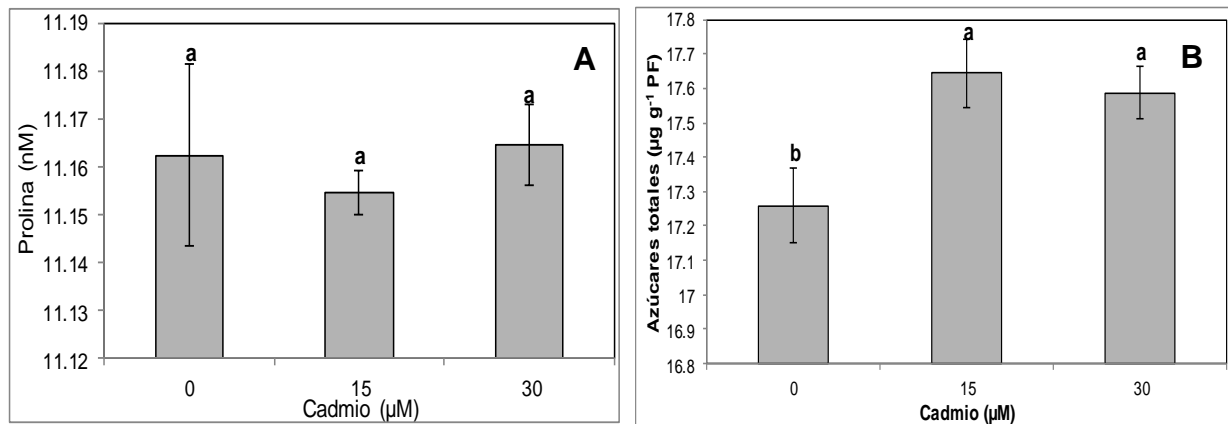
Los aminoácidos libres totales presentaron diferencias significativas entre tratamientos, tales diferencias se observaron en los dos grupos derivados de la prueba de comparación de medias; el primero constituido por el testigo, el segundo por los dos tratamientos de Cd (**Figura 9**); siendo el testigo, el de mayor concentración foliar de aminoácidos. Los resultados obtenidos en la concentración foliar de proteínas totales solubles, muestran también efectos negativos con la aplicación de Cd; aunque no existió una relación positiva entre la concentración de Cd adicionada a la solución nutritiva y la concentración de proteínas, dado que la menor media fue registrada con la concentración 15  $\mu\text{M}$  de Cd. El estrés oxidativo producido por Cd se manifiesta por daños oxidativos a membranas como la peroxidación lipídica (Balestrasse *et al.* 2004). Romeo-Puertas *et al.* (2002), mencionan daños oxidativos a proteínas por formación de grupos carbonilo. Por otra parte Hasan *et al.* (2009) mencionan las plantas crecidas bajo estrés de Cd tienen menor contenido de proteínas, esto da como resultado una reducción en el crecimiento debido a la inhibición de la síntesis de proteínas.



**Figura 9.** Concentración de aminoácidos (A) y proteínas (B) en hojas de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas por 15 días con distintas concentraciones de cadmio en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 5$ ).

### 3.3.5.3 Prolina y azúcares totales

La concentración de prolina presentes en hojas no presentó diferencias significativas entre tratamientos (**Figura 10A**). Por su parte, las concentraciones de azúcares en hoja fueron estadísticamente superiores al testigo, en los tratamientos con Cd (**Figura 10B**). Verma y Dubey (2001) reportaron que el tratamiento con concentraciones entre 100 y 500  $\mu\text{M}$  de  $\text{Cd}(\text{NO}_3)$  entre 5 y 10 días, produjeron un incremento significativo en el contenido de azúcares solubles totales y reductores. En el caso de azúcares no reductores, el Cd tuvo un efecto negativo, disminuyendo su contenido; lo anterior indica que la presencia de este metal aumenta las actividades de las enzimas degradadoras de sacarosa, invertasa ácida y la sacarosa sintasa; mientras que, contrariamente disminuye la actividad de la sacarosa fosfato sintasa.



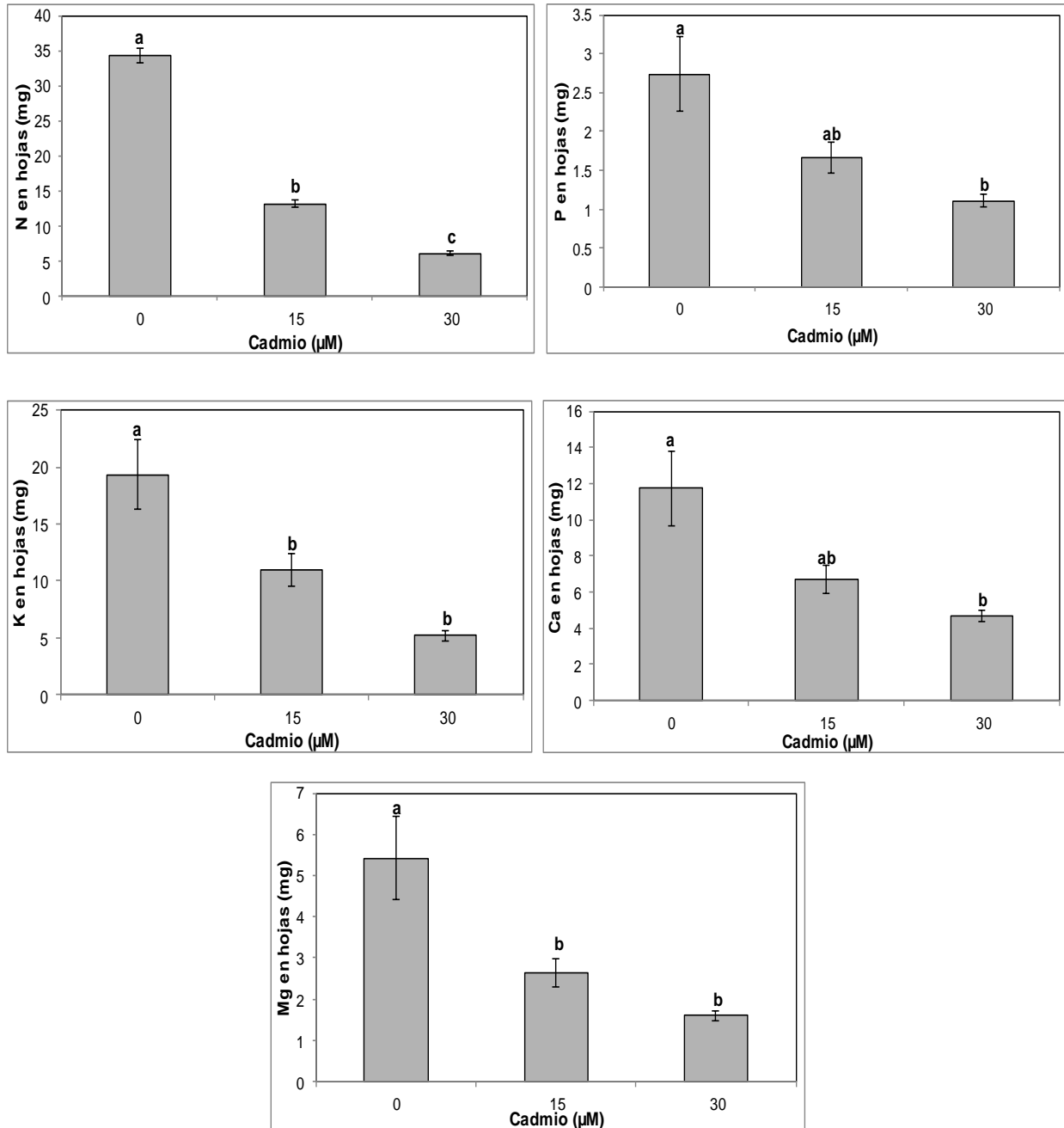
**Figura 10.** Concentración de prolina (A) y azúcares totales (B) en hojas de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas por 15 días con distintas concentraciones de cadmio en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 5$ ).

### 3.3.6 Análisis químico de hojas, tallos y raíces

En esta investigación se realizaron los análisis de concentración nutrimental para estimar la acumulación nutrimental en hojas, tallos y raíces, después de 15 días de tratamiento con Cd. A continuación se presentan los resultados obtenidos.

#### 3.3.6.1 Acumulación de macronutrientes en hojas

En la [Figura 11](#) se presentan los resultados de acumulación de los macronutrientes N, P, K, Ca y Mg. En todos los casos se observan diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos conteniendo Cd y el tratamiento testigo. En los macronutrientes P, K y Mg, no existieron diferencias estadísticas entre los dos niveles de Cd evaluados. Por el contrario, en la acumulación foliar de N se registraron diferencias estadísticas entre los dos niveles de Cd adicionados a la solución nutritiva. En la acumulación de Ca en hojas, no se observan diferencias estadísticas entre el nivel de Cd más bajo adicionado (15  $\mu\text{M}$ ) y el tratamiento testigo. [Nazar et al. \(2012\)](#) mencionan que los niveles altos de Cd en el suelo alteran la absorción y translocación de nutrientes, lo que trae consigo deficiencias nutrimentales, estrés oxidativo, disminución en el crecimiento y en el desarrollo de las plantas.

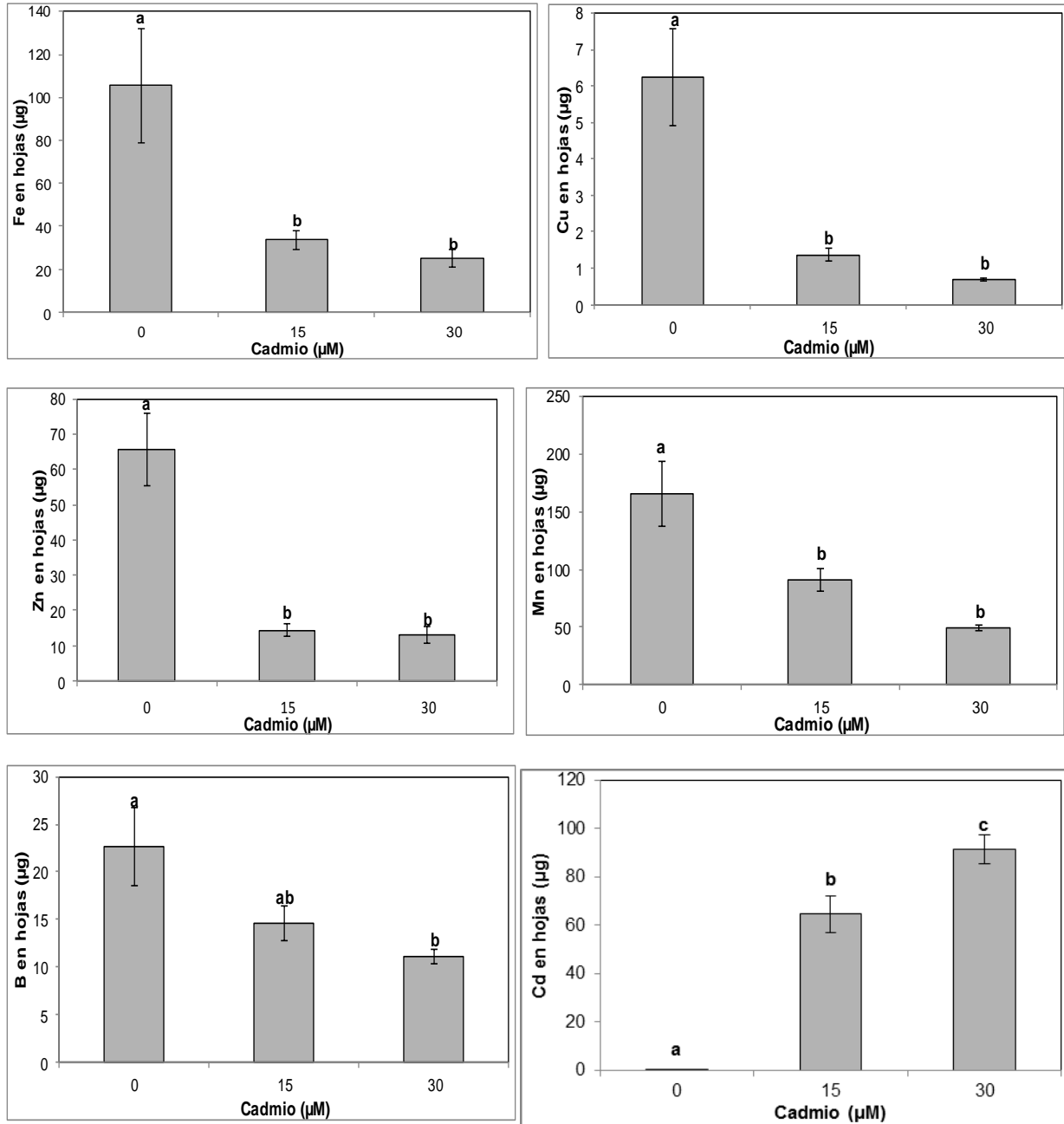


**Figura 11.** Acumulación de macronutrientes en hojas de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas por 15 días con distintas concentraciones de cadmio en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada subfigura, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 5$ ).

### 3.3.6.2 Acumulación de micronutrientos y Cd en hojas

Las tendencias mostradas en la acumulación de micronutrientos en hojas son muy similares a las observadas para macronutrientos. Las acumulaciones de Fe, Cu, Zn y Mn fueron significativamente menores en los tratamientos con Cd, respecto al testigo. En el caso de la acumulación de B, el tratamiento con 15  $\mu\text{M}$  de Cd no muestra diferencias estadísticas con el testigo ni con el tratamiento más alto de Cd; mientras que el tratamiento con mayor suministro de Cd (30 mM) fue estadísticamente superior al tratamiento testigo (**Figura 12**).

Por otra parte, la acumulación de Cd en hojas se relacionó de manera positiva con la concentración de éste en la solución nutritiva; en frutos de pimiento picante se ha reportado que las concentraciones de Cd en fruto son positiva y significativamente relacionadas con la translocación de Cd desde las raíces hacia la parte aérea, así como con las concentraciones de Cd en hojas y tallos (*Xin et al., 2013*). En los tratamientos consistentes en el suministro de Cd a concentraciones de 15 y 30 mM se registraron contenidos de este elemento en hojas de 91.46 y 64.69  $\mu\text{g}$ , respectivamente (**Figura 12**).



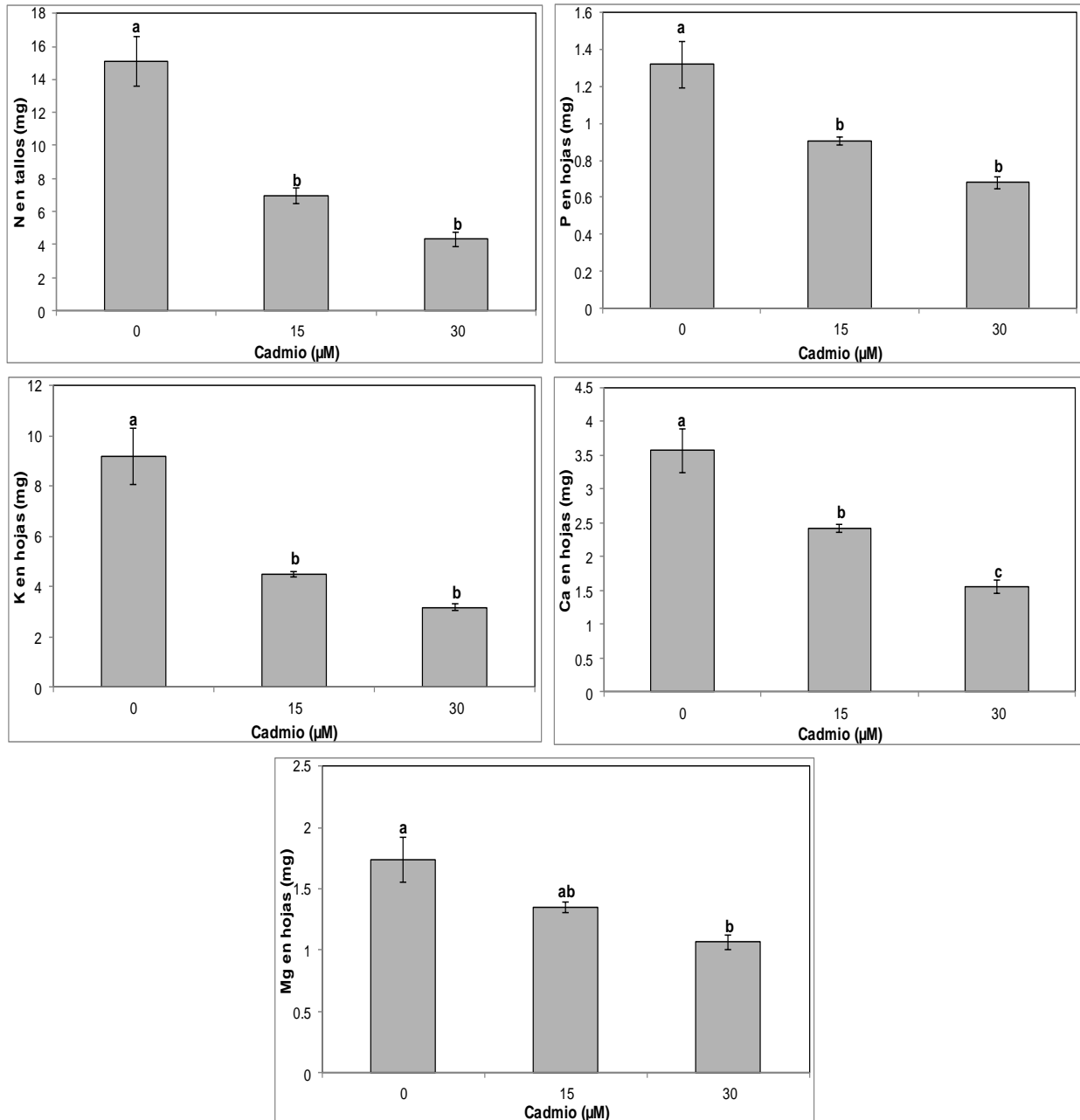
**Figura 12.** Acumulación de micronutrientos y Cd en hojas de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) sometidas a distintas concentraciones de cadmio por 15 días, en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada subfigura, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 5$ ).

### 3.3.6.3 Acumulación de macronutrientos en tallos

En la **Figura 13** se muestran los niveles de acumulación de los macronutrientos N, P, K, Ca y Mg en tallos de plántulas de pimiento morrón tratadas con 0, 15 y 30 μM de Cd



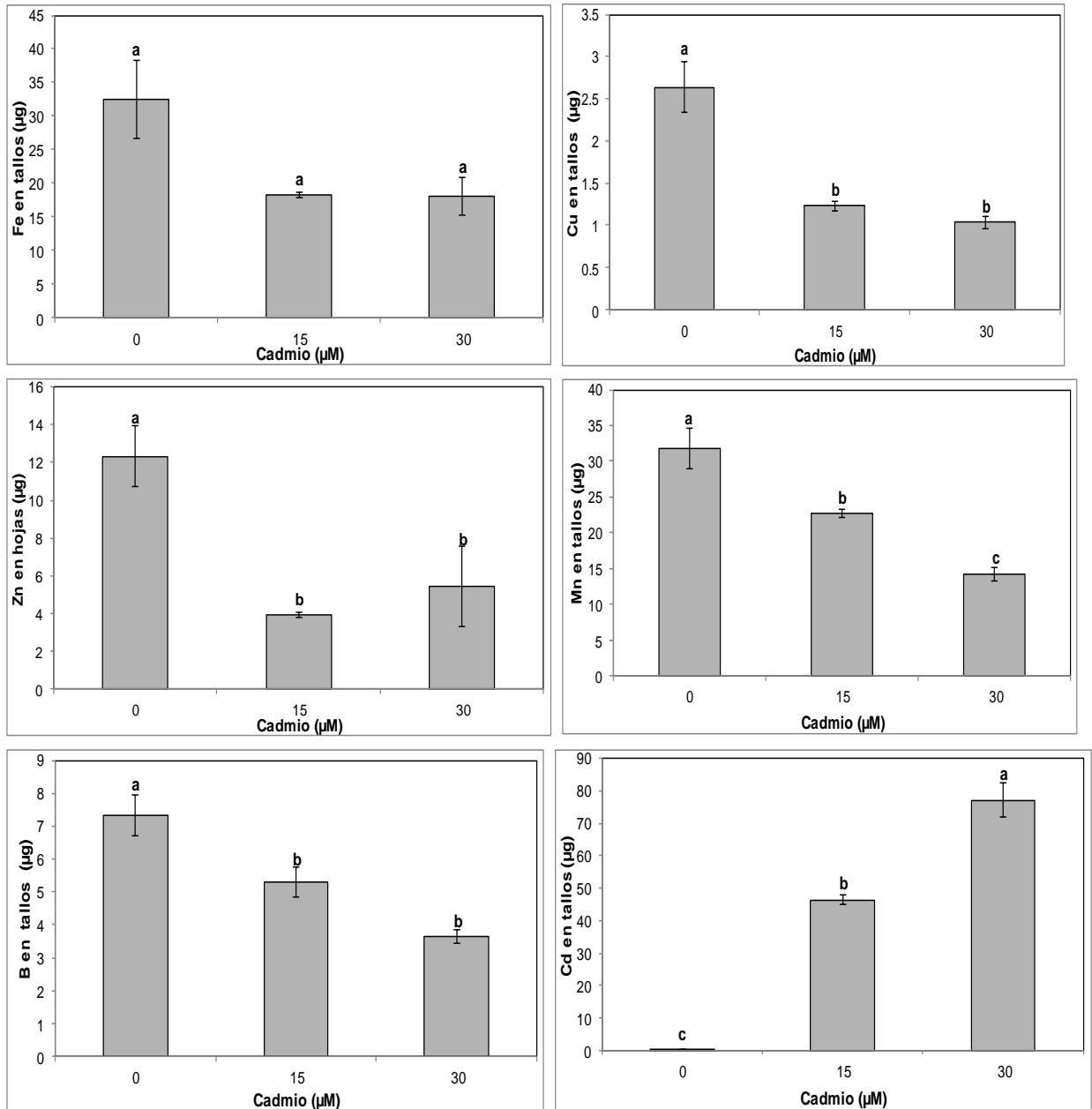
en la solución nutritiva. Se observa que las acumulaciones de los macronutrientes en tallos, al igual que lo observado en hojas, también disminuyeron significativamente en presencia de Cd en la solución nutritiva.



**Figura 13.** Acumulación de macronutrientes en tallos de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) sometidas a distintas concentraciones de cadmio por 15 días en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada subfigura, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 5$ ).

#### **3.3.6.4 Acumulación de micronutrientos y Cd en tallos**

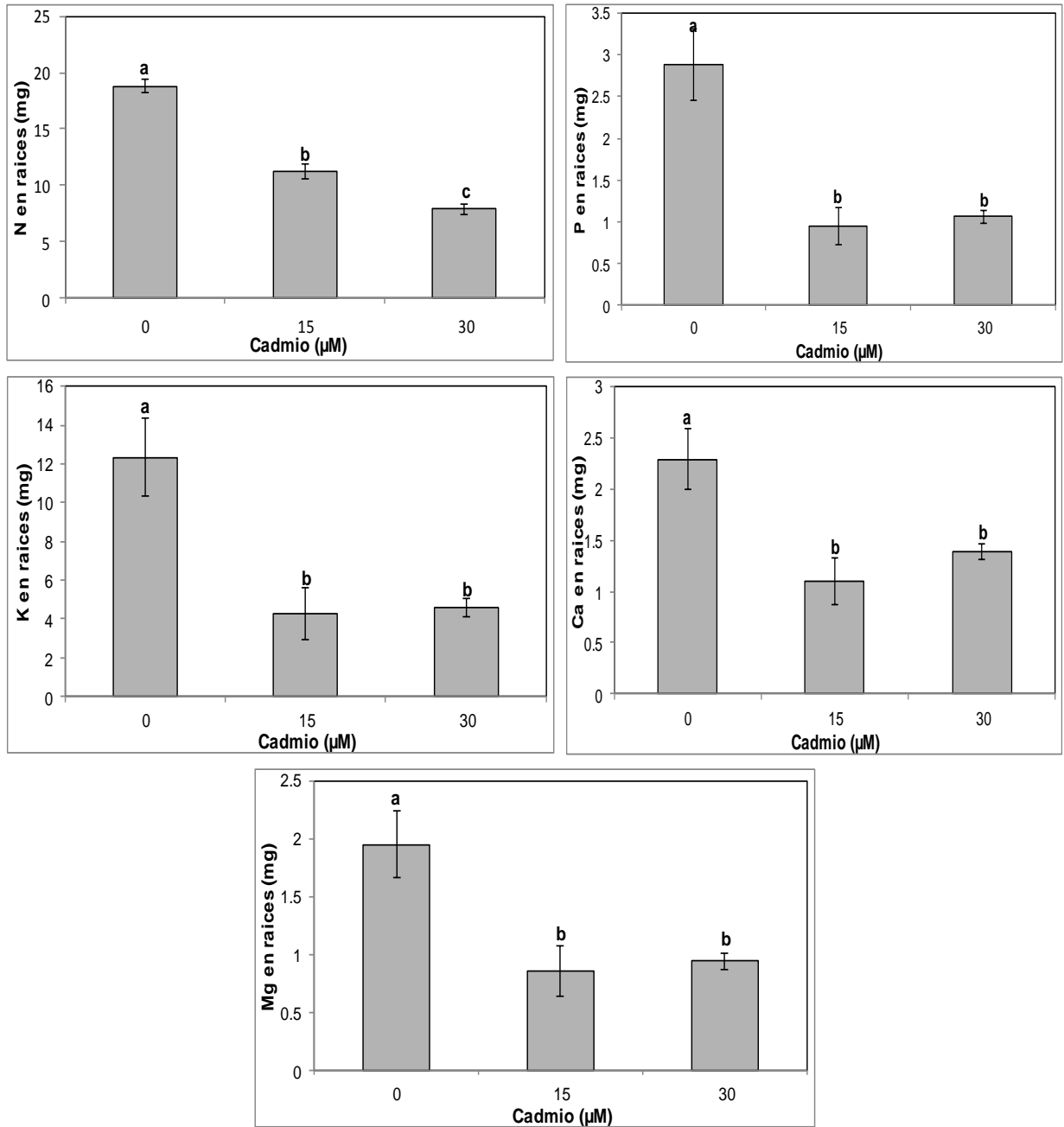
En la **Figura 14** se muestran los niveles de acumulación de los micronutrientos Fe, Cu, Zn, Mn, B, así como del Cd, en tallos de plántulas de pimiento morrón tratadas con 0, 15 y 30  $\mu\text{M}$  cadmio en la solución nutritiva. Al igual que en los tejidos foliares, en tallos se observó el efecto negativo de la adición de Cd sobre la acumulación de micronutrientos, siendo el Mn el más afectado por el incremento de la concentración de Cd en la solución nutritiva. Las cantidades de Cd en tallos fueron ligeramente menores a las registradas en hojas, con medias de 77.15 y 46.44  $\mu\text{g}$  de Cd en los tratamientos con 30 y 15  $\mu\text{M}$  de Cd en la solución nutritiva, respectivamente.



**Figura 14.** Acumulación de micronutrientes y Cadmio en tallos de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) tratadas por 15 días, con distintas concentraciones de cadmio en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada subfigura, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 5$ ).

### 3.3.6.5 Acumulación de macronutrientos en raíces

En la **Figura 15** se muestran los valores de acumulación de los macronutrientos N, P, K, Ca y Mg en raíces de plántulas de pimiento morrón tratadas con 0, 15 y 30  $\mu\text{M}$  cadmio en la solución nutritiva. Se observa que las acumulaciones de los macronutrientos en raíces también disminuyeron en plantas tratadas tanto con 15 y 30  $\mu\text{M}$  cadmio en la solución nutritiva; siendo el N en el que se observa mayor variación en función de la concentración de Cd en la solución nutritiva.



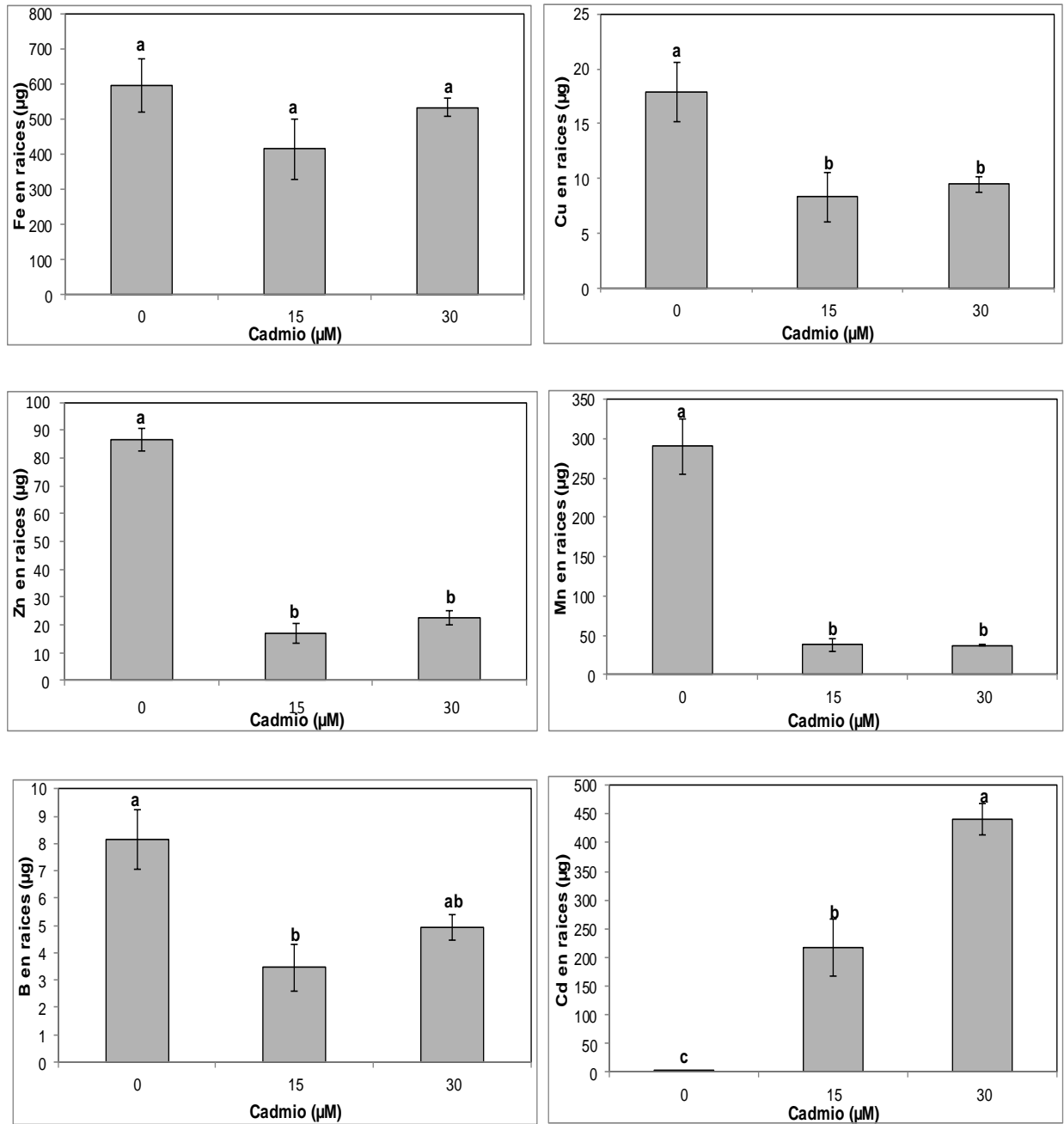
**Figura 15.** Acumulación de macronutrientos en raíces de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) sometidas a distintas concentraciones de cadmio en la solución nutritiva por 15 días. Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada subfigura, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 5$ ).

### 3.3.6.6 Acumulación de micronutrientos y Cd en raíces

En la [Figura 16](#) se muestran los niveles de acumulación de los micronutrientos Fe, Cu, Zn, Mn, B y Cd, en raíces de plántulas de pimiento morrón tratadas con 0, 15 y 30  $\mu\text{M}$  cadmio en la solución nutritiva.

Al igual que en tejido foliar y en tallos, en raíces se observó un efecto similar del Cd sobre la acumulación de micronutrientos y Cd, con excepción del B. La acumulación de B no muestra una tendencia que se relacione de manera directa con la concentración de Cd adicionada a la solución nutritiva, dado que mostró diferencia estadística significativa con el testigo solamente en plantas tratadas con 15  $\mu\text{M}$  cadmio.

El Cd se acumula preferentemente en la raíz secuestrado en la vacuola de las células, y sólo una pequeña parte es transportada a la parte aérea de la planta concentrándose en orden decreciente en tallos, hojas frutos y semillas ([Chan y Hale, 2004](#)). Por su parte, [Jidesh y Kurumthottical \(2000\)](#) trabajaron con chile (*C. annuum*) aplicando Cd y Pb, mencionan que la acumulación más alta de estos metales fue en raíces en comparación con otros órganos de la planta.



**Figura 16.** Acumulación de micronutrientes y cadmio en raíces de plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) sometidas a distintas concentraciones de cadmio en la solución nutritiva por 15 días. Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada subfigura, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ;  $n = 5$ ).

Las cantidades de Cd después de 15 días de tratamiento, varió en función de los tratamientos y el órgano específico, con las mayores acumulaciones en raíces, intermedias en tallos y menores en hojas, con respecto a este resultado podría deberse a que la raíz es el órgano principal de absorción y acumulación de metales, y por ende, el que más esté expuesto a los efectos tóxicos.

En presencia de cadmio, el crecimiento de las plántulas de pimiento se ve reducido y se observa un oscurecimiento en la raíz. Las hojas tienen síntomas de clorosis y zonas necróticas en las nervaduras de las hojas en concentraciones de 15 y 30  $\mu\text{M}$  cadmio. [Benavides et al. \(2005\)](#), mencionan uno de los síntomas más extendidos de la toxicidad por cadmio es la clorosis producida por una deficiencia de hierro.

### **3.4 CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS**

Con base en los resultados obtenidos en este experimento se concluye que a medida que se incrementa la concentración de Cd el crecimiento de las plantas se reduce, la producción de biomasa seca de hojas, tallos, raíces y total disminuyen significativamente, así como la concentraciones de clorofilas, aminoácidos, proteínas acumulación de macro y micronutrientes en hojas, tallos y raíces, en tanto que la concentración de prolina no se presentó diferencias significativas entre tratamientos, al aumentar la concentración de Cd los azúcares totales aumentan.

Este estudio podría ser de utilidad en especies de interés agrícola en suelos contaminados de metales tóxicos. Es necesario mejorar nuestros conocimientos en comparar a diferentes genotipos, diferentes fuentes y niveles de cadmio tanto en la solución nutritiva como en el agua de riego en plantas establecidas en suelo.



### 3.5 LITERATURA CITADA

- Akoumianakis K. A., Passam H. C., Barouchas P. E., Moustakas N. K. 2008. Effect of cadmium on yield and cadmium concentration in the edible tissue of endive (*Cichorium endivia* L.) and rocket (*Eruca sativa* Mill.). J. Food Agric. Environ. 6: 201-209.
- Alcántar G.G., Sandoval V.M. 1999. Manual de análisis químico de tejido vegetal. Guía de muestreo, preparación, análisis e interpretación. Publicación Especial No. 10. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. Chapingo, México.
- Ali G., Srivastava P.S., Iqbal M. 2000. Influence of cadmium and zinc on growth and photosynthesis of *Bacopa monniera* cultivated *in vitro*. Biologia Plantarum 43: 599-601.
- Antonio R. O. 2000 Caracterización fenológica, morfológica y análisis de crecimiento de chile (*Capsicum annuum* L.) bajo condiciones de invernadero en chapingo. Tesis de Licenciatura. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. México. pp. 4-5
- Astolfi S., Zuchi S., Passera, C. 2005. Effect of cadmium on H<sup>+</sup>-ATPase activity of plasma membrane vesicles isolated from roots of different S-supplied maize (*Zea mays* L.) plants. Plant Sci. 169: 361-368.
- ATSDR. 2012. Public health statement for cadmium. Agency for Toxicology and Human Health Sciences. CAS No. 7440-43-9. September 2012. <http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp5-c1-b.pdf>
- Balestrasse K. B., Gallego S. M., Tomaro M. L. 2004. Cadmium-induced senescence in nodules of soybean (*Glycine max* L.) plants. Plant Soil 262: 373-381.
- Bates L. S., Waldren R. P., Teare I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant Soil 39: 205-207.
- Benavides, M. P., Gallego S. M., Tomaro M. L. 2005. Cadmium toxicity in plants. Braz. J. Plant Physiol. 17 (1): 21-34.

- Blum W. H. 1997. Cadmium uptake by higher plants. pp.109-110, *In: Proceedings of extended abstracts from the Fourth International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements*. University of California. Berkeley, USA.
- Bremner J. M. 1965. Total nitrogen. pp. 1149-1178. *In: Methods of soil analysis. Part 2. Agronomy 9*. Black C. A. (ed.). American Society of Agronomy. Madison, WI, USA.
- Chan D.Y. Hale, B.A. 2004. Differential accumulation of Cd in durum wheat cultivars: uptake and retranslocation as sources of variation. *Journal of Experimental Botany* 55:2571-2579.
- Chen G. Q., Zhang X. J., Xu W. H., Liu J. Z., Wang H. X., Guo L. M., Chen L. H., Zhang H. B., Lan C. T., Zeng H. J., Xiong Z. T. 2010. Effect of different zinc levels on accumulation and chemical forms of cadmium, and physiological characterization in *Capsicum annuum* L. College of Resources and Environmental Sciences, Southwest University, Chongqing 400716, China. *Jul; 31 (7):1657-62*.
- Chen X., Wang J., Shi Y., Zhao M. Q., Chi G. Y. 2011. Effects of cadmium on growth and photosynthetic activities in pakchoi and mustard. *Botanical Studies* 52: 41-46.
- Dong J., Wu F. Zhang G. 2005. Effect of cadmium on growth and photosynthesis of tomato seedlings. *J. Zhejiang Univ. Sci B.* 6(10): 974-980.
- Erdem H., Kinay A., Ozturk M., Tutus Y. 2012. Effect of cadmium stress on growth and mineral nutrition compositions of two tobacco cultivars. *Journal of Food Agriculture and Environment* 10: 965-969.
- Estadísticas de países productores y comercializadores de productos agrícola. FAOSTAT. <http://faostat.fao.org/>.
- Gama-Flores J. L., Sarma S. S. S., Nandini S. 2007. Exposure time-dependent cadmium toxicity to *Moina macrocopa* (Cladocera): a life table demographic study. *Aquatic Ecology* 41: 639-648.

- Geiger M., Walch-Liu P., Engels C., Harnecker, J., Schulze E. D., Ludewig F., Sonnewald, U., Scheible W. R., Stitt M. 1998. Enhanced carbon dioxide leads to a modified diurnal rhythm of nitrate reductase activity and higher levels of amino acids in young tobacco plants. *Plant Cell Environ.* 21: 253-268.
- Godoy E. 2011. Mexico hides cadmium under the rug. Inter Press Service. November 3, 2012. <http://www.ipsnews.net/2011/11/mexico-hides-cadmium-under-the-rug/>.
- Gozubenli H. 2010. Seed Vigor of Maize Grown on the Contaminated Soils by Cadmium. *Asian Journal of Plant Sciences* 9: 168-171.
- Hasan S. A., Fariduddin Q., Ali, B., Hayat, S., Ahmad A. 2009. Cadmium: toxicity and tolerance in plants. *J. Environ. Biol.* 30(2): 165-174.
- Höfner R. L., Vásquez M. L., Abou M. A. A., Bohnert. H. J., Schmitt J. M. 1989. Two isoforms of phosphoenolpyruvate carboxylase in the facultative CAM plant *Mesembryanthemum crystallinum*. *Plant Physiol. Biochem.* 27: 803-810.
- Jidesh, C. V. and Kurumthottical, S. T. 2000. Remove from marked records selective retention of cadmium and lead in different parts of chilli (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Tropical Agriculture* 38(1/2): 51-54.
- Lango-Reynoso F., Landeros-Sánchez C. and Castañeda-Chávez M.R. 2010. Bioaccumulation of cadmium (Cd), lead (Pb) and arsenic (As) in *Crassostrea virginica* (Gmelin 1791), from Tamiahua Lagoon system, Veracruz, Mexico. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 26: 201-210.
- Latif K. A., Jung L. I. 2013. Endophytic *Penicillium funiculosum* LHL06 secretes gibberellin that reprograms *Glycine max* L. growth during copper stress. *BMC Plant Biology* 13:86: 1-14.
- Ling Q., Huang W., Harvis P., 2011. Use of a SPAD-502 meter to measure leaf chlorophyll concentration in *Arabidopsis thaliana*. *Photosynth Res.* 2011 May; 108(1):89.
- Liu D., Hu K., Ma J., Qiu W., Wang X., Zhang S. 2011. Effects of cadmium on the growth and physiological characteristics of sorghum plants. *African Journal of Biotechnology* 10(70): 15770-15776.

- Maksymiec W., Wójcik M., Krupa Z. 2007. Variation in oxidative stress and photochemical activity in *Arabidopsis thaliana* leaves subjected to cadmium and excess copper in the presence or absence of jasmonate and ascorbate. *Chemosphere* 3(6): 421-427.
- Moore S., Stein W. H. 1954. A modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and related compounds. *J. Biol. Chem.* 211: 893-906.
- Nazar R., Iqbal N., Masood A., Khan M. I. R., Syeed S., Khan N. A. 2012. Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation. *American Journal of Plant Science* 3: 1476-1489.
- Nikolić N., Kojić D., Pilipović A., Pajević, S., Krstić P., Borišev M., Orlović S. 2008. Response of hybrid poplar to cadmium stress: Photosynthetic characteristics, cadmium and proline accumulation, and antioxidant enzyme activity. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 50(2): 95-103.
- Nuez F., Diez M. J., Ruiz J. J., Fernández de cordova P., Costa J., Catalá M. S., Gonzáles J. A., Rodríguez A. 1998. Catálogo de semillas de pimiento. Ministerio de Agricultura, Pesca y alimentación 108 p. Madrid España
- Peijnenburg W., Baerselman R., de Groot A., Leenders J.D., Posthuma L., van Veen, R. 2000. Quantification of metal bioavailability for lettuce (*Lactuca sativa* L.) in field soils. *Archives of Environment Contamination and Toxicology* 39: 420-430.
- Peralta-Videa J. R., López M.L., Narayan M., Saupe G., Gardea-Torresdey J. 2009. The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: Implications for the food chain 2009. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 41: 1665-1677.
- Ramachandran H., Vincent S.G.T. 2013. Biochemical responses of *Capsicum annum* under cadmium stress. *International Journal of Environmental Monitoring and Analysis* 2013: 99-104.

- Reza S. H., Shafiq F., Tahir M. 2013. Screening of cadmium tolerance in sugarcane using antioxidative enzymes as a selection criteria. *Pakistan Journal of Life and Social Sciences* 11: 8-13.
- Romero-Puertas M. C., Palma J. M., Gómez M., del Río L. A., Sandalio L. M. 2002. Cadmium causes the oxidative modification of proteins in pea plants. *Plant Cell Environ.* 25: 677-686.
- SIAP. Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera. [www.siap.gob.mx](http://www.siap.gob.mx).
- Salt, D. E., Prince, R.C., Pickering, I.J., Raskin, I. 1995. Mechanism of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard. *Plant Physiology* 109:1427-1433.
- SAS Institute Inc. 2011. SAS/STAT® 9.3 User's Guide. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.
- Southgate D. A. 1976. Determination of food carbohydrates. Applied Science Publishers. LTD. London. 105 p.
- Thiebauld O., Soler S., Raigón M. D., Prohens J., Nuez, F. 2005. Variation among Solanaceae crops in cadmium tolerance and accumulation. *Agronomy for Sustainable Development* 25: 237-241.
- Thomine, S., Wang, R., Ward, J., Crawford, N., Schroeder, J. 2000. Cadmium and iron transport by members of a plant metal transporter family in Arabidopsis with homology to Nramp genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 97:4991-4996.
- Verma, S., Dubey R. S. 2001. Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. *Biologia Plantarum* 44: 117-123.
- Wang X., Chen T., Lei M., Song B., Wan X., Yanmei L.I. 2012. Selection of sugar cane varieties with a low heavy metal accumulation ability for the ecological remediation of contaminated farmland. *Journal of Resources and Ecology* 3:373-378. doi:10.5814/j.issn.1674-764x.2012.04.011

Xing J. Huang B., Liu A., Zhou W., Liao K. 2013. Identification of hot pepper cultivars containing low Cd levels after growing on contaminated soil: Uptake and redistribution to the edible plant parts. *Plant Soil* DOI 10.1007/s11104-013-1805-y

Zhan J. B., Huang W. N. 2007. Effects of cadmium stress on photosynthetic functions of strawberry. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao* 18(7): 1673-1676.