

FITOTOXICIDAD DEL CADMIO SOBRE LA GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO INICIAL DE VARIEDADES DE MAÍZ ECUATORIANAS

Henry Aguirre¹, Patricio Viteri¹, Pamela León¹, Yerimar Mayía¹,
Patricio Cobos¹, Mariuxi Mero¹ y Beatriz Pernía¹

RESUMEN

El cadmio (Cd) es un contaminante que genera inhibición de la germinación y disminución en la productividad de los cultivos. En Ecuador se ha demostrado la contaminación por este metal en algunos suelos agrícolas. El objetivo de esta investigación fue medir los efectos del Cd sobre la germinación y el crecimiento de las variedades de maíz INIAP-101, INIAP-122, INIAP-151, INIAP H-551, INIAP H-553, INIAP-180 y una variedad Autóctona de la provincia de Manabí en Ecuador. Se expusieron semillas de estas variedades a 0, 0,25, 0,5, 1, 2, 4 y 8 mg·L⁻¹ de CdNO₃ durante 8 días y se determinó el día de inicio y porcentaje de germinación, así como la longitud de la radícula y del hipocótilo. El efecto del metal se evaluó mediante el cálculo de los índices de tolerancia y de fitotoxicidad. El porcentaje de germinación disminuyó 37,5% en la variedad INIAP H-551, y levemente en la Autóctona en el nivel de 1 mg·L⁻¹ de Cd; las otras no se vieron afectadas. Según el índice de tolerancia, la variedad más tolerante fue la Autóctona y las menos tolerantes INIAP-101 e INIAP-122. El índice integral de fitotoxicidad mostró la toxicidad del Cd en el siguiente orden: INIAP-101, INIAP H-551, INIAP-122, INIAP H-553, INIAP-180, INIAP-151 y la menos afectada fue la Autóctona. Se recomienda a los agricultores analizar la concentración de cadmio en el suelo previo al cultivo, y dependiendo del grado de contaminación, evitar las variedades menos tolerantes.

Palabras clave adicionales: Metales pesados, tolerancia, *Zea mays*

ABSTRACT

Phytotoxicity of cadmium on the germination and initial growth of Ecuadorian maize varieties

Cadmium (Cd) is a pollutant that inhibits seed germination and decreases crop productivity. In Ecuador, contamination by this metal has been demonstrated in some agricultural soils. The objective of this research was to measure the effects of Cd on the germination and growth of the maize varieties INIAP-101, INIAP-122, INIAP-151, INIAP H-551, INIAP H-553, INIAP-180, and a native variety to the Manabí province in Ecuador (Autóctona). Seeds of the varieties were exposed to 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, and 8 mg·L⁻¹ CdNO₃ for 8 days and it was determined the germination start day and percentage, and length of radicle and hypocotyl. The effect of Cd was evaluated by calculating the tolerance and phytotoxicity indices. The germination percentage decreased by 37.5 in INIAP H-551, and only slightly in the Autónoma, at level of 1 mg·L⁻¹; the other varieties were not affected. According to the tolerance index, the most tolerant variety to Cd was the Autónoma, and the least tolerant were INIAP-101 and INIAP-122. The integral phytotoxicity index showed the toxicity of Cd in the following order: INIAP-101, INIAP H-551, INIAP-122, INIAP H-553, INIAP -180, INIAP-151, and the least affected was the Autónoma. Farmers are advised to analyze the cadmium concentration in the soil before cultivation and, depending on the degree of contamination, avoid growing the less tolerant varieties.

Additional keywords: Heavy metals, tolerance, *Zea mays*

INTRODUCCIÓN

El cadmio (Cd) es uno de los metales más tóxicos en el medio ambiente, se libera de fuentes naturales como los volcanes, las minas de Zn y Cu

e incendios forestales, y antropogénicas como la minería, la fundición de metales, la quema de combustibles fósiles, pesticidas, fabricación de baterías y otros productos como cemento, pigmentos y plásticos (Sarwar et al., 2017). Sin

Recibido: Mayo 10, 2021

Aceptado: Noviembre 5, 2021

¹ Instituto de Investigaciones de Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil. Guayaquil, Ecuador. e-mail: hpas.1994@gmail.com; viteripat@gmail.com; pamela.leonu@ug.edu.ec; yerimar.mayiar@ug.edu.ec; patocobos@hotmail.es; mariuxi.merov@ug.edu.ec; beatriz.pernias@ug.edu.ec (autor de correspondencia)

embargo, en el caso específico de los suelos agrícolas, la principal causa de contaminación por Cd es el uso de fertilizantes (Kuo et al., 2007; Ramírez et al., 2016) y en especial de los fosfatados (De Meeûs et al., 2002), seguido por la aplicación de abonos y lodos de depuradoras, el riego con aguas residuales industriales y la deposición atmosférica (Liu et al., 2007).

Según Kabata-Pendias y Pendias (2001) el promedio mundial de Cd en suelos es de $0,53 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, valores superiores indican contaminación de tipo antropogénica. Se ha considerado que el límite máximo permisible de este metal pesado en suelos no debería sobrepasar $0,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ en Ecuador (MAE, 2015), $0,8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ en Suiza (FOEFL, 1998) y $1,0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ en el Reino Unido (Kabata y Pendias, 2001).

Una vez que el Cd ingresa a los suelos, o al agua, es absorbido por las raíces de las plantas a través de los transportadores de otros cationes tales como Ca^{2+} , Fe^{2+} y Zn^{2+} (Clemens, 2006). Posteriormente, el metal puede llegar al xilema a través de la vía apoplástica o simplástica donde puede ser acomplejado por ligandos como ácidos orgánicos, fitoquelatinas o metalotioneínas, y de allí ser transportado a otras partes de la planta (Benavides et al., 2005).

El Cd no cumple ninguna función en los seres vivos y se conoce que una alta concentración puede causar serios peligros para la salud en la mayoría de los organismos (Lagriffoul et al., 1998). En las plantas, se han reportado efectos nocivos, entre los cuales se encuentran la inhibición de la germinación (Wang y Zhou, 2005) y del crecimiento (Weigel y Jager, 1980; Pernía et al., 2019; Vallejos et al., 2022), reducción de la biomasa (León et al., 2002), afectación de la síntesis de clorofila e, incluso, la muerte de la planta (Sanità Di Toppi y Gabbrielli, 1999; Pernía et al., 2008). Además, se ha descrito que el Cd genera síntomas de toxicidad tales como atrofia y clorosis, los cuales son producto de la interacción directa o indirecta del metal con el hierro, zinc, fósforo o manganeso (Baker y Walker, 1989; Sanità Di Toppi y Gabbrielli, 1999).

La germinación y el crecimiento de las radículas e hipocótilos han sido utilizadas como indicadores de toxicidad por Cd (Baker y Walker, 1989), debido a que son las etapas de mayor vulnerabilidad en las plantas como consecuencia de que algunos mecanismos de defensa no se han

desarrollado por completo (Ling et al., 2017; Flores, 2018). A partir de estos parámetros se han propuesto varios índices que permiten calcular el grado de tolerancia y fitotoxicidad de las plantas al Cd. El índice de tolerancia se calcula a partir de la longitud de las radículas de las plántulas expuestas al contaminante y la radícula del control (Wilkins, 1978). Por otra parte, el índice integral de fitotoxicidad (IIF) integra el efecto de los contaminantes sobre la germinación y el crecimiento de las radículas e hipocótilos; además, permite evidenciar cuándo existe estímulo de crecimiento (valores negativos) o la ocurrencia de fitotoxicidad (valores positivos) (Pernía et al., 2018).

Existen varias publicaciones que demuestran la presencia de Cd en tierras agrícolas de Ecuador (Mite et al., 2010; Chávez et al., 2015; Arguello et al., 2019). Expresado en unidades de $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ se halló Cd en concentraciones de 0,020-0,303 en cultivos de café, 0,02-0,68 en palma africana, 0,09-0,38 en banano y 0,06-0,096 en plátano (Félix et al., 1986). De igual forma, en suelos con cacao, Mite et al. (2010) registraron valores de 0,46-2,37 en las provincias de Manabí, 0,25-1,65 en Guayas, 0,22-0,88 en Esmeraldas, 0,17-0,66 en Los Ríos y 0,33-0,53 en Santo Domingo. Por su parte, Chávez et al. (2015) encontraron valores de 0,66-2,59 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd en Guayas, y Arguello et al. (2019) detectaron valores máximos de hasta $8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de Cd. De allí la importancia de analizar los efectos de este metal pesado sobre la germinación y crecimiento de las plantas de cultivo en Ecuador, en especial del maíz.

Este cultivo es de gran importancia en Ecuador, pues constituye una de las principales fuentes de ingreso económico para el pequeño y mediano productor, así como también es la base de la alimentación familiar y animal (Ríos et al., 2007).

La hipótesis de la presente investigación fue que existen variedades de maíz en Ecuador más tolerantes al Cd. Es por ello que el objetivo del estudio fue determinar el efecto del Cd en concentraciones reales sobre la germinación y el crecimiento inicial de las radículas e hipocótilos de diferentes variedades de maíz certificadas por el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias y una de maíz nativa de la provincia de Manabí, a fin de verificar si existen variedades más tolerantes al Cd tendientes a salvaguardar la seguridad Alimentaria.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. Se obtuvieron semillas certificadas de diferentes variedades de *Zea mays* L.: Mote (INIAP-101), Chulpi (INIAP-122), Morocho (INIAP-151), Maíz dulce (INIAP H-551), Canguil (INIAP H-553), Maíz amarillo (INIAP-180), donadas por el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) y una variedad nativa de maíz amarillo

obtenida en la Provincia de Manabí. Las mismas fueron trasladadas al Instituto de Investigaciones de Recursos Naturales de la Universidad de Guayaquil y se seleccionaron quinientas por variedad, con pesos y longitudes similares para los bioensayos. Previo al montaje *in vitro* se seleccionaron 30 semillas de cada variedad y se les midió la longitud y el ancho utilizando un vernier. En el Cuadro 1 se muestran las características y las dimensiones para cada variedad.

Cuadro 1. Características de las semillas de maíz estudiadas y día de inicio de la germinación

Nombre de la variedad	Nombre común	Características				Inicio de germinación (días)
		Color	Textura	Largo (mm)	Ancho (mm)	
INIAP-101	Mote	Blanco	Suave, harinoso	14,27 ± 0,74	12,26 ± 0,62	2
INIAP-122	Chulpi	Amarillo, crema	Suave, harinoso	12,79 ± 0,56	10,53 ± 0,58	2
INIAP-151	Morocho	Blanco	Cristalino	12,30 ± 0,64	9,81 ± 1,96	2
INIAP H-551	Maíz dulce	Amarillo	Duro, cristalino, leve capa harinosa	11,61 ± 2,17	9,14 ± 0,53	2
INIAP H-553	Canguil	Amarillo	Duro, cristalino	10,58 ± 0,31	9,07 ± 0,52	2
INIAP-180	Maíz amarillo	Amarillo, crema	Duro	11,36 ± 0,67	9,56 ± 0,66	2
Autóctona	Maíz amarillo	Amarillo	Duro	12,72 ± 0,57	8,45 ± 0,33	1

Las semillas seleccionadas para el bioensayo se esterilizaron con hipoclorito de sodio al 2,5 % por 30 min y se lavaron seis veces con agua destilada, según el protocolo de Vadillo et al. (2004).

Bioensayo. Una vez esterilizadas, las semillas fueron embebidas por 24 h en distintas soluciones de cadmio. En esta investigación se trabajó con concentraciones de Cd reportadas por Mite et al. (2010), Muñoz (2017) y Argüello et al. (2019) en suelos de cultivos ecuatorianos: 0, 0,25, 0,50, 1, 2, 4 y 8 mg·L⁻¹. Los granos se dejaron embebidos en recipientes con las diferentes concentraciones de CdNO₃ (Accustandar) durante 24 h.

Se realizó un diseño experimental completamente al azar, con cuarenta unidades por tratamiento, distribuidas en cuatro réplicas. Una vez embebidas, las semillas se colocaron diez en envases de plástico de polietileno de alta densidad de 10 cm de diámetro sobre dos capas de papel filtro Whatman N° 1, al cual se le añadieron 5 mL de la concentración correspondiente de CdNO₃. Los envases se colocaron en una cámara de germinación a 24 ± 1 °C, con humedad relativa de 60-70 %, luminosidad de 2.000 lux (luces LED rojas y azules para optimizar el crecimiento) y un fotoperíodo de 12 horas por 8 días.

Las longitudes de las radículas y de los hipocótilos fueron medidas utilizando un vernier, durante 8 días. Además, se determinó el día de inicio de la germinación y el porcentaje diario de germinación, empleando las fórmulas que se muestran en el Cuadro 2.

Índices de tolerancia y de fitotoxicidad. El índice de tolerancia (IT) y el índice integral de fitotoxicidad (IIF) se calcularon utilizando las fórmulas ya señaladas (Cuadro 2). Para la interpretación del IIF, los valores negativos indicaron estímulo de crecimiento, cero indicó que no existía toxicidad; de 1-25, la toxicidad era baja; de 26-50 toxicidad media; de 51-74 toxicidad alta, y 75-100 toxicidad extrema.

Análisis estadístico. Se determinó la normalidad de los datos utilizando una prueba de Anderson-Darling y la homocedasticidad mediante un test de Levene. Se compararon las medias entre tratamientos para cada una de las variedades utilizando el ANOVA y prueba de medias de Tukey. Para determinar si existía correlación entre la concentración de Cd y la longitud de las radículas e hipocótilos se aplicó una prueba de correlación de Pearson. Todos los análisis se realizaron con el programa MINITAB, versión

19. Finalmente, a fin de agrupar las variedades por su grado de tolerancia, se realizó un dendrograma de agrupación utilizando el programa PAST versión 4.

Cuadro 2. Fórmulas utilizadas en el cálculo de las variables de estudio

Variable	Fórmula	Autor
Porcentaje de germinación (PG)	$PG = \frac{\text{Número de semillas germinadas}}{\text{Número total de semillas}} \times 100$	Cokkizgin y Cokkizgin, 2010
Inicio de germinación (IG)	IG= día de inicio de la germinación	
Índice de tolerancia	$IT = LR_m/LR_c$	Wilkins, 1978
Índice integral de fitotoxicidad	$IF = 100 - \left(\frac{SGM}{SGC} \left(\frac{LRM}{LRC} + \frac{LHM}{LHC} \right) \right) 100$	Pernía et al., 2018

LRm = longitud de radícula en plántulas crecidas en presencia de Cd. LRc = longitud de radícula en plántulas en ausencia de Cd. SGM = número de semillas germinadas de la muestra; promedio del número de semillas germinadas en las cuatro réplicas para cada tratamiento (n = 4). SGC = número de semillas germinadas del control; promedio del número de semillas germinadas en las cuatro réplicas del testigo (n = 4). LRM = longitud de radícula de la muestra; promedio de la medición en centímetros de las radículas de 10 plántulas por réplica de cada tratamiento (n = 40). LRC = longitud de radícula del control; promedio de la medición en centímetros de las radículas de 10 plántulas por réplica del testigo (n = 40). LHM = longitud del hipocótilo de la muestra; promedio de la medición en centímetros de los hipocótilos de 10 plántulas por réplica de cada tratamiento (n = 40). LHC = longitud del hipocótilo del control; promedio de la medición en centímetros de los hipocótilos de 10 plántulas por réplica del testigo (n = 40)

RESULTADOS

Efecto del cadmio sobre la germinación de las variedades de maíz. El Cd no afectó significativamente el porcentaje de germinación en seis de las siete variedades analizadas (Figura 1), con excepción de INIAP 551. En ésta, la germinación se redujo desde 82,5 % en el control hasta 20, 37,5 y 45 % luego de la exposición a 0,25, 1 y 4 mg·kg⁻¹ de Cd, respectivamente (F = 6,36; P ≤ 0,001). El inicio de la germinación se produjo en el segundo día en todas las variedades, excepto en la Autóctona, la cual germinó a partir del primer día (Cuadro 1). Esta variable no se vio afectado por la aplicación del metal pesado.

Efecto del cadmio sobre la longitud de las radículas de las variedades de maíz. La variable más afectada por el Cd fue el crecimiento de la radícula, menos en la variedad Autóctona donde, por el contrario, se apreció un incremento del crecimiento a bajos niveles de Cd (Figura 2A). En esta variedad, la longitud promedio de 86,15 mm en el control a 133,00 mm y 129,25 mm a las concentraciones 0,25 y 0,5 mg·L⁻¹ de Cd, respectivamente (F=15,51; P≤0,001).

Las variedades INIAP-101 e INIAP-122 fueron las más afectadas en cuanto a su porcentaje de crecimiento. En INIAP-101 se apreció una disminución en la longitud de la radícula en el

control del orden de 77, 92, 97 y 96 % al exponer las plántulas a 1, 2, 4, y 8 mg·L⁻¹ de Cd, respectivamente (F=42,75; P≤0,05). De la misma manera en INIAP-122 se determinó una reducción del crecimiento de una magnitud comparativa cuando las plantas recibieron las dosis crecientes de Cd (F=3,49; P≤0,05). Aún más uniforme fue el caso de la variedad INIAP-151, donde se observó un decrecimiento sostenido desde 115,46 mm hasta 24,78 mm a medida que la concentración del metal aumentó paulatinamente de 0,5 a 8 mg·L⁻¹ (F=51,0; P≤0,05).

Es de destacar que ante las concentraciones más altas de Cd se observaron radículas con los ápices de color marrón oscuro y otras enrolladas, presentando malformaciones. De igual forma, en algunas se visualizó un crecimiento ascendente de la raíz como una respuesta que tendía a alejarla del metal pesado.

Efecto del cadmio sobre la longitud de los hipocótilos de las variedades de maíz. Los hipocótilos también se vieron parcialmente inhibidos por el efecto del cadmio, con excepción de la variedad Autóctona (P>0,05). La longitud de los hipocótilos de la variedad INIAP-180 se afectó solo en las altas concentraciones de Cd (4 y 8 mg·L⁻¹) con reducciones del orden de 67 y 73 %, respectivamente, en comparación al control (Figura 2B).

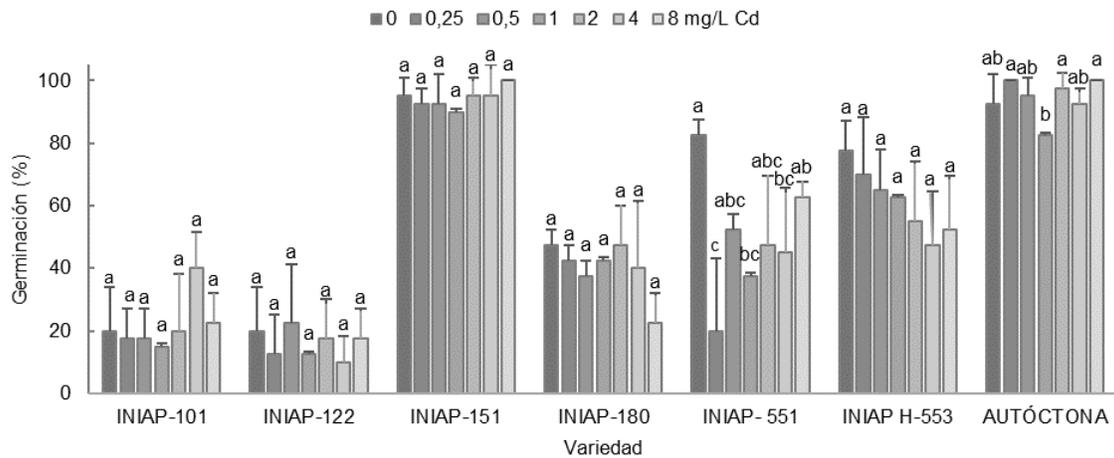


Figura 1. Germinación de las variedades de maíz expuestas a diferentes concentraciones de Cd (0, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, y 8 mg·L⁻¹) por 8 días. Letras diferentes sobre las barras en cada variedad indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$)

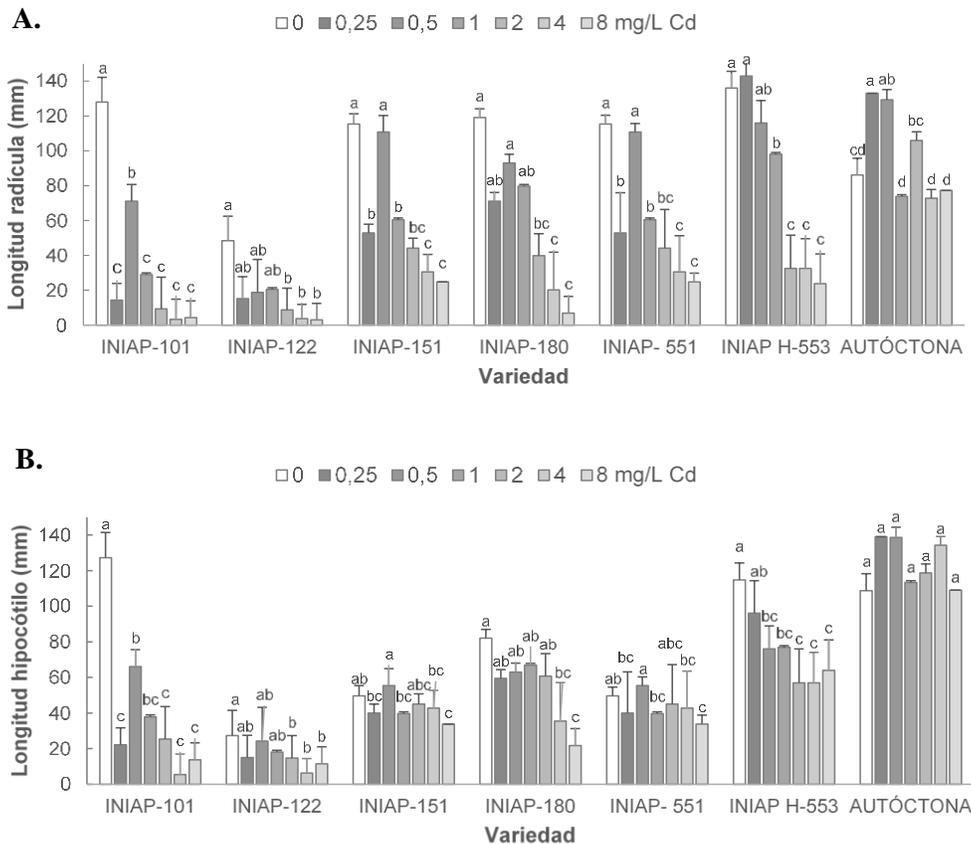


Figura 2. Longitud de las radículas (A) e hipocótilos (B) de las variedades de maíz expuestas a diferentes concentraciones de Cd (0, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, y 8 mg·L⁻¹) por 8 días. Letras diferentes sobre las barras en cada variedad indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$)

Por el contrario, en INIAP-101 se observó una fuerte reducción en la longitud de los hipocótilos en todas las concentraciones de Cd, con diferencias

estadísticamente significativas ($F=26,21$; $P \leq 0,05$), y una disminución desde 127,27 mm en el control hasta valores tan bajos como 13,69 mm en la dosis

mayor del metal pesado. En INIAP-H-553 también se apreció una inhibición de crecimiento de los hipocótilos, pero en menor proporción que la INIAP-101, con una reducción máxima desde 114,70 mm en el control hasta 56,94 mm en la exposición a 4 mg·L⁻¹ de Cd.

En el Cuadro 3 se observa que existió una alta correlación negativa entre la concentración de Cd y la longitud de la radícula para INIAP H-553 ($r = -0,643$), y correlaciones negativas moderadas para las otras variedades, lo que indica que a mayor concentración de Cd, hubo menor longitud de la radícula ($P < 0,01$). Por el contrario, hubo una baja o nula correlación entre el metal pesado y la longitud de los hipocótilos. En general, estas variables en las variedades Autóctona e INIAP-122 tuvieron muy baja correlación con los niveles de Cd indicando cierto grado de tolerancia, o que hubo una alta afectación a niveles bajos del metal y poco incremento del efecto ante los niveles más altos.

Tolerancia al cadmio. La variedad más tolerante fue la Autóctona con IT superiores a 1 ante la exposición a 0,25, 0,50 y 2 mg·L⁻¹ de Cd, con una leve disminución a valores inferiores a 1 en los dos niveles mayores de Cd. Las variedades INIAP-180, INIAP-551 e INIAPH-553 presentaron una mediana tolerancia al Cd. Las variedades INIAP-101, INIAP-122 e INIAP-151 demostraron ser poco tolerantes al metal pesado al presentar valores de IT por debajo de 0,5 en casi todas las concentraciones de Cd (Figura 3).

Con relación a la mayor concentración de Cd (8 mg·L⁻¹) la tolerancia se dio en el siguiente orden: Autóctona (0,90) > INIAP-551 (0,21) > INIAP-H-553 (0,17) > INIAP-101 (0,07) > INIAP-180 (0,06) = INIAP-122 > INIAP-151 (0,03).

A partir de 2 mg·L⁻¹ de Cd el IT disminuyó de 0,5 en todas las variedades de maíz, menos en la Autóctona. También se evidenció mayor IT a 0,5 mg·L⁻¹ que a 0,25 mg·L⁻¹ en cinco de las siete variedades estudiadas.

Cuadro 3. Análisis de correlación de Pearson entre las concentraciones de Cd y la longitud de las radículas e hipocótilos de las variedades en estudio

Variedad	Órgano	Correlación (r)	Índice de confianza (95%)	Valor P
INIAP-101	Radículas	-0,453	(-0,575; -0,310)	0,000
	Hipocótilos	-0,415	(-0,544; -0,268)	0,000
INIAP-122	Radículas	-0,242	(-0,392; -0,080)	0,004
	Hipocótilos	-0,147	(-0,305; 0,019)	0,083
INIAP-151	Radículas	-0,594	(-0,692; -0,475)	0,000
	Hipocótilos	-0,302	(-0,445; -0,143)	0,000
INIAP-180	Radículas	-0,507	(-0,621; -0,373)	0,000
	Hipocótilos	-0,410	(-0,539; -0,262)	0,000
INIAP- 551	Radículas	-0,594	(-0,692; -0,475)	0,000
	Hipocótilos	-0,302	(-0,445; -0,143)	0,000
INIAP H-553	Radículas	-0,643	(-0,731; -0,534)	0,000
	Hipocótilos	-0,361	(-0,497; -0,207)	0,000
Autóctona	Radículas	-0,366	(-0,510; -0,203)	0,000
	Hipocótilos	-0,138	(-0,307; 0,039)	0,125

Índice integral de fitotoxicidad (IIF). En cuanto al IIF (Figura 4) el maíz Autóctono no mostró toxicidad al Cd; por el contrario, exhibió un estímulo de crecimiento ante la exposición al Cd ante todas las dosis empleadas con excepción del nivel de 1 mg·L⁻¹, aunque con un bajo IIF. La INIAP-H-553 presentó una fitotoxicidad media al metal (35-50) y las variedades donde el metal fue más tóxico fueron INIAP-101 (88-98), INIAP-122 (75-92) e INIAP-180 (73-93). Al igual que lo

ocurrido con el IT, cabe mencionar que todas las variedades presentaron un menor IIF al nivel de 0,5 mg·L⁻¹ de Cd en comparación al de 0,25 mg·L⁻¹.

A la mayor concentración de Cd (8 mg·L⁻¹) la toxicidad aumentó en el siguiente orden: Autóctona (-3) < INIAP-151 (53) < INIAP-H-553 (69) < INIAP-180 (74) < INIAP-122 (81) < INIAP-INIAP-H-551 (90) < INIAP-101 (95).

Finalmente, en la Figura 5 se muestra un dendrograma de agrupación donde se distinguen tres

conjuntos: el primero de mayor tolerancia donde el Cd fue menos tóxico, representado por la variedad Autóctona; el segundo, de mediana fitotoxicidad

formado por INIAP-180, INIAP-551 e INIAP-H-553 y el tercero de menor tolerancia integrado por INIAP-151, INIAP-101 e INIAP-122.

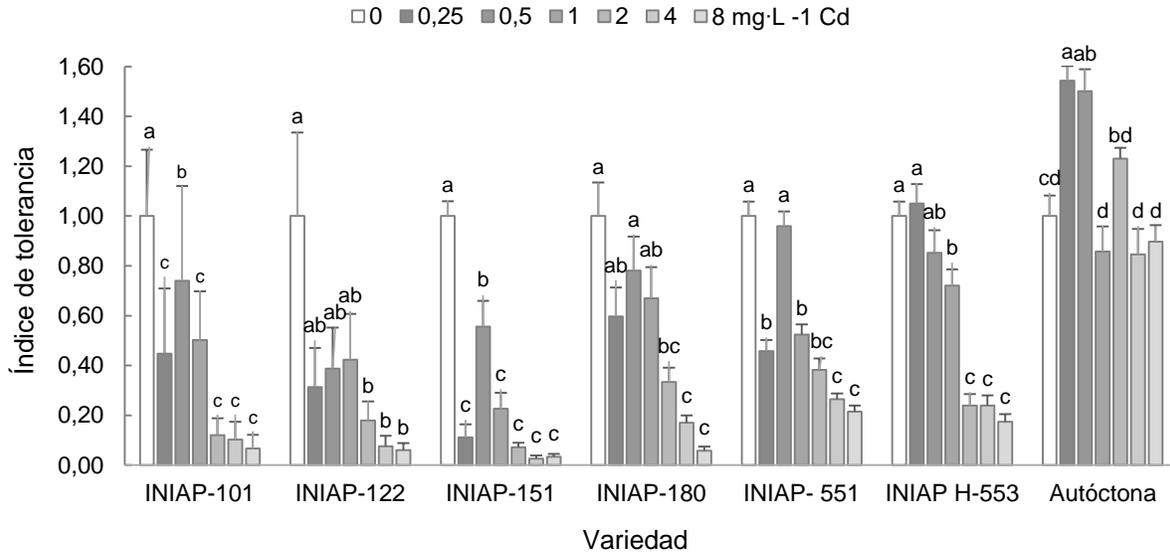


Figura 3. Índice de tolerancia de las variedades de maíz expuestas a diferentes concentraciones de Cd (0, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, y 8 mg·L⁻¹) por 8 días. Letras diferentes sobre las barras en cada variedad indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$)

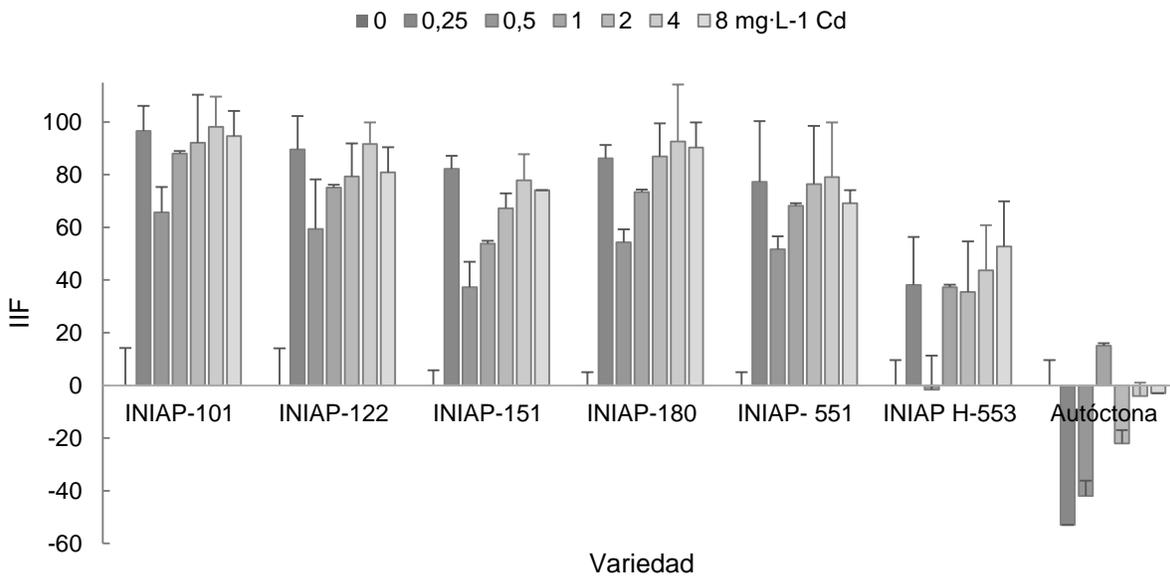


Figura 4. Índice Integral de fitotoxicidad (IIF) de las variedades de maíz expuestas a diferentes concentraciones de Cd (0, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, y 8 mg·L⁻¹) por 8 días

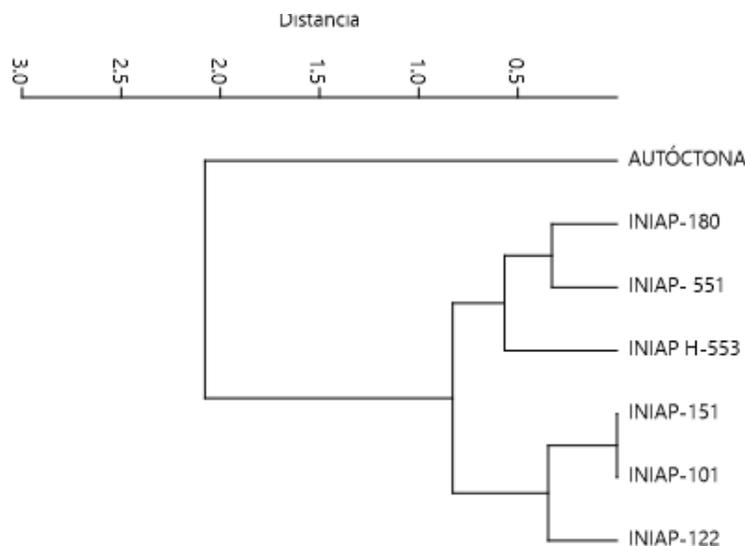


Figura 5. Dendrograma basado en la tolerancia al cadmio en las diferentes variedades de maíz estudiadas. La agrupación por grado de afinidad se realizó mediante la distancia Euclidiana, utilizando el algoritmo UPGMA. Se muestran 3 grupos, el grupo 1, de mayor tolerancia, donde el cadmio es menos tóxico; grupo 2, de mediana tolerancia y toxicidad; y grupo 3, de mayor toxicidad.

DISCUSIÓN

Las concentraciones de Cd que se evaluaron en el presente trabajo son equivalentes a las reportadas en suelos agrícolas del Ecuador (Chavez et al., 2015; Mite et al., 2010; Muñoz, 2017), y afectaron el crecimiento de las radículas de todas las variedades de maíz. Sin embargo, es importante señalar que en nuestro estudio el Cd estaba totalmente biodisponible por encontrarse en solución; por el contrario, el suelo tiene una capacidad amortiguadora que restringe en gran medida la disponibilidad de este metal pesado, de allí, que estos resultados corresponden a las concentraciones biodisponibles en el suelo.

En esta investigación los efectos del Cd se evidenciaron en todas las variables estudiadas: germinación, longitud de radículas e hipocótilos, IT e IIF. Estos fueron diferentes en cada variedad de maíz en función de la concentración de Cd, constatándose que las variedades Autóctona e INIAP-151 fueron la más tolerantes, y por el contrario, INIAP-101, INIAP-122, e INIAP-551 fueron las más vulnerables ante los efectos del metal.

Escalante-Campos et al. (2012) determinaron que dentro de los principales síntomas que las semillas presentan ante condiciones ambientales adversas como la contaminación por Cd, es la

inhibición de la germinación debido a que en esta etapa se realiza el primer intercambio de materia entre el ambiente y el embrión. En el caso del maíz, el Cd no afectó la germinación en la mayoría de las variedades estudiadas, excepto en INIAP H-551 donde inhibió significativamente su porcentaje de germinación por debajo del 50 % a partir de 0,25 mg·L⁻¹ Cd. Este efecto fue semejante al encontrado por Wang et al. (2007) los cuales no observaron inhibición en la germinación en variedades de maíz tales como Nongda No. 108 y Liyu No. 6 expuestas de 10⁻⁴ M a 10⁻⁶ M de Cd.

A diferencia de la germinación, el crecimiento inicial de radículas se vio inhibido por el Cd. La longitud de las radículas fue significativamente afectada a altas concentraciones del metal en todas las variedades (excepto en la Autóctona) a partir del tratamiento de 0,5 mg·L⁻¹ para INIAP-122, mientras que para INIAP-180, INIAP H-551 e INIAP H-553 la afectación ocurrió a partir de 0,5 o 1,0 mg·L⁻¹ de Cd. En general, la longitud fue menor conforme aumentó la concentración hasta 8 mg·L⁻¹, presentándose una correlación inversamente proporcional entre la concentración de Cd y la longitud de las radículas.

Este hecho es comparable al resultado reportado por Akinoyemi et al. (2017), en las semillas de maíz amarillo y blanco que presentaron afectaciones en el crecimiento de las radículas a 1, 3 y 5 mg·L⁻¹ de

Cd. De igual manera, Pena et al. (2020) observaron una reducción del 50 % en el crecimiento de estas mismas estructuras en *Zea mays* cv. Chalqueño ante la exposición a 10 μM de Cd. Estudios similares demostraron la afectación producida por el Cd en la longitud de la radícula de semillas de rábano, zanahoria y arveja (Prieto et al., 2009) lechuga, acelga y espinaca (Bautista et al., 2013), y lenteja y frijol (Gouia et al., 2003).

Según Vassilev y Yordanov (1997) los síntomas de fitotoxicidad se expresan más claramente en las raíces ya que estas acumulan grandes concentraciones del metal pesado. Además, Rodríguez-Serrano et al. (2008), indican que este órgano actúa como una barrera de defensa de la planta en presencia del Cd a través de la inmovilización de este metal por las pectinas de la pared celular. Por otro lado, esta inhibición sobre el crecimiento de las variedades de maíz también podría deberse a que ciertos elementos fundamentales como Ca, Zn y Mg hayan visto restringido su ingreso a las plántulas al competir con el Cd por los transportadores de estos metales esenciales (Drazkiewicz et al., 2003). Y como indicó Pena et al. (2020), los embriones del maíz cambian su metabolismo ante el estrés oxidativo generado por el Cd, mejorando su sistema antioxidante a expensas de su crecimiento. De la misma forma, Wahid y Khaliq (2015) atribuyen al daño oxidativo causado por el estrés por Cd como la causa principal de los cambios en la germinación y el desarrollo de las plántulas del maíz.

También se ha descrito que el Cd ocasiona reducción del crecimiento y genera una coloración marrón oscuro en el ápice de las raíces (Asati et al., 2016). Como ya se señaló, en la presente investigación a altas concentraciones del metal pesado se observó este tipo de coloración en las raíces, acompañado de enrollamientos y otras malformaciones.

Por otra parte, la longitud de los hipocótilos fue la variable que se evidenció menos afectada, y no hubo diferencias significativas con respecto al control en la variedad INIAP-122. En este sentido, la toxicidad del Cd sobre los hipocótilos es menor en comparación a las radículas; lo anterior se asemeja a los resultados de Anjum et al. (2015), en el sentido de que la raíz de la especie Wan Dan 13 presentó una reducción significativa en la longitud a partir de 75 μM , mientras que el hipocótilo mostró diferencias significativas sólo a muy altas

concentraciones de Cd (150 μM).

Se observó que a la concentración de 0,25 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cd fue mayor la inhibición de crecimiento de las radículas, fue menor el IT y mayor el IIF. Esto podría deberse a que a bajos niveles de Cd no se han activado los mecanismos de protección contra metales pesados como fitoquelatinas (FQS), péptidos ricos en ácido glutámico, cisteína, y una mayor actividad de enzimas antioxidantes (Pernía et al., 2008) y glutatión (GSH) (González-Mendoza y Zapata-Pérez, 2008).

Por el contrario, en la variedad Autóctona se observó un estímulo de crecimiento de las radículas y los hipocótilos a bajos niveles de Cd y esto podría explicarse por la hórmesis, proceso donde se aprecia un estímulo de crecimiento a bajas concentraciones de un contaminante e inhibición a altas dosis del mismo (Jalal et al., 2021). Esta mayor tolerancia en la variedad Autóctona, procedente de Manabí, podría deberse a la adaptación a altos niveles del metal en los suelos de dicha región. En este sentido, Mite et al. (2010) registró niveles de 2,37 mg/kg Cd en suelos agrícolas de Manabí.

En líneas generales a niveles de 2, 4 y 8 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cd aumentó la toxicidad en todas las variedades de maíz. Por ejemplo, el índice de tolerancia en las seis variedades disminuyó ante estas concentraciones donde se vio la mayor afectación de las plantas.

La variedad de maíz más tolerante al Cd fue la Autóctona de la costa ecuatoriana mientras que las variedades menos tolerantes, INIAP-101 e INIAP-122, se cultivan en la región interandina. Se han descrito mayores concentraciones de Cd en los suelos del litoral en comparación con la sierra y esto podría explicar que la variedad de Manabí esté adaptada a la presencia de este metal pesado a diferencia de las variedades de los Andes.

Aunque se ha descrito a *Zea mays* como una especie bioacumuladora de Cd, es poco el metal que se acumula en los granos. Un estudio realizado en Ecuador sugiere que las concentraciones de este metal en semillas de las diferentes variedades de maíz son muy inferiores a los límites máximos permisibles para el consumo humano, por lo que no representaría un riesgo para la población (Condo y Pernía, 2018).

El Cd presentó toxicidad a partir de 0,25 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para las variedades INIAP-101 e INIAP-151, es

decir el metal es fitotóxico para estas variedades inclusive a valores inferiores al límite máximo permisible (LMP) para suelo de uso agrícola ($0,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ Cd}$), establecido en la legislación del medio ambiente (TULSMA, 2017), por lo que se debería reconsiderar este límite máximo permisible para el cultivo del maíz.

CONCLUSIONES

El cadmio no afectó el porcentaje de germinación de la mayoría de las variedades de maíz, con excepción de la INIAP H-551, y parcialmente en la Autóctona.

En todas las variedades (menos en la Autóctona) el cadmio redujo de manera significativa la longitud de las radículas para los niveles de 2, 4 y $8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Y según el índice de tolerancia y el índice integral de toxicidad, a partir de $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ fue muy tóxico para estas variedades de maíz. De acuerdo a este último índice, el cadmio resultó fitotóxico en seis de las siete variedades estudiadas, las cuales presentaron toxicidad a partir del nivel de $0,25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, es decir por debajo del límite establecido en la norma ecuatoriana para suelos ($0,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$).

Se confirmó la hipótesis planteada de que existen variedades de maíz más tolerantes al cadmio que pueden ser utilizadas en suelos con este metal biodisponible hasta $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. La variedad más tolerante fue la Autóctona de Manabí, seguida por la INIAP-H-553 e INIAP-H-551, por lo que se le considera la más apta para su cultivo en suelos con concentraciones biodisponibles del metal pesado de hasta $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Las variedades menos resistentes fueron INIAP-101, INIAP-122 e INIAP-151.

En pro de la seguridad alimentaria se recomienda a los productores de maíz a realizar análisis del cadmio biodisponible en sus suelos previo a seleccionar la variedad de maíz a cultivar, y si estos superan los $2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ se deberían emplear las variedades Autóctona e INIAP-H-551, y evitar el cultivo de las más vulnerables. También se recomienda ampliar los estudios sobre la capacidad de acumulación de cadmio de las diferentes clases de maíz en Ecuador en pro de la inocuidad alimentaria.

LITERATURA CITADA

1. Akinyemi, A. J., O. L. Faboya, I. Olayide, O.

- A. Faboya y T. Ijabadeniyi. 2017. Effect of Cadmium Stress on Non-enzymatic Antioxidant and Nitric Oxide Levels in Two Varieties of Maize (*Zea mays*). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 98(6): 845-849.
2. Anjum, S. A., M. Tanveer, S. Hussain, M. Bao, L. Wang, I. Khan, E. Ullah, S. A. Tung, R. A. Samad y B. Shahzad. 2015. Cadmium toxicity in Maize (*Zea mays* L.): consequences on antioxidative systems, reactive oxygen species and cadmium accumulation. Environmental Science and Pollution Research 22(21): 1-9.
3. Asati, A., M. Pichhode y K. Nikhil. 2016. Effect of Heavy Metals on Plants: An Overview. International Journal of Application or Innovation in Engineering & Management (IJAIEEM) 5(3): 56-66.
4. Baker, A. J. M. y P. L. Walker. 1989. Physiological responses of plants to heavy metals and the quantification of tolerance and toxicity. Chemical Speciation & Bioavailability 1(1): 7-17.
5. Bautista, O. V., G. Fischer y J. F. Cárdenas. 2013. Cadmium and chromium effects on seed germination and root elongation in lettuce, spinach and Swiss chard. Agronomía Colombiana 31(1): 48-57.
6. Benavides, M., S. Gallego, y M. Tomaro. 2005. Cadmium toxicity in plants. Braz. J. Plant Physiol. 17(1): 21-34.
7. Chavez, E., Z. L. He, P. J. Stoffella, R. S. Mylavarapu, Y. C. Li, B. Moyano y V. C. Baligar. 2015. Concentration of cadmium in cacao beans and its relationship with soil cadmium in southern Ecuador. Science of the Total Environment 533: 205-214.
8. Clemens, S. 2006. Evolution and function of phytochelatin synthases. J. Plant Physiol. 163: 319-332.
9. Cokkizgin, A. y H. Cokkizgin. 2010. Effects of lead (PbCl_2) stress on germination of lentil (*Lens culinaris* Medic.) lines. African Journal of Biotechnology 9(50): 8608-8612.
10. Condo-Franco, J. y B. Pernía 2018. Determinación de niveles de cadmio en granos de maíz (*Zea mays* L.) de la costa y sierra ecuatoriana. Revista Científica Ciencias Naturales y Ambientales. 12(2): 66-74.

11. De Meeûs, C., G. H. Eduljee y M. Hutton. 2002. Assessment and management of risks arising from exposure to cadmium in fertilisers. I. Science of the Total Environment 291(1-3): 167-187.
12. Drazkiewicz, M., A. Tukendorf y T. Baszyński. 2003. Age-dependent response of maize leaf segments to cadmium treatment: effect on chlorophyll fluorescence and phytochelatin accumulation. Journal of Plant Physiology 160(3): 247-254.
13. Escalante-Campos, S., A. Rodríguez-Dorantes, M.S. Vásquez-Murrieta, A.V. Rodríguez-Tovar, L. A. Guerrero-Zúñiga, N. O. Pérez, M. O. Franco-Hernández y A. Ponce-Mendoza. 2012. Evaluación del efecto de cadmio sobre la germinación y elongación radical de semillas bacterizadas de *Axonopus affinis* y *Festuca rubra*. Polibotanica 34: 205-221.
14. Félix, I., F. Mite, M. Carrillo y M. Pino. 1986. Avances de investigación del proyecto determinación de metales contaminantes en cultivos de exportación y su repercusión sobre la calidad de los mismos. VIII Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo, Universidad Técnica de Manabí, Ecuador. 8 p. <https://n9.cl/38klm> (consulta de diciembre 23, 2021)
15. Flores, R. 2018. Efectos adversos de metales pesados en la agricultura de la cuenca baja del río Huaura-provincia Huaura. Revista Ciencia y Tecnología 14(4): 119-131.
16. FOEFL (Swiss Federal Office of Environment, Forest and Landscape). 1998. Commentary on the Ordinance Relating to Pollutants in Soils, VBB of July 1, 1998, Bern.
17. González-Mendoza, D. y O. Zapata-Pérez. 2008. Mecanismos de tolerancia a elementos potencialmente tóxicos en plantas. Boletín de La Sociedad Botánica de México 82: 53-61.
18. Gouia, H., A. Suzuki, J. Brulfert y M. H. Ghorbal. 2003. Effects of cadmium on the coordination of nitrogen and carbon metabolism in bean seedlings. Journal of Plant Physiology 160(4): 367-376.
19. Jalal, A., D. O. Junior, J. Santos, G. Carlos, G. Guerra, V. Dias y R. Trindade. 2021. Hormesis in plants: Physiological and biochemical responses. Ecotoxicology and Environmental Safety 207: 111225.
20. Kabata-Pendias, A. y H. Pendias. 2001. Trace Elements in Soils and Plants. CRC Press. Boca raton, FL, USA
21. Kuo, S., B. Huang y R. Bembenek. 2007. Release of cadmium from a triple superphosphate and a phosphate rock in soil. Soil Science 172(4): 257-265.
22. Lagriffoul, A., B. Mocquot, M. Mench y J. Vangronsveld. 1998. Cadmium toxicity effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and activities of stress related enzymes in young maize plants (*Zea mays* L.). Plant and Soil 200: 241-250.
23. León, A. M., J.M. Palma, F.J. Corpas, M. Gómez, M.C. Romero, D. Chatterjee, R. Mateos, A. Luis y L. M. Sandalio. 2002. Antioxidative enzymes in cultivars of pepper plants with different sensitivity to cadmium. Plant Physiology and Biochemistry 40(10): 813-820.
24. Ling, T., Q. Gao, H. Du, Q. Zhao y J. Ren. 2017. Growing, physiological responses and Cd uptake of Corn (*Zea mays* L.) under different Cd supply. Chemical Speciation and Bioavailability 29(1): 216-221.
25. Liu, Y., X. Wang, G. Zeng, D. Qu, J. Gu, M. Zhou y L. Chai. 2007. Cadmium-induced oxidative stress and response of the ascorbate-glutathione cycle in *Beckmeria nivea* (L.) Gaud. Chemosphere 69(1): 99-107.
26. MAE. 2015. Acuerdo Ministerial 097A. Texto Unificado de Legislación Secundaria de Ecuador. Ministerio del Ambiente de Ecuador. Quito, Ecuador. <https://n9.cl/p0koi> (consulta de diciembre 23, 2021)
27. Mite, F., M. Carrillo y W. Durango. 2010. Avances del monitoreo de presencia de cadmio en almendras de cacao, suelo y agua en Ecuador. XII Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo Provincia de los Tsáchilas. pp.17-19.
28. Pena, L., C. Matayoshi, A. Méndez, M. Arán, C. Moratto, J. Vázquez-Ramos y S. Gallego. 2020. Metabolic rearrangements in imbibed maize (*Zea mays* L.) embryos in the presence of oxidative stressors. Plant Physiology and Biochemistry 155: 560-569.
29. Pernía, B., A. De Sousa, R. Reyes y M.

- Castrillo. 2008. Biomarcadores de contaminación por cadmio en las plantas. *Interciencia* 33(2): 112-119.
30. Pernía, B., D. Rojas-Tortolero, L. Sena, A. De Sisto, Y. Inojosa y L. Naranjo. 2018. Phytotoxicity of PAH, extra-heavy crude oil and its fractions in *Lactuca sativa*: An integrated interpretation using a modified toxicity index. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 34(1): 79-91.
31. Pernía, B., M. Calabokis, K. Noris, J. Bubis, M. Guerra y M. Castrillo. 2019. Effects of cadmium in plants of *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski. *Bioagro* 31(2): 133-142.
32. Prieto Méndez, J., C. González, A. Román y F. Prieto García. 2009. Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 10(1): 29-44.
33. Ramírez, R., N. Subero, O. Sequera y J. Parra. 2016. Contenido de cadmio en arroz (*Oryza sativa* L.) y en suelos fertilizados con fosfatos por un periodo entre 5 y 51 años. *Revista de La Facultad de Agronomía* 41(1): 43-48.
34. Ríos, A., M. Machimba, A. Molina y M. Montenegro. 2007. Evaluación Agronómica de cuatro híbridos de maíz (*Zea mays* L.). *La Granja* 6: 30-33.
35. Rodríguez-Serrano, M., N. Martínez, M. Romero-Puertas, L.A. del Río y L.M. Sandalio. 2008. Toxicidad del cadmio en plantas. *Ecosistemas* 17(3): 139-146.
36. Sanità Di Toppi, L. y R. Gabbrielli. 1999. Response to cadmium in higher plants. *Environmental and Experimental Botany* 41: 105-130.
37. Sarwar, N., M. Imran, M.R. Shaheen, W. Ishaq, A. Kamran, A. Matloob, A. Rehim, S. Hussain. 2017. Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: modifications and future perspectives. *Chemosphere* 171: 710-721.
38. Vadillo, G., M. Suni y A. Cano. 2004. Viabilidad y germinación de semillas de *Puya raimondii* Harms (Bromeliaceae). *Rev. Peru. Biol.* 11(1): 71-78.
39. Vallejos-Torres, G., R. Ruíz-Valles, C. Chappa-Santa María, N. Gaona-Jiménez y C. Marín. 2022. Una alta diversidad de hongos micorrízicos arbusculares influye en la absorción de cadmio y crecimiento vegetativo del cacao. *Bioagro* 34(1): 75-84.
40. Vassilev, A. y I. Yordanov. 1997. Reductive analysis of factors limiting growth of cadmium-treated plants: a review. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* 23(3-4): 114-133.
41. Wahid, A. y S. Khaliq. 2015. Architectural and biochemical changes in embryonic tissues of maize under cadmium toxicity. *Plant Biology* 17: 1005-1012.
42. Wang, M. y Q. Zhou. 2005. Single and joint toxicity of chlorimuron-ethyl, cadmium, and copper acting on wheat *Triticum aestivum*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60: 169-175.
43. Wang, M., J. Zou, X. Duan, W. Jiang y D. Liu. 2007. Cadmium accumulation and its effects on metal uptake in maize (*Zea mays* L.). *Bioresource Technology* 98(1): 82-88.
44. Weigel, H.J. y H.J. Jager. 1980. Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean plants Republic of Germany. 1979-1981. *Plant Physiology* 65 (3): 480-482.
45. Wilkins, B. 1978. The Measurement of Tolerance to Edaphic Factors. *New Phytol.* 80: 623-633.