

ALTERACIÓN DE ALGUNOS PROCESOS FISIOLÓGICOS EN TRIGO POR LA ADICIÓN DE PLOMO

Irma DÍAZ-AGUILAR¹, Mario U. LARQUÉ-SAAVEDRA², Gabriel ALCÁNTAR-GONZÁLEZ¹, Rogelio CARRILLO-GONZÁLEZ¹ y Antonio VÁZQUEZ-ALARCÓN³

¹ Especialidad de Edafología, Instituto de Recursos Naturales, Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco km 36.5, 56230, Montecillo, México, correo electrónico idiaz@colpos.colpos.mx

² Área de Estadística e Investigación de Operaciones, Departamento de Sistemas, Universidad Autónoma Metropolitana-Azcapotzalco, Av. San Pablo 180, Del. Azcapotzalco 02200 D.F., México

³ Departamento de Suelos, Universidad Autónoma Chapingo, Carretera México-Texcoco km 38.5, 56230, Chapingo, México

(Recibido febrero 2000, aceptado marzo 2001)

Palabras clave: metal pesado, toxicidad, análisis discriminante canónico, variable canónica, *Triticum aestivum*

RESUMEN

Con el objeto de comprender las bases fisiológicas de la toxicidad por plomo en las plantas, se evaluó el efecto del incremento de la concentración de este metal en el follaje, en las espigas y en los granos del trigo harinero (*Triticum aestivum* L.). Las dosis aplicadas fueron 10, 20, 50 y 100 mg Pb L⁻¹ en cultivo hidropónico y se observaron los cambios en tres etapas de desarrollo: vegetativa, espigamiento y madurez fisiológica. El análisis discriminante canónico multivariado fue aplicado como prueba estadística. En la etapa vegetativa, las plantas con tratamiento de 10 mg Pb L⁻¹ acumularon concentraciones de 29.6 µg Pb g⁻¹ en el follaje, incrementaron el peso seco del follaje, la fotosíntesis y la absorción de nutrimentos y con el tratamiento de 100 mg Pb L⁻¹ se acumularon 61.4 µg Pb g⁻¹ en el peso seco del follaje, sin ser tóxicas para su crecimiento. En la etapa de espigamiento, las plantas tratadas con 100 mg Pb L⁻¹ acumularon 267.7 µg Pb g⁻¹ en el peso seco del follaje, ocasionando la aparición de franjas cloróticas a lo largo de las hojas, como consecuencia de la disminución del contenido de clorofila y de la deficiencia de micronutrimentos como el hierro. En esta etapa de desarrollo se observaron los primeros síntomas de toxicidad por plomo. Los análisis del follaje y de las espigas de las plantas tratadas con 50 y 100 mg Pb L⁻¹ mostraron la acumulación excesiva de concentraciones de Pb únicamente en la etapa de madurez fisiológica. En las plantas tratadas con 100 mg Pb L⁻¹, la concentración acumulada fue de 1915.2 µg Pb g⁻¹ de peso seco del follaje que ocasionó disminución del 34% en la biomasa y ligera reducción de la fotosíntesis, pero decrementos severos en la concentración de algunos nutrimentos como N, P, Zn y Fe en el follaje y en las espigas; de esta cantidad, sólo el 5% se acumuló en el grano (111.7 µg Pb g⁻¹). Esto demostró que sólo concentraciones sumamente elevadas de Pb en el medio de crecimiento pudieron incrementar la concentración en las semillas. La cantidad de grano producido por las plantas tratadas con 10 y 20 mg Pb L⁻¹ fue similar a la del testigo y solamente se acumularon cantidades vestigiales de Pb.

Key words: heavy metal, toxicity, canonical discriminant analysis, canonic variable, *Triticum aestivum*

ABSTRACT

The effects of increasing metal concentrations on wheat shoot, spikes and seeds were evaluated in order to understand the physiological processes of plant toxicity caused by lead. The applied lead doses were 10, 20, 50 and 100 mg Pb L⁻¹ in hydroponic culture. The following

changes were observed in the development stages of the plant: vegetative, heading and physiological maturity. The canonical discriminant analysis was used for statistical data processing. During the vegetative stage, the plants under the application of 10 mg Pb L^{-1} accumulated shoot concentrations of $29.6 \mu\text{g Pb g}^{-1}$, thus increasing its dry weight, photosynthesis activity and nutrient uptake. The addition of 100 mg Pb L^{-1} raised the Pb concentrations up to $61.4 \mu\text{g g}^{-1}$ in the shoots; such concentrations were non toxic for plant development. In the heading stage, plants treated with 100 mg Pb L^{-1} accumulated $267.7 \mu\text{g g}^{-1}$ dry matter in the shoots. This caused iron deficiency, which in turn, produced chlorotic strips and decreased the chlorophyll content. In this stage, the first symptoms of lead toxicity appeared. On the basis of shoot and spikes analysis, high Pb concentrations occurred in the physiological maturity stage, with the doses of 50 and $100 \mu\text{g g}^{-1}$. The concentration of $1915.2 \mu\text{g Pb g}^{-1}$ in shoot dry matter reduced the plant dry weight by 34%, and also caused a decrease in plant nutrients such as N, P, Zn and Fe in shoots and spikes. The seed only accumulated $111.7 \mu\text{g Pb g}^{-1}$; this fact suggested that merely very high Pb concentrations in nutritive solution could increase the concentrations in the seeds. The amount of seeds produced by plants treated with 10 and $20 \mu\text{g Pb L}^{-1}$ was similar to the control plants, which only contained traces of Pb.

INTRODUCCIÓN

El efecto tóxico de los metales pesados sobre los organismos ha constituido un aspecto importante de investigación en las últimas décadas. Conocer detalladamente los efectos dañinos de estos elementos en la fisiología de las plantas cultivadas ha sido uno de los temas de especial interés. El plomo (Pb) es un contaminante común en las descargas de la minería, la industria de la fundición, la refinación de metales, así como en las emisiones de vehículos con motores de gasolina y de otros derivados del petróleo. Además es vertido por diferentes tipos de industrias que lo utilizan como materia prima (Alloway 1995). La presencia de este metal en aguas residuales usadas para riego, en los lodos residuales empleados como mejoradores del suelo y en las emisiones urbano-industriales, es causa de la contaminación de suelos y plantas.

Los residuos como lodos y aguas servidas, vertidos al suelo, contienen comúnmente concentraciones elevadas de compuestos orgánicos capaces de formar quelatos con elementos como metales pesados, entre ellos el ácido etilendiamino tetracético (EDTA) que se usa en la industria y en productos de aplicación doméstica y tiene mucha afinidad por los metales. A este respecto, algunos autores han señalado las implicaciones que estos materiales tienen sobre la disponibilidad de metales como el Cd y el Pb (Martell 1975, Harter y Naidu 1998) con respecto a información teórica básica. Por una parte, está el incremento en la disponibilidad por la formación de complejos solubles, pero por otra la adsorción en compuestos de peso molecular elevado.

Los quelatos han sido usados tradicionalmente en el suelo y en soluciones hidropónicas para modificar la disponibilidad de metales (Norvell 1991). Se han propuesto dos mecanismos acerca del efecto de los quelatos en la asimilación de metales, en uno de ellos se plantea

que los iones metálicos son asimilados por la planta y que el agente quelatante sólo participa en mantenerlo en la solución (Marschner *et al.* 1986), en el otro en cambio se sugiere que la planta absorbe también al quelato y aumenta la posibilidad de su movimiento dentro del sistema vascular de la planta (Wallace 1983). En ninguno de los dos casos se han presentado resultados concluyentes.

El Pb es absorbido por las raíces de las plantas pero aunque su translocación es generalmente limitada, puede acumularse en diferentes partes de éstas (Balsberg, 1989), debido aparentemente a los enlaces que forma en las superficies y paredes celulares de las raíces (Malone *et al.* 1974). Debido a su afinidad para formar ligandos con compuestos clave relacionados con diversas funciones metabólicas, la acumulación de iones Pb^{2+} en las plantas puede causar múltiples efectos, tanto directos como indirectos (Woolhouse 1983). De acuerdo a la sensibilidad de la planta al efecto tóxico y la concentración, puede ocasionar cambios en su metabolismo que repercuten en el crecimiento (Liu *et al.* 1994), en el proceso fotosintético (Sheoran y Singh 1993, Kastori *et al.* 1998) y en la absorción de nutrimentos (Woolhouse 1983).

El efecto del Pb en la fisiología de las plantas cultivadas ha sido evaluado principalmente en las primeras etapas de desarrollo. Por tanto, existe poca información acerca de los efectos tóxicos ocasionados en su fisiología por su acumulación en el tejido a lo largo de todo su ciclo de desarrollo. Con base en lo anterior y en un esfuerzo por comprender mejor las características fisiológicas de la toxicidad del Pb en las plantas cultivadas, en este trabajo se evaluó en un sistema hidropónico el efecto de la acumulación de Pb en el follaje, en las espigas y en los granos de plantas de trigo, relacionándolo con algunos aspectos de su fisiología: crecimiento, fotosíntesis y nutrición, durante tres etapas de desarrollo: vegetativa, espigamiento y madurez fisiológica.

MATERIALES Y MÉTODOS

La parte experimental se realizó en condiciones de invernadero con plántulas de 2 semanas de edad de trigo harinero (*Triticum aestivum* L. var. Temporalera M87) que fueron cultivadas en un sistema hidropónico de subirrigación manual, utilizando como sustrato agrolita. La composición de la solución nutritiva fue la siguiente: 5 NO_3^- , 2 NH_4^+ , 3.5 SO_4^{2-} , $1 \text{ H}_2 \text{ PO}_4^-$, 4 Ca^{2+} , 1 Mg^{2+} y 3.5 K^+ (meq L^{-1}), los micronutrientes se agregaron según la forma descrita por Hoagland y Arnon (1950) y el hierro se aplicó como Fe-EDTA (Hewitt 1966). Después de una semana, a la solución nutritiva se le adicionaron concentraciones de 10, 20, 50 y 100 mg Pb L^{-1} , a partir de una solución patrón de 1000 mg Pb L^{-1} , preparada con acetato de plomo trihidratado (CH_3COO)₂ $\text{Pb} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, quelatada según la forma descrita por Hewitt (1966) y ajustada a pH de 4.9. Se incluyó un tratamiento testigo sin aplicación de Pb.

Las unidades experimentales se arreglaron en un diseño experimental completamente al azar con cinco repeticiones. Cada unidad experimental contuvo 6 plantas, de las cuales se emplearon dos por cada muestreo. Estos se hicieron en las etapas de desarrollo: vegetativa, espigamiento y madurez fisiológica. En cada muestra se determinó por espectrofotometría de absorción atómica la concentración acumulada de Pb en el follaje (tallos+hojas), en las espigas y en los grano, después de una digestión con ácido nítrico-perclórico (Jones y Case 1990) y los resultados se expresaron con base en el peso seco.

Con el fin de simplificar el análisis de los datos y considerar la estructura de covariación presente entre las variables estudiadas, se usó la técnica estadística análisis discriminante canónico multivariado, cuyo objetivo fue tomar en cuenta la variabilidad subyacente entre y dentro de las variables en estudio y, por medio de la reducción de la dimensionalidad de las variables, establecer una estructura fundamental (canónica) que dilucidó tan claro como fue posible la diferencia entre grupos, lo que se logró por medio de combinaciones lineales de las variables (Krzanowsky 1993).

Para la aplicación de la técnica estadística fue necesaria la formación de grupos y cada grupo comprendió una etapa de desarrollo y de tratamiento de Pb, asignándole un símbolo, como se indicó en la **Tabla I**. Las variables fueron agrupadas en morfológicas, fisiológicas y nutrimentales (**Tabla II**) y el análisis estadístico se realizó para cada una de estas agrupaciones (**Tabla II**). En cada análisis se incluyó la concentración de plomo en el follaje y/o en las espigas, según fuera el caso. Se utilizó el procedimiento CANDISC, incluido en el paquete estadístico SAS y las gráficas se diseñaron con el paquete de diseño asistido por computadora AutoCAD. Para el cálculo de las especies químicas de Pb presentes en la solución nutritiva se empleó el programa GEOCHEM-PC.

TABLA I. CONFIGURACIÓN DE GRUPOS POR ETAPA DE DESARROLLO Y POR TRATAMIENTO DE PLOMO, PARA EL ANÁLISIS DE LOS DATOS

Etapa de desarrollo	Muestreo No.	Tratamiento (mg L^{-1})	Símbolo del grupo
Vegetativa (34 días después del trasplante)	1	Testigo	0
	1	Pb 10	1
	1	Pb 20	2
	1	Pb 50	3
	1	Pb 100	4
Espigamiento (55 días después del trasplante)	2	Testigo	5
	2	Pb 10	6
	2	Pb 20	7
	2	Pb 50	8
	2	Pb 100	9
Madurez fisiológica (96 días después del trasplante)	3	Testigo	A
	3	Pb 10	B
	3	Pb 20	C
	3	Pb 50	D
	3	Pb 100	E

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de la acumulación de plomo en el follaje sobre el crecimiento

Las ecuaciones de las variables canónicas significativas (CAN1 y CAN2) que explican el 95.4% de la variabilidad total del efecto tóxico del Pb sobre el crecimiento de las plantas debido a las acumulaciones del Pb en el follaje en las tres etapas de desarrollo indican, de acuerdo con los coeficientes, que la variable que discrimina a los grupos entre etapas de desarrollo es la ALT en CAN1. Así mismo la CPbFOLL en CAN2 discrimina a los grupos por la concentración acumulada de Pb por etapa de desarrollo, como se indica a continuación para ambos casos:

$$\text{CAN1} = 1.1197\text{PSFOLL} + 6.1723\text{ALT} - 0.7498\text{NMAC} + 1.2916\text{CPbFOLL}$$

$$\text{CAN2} = -1.0189\text{PSFOLL} - 2.2814\text{ALT} - 0.0941\text{NMAC} + 5.5218\text{CPbFOLL}$$

En la **Figura 1** se observó que no existen diferencias entre grupos en la etapa vegetativa, lo que indicó que las concentraciones de Pb acumuladas en esta etapa de desarrollo (**Tabla III**) no provocaron efectos tóxicos en las plantas. Lo que concordó con Broyer *et al.* (1972) quienes tampoco reportaron efectos en el crecimiento de la cebada, por la adición de Pb a la solución nutritiva. John (1977) solamente notó efectos en plantas de lechuga expuestas a 50 mg Pb L^{-1} por seis semanas y Wallace *et al.* (1977) indicaron que la concentración de 94 $\mu\text{g Pb g}^{-1}$ en el follaje de arroz, no disminuyó la producción de materia seca; esta concentración que fue superior a la cuantificada en el follaje (61.4 $\mu\text{g Pb g}^{-1}$) de las plantas tratadas con 100 mg Pb L^{-1}

TABLA II. GRUPOS DE VARIABLES MORFOLÓGICAS, FISIOLÓGICAS Y NUTRIMENTALES, ANALIZADAS POR EL PROCEDIMIENTO CANDISC

Número de análisis	Grupo	Variable (Acrónimo)
1	VARIABLES MORFOLÓGICAS	Peso seco del follaje (PSFOLL) Altura de la planta (ALT) Número de macollos (NMAC)
2	VARIABLES MORFOLÓGICAS INCLUYENDO AL PSESP	Concentración de plomo en el follaje (CPbFOLL) Peso seco de las espigas (PSESP) Concentración de plomo en las espigas (CPbESP)
3	VARIABLES FISIOLÓGICAS	Contenido de clorofila (CLOROF) Fotosíntesis (FOTOS) Conductancia estomática (CONEST) CO ₂ intercelular (CO ₂ INT) Concentración de plomo en el follaje (CPbFOLL)
4	VARIABLES NUTRIMENTALES EN EL FOLLAJE	Nitrógeno (NFOLL) Fósforo (PFOLL) Potasio (KFOLL) Calcio (CaFOLL) Magnesio (MgFOLL) Zinc (ZnFOLL) Manganeso I (MnFOLL) Hierro (FeFOLL) Concentración de plomo (CPbFOLL)
5	VARIABLES NUTRIMENTALES EN LAS ESPIGAS	Nitrógeno (NESP) Fósforo (PESP) Potasio (KESP) Calcio (CaESP) Magnesio (MgESP) Zinc (ZnESP) Manganeso (MnESP) Hierro (FeESP) Concentración de plomo (CPbESP)

(**Tabla III**). Podría suponerse que esto es debido a la baja movilidad longitudinal del Pb en los tejidos de conducción (Dollard y Lepp 1980) y a su elevada afinidad por los sitios de enlace de las paredes celulares y de las membranas (Malone *et al.* 1974), éste no pudo llegar a los

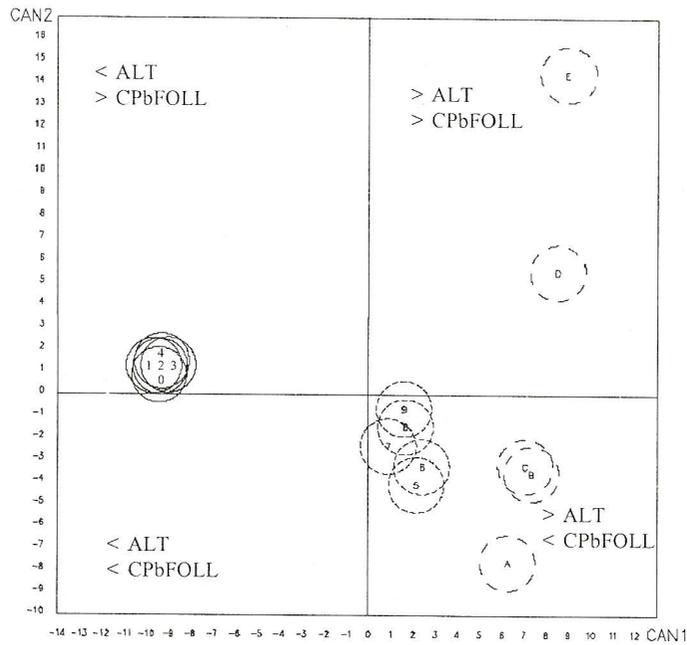
sitios metabólicamente activos, pero probablemente la concentración acumulada en el follaje fue muy baja para ser tóxica.

Se observó incremento del 10% en el PSFOLL de plantas tratadas con 10 mg Pb L⁻¹. Se supuso que 29.6

TABLA III. CONCENTRACIÓN DE PLOMO EN EL FOLLAJE, ESPIGAS Y GRANO EN LAS PLANTAS DE TRIGO

Etapa de desarrollo	Tratamiento de Pb en la solución nutritiva en mg L ⁻¹	Concentración acumulada de plomo en µg g ⁻¹ de peso seco		
		Follaje	Espigas	Grano
Vegetativa	10	29.6		
	20	36.2		
	50	55.2		
	100	61.4		
Espigamiento	10	68.9	2.2	
	20	91.7	4.9	
	50	210.4	9.3	
	100	267.7	13.1	
Madurez fisiológica	10	351.4	123.5	vestigios
	20	372.6	156.5	vestigios
	50	1164.5	452.7	98.2
	100	1915.2	575.9	111.7

(variación explicada = 31.1%)



(variación explicada = 64.3%)

Etapa de desarrollo	Vegetativa					Espigamiento					Madurez fisiológica				
Tratamiento (mg de Pb L ⁻¹)	Testigo	10	20	50	100	Testigo	10	20	50	100	Testigo	10	20	50	100
Símbolo de grupo	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	A	B	C	D	E

Fig. 1. Efecto de los tratamientos de plomo en las tres etapas de desarrollo del trigo en el grupo de variables morfológicas: peso seco del follaje (PSFOLL), altura de planta (ALT) y número de macollos (NMAC), incluyendo a la concentración de Pb en el follaje (CPbFOLL)

$\mu\text{g Pb g}^{-1}$ en el follaje (**Tabla III**), favoreció su crecimiento. Los estímulos en el crecimiento, fueron reportados principalmente con bajas concentraciones de Pb en la solución nutritiva (Kacabová y Nátr 1986). Similarmente, John (1977) encontró que 10 mg Pb L⁻¹ adicionados como PbCl₂ a la solución nutritiva, incrementaron ligeramente el peso seco de ciertas variedades de lechuga en estados tempranos de su desarrollo y Berry (1924), citado por Lane y Martin (1980), reportó un estímulo del crecimiento en avena tratada con 12.5 mg Pb L⁻¹, sin explicar el mecanismo.

En la etapa de espigamiento se observaron los primeros efectos tóxicos del Pb en el crecimiento del trigo con las aplicaciones de Pb más altas (**Fig. 1**); el grupo testigo y las plantas tratadas con 10 mg Pb L⁻¹, fueron estadísticamente iguales en cuanto a crecimiento, pero significativamente diferentes a las expuestas a 50 y 100 mg Pb L⁻¹. Estas últimas presentaron disminuciones de su PSFOLL de 12 y 28%, respectivamente en comparación con el grupo testigo, pero no hubo diferencias en su ALT. En la etapa de madurez fisiológica se notaron claramente los efectos tóxicos del Pb. El grupo testigo

fue significativamente diferente a las plantas de los tratamientos con 10 y 20 mg Pb L⁻¹. El crecimiento de las plantas sometidas a 50 y 100 mg Pb L⁻¹ fue significativamente diferente entre ellas. Las concentraciones acumuladas fueron de 1164.5 y 1915.2 $\mu\text{g Pb g}^{-1}$ en el follaje, respectivamente, lo que se refleja en la ubicación de estos grupos en el cuadrante correspondiente a las mayores concentraciones acumuladas de Pb en el follaje (**Fig. 1**). El PSFOLL disminuyó en 34% en las plantas que tuvieron 100 mg Pb L⁻¹, pero la reducción en la ALT fue tan sólo de 6%.

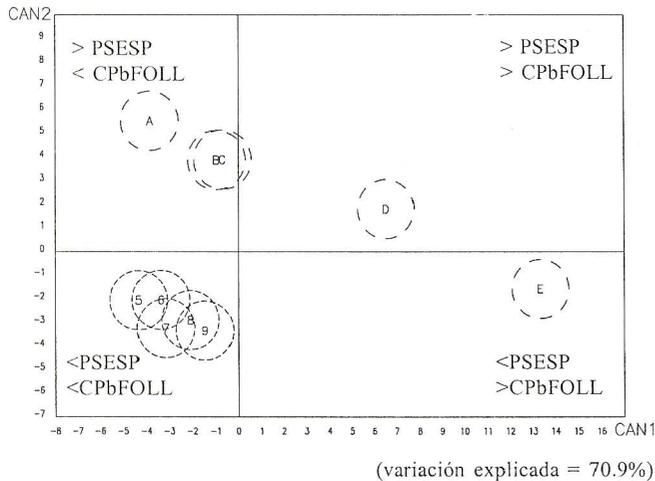
Efecto de la acumulación de plomo en el crecimiento incluyendo al PSESP y a la CPbESP

Al incluir PSESP y CPbESP conjuntamente con las otras variables morfológicas para explicar el efecto del Pb en el crecimiento en las etapas de espigamiento y madurez fisiológica, se observó que las dos primeras variables canónicas explican el 97.3% de la variabilidad total. Siendo en este caso PSESP y CPbESP las variables más importantes para explicar dicho efecto, así:

$$\text{CAN1} = -1.9952\text{PSFOLL} + 0.0273\text{ALT} - 0.1672\text{NMAC} \\ + 2.1570\text{PSESP} + 5.4818\text{CPbFOLL} - 0.1432\text{CPbESP}$$

$$\text{CAN2} = 0.0907\text{PSFOLL} + 1.3268\text{ALT} - 0.1486\text{NMAC} \\ + 2.5262\text{PSESP} - 1.4115\text{CPbFOLL} + 0.3858\text{CPbESP}$$

(variación explicada = 26.4%)



Etapa de desarrollo	Espigamiento					Madurez fisiológica				
	Testigo	10	20	50	100	Testigo	10	20	50	100
Tratamiento (mg de Pb L ⁻¹)										
Símbolo de grupo	5	6	7	8	9	A	B	C	D	E

Fig. 2. Efecto de los tratamientos de plomo en las etapas de espigamiento y madurez fisiológica del trigo en el grupo de las variables morfológicas incluyendo al peso seco de las espigas (PSESP) y la concentración de Pb en las espigas (CPbESP)

En la **Figura 2** se observó que en la etapa de espigamiento el PSESP de las plantas de los tres primeros tratamientos de Pb fueron estadísticamente iguales, pero con las de 100 mg Pb L⁻¹ fue diferente, aunque estadísticamente igual a las de 50 mg Pb L⁻¹, debido a que presentaron disminuciones en el PSESP de 17.2%. Es de interés señalar que la concentración de Pb acumulada en las espigas fue muy baja en comparación con la del follaje, siendo la más alta de 13.1 μg Pb g⁻¹ en las espigas de las plantas con 100 mg Pb L⁻¹ (**Tabla III**). Sauerbeck (1991)

indicó que las partes vegetativas y generativas en plantas de trigo, avena, chícharo, frijol y zanahoria (incluyendo órganos de almacenamiento), difirieron entre sí en sus contenidos de Pb, situación que se pudo comprobar en este caso. En la etapa de madurez fisiológica las plantas tratadas con 100 mg Pb L⁻¹ acumularon 575.9 μg Pb g⁻¹ de peso seco en las espigas, que ocasionó el descenso en PSESP y PSGRA de 40.1 y 22.1%, respectivamente, sumándose el efecto de la disminución en 40% del NMAC.

Las plantas que crecieron en 50 y 100 mg Pb L⁻¹ acumularon CPbGRA de 98.2 y 111.7 μg Pb g⁻¹, respectivamente. En contraste con las plantas que lo hicieron con 10 y 20 mg Pb L⁻¹, donde solamente se cuantificaron concentraciones vestigiales de Pb en los granos y se observaron PSGRA similares a los de las plantas testigo. Es decir, en estos tratamientos no hubo transporte de Pb hacia los granos, quedando la mayor parte acumulado en el follaje y en menor proporción en las espigas (**Tabla III**).

La ausencia de diferencias estadísticas entre los tratamientos de 10 y 20 mg Pb L⁻¹ puede ser explicada por la formación de otros compuestos de plomo en la solución nutritiva como se muestra en la **Tabla IV**, pues en términos de Pb disponible para la planta los tratamientos fueron iguales ya que 25% del Pb en el segundo tratamiento formó un sólido con el fosfato de la solución. En cambio, con 50 y 100 mg Pb L⁻¹, el Pb-EDTA se incrementó fuertemente lo que concuerda con la teoría que sugiere que el Pb puede ser asimilado como quelato e incrementar su movilidad dentro de la planta (Wallace 1983, Marschner *et al.* 1986).

Efecto de la acumulación de plomo en el follaje sobre la fotosíntesis

De acuerdo con los valores de los coeficientes obtenidos, la variable CPbFOLL es la que tuvo el mayor poder discriminador entre grupos en CAN1, pero en CAN2 es el CLOROF, ambas explicando el 96% de la variabilidad total:

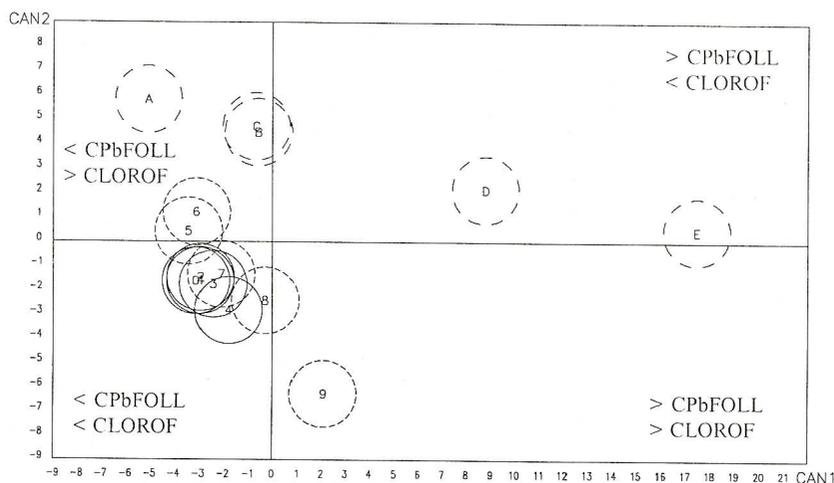
$$\text{CAN1} = -1.2144\text{CLOROF} - 0.5139\text{FOTOS} + 0.2508\text{CONEST} \\ - 0.0351\text{CO}_2\text{INT} + 5.7986\text{CPbFOLL}$$

$$\text{CAN2} = 3.0561\text{CLOROF} - 0.0908\text{FOTOS} - 0.6372\text{CONEST} \\ - 0.0684\text{CO}_2\text{INT} - 0.5252\text{CPbFOLL}$$

TABLA IV. PORCENTAJES DE ESPECIES DE PLOMO PRESENTES EN LA SOLUCIÓN NUTRITIVA, CALCULADAS CON EL MODELO GEOCHEM

Tratamiento	Pb ²⁺	Pb-EDTA	Pb-PO ₄ (sólido)	Pb-SO ₄
10 mg L ⁻¹	2.25	89.24	7.70	0.50
20 mg L ⁻¹	0.75	50.02	48.96	0.02
50 mg L ⁻¹	0.50	74.40	24.97	0.00
100 mg L ⁻¹	0.00	100.00	0.00	0.00

(variación explicada = 22.9%)



(variación explicada = 73.1)

Etapas de desarrollo	Vegetativa				Espigamiento					Madurez fisiológica					
Tratamiento (mg de Pb L ⁻¹)	Testigo	10	20	50	100	Testigo	10	20	50	100	Testigo	10	20	50	100
Símbolo de grupo	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	A	B	C	D	E

Fig. 3. Efecto de los tratamientos de plomo en las tres etapas de desarrollo del trigo para el grupo de las variables fisiológicas: contenido de clorofila (CLOROF), fotosíntesis (FOTOS), conductancia estomática (CONEST) y CO₂ intercelular (CO₂INT), incluyendo la concentración de Pb en el follaje (CPbFOLL)

Las plantas tratadas con 10, 20 y 50 mg Pb L⁻¹ fueron estadísticamente iguales a las del grupo testigo, en cuanto a contenido de CLOROF, FOTOS y CONEST durante la etapa vegetativa (**Fig. 3**). De forma similar, Fodor *et al.* (1996) reportaron que la actividad fotosintética de las plantas tratadas con Pb en estados tempranos de su desarrollo no fue significativamente diferente a la encontrada en las plantas testigo. Así mismo, Stefanov *et al.* (1993) tampoco observaron reducción en la fotosíntesis de maíz con la aplicación de 78 mg Pb (CH₃COO)₂ L⁻¹ pero con 157 mg Pb (CH₃COO)₂ L⁻¹ notaron disminución del 15%.

Al igual que el efecto favorable que tuvo el Pb sobre el crecimiento de las plantas de trigo con respecto a la fotosíntesis, hubo un incremento del 8% en la eficiencia fotosintética de las plantas con 36.2 μg Pb g⁻¹ (**Tabla III**). Estos resultados son consistentes con los descritos por Porter y Sheridan (1981) citados por Balsberg (1989) quienes trataron alfalfa con 100 μg Pb L⁻¹. Así como con lo observado en frijol por Yordanov y Merakchiiska (1976) citados por Koeppel (1981). Sin embargo, las plantas con el tratamiento de 100 mg Pb L⁻¹ fueron significativamente diferentes por presentar disminución en el CLOROF de 9.8 % con respecto al testigo (**Fig. 3**) debido a la acumulación de 61.4 μg Pb g⁻¹.

De acuerdo con los resultados obtenidos fue interesante resaltar el efecto benéfico de este metal pesado a bajas concentraciones.

En la etapa de espigamiento tampoco hubo efecto estadísticamente significativo sobre FOTOS. La eficiencia fotosintética se incrementó hasta 15 % en las hojas de las plantas tratadas con 50 mg Pb L⁻¹, pero en las expuestas a 100 mg Pb L⁻¹ fue igual a la del testigo. El contenido de CLOROF disminuyó gradualmente en las hojas de las plantas de los tres primeros niveles de tratamiento y solamente en las hojas de las plantas con 100 mg Pb L⁻¹ se presentaron disminuciones de 32%, que ubicó a estas plantas en el cuadrante donde se mostraron las disminuciones mayores de CLOROF (**Fig. 3**). En las hojas de estas plantas se observaron franjas cloróticas (**Fig. 4**) que indicaron toxicidad por Pb (Lane y Martin 1980). Kacabová y Nátr (1986) y Kastori *et al.* (1998) reportaron que el contenido de clorofila decreció al incrementarse el Pb en la solución nutritiva. En un estudio con gramíneas, se encontró que el Pb (NO₃)₂ aplicado en la solución de cultivo, causó disminución de 26 % en el contenido de clorofila de *Avena sativa* (Fiussello y Molinari 1973 citado por Koeppel 1981). Al respecto, Woolhouse (1983) y Scarponi y Perucci (1984), mencionaron que la clorosis fue un síntoma de toxicidad por Pb, resultante de la extrema sen-

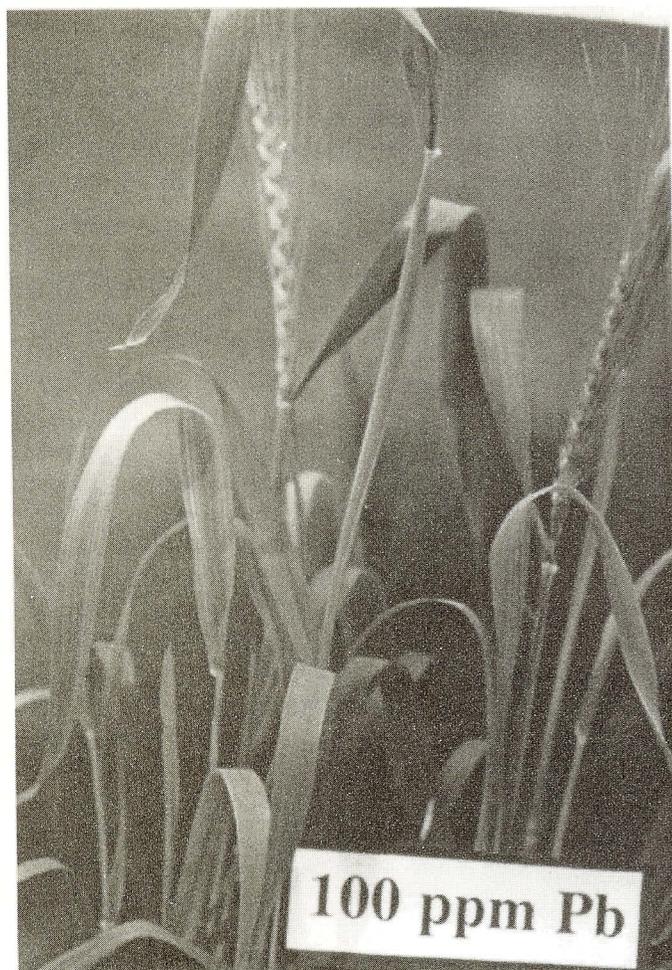


Fig. 4. Franjas cloróticas en las hojas de las plantas de trigo en la etapa de espigamiento

sibilidad de ciertas enzimas a los iones Pb^{2+} , que están involucradas en la biosíntesis de clorofila.

Por el contrario, en la etapa de madurez fisiológica el contenido de CLOROF en las hojas tratadas con 100 mg Pb L^{-1} mostró tan solo disminución de 12.8%. Los mayores decrementos en la FOTOS fueron de 11% con este tratamiento. En contraste, la concentración de Pb acumulada en el follaje se incrementó cinco veces con relación al tratamiento con 10 mg Pb L^{-1} (Tabla III).

Es importante indicar que CONEST en todos los tratamientos de las tres etapas de desarrollo mostró valores iguales a los de las plantas testigo. Hay evidencias del efecto negativo de los metales pesados sobre la transpiración y la fijación del CO_2 , dando como resultado el cierre de los estomas. Este es un efecto directo *in vivo* sobre la regulación de la apertura estomática por el ion Pb^{2+} que fue reportado por Carlson *et al.* (1975) citado por Sheoran y Singh (1993). Con base en los coeficientes canónicos estandarizados, la variable CONEST no fue de interés para explicar el efecto del Pb en la eficiencia fotosintética de las plantas de trigo. En contras-

te, Stefanov *et al.* (1993) describieron aumentos de la resistencia estomática en maíz de 17 y 36 %, con tratamientos de 50 y 100 mg Pb L^{-1} , aplicando $Pb(CH_3COO)_2$. Sin embargo, la limitante para la comparación fue la diferencia en el mecanismo de fijación del CO_2 entre especies.

Efecto de la acumulación de plomo en el follaje sobre la nutrición

Los coeficientes de las variables PFOLL y CPbFOLL en ambas variables canónicas (CAN1 y CAN2) explicaron el efecto tóxico del Pb en la nutrición. Asimismo, los contenidos de NFOLL y MnFOLL adquirieron importancia en CAN1 y en CAN2 fueron los contenidos de KFOLL y CaFOLL. La suma de estas dos variables canónicas explicó el 93.1% de la variabilidad total del efecto del Pb en el nivel nutrimental de las plantas:

$$\begin{aligned} \text{CAN1} = & -3.0065\text{NFOLL} + 5.2770\text{PFOLL} - 1.2566\text{KFOLL} \\ & + 0.5509\text{CaFOLL} - 2.3373\text{MgFOLL} + 0.0398\text{ZnFOLL} \\ & + 2.8573\text{MnFOLL} + 1.0232\text{FeFOLL} + 4.9258\text{CPbFOLL} \end{aligned}$$

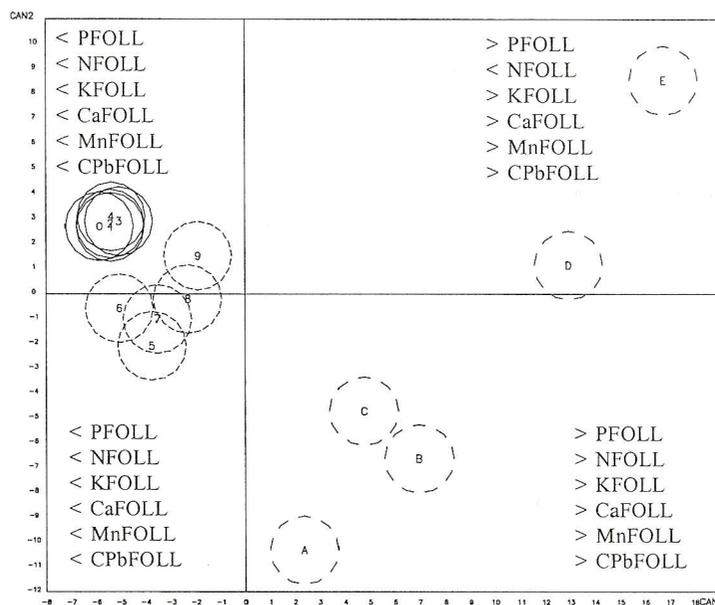
$$\begin{aligned} \text{CAN2} = & 0.1376\text{NFOLL} - 3.8428\text{PFOLL} + 1.8432\text{KFOLL} \\ & - 1.5806\text{CaFOLL} + 1.1692\text{MgFOLL} - 0.8826\text{ZnFOLL} \\ & - 0.5420\text{MnFOLL} - 0.6233\text{FeFOLL} + 3.4156\text{CPbFOLL} \end{aligned}$$

En la Figura 5 se observó que en la etapa vegetativa el contenido de nutrimentos en el follaje de las plantas no mostró diferencias significativas entre tratamientos. Ha sido reportado que la adición de 0.5, 5 y 50 mg Pb L^{-1} a la solución nutritiva no interfirió en la absorción de los nutrimentos K, Ca, Mg, P, Zn, Mn y Fe en cebada (Broyer *et al.* 1972) y tampoco sobre el contenido de micronutrimentos de arroz que creció en $20.7 \text{ mg Pb L}^{-1}$ durante 21 días (Wallace *et al.* 1977).

Los contenidos de NFOLL y PFOLL fueron incrementados alrededor del 15% en trigo que creció en los cuatro tratamientos y el contenido de KFOLL únicamente con los de 50 y 100 mg Pb L^{-1} . De acuerdo con Chernykh (1991), el Pb puede incrementar los contenidos de nitrógeno en las plantas, lo cual está posiblemente asociado con funciones de protección o desintoxicación por la formación de quelatos (Grill *et al.* 1985, Keltjens y van Beusichem 1998), más específicamente fitoquelatinas, que es un mecanismo que han desarrollado las plantas que crecen bajo estrés por metales pesados (Keltjens y van Beusichem 1998). De forma similar, en plantas de girasol los contenidos de P excedieron significativamente a los de las plantas testigo cuando fueron aplicados 20 mg Pb L^{-1} (Kastori *et al.* 1998).

Khan y Khan (1983) describieron incrementos en el contenido de K en plantas tratadas con 75 mg Pb L^{-1} , que pudieron ser consecuencia de la poca influencia de los iones Pb^{2+} en la translocación de K^+ de las raíces al

(variación explicada = 66.4%)



(variación explicada = 26.7%)

Etapa de desarrollo	Vegetativa				Espigamiento					Madurez fisiológica					
Tratamiento (mg de Pb L ⁻¹)	Testigo	10	20	50	100	Testigo	10	20	50	100	Testigo	10	20	50	100
Símbolo de grupo	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	A	B	C	D	E

Fig. 5. Efecto de los tratamientos de plomo en las tres etapas de desarrollo del trigo en el contenido de nutrientes (N, P, K, Ca, Mg, Zn, Mn y Fe) en el follaje de las plantas, incluyendo la concentración de Pb en el follaje (CPbFOLL)

follaje, como fue indicado por Trivedi y Erdei (1992). Los resultados mostraron que concentraciones de 61.4 µg Pb g⁻¹ (Tabla III) no tuvieron efecto tóxico debido a que no afectaron la absorción y la acumulación de nutrientes en el follaje. Al respecto, Wallace *et al.* (1977), describieron el mismo efecto con concentraciones de 94 µg Pb g⁻¹ en arroz.

También se observaron aumentos pequeños en los contenidos de ZnFOLL y MnFOLL en las plantas con respecto a los del grupo testigo. Este comportamiento sucedió en otros cultivos, *e.g.* Khan y Khan (1983), encontraron incrementos significativos en las concentraciones de Mn en el follaje de plantas de jitomate. De acuerdo con los resultados obtenidos en esta etapa de desarrollo, Meharg (1993), mencionó que el plasmalema de las células de las raíces tuvo una función importante en la tolerancia de las plantas a los metales pesados, en donde el mantenimiento de la integridad de las membranas fue la característica principal mecanismo. A este respecto, Kennedy y Gonçalves (1987), indicaron que en comparación con otros iones de metales pesados como Zn²⁺, Cd²⁺, Hg²⁺ y Cu²⁺, el Pb²⁺ tiene menos efecto sobre la salida de H⁺ y en la despolarización de la

diferencia de potencial de la membrana plasmática.

En la etapa de espigamiento, el contenido de nutrientes en el follaje decreció en función a las dosis de Pb en la solución nutritiva (Fig. 5). Con el tratamiento de 100 mg Pb L⁻¹, KFOLL, PFOLL y MgFOLL presentaron disminuciones de 40.8, 39.6 y 23.7 %, respectivamente. El contenido de KFOLL fue el más afectado en esta etapa de desarrollo y CaFOLL y NFOLL fueron los menos afectados. En esta etapa de desarrollo no hubo diferencias del contenido de MnFOLL en las plantas en los cuatro tratamientos de Pb. La absorción de Zn y Fe fueron las más afectadas, el contenido de ZnFOLL disminuyó 25 % en las plantas tratadas con 10 mg Pb L⁻¹ y 47.9 % en las de 100 mg Pb L⁻¹ y el contenido de FeFOLL mostró reducciones del 37.8 y 42 % en el follaje de las plantas expuestas a 20 y 100 mg Pb L⁻¹, respectivamente lo que correspondió con las reducciones significativas de clorofila.

En la etapa de madurez fisiológica los contenidos de PFOLL y NFOLL con el tratamiento de 100 mg Pb L⁻¹ descendieron en 31.8 y 36.5 %, respectivamente. Al respecto, Bhandal y Kaur (1992) comprobaron en pruebas *in vivo* que la actividad nitrato reductasa y la ab-

sorción de NO_3^- en las raíces de *Triticum aestivum* disminuyeron con altas concentraciones de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ en la solución de crecimiento, que posiblemente pudo ser la causa del decremento en los contenidos de NFOLL en el trigo, por encontrarse en mayor proporción los NO_3^- en la solución nutritiva. El contenido de CaFOLL mostró descensos de alrededor de 20 % con tratamientos de 50 y 100 mg Pb L^{-1} y de 6 % con 10 y 20 mg Pb L^{-1} . Los contenidos de MgFOLL y KFOLL presentaron porcentajes de disminución menores del 20%.

Los contenidos de MnFOLL de los cuatro tratamientos no fueron afectados por la presencia del ion Pb^{2+} en la solución nutritiva y fueron similares a los del testigo, opuesto a lo reportado por Patel *et al.* (1977), quienes mencionaron que los contenidos de Mn en las hojas, tallos y raíces de plantas de frijol, fueron significativamente menores con 207.2 mg Pb L^{-1} en la solución nutritiva. Por el contrario los contenidos de ZnFOLL mostraron disminuciones graduales en función de los incrementos de Pb; la reducción varió de 12.9 % con el tratamiento de 10 mg Pb L^{-1} a 56.2 % con el de 100 mg Pb L^{-1} . Los contenidos de FeFOLL mostraron disminuciones de menor magnitud, observándose con 100 mg Pb L^{-1} reducciones de tan sólo 29.1 %. Esta variable presentó oscilaciones en las tres etapas de desarrollo, pero al final del período de crecimiento la disminución fue menor en comparación con el contenido de ZnFOLL. Una posible explicación fue aportada por Fodor *et al.* (1996), quienes encontraron que el Pb pudo estimular la translocación del Fe cuando éste fue suministrado como Fe-EDTA. Con base en los porcentajes de disminución de los nutrimentos cuantificados en el follaje de las plantas, se notó que acumulaciones de 372.6 $\mu\text{g Pb g}^{-1}$ no provocaron deficiencias nutrimentales severas que repercutieran en el metabolismo de las plantas, pero acumulaciones de 1915.2 $\mu\text{g Pb g}^{-1}$ sí produjeron deficiencias severas.

Efecto de la acumulación de plomo en las espigas sobre la nutrición

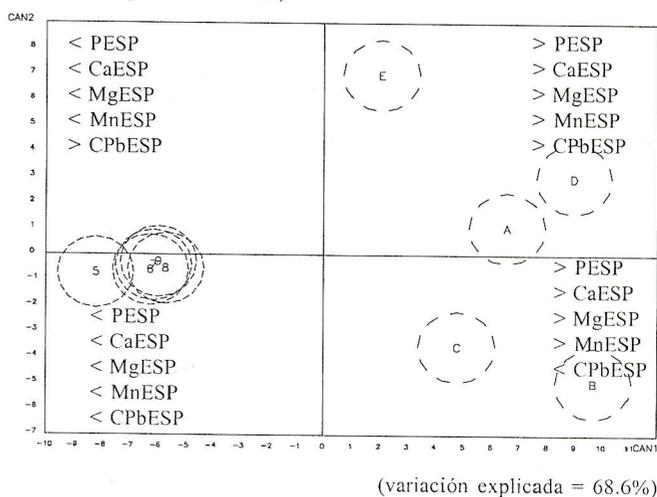
Con respecto al efecto tóxico del Pb sobre el contenido de nutrimentos en las espigas de las plantas de trigo, se tiene que con una dimensionalidad $r=2$ y un 91.7% de la variabilidad total explicada fue posible describir este efecto. Los valores de los coeficientes canónicos estandarizados indicaron que en CAN1, las variables MgESP, PESP y MnESP fueron las que discriminaron principalmente a los grupos y en CAN2 las variables PESP y CaESP lo hicieron como se observa a continuación:

$$\begin{aligned} \text{CAN1} = & -1.0861\text{NESP} + 7.3624\text{PESP} + 0.4416\text{KESP} \\ & + 6.3602\text{CaESP} - 13.0491\text{MgESP} - 1.2410\text{ZnESP} \\ & + 7.6089\text{MnESP} - 0.4139\text{FeESP} + 1.2299\text{CPbESP} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{CAN2} = & 2.4088\text{NESP} - 5.6093\text{PESP} + 0.2711\text{KESP} \\ & - 4.7549\text{CaESP} + 0.0916\text{MgESP} + 3.9677\text{ZnESP} \\ & + 0.5010\text{MnESP} + 2.2004\text{FeESP} + 3.2940\text{CPbESP} \end{aligned}$$

La Figura 6 indicó que en la etapa de espigamiento los contenidos de nutrimentos en las espigas de los cuatro tratamientos fueron iguales entre sí, pero difirieron estadísticamente con el contenido de las plantas testigo. Aparentemente no hubo problemas en el transporte de N y P a los órganos reproductores de las plantas, lo que posiblemente fue el resultado de efecto menores sobre la absorción y la acumulación de estos nutrimentos en el follaje, pero los contenidos de CaESP, MgESP y KESP disminuyeron considerablemente (Fig. 6) a pesar de que la cuantificación de las concentraciones de Pb en las espigas fue muy baja (Tabla III). Esto indica que el Pb se transportó en pequeñas cantidades hacia los órganos reproductores en esta etapa de desarrollo. Es de interés señalar que los contenidos de NESP, ZnESP y FeESP en las plantas de los tres primeros tratamientos mostraron incrementos con respecto al testigo, cuantificándose en las espigas de las plantas tratadas con 50 mg Pb L^{-1} más del 20%. Por el contrario el contenido de MnESP no tuvo variaciones. A diferencia de lo observado en la etapa de espigamiento, en la etapa de madurez fisiológica la acumulación del N y del P disminuyó 40.8 y 48.3%, respectivamente, en las espigas de las plantas tratadas con 100 mg Pb L^{-1} , coincidiendo con los bajos contenidos de N y P en el follaje de las plantas. Asimismo los contenidos de CaESP, MgESP y KESP se acumularon en mayores proporciones, disminuyendo en tan sólo 26.2, 21.4 y 21.8 %,

(variación explicada = 14.7%)



(variación explicada = 68.6%)

Etapa de desarrollo	Espigamiento					Madurez fisiológica				
	Testigo	10	20	50	100	Testigo	10	20	50	100
Símbolo de grupo	5	6	7	8	9	A	B	C	D	E

Fig. 6. Efecto de los tratamientos de plomo en las etapas de espigamiento y madurez fisiológica del trigo en el contenido de nutrimentos (N, P, K, Ca, Mg, Zn, Mn y Fe) incluyendo la concentración de Pb en las espigas (CPbESP)

respectivamente. Con respecto a la acumulación de micronutrientes, los contenidos de ZnESP decrecieron considerablemente en 64.5 % en las espigas de las plantas expuestas a 100 mg Pb L⁻¹. El FeESP se redujo en 34.3% y los contenidos de MnESP en tan sólo 27.1% en las espigas de las plantas con este mismo tratamiento. Este comportamiento también se observó con la acumulación de Zn y Fe en el follaje de las plantas, pero los contenidos de Mn en el follaje no variaron con los tratamientos, lo que indicó que posiblemente el Pb también compite con el Mn, como con los otros micronutrientes en su transporte a las espigas debido a las altas concentraciones de Pb acumuladas en éstas (**Tabla III**).

No se presentaron síntomas drásticos de toxicidad en el trigo con tratamientos de 50 y 100 mg Pb L⁻¹, a pesar de las altas acumulaciones de Pb en el follaje y en las espigas. Al respecto, Malone *et al.* (1974) y Baker (1987) mencionaron que la toxicidad fue función de la capacidad de desintoxicación de las plantas, es decir de su capacidad de secuestrar a los metales pesados a nivel celular, donde no pudieron interferir en las sensibles actividades metabólicas. La desintoxicación pudo llevarse a cabo por medio de enlaces con las paredes celulares y las membranas (Malone *et al.* 1974), por inducción de fitoquelatinas (Grill *et al.* 1985, Keltjens y van Beusichem 1998), por acumulación en las vacuolas (Salt y Wagner 1993) y por la quelatación con compuestos orgánicos (Tomsett y Thurman 1988).

Los resultados de este estudio no reflejaron lo que ocurre en los suelos, donde las condiciones son mucho más complejas y la solubilidad del Pb está controlada por varias especies químicas. Sin embargo, proporcionaron información importante acerca de las implicaciones que tuvo la introducción de compuestos formadores de complejos o quelatos a los cuerpos de agua y a los suelos. Éstos pueden modificar fuertemente el comportamiento químico de elementos como el Pb y como consecuencia incrementar la probabilidad de absorción por las plantas.

CONCLUSIONES

En la etapa vegetativa, las plantas de trigo acumularon concentraciones de Pb en el follaje que no fueron tóxicas para su crecimiento. El tratamiento con 10 mg Pb L⁻¹ estimuló el crecimiento, la eficiencia fotosintética y la absorción de nutrientes tales como N, P, K, Zn y Mn.

En la etapa de espigamiento, los primeros síntomas de toxicidad y el efecto sobre la absorción de nutrientes se manifestaron en las plantas tratadas con 50 y 100 mg Pb L⁻¹; los contenidos de clorofila y hierro fueron afectados primero, ocasionando la aparición de franjas cloróticas en las hojas de las plantas expuestas a 100 mg Pb L⁻¹, siendo éste un síntoma característico de toxicidad por Pb.

En la etapa de madurez fisiológica las concentraciones

de Pb acumuladas en el follaje y en las espigas fueron altas. Las concentraciones de 1915.24 µg Pb g⁻¹ en el follaje causaron disminuciones leves en el crecimiento y en la eficiencia fotosintética; de esta cantidad solamente se acumuló en el grano el 5%, y por el contrario, la absorción y el transporte de nutrientes fue seriamente afectada, ocasionando deficiencias en el follaje y en las espigas, con excepción del contenido de Mn.

Los resultados sugieren que el Pb tiene efectos tóxicos a concentraciones relativamente elevadas y, dependiendo de la etapa de desarrollo, puede alterar el balance nutricional y los procesos fisiológicos de la planta, tales como la síntesis de clorofila, la fotosíntesis y el crecimiento. El Pb quelatado con EDTA puede ser absorbido por el trigo y movilizarse dentro de las plantas.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. D.R. Parker por proporcionar la versión 2.0 de GEOCHEM-PC. La primera autora está muy reconocida al CONACyT por la beca otorgada.

REFERENCIAS

- Alloway J.B. (1995). Soil processes and the behaviour of heavy metals. En: *Heavy metals in soils* (B. J. Alloway, Ed), Blackie, Londres. 2a. Ed, pp. 11-37.
- Baker A.J.M. (1987). Metal tolerance. *New Phytol.* 106 (Suppl.), 93-111.
- Balsberg A.M.P. (1989). Toxicity of heavy metals (Zn, Cu, Cd, Pb) to vascular plants. *Water, Air, Soil Pollut.* 47, 287-319.
- Bhandal I.S. y Kaur H. (1992). Heavy metal inhibition of nitrate uptake and *in vivo* nitrate reductase in roots of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Indian J. Plant Physiol.* 35, 281-284.
- Broyer T. C., Johnson C.M. y Paull R.E. (1972). Some aspects of lead in plant nutrition. *Plant and Soil* 36, 301-313.
- Chernykh N.A. (1991). Alteration of the concentrations of certain elements in plants by heavy metals in the soil. *Soviet Soil Sci.* 23, 45-53.
- Dollard G.J. y Lepp N.W. (1980). Differential mobility of lead and zinc in phloem tissue of sycamore (*Acer pseudoplatanus* L.). *Z. Pflanzenphysiol.* 97, 409-415.
- Fodor F., Sárvári E., Láng F., Szigeti Z. y Cseh E. (1996). Effects of Pb and Cd on cucumber depending on the Fe-complex in the culture solution. *J. Plant Physiol.* 148, 434-439.
- Grill E., Winnacker E. L. y Zenk M. N. (1985). Phytochelatin: The principal heavy-metal complexing peptides of higher plants. *Science* 230, 674-676.
- Harter R. D. y Maidu R. (1998). Role of metal organic complexation in metal sorption by soils. *Adv. Agron.* 55, 219-263.
- Hewitt E.J. (1966). *Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition*. Commonwealth Agricultural Bu-

- reau, Maidstone, Kent, 547 p.
- Hoagland D.R y Arnon D.I. (1950). *The water-culture method for growing plants without soil*. Circ.347, Berkeley, Calif. Agric. Exp. Station, University of California.
- John M. K. (1977). Varietal response to lead by lettuce. *Water, Air, Soil Pollut.* 8, 133-44.
- Jones J. B y Case V. W. (1990). Analysing plant tissue samples. En: *Soil testing and plant analysis* (R.L. Westerman, Ed.). Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin. pp. 404-409.
- Kacabová P. y Nátr L. (1986). Effect of lead on growth characteristics and chlorophyll content in barley seedlings. *Photosynthetica* 20, 411-417.
- Kastori R., Plesnicár M., Sakac Z., Pankovic D. y Arsenijevic-Maksimovic I. (1998). Effect of excess lead on sunflower growth and photosynthesis. *J. Plant Nutr.* 21, 75-85.
- Keltjens W.G. y van Beusichem M.L. (1998). Phytochelatin as biomarkers for heavy metal stress in maize (*Zea mays* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.): combined effects of copper and cadmium. *Plant and Soil* 203, 119-126.
- Kennedy C.D. y Gonçalves F.A.N. (1987). The action of divalent zinc, cadmium, mercury, copper and lead on the trans-root potential and H⁺ efflux of excised roots. *J. Exp. Bot.* 38, 800-817.
- Khan S. y Khan N.N. (1983). Influence of lead and cadmium on the growth and nutrient concentration of tomato (*Lycopersicon esculentum*) and egg-plant (*Solanum melongena*). *Plant and Soil* 74, 387-394.
- Koeppel D.E. (1981). Lead. Understanding the minimal toxicity of lead in plants. En: *Effect of heavy metal pollution on plant* (N.W. Lepp, Ed.). Applied Science Publishers, Londres, Vol. I, pp. 55-76.
- Krzanowsky W.J. (1993). *Principles of multivariate analysis: a user's perspective* (Oxford Statistical Science Series), Oxford Science Publications, Clarendon Press, Oxford, Vol. 3, 563 p.
- Lane S.D. y Martin E.S. (1980). An evaluation of the effect of lead on the gross morphology of *Raphanus sativus*. *Z. Pflanzenphysiol.* 98, 437-452.
- Malone C., Koeppel D.E. y Miller R. J. (1974) Localization of lead accumulated by corn plants. *Plant Physiol.* 53, 388-394.
- Meharg A.A. (1993). The role of the plasmalemma in metal tolerance in angiosperms. *Physiol. Plant.* 88, 191-198.
- Marschner H., Romheld V. y Kissel M. (1986). Different strategies in higher plants on mobilizing and uptake of iron. *J. Plant Nutr.* 9, 695-713.
- Martell E. A. (1975). The influence of natural and synthetic ligands on the transport and function of metal ions in the environment. *Pure and Applied Chemistry, IUPAC* 44, 81-113.
- Norvell. W. A. (1991). *Reactions of metal chelates in soils and nutrient solutions*. En: *Micronutrients in agriculture* (J.J. Mortvedt, P.M. Giordano, W.L. Lindsay, Eds.). 2a. Ed. Soil Science Soc. Am., Madison, Wisconsin.
- Patel P.M., Wallace A. y Romney E.M. (1977). Effect of chelating agents on phytotoxicity of lead and lead transport. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 8, 733-740.
- Salt D.E. y Wagner G.J. (1993). Cadmium transport across tonoplast of vesicles from oat roots. Evidence for a Cd²⁺/H⁺ antiport activity. *J. Biol. Chem.* 268, 12297- 12302.
- Sauerbeck D.R. (1991). Plant, element and soil properties governing uptake and availability of heavy metals derived from sewage sludge. *Water, Air, Soil Pollut.* 57-58, 227-237.
- Sheoran I.S. y Singh R. (1993). Effect of heavy metals on photosynthesis in higher plants. En: *Photosynthesis: Photo-reactions to plant productivity*. (Y.P. Abrol, P. Mohanty y Govindjee, Eds.), Kluwer, pp. 451-468.
- Stefanov K., Popova I., Kamburova E., Pancheva T., Kimenov G., Kuleva L. y Popov S. (1993). Lipid and sterol changes in *Zea mays* caused by lead ions. *Phytochemistry* 33, 47-51.
- Scarponi L. y Perucci P. (1984). Effect of some metals and related metal-organic compounds on ALA-dehydratase activity of corn. *Plant Soil* 79, 69-75.
- Thomsett A.B. y Thurman D.A. (1988). Molecular biology of metal tolerances of plants. *Plant, Cell Environ.* 11, 383-394.
- Trivedi S. y Erdei L. (1992). Effects of cadmium and lead on the accumulation of Ca²⁺ and K⁺ and on the influx and translocation of K⁺ in wheat of low and high K⁺ status. *Physiol. Plant.* 84, 94-100.
- Wallace A., Cha J.W., Chaudhry F.M., Kinnear J. y Romney E.M. (1977). Tolerance of rice plants to trace metals. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 8, 809-817.
- Wallace A. (1983). A one decade update on chelated metals for supplying micronutrients to crops. *J. Plant. Nutr.* 6, 429-438.
- Woolhouse H. W. (1983). Toxicity and tolerance in the responses of plants to metals. En: *Physiological plant ecology III. Encyclopedia of Plant Physiology*. (O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond y H. Ziegler, Eds.), Springer-Verlag, Berlin, Vol. 12C, pp. 245-300.