



Acta Agronómica

ISSN: 0120-2812

ISSN: 2323-0118

Universidad Nacional de Colombia

Pernía, Beatriz; Añazco, Karen; Mero, Mariuxi; Mayía, Yerimar; Cobos, Patricio
Efectos del cadmio sobre la germinación y crecimiento inicial
de cinco variedades de *Oryza sativa* L. cultivadas en Ecuador
Acta Agronómica, vol. 70, núm. 1, 2021, Enero-Marzo, pp. 82-92
Universidad Nacional de Colombia

DOI: <https://doi.org/10.14482/INDES.30.1.303.661>

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169971425010>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en [redalyc.org](https://www.redalyc.org)

UAEM [redalyc.org](https://www.redalyc.org)

Sistema de Información Científica Redalyc
Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso
abierto

Efectos del cadmio sobre la germinación y crecimiento inicial de cinco variedades de *Oryza sativa* L. cultivadas en Ecuador

Effects of cadmium on the germination and initial growth of five varieties of *Oryza sativa* cultivated in Ecuador

Beatriz Pernía¹, Karen Añazco², Mariuxi Mero³, Yerimar Mayía⁴, Patricio Cobos⁵.

¹Universidad de Guayaquil. Instituto de Investigaciones de Recursos Naturales (IIRN). Guayaquil, Ecuador. ✉ beatriz.pernias@ug.edu.ec

²Universidad de Guayaquil. Guayaquil, Ecuador. ✉ karen.anazcor@ug.edu.com

³Universidad de Guayaquil. Guayaquil, Ecuador. ✉ mariuxi.merov@ug.edu.ec

⁴Universidad de Guayaquil. Guayaquil, Ecuador. ✉ yerimar.mayiar@ug.edu.ec

⁵Universidad de Guayaquil. Guayaquil, Ecuador. ✉ vicente.cobospa@ug.edu.ec



<https://doi.org/10.15446/acag.v70n1.87636>

2021 | 70-1 p 82-92 | ISSN 0120-2812 | e-ISSN 2323-01180118 | Rec.: 26-05-2020. Acep.: 08-07-2021

Resumen

El cadmio es un metal pesado tóxico que afecta el crecimiento y la productividad de las plantas. En Ecuador se ha demostrado que existe contaminación por este metal en suelos agrícolas. El objetivo de la presente investigación fue evaluar los efectos del cadmio sobre la germinación y crecimiento inicial de cinco variedades de *Oryza sativa* L. cultivadas en Ecuador con la finalidad de identificar la tolerancia general al Cd de los diferentes cultivares. Se expusieron semillas de las variedades 'INIAP-11', 'INIAP-14', 'INIAP-FL-Arenillas', 'INIAP-FL-Cristalino' y 'SFL-011' a diferentes concentraciones de cadmio (0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 y 8 mg L⁻¹ Cd) durante ocho días y se determinó el porcentaje de mortalidad, el porcentaje de germinación (PG), el tiempo y la velocidad media de germinación (TMG-VMG), la longitud de la radícula e hipocótilo y se evaluó el efecto del metal mediante el cálculo del índice de tolerancia (IT), índice integral de fitotoxicidad (IIF) y la concentración inhibitoria media (CI₅₀). El Cd no afectó el PG, TMG ni la VMG. Hubo una correlación inversamente proporcional entre la concentración de cadmio y la longitud de las radículas (P < 0.05). La variedad más tolerante fue 'SFL-011' con un IC₅₀ de 4.02 mg L⁻¹, y se observó estímulo de crecimiento inicial a bajas concentraciones de Cd, reflejado en un IIF negativo y un IT superior a 1. La variedad 'SFL-011' fue la más tolerante al Cd, seguida por 'INIAP-FL-Arenillas'. La longitud de las radículas es un parámetro que podría utilizarse como bioindicador de la contaminación con cadmio en las variedades de arroz.

Palabras claves: índice integral de fitotoxicidad; 'INIAP-FL-Arenillas'; metales pesados; 'SFL-011'; tolerancia.

Abstract

Cadmium is a heavy toxic metal that affects the growth and productivity of plants. In Ecuador, it has been demonstrated that there is contaminated by this metal in agricultural soils. The objective of the present research was to evaluate the effects of cadmium on the germination and initial growth of five varieties of *Oryza sativa* L. cultivated in Ecuador, with the final purpose of identifying the general tolerance to Cd of the different cultivars. The varieties of seeds of 'INIAP-11', 'INIAP-14', 'INIAP-FL-Arenillas', 'INIAP-FL-Cristalino', and 'SFL-011' were exposed to different concentrations of cadmium (0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 y 8 mg L⁻¹ Cd) during eight days, through which it was determined the mortality percentage, the germination percentage (PG), the time and average speed germination (TMG-VMG), and the length of the radicle and hypocotyl. The effect of the metal was evaluated by calculating the tolerance index (TI), the integral phytotoxicity index (IIF), and the mean inhibitory concentration (CI₅₀). The Cd didn't affect the PG, TMG, nor the VMG. There was an inversely proportional correlation between the cadmium concentration and the length of the radicles (P < 0.05). The most tolerant variety was the 'SFL-011' with an IC₅₀ of 4.02 mg L and it was observed initial growth stimulation at low concentrations of Cd, reflected in a negative IIF and in an IT superior to 1. The variety 'SFL-011' was the most tolerant one to Cd, followed by 'INIAP-FL-Arenillas'. The length of the radicles is a parameter that could be used as a bio-indicator of the contamination of cadmium on rice varieties.

Keywords: integral phytotoxicity index, 'INIAP-FL-Arenillas', heavy metals, 'SFL-011', tolerance.

Introducción

La contaminación por metales pesados, en especial por cadmio ha generado preocupación a nivel mundial por presentar un riesgo para el ambiente y para la salud humana. En los suelos agrícolas, el Cd puede alcanzar un nivel alto debido a la aplicación de fertilizantes, abonos y lodos de depuradoras, riego con aguas residuales industriales y deposición atmosféricas por actividades industriales y urbanas (Liu *et al.*, 2007). Sin embargo, la acumulación de Cd en los suelos agrícolas se ha atribuido principalmente a la fertilización por períodos prolongados con fertilizantes fosfatados, mismos que pueden contener altas concentraciones de Cd, dependiendo del origen de la roca fosfática utilizada para su fabricación (Kuo *et al.*, 2007; Ramírez *et al.*, 2016).

Una vez que el Cd llega al suelo, presenta una alta movilidad y es absorbido por las plantas, donde se distribuye rápidamente a través del sistema vascular ocasionando efectos negativos (Sanità di Toppi y Gabbrielli, 1999; Zhang *et al.*, 2009) an important environmental pollutant. The principal mechanisms reviewed here include phytochelatin-based sequestration and compartmentalization processes, as well as additional defense mechanisms, based on cell wall immobilization, plasma membrane exclusion, stress proteins, stress ethylene, peroxidases, metallothioneins, etc. An analysis of data taken from the international literature has been carried out, in order to highlight possible 'qualitative' and 'quantitative' differences in the response of wild-type (non-tolerant. A nivel de las semillas, uno de los principales síntomas que presentan ante condiciones ambientales adversas como la contaminación por metales es la inhibición de la germinación (Bautista *et al.*, 2013).

Otros efectos del cadmio en las plantas son: la inhibición del crecimiento de las raíces, reducción de la biomasa, inhibición de la síntesis de clorofila e incluso la muerte de la planta; además, se ha descrito que el cadmio genera síntomas de toxicidad tales como atrofia y clorosis, los cuales son producto de la interacción directa o indirecta del Cd con el hierro, zinc, fósforo y manganeso (Sanità di Toppi y Gabbrielli, 1999; Pernía *et al.*, 2008) an important environmental pollutant. The principal mechanisms reviewed here include phytochelatin-based sequestration and compartmentalization processes, as well as additional defense mechanisms, based on cell wall immobilization, plasma membrane exclusion, stress proteins, stress ethylene, peroxidases, metallothioneins, etc. An analysis of data taken from the international literature has been carried out, in order to highlight possible 'qualitative' and 'quantitative' differences in the response of wild-type (non-tolerant.

En este sentido, Li *et al.* (2017) mencionaron que en las plantas de arroz el cadmio es fitotóxico y

puede afectar tanto el crecimiento del cultivo como la absorción de nutrientes a través de la interacción con la fotosíntesis, la respiración y la asimilación de nitrógeno en las plantas; además, afirman que el Cd podría alterar la eficiencia en la toma de nutrientes en el sistema suelo-arroz, y en última instancia reducir la producción de arroz.

El arroz (*O. sativa* L.) es uno de los cultivos más importantes en todo el mundo, y no deja de serlo para Ecuador, donde forma parte de la mayoría de los platos típicos del país. Ecuador es uno de los países productores de arroz más importantes de América Latina y donde el mejoramiento genético ha sido ampliamente promovido (Marin *et al.*, 2018).

Esto ha conllevado a que, varias instituciones han desarrollado nuevas variedades de arroz tolerantes a plagas, con mayor rendimiento y calidad de grano; sin embargo, no se han realizado estudios de su tolerancia al cadmio.

Considerando: 1) que se ha descrito contaminación por cadmio en suelos agrícolas de Ecuador con concentraciones que van de 0.22-5.25 mg.kg⁻¹ en cultivos de cacao (Chávez *et al.*, 2015) y de 0.26-2.86 mg.kg⁻¹ Cd en suelos de producción de arroz (Pozo *et al.*, 2011); y 2) Según Zhang *et al.* (2009) la toxicidad del Cd para las plantas y el riesgo para la salud humana podría reducirse considerablemente plantando cultivares de arroz tolerantes a Cd en los campos contaminados con este metal.

El objetivo de la presente investigación fue evaluar los efectos del cadmio sobre la germinación y crecimiento inicial de cinco variedades de *O. sativa* L. que se cultivan en Ecuador.

Materiales y métodos

Material vegetal.

Se obtuvieron semillas certificadas de cinco variedades de arroz que se cultivan en Ecuador por donación del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Las variedades seleccionadas fueron: 'INIAP-11', 'INIAP-14', 'INIAP-FL-Arenillas', 'INIAP-FL Cristalino' y la variedad 'SFL-011' que fue donada por el Biólogo Nelson Villavicencio. Una vez obtenidas las semillas se trasladaron al Instituto de Investigaciones de Recursos Naturales de la Universidad de Guayaquil donde fueron seleccionadas 280 semillas de cada variedad, con pesos y longitudes similares para los bioensayos. Posteriormente, las semillas se esterilizaron con hipoclorito de sodio al 2.5 % por 30 minutos y se lavaron seis veces con agua destilada, según el protocolo de Vadillo *et al.* (2004) distribuida entre 3200 y 4800 m de altitud que sobresale por su gran tamaño y belleza. Es considerada una especie amenazada, por ello la importancia de conocer los

factores que afectan la viabilidad y germinación de sus semillas, su único medio de propagación natural. Se colectaron semillas de *P. raimondii* en 1999 y 2000 de los rodales de Huashta Cruz (distrito Pueblo Libre, departamento Ancash, Perú).

La Tabla 1 muestra las dimensiones del largo y ancho de las semillas para cada variedad. En la Tabla 2 se resumen las propiedades de cada variedad de arroz en cuanto a su origen, rendimiento, y tolerancia a diversas plagas en Ecuador.

Bioensayo.

Una vez esterilizadas, las semillas fueron embebidas por 24 horas en distintas soluciones de cadmio. Se prepararon soluciones de CdNO_3 (Accustandard) a las siguientes concentraciones: 0.25, 0.50, 1, 2, 4 y 8 mg.L^{-1} Cd y se utilizó agua destilada como testigo. Se realizó un diseño experimental completamente aleatorizado con cuatro repeticiones para cada concentración y 40 semillas por tratamiento. Una vez embebidas las semillas por cuádruplicado se colocaron 10 semillas en envases de plástico de 10 cm de diámetro y 10 cm de altura con tapa a la que se le realizaron 10 perforaciones para permitir el intercambio gaseoso. A los envases se les colocó dos capas de papel filtro Whatman n.º1, al cual se le añadió 5 mL de la concentración respectiva de CdNO_3 .

Tabla 1. Medidas de las semillas del arroz y sus variedades.

Variedad	Largo (mm)	Ancho (mm)
'INIAP-11'	10.04 ± 0.45 ^a	2.62 ± 0.09 ^{bc}
'INIAP-14'	9.95 ± 0.38 ^a	2.76 ± 0.54 ^{ab}
'INIAP-FL-Arenillas'	9.58 ± 0.51 ^a	2.81 ± 0.12 ^a
'INIAP-FL-Cristalino'	10.27 ± 0.49 ^a	2.65 ± 0.11 ^{abc}
'SFL-011'	10.04 ± 0.45 ^a	2.57 ± 0.12 ^c
F	1.04	4.26
P	0.390	0.003

Letras iguales indican que no existen diferencias significativas según ANOVA de una vía y test a posteriori de Tukey ($P > 0.05$).

Tabla 2. Resumen de las propiedades de las variedades del arroz estudiado.

Características	'INIAP-11'	'INIAP-14'	'INIAP-FL-Arenillas'	'INIAP-FL-Cristalino'	'SFL-011'
Origen	CIAT	IRRI	INIAP-FLAR	INIAP-FLAR	PRONACA
Rendimiento (t/ha)	5.5-6.8	5.8-11	5.02	5-6.03	6-8
Pyricularia grisea	Resistente	Moderadamente susceptible	Tolerante	Tolerante	Resistente
Manchado de grano (%)	Moderadamente resistente	Moderadamente resistente	Tolerante	Tolerante	Moderadamente resistente
Sarocladium oryzae	Moderadamente resistente	Moderadamente susceptible	Tolerante	Tolerante	Moderadamente susceptible
Virus de la hoja blanca	Moderadamente resistente	Moderadamente resistente	Tolerante	Tolerante	Resistente
Rhizoctonia solani	Tolerante	Tolerante	Tolerante	Tolerante	Tolerante
Tagosodes orizicolus	Resistente	Resistente	Tolerante	Tolerante	-
Acame de plantas	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Tolerante

Los envases con las semillas se colocaron en una cámara de germinación a $24 \pm 1^\circ\text{C}$, humedad (60-80 %), 2000 lux y un fotoperíodo de 12 horas por ocho días.

La longitud de las radículas e hipocótilos fue medida con un vernier calibrado (VWR) a interdiario durante ocho días. Simultáneamente se llevó un control de la humedad y de la temperatura con un termo-higrómetro (ELC) y la luminosidad con un luxómetro (Kyoritsu).

Variables de germinación.

El porcentaje de germinación, el tiempo medio de germinación (TMG), la velocidad media de germinación (VMG), el índice de tolerancia (IT) y el índice integral de fitotoxicidad se calcularon utilizando las fórmulas que se muestran en la Tabla 3.

Concentración inhibitoria media (CI_{50}).

Las concentraciones inhibitorias medias (CI_{50}) para los bioensayos se calcularon utilizando el Programa Probit de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA), empleando el método de interpolación lineal, calculando la concentración de inhibición media de la longitud de la radícula (Environmental Protection Agency [EPA], 1993).

Análisis estadístico.

Los resultados se muestran como medias \pm desviación estándar. Se analizó la normalidad de los datos utilizando la prueba de Anderson-Darling y la igualdad de varianza con el test de Levene. Para determinar si existían diferencias significativas en el porcentaje de germinación, mortalidad, TMG, VG, longitud de las radículas e hipocótilos de las plántulas expuestas a las diferentes concentraciones de Cd se aplicó una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ($P < 0.05$). A fin de comparar las diferencias entre los tratamientos individuales y el control se utilizó una prueba de U de Mann Whitney. Para comparar el largo y ancho de las semillas, la longitud de las radículas e hipocótilos y el IIF de las plántulas expuestas a las diferentes

concentraciones de Cd se aplicó una prueba de ANOVA de una vía y test a posteriori de Dunnett o Tukey ($P \leq 0.05$). Para identificar correlación entre la concentración de Cd y la longitud de las radículas e hipocótilos de las variedades de arroz, se aplicó una prueba de correlación de Spearman. Todos los análisis se realizaron con el programa MINITAB versión 19.

Resultados

Efectos del cadmio sobre la germinación de las variedades de arroz.

El cadmio no afectó significativamente la germinación, el tiempo medio de germinación (TMG) ni la velocidad media de germinación (VMG) de las variedades de arroz estudiadas. La Tabla 3 muestra altos porcentajes de germinación que variaron de 90.00 %-100.00 %. Se observó una tendencia a disminuir el porcentaje de germinación a 8 mg.L⁻¹ de Cd, sin diferencias estadísticas significativas. De igual forma, el tiempo medio de germinación varió de 4.05 a 4.50 días sin observarse diferencias significativas entre tratamientos ni entre variedades y por ende, tampoco varió la velocidad media de germinación, que estuvo en el rango de 0.60-0.67 semillas.día⁻¹. El Cd no afectó el porcentaje de mortalidad siendo este muy bajo de 0-2.5 % (Tabla 4).

Efectos del cadmio sobre el crecimiento inicial de las radículas e hipocótilos de las variedades de arroz.

Con respecto al crecimiento inicial de las plántulas el parámetro más afectado fue la longitud de las radículas donde se observó una fuerte correlación inversamente proporcional entre la concentración de Cd y la longitud de las radículas en las variedades 'INIAP-11' ($r_s = -0.924$; $P = 0.000$), 'INIAP-14' ($r_s = -0.945$; $P = 0.000$), 'INIAP FL-Arenillas' ($r_s = -0.845$; $P = 0.000$) e 'INIAP FL-Cristalino' ($r_s = -0.884$; $P = 0.000$). La única variedad donde se apreció una baja correlación entre el crecimiento y la concentración de Cd fue en 'SFL-011' que demostró ser la variedad más tolerante a este metal ($r_s = -0.362$; $P = 0.000$) (Figura 1).

En la Figura 2A se observa la reducción en la longitud de las radículas a partir de 0.25 mg.L⁻¹ Cd en la variedad 'INIAP-11' y una reducción proporcional a la concentración de Cd, hasta inhibirse en un 96 % a 8 mg.L⁻¹ Cd donde la longitud de las radículas disminuyó de 69.58 ± 7.22 mm en el control a 2.47 ± 1.77 mm (H, $P = 0.000$). De igual manera, la variedad 'INIAP-14' presentó una inhibición en el crecimiento inicial de las radículas proporcional a la concentración de Cd de 69.43 ± 7.56 mm en el control a 1.38 ± 1.00 mm a 8 mg.L⁻¹ (H, $P = 0.000$) (Figura 2B). A diferencia de las otras variedades 'INIAP-FL-

Tabla 3. Fórmulas utilizadas en el cálculo de las variables de estudio.

Variable	Fórmula	Autor
Porcentaje de germinación (PG)	$PG = \frac{\text{número de semillas germinadas} \times 100}{\text{número de semillas totales}}$	Cokkizgin y Cokkizgin, 2010
Tiempo medio de germinación (TMG)	$TMG = \frac{(x_1 d_1) + (x_2 d_2) + \dots (x_n d_n)}{X_n}$	Moreno et al., 2013
Velocidad media de germinación (VMG)	$VMG = \frac{P_1/T_1 + P_2/T_2 + \dots + P_n}{T_n}$	Moreno et al., 2013
Índice de tolerancia	$IT = \frac{LR_m}{LR_c}$	Wilkins, 1978
Índice Integral de Fitotoxicidad	$IIF = 100 - \left(\frac{SGM}{SGC} \left(\frac{\frac{LRM}{LRC} + \frac{LHM}{LHC}}{2} \right) \right) 100$	Pernía et al. (2018)

x_1, x_2, x_n = semillas germinadas día 1, 2,...n; d_1, d_2, \dots, d_n = días incubación, X_i = semillas germinadas por día de revisión y X_n = número total de semillas germinadas el último día de control, P = número de semillas germinadas, T = tiempo germinación; T_n = último día del ensayo. LR_m = es la longitud radical de las plántulas que crecieron en presencia del Cd. LR_c = es la longitud radical de las plántulas en ausencia del Cd. SGM = número de semillas germinadas de la muestra, es el promedio del número de semillas germinadas en las cuatro réplicas para cada tratamiento ($n = 4$). SGC = número de semillas germinadas del control, es el promedio del número de semillas germinadas en las cuatro réplicas del testigo ($n = 4$). LRM = Longitud de la radícula de la muestra, es el promedio de la medición en centímetros de las radículas de 10 plántulas por réplica de cada tratamiento ($n = 40$). LRC = Longitud de la radícula del control, es el 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, es el 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, es el promedio de la medición en centímetros de los hipocótilos de 10 plántulas por réplica del testigo ($n = 40$).

Tabla 4. Variedades de arroz expuestas a diferentes concentraciones de Cd.

Variedad	Cd (mg.L ⁻¹)	PG (%)	TMG (días)	VMG (Semillas/días)	Mortalidad (%)
'INIAP-11'	0	100 ± 0.00	4.50 ± 0.00	0.67 ± 0.00	0.00
	0.25	100 ± 0.00	4.47 ± 0.05	0.66 ± 0.01	0.00
	0.5	97.5 ± 5.00	4.38 ± 0.23	0.66 ± 0.03	2.50
	1	97.5 ± 5.00	4.38 ± 0.23	0.66 ± 0.03	2.50
	2	100 ± 0.00	4.50 ± 0.00	0.67 ± 0.00	0.00
	4	97.5 ± 5.00	4.38 ± 0.22	0.66 ± 0.03	2.50
	8	100 ± 0.00	4.50 ± 0.00	0.67 ± 0.00	0.00
	H	1.24	1.25	1.25	1.24
	P	0.975	0.974	0.974	0.975
'INIAP-14'	0	95.00 ± 5.77	4.27 ± 0.26	0.64 ± 0.03	5.00
	0.25	100 ± 0.00	4.50 ± 0.00	0.67 ± 0.00	0.00
	0.5	100 ± 0.00	4.50 ± 0.00	0.67 ± 0.00	0.00
	1	100 ± 0.00	4.50 ± 0.00	0.67 ± 0.00	0.00
	2	100 ± 0.00	4.50 ± 0.00	0.67 ± 0.00	0.00
	4	100 ± 0.00	4.50 ± 0.00	0.67 ± 0.00	0.00
	8	92.50 ± 5.00	4.13 ± 0.17	0.61 ± 0.01	5.00
	H	6.83	10.56	10.56	6.83
	P	0.337	0.103	0.103	0.337
'INIAP-FL-Arenillas'	0	95.00 ± 5.77	4.27 ± 0.26	0.64 ± 0.03	5.00
	0.25	97.50 ± 5.00	4.39 ± 0.23	0.66 ± 0.03	2.50
	0.5	95.00 ± 10.00	4.27 ± 0.45	0.64 ± 0.07	5.00
	1	100.00 ± 0.00	4.5 ± 0.00	0.67 ± 0.00	0.00
	2	97.50 ± 5.00	4.38 ± 0.22	0.66 ± 0.03	2.50
	4	97.50 ± 5.00	4.33 ± 0.21	0.64 ± 0.03	2.50
	8	90.00 ± 8.16	4.05 ± 0.36	0.60 ± 0.05	5.00
	H	4.11	4.33	4.33	4.11
	P	0.661	0.632	0.632	0.661
'INIAP-FL-Cristalino'	0	100.00 ± 0.00	4.50 ± 0.00	0.67 ± 0.00	0.00
	0.25	100.00 ± 0.00	4.50 ± 0.00	0.67 ± 0.00	0.00
	0.5	100.00 ± 0.00	4.47 ± 0.05	0.67 ± 0.02	0.00
	1	97.50 ± 5.00	4.36 ± 0.21	0.65 ± 0.03	2.50
	2	100.00 ± 0.00	4.50 ± 0.00	0.67 ± 0.00	0.00
	4	100.00 ± 0.00	4.50 ± 0.00	0.67 ± 0.00	0.00
	8	92.50 ± 9.57	4.16 ± 0.43	0.62 ± 0.06	0.00
	H	2.74	4.12	4.12	2.74
	P	0.840	0.660	0.660	0.840
'SFL-011'	0	100.00 ± 0.00	4.50 ± 0.00	0.67 ± 0.00	0.00
	0.25	100.00 ± 0.00	4.47 ± 0.05	0.66 ± 0.01	0.00
	0.5	100.00 ± 0.00	4.38 ± 0.23	0.66 ± 0.03	2.50
	1	97.50 ± 5.00	4.39 ± 0.23	0.66 ± 0.03	2.50
	2	100.00 ± 0.00	4.50 ± 0.00	0.67 ± 0.00	0.00
	4	100.00 ± 0.00	4.38 ± 0.22	0.66 ± 0.03	2.50
	8	92.50 ± 9.57	4.50 ± 0.00	0.67 ± 0.00	0.00
	H	1.24	1.25	0.97	1.24
	P	0.975	0.974	0.965	0.975

PG: porcentaje de germinación; TMG: tiempo medio de germinación; VMG: velocidad media de germinación y porcentaje de mortalidad de las variedades de arroz expuestas a diferentes concentraciones de Cd (0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 y 8 mg.L⁻¹ Cd) durante ocho días (media ± desviación estándar).

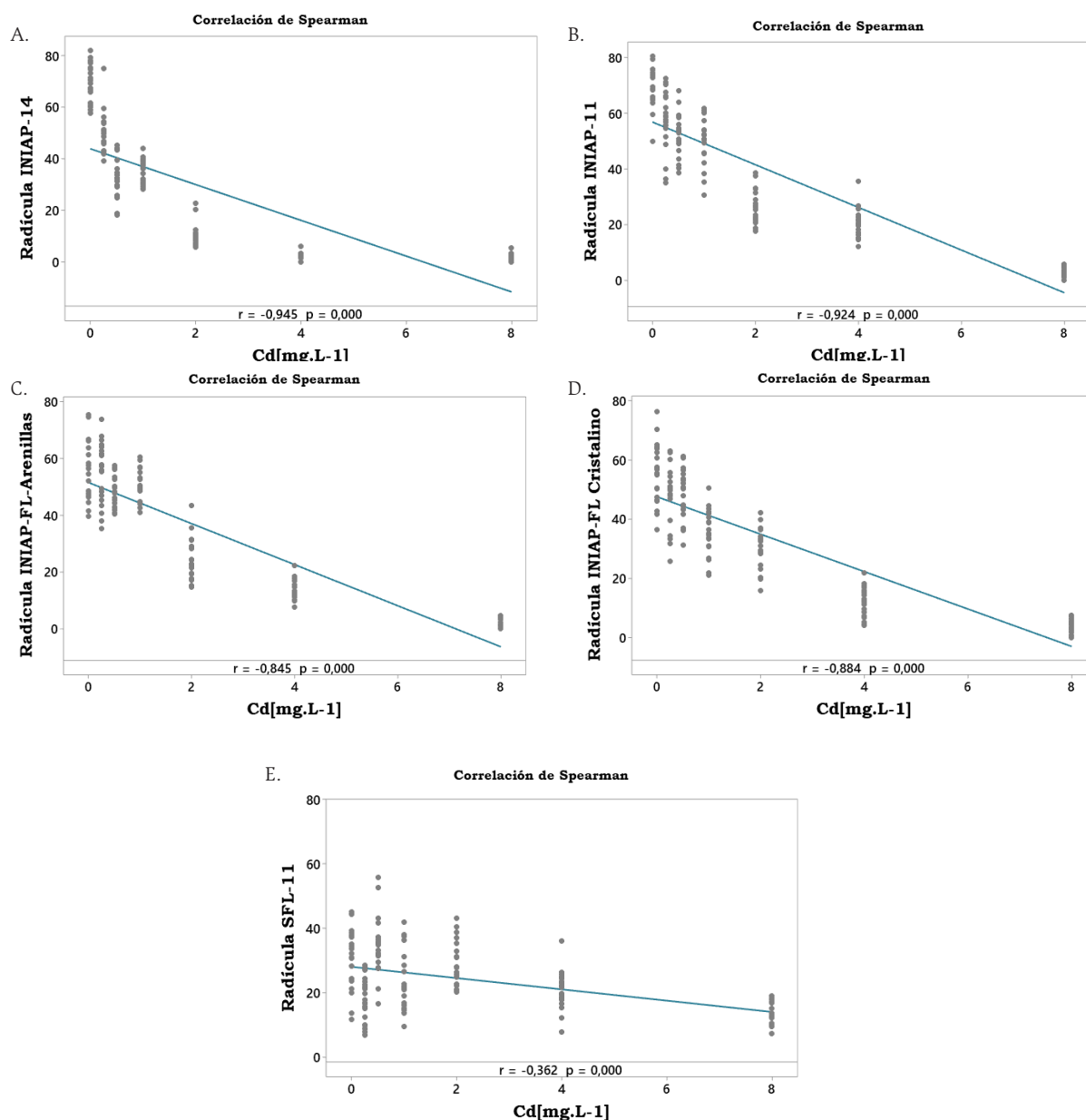


Figura 1. Correlación de Spearman según las radículas y el Cd.

Concentración de Cd: 0, 0.25, 0.50, 1, 2, 4 y 8 mg.L⁻¹; longitud de las radículas en cm. A) 'INIAP-11'; B) 'INIAP-14'; C) 'INIAP-FL-Arenillas'; D) 'INIAP-FL-Cristalino' y E) 'SFL-011'.

Arenillas' se vio afectada a partir de los 0.5 mg.L⁻¹ Cd con una máxima reducción a los 8 mg.L⁻¹ Cd de 55.32 ± 10.30 mm en el testigo a 1.65 ± 1.66 mm ($P = 0.000$) (Figura 2C).

Por otro lado, la variedad 'INIAP-FL-Cristalino' presentó una disminución de la longitud de las radículas a partir de 1 mg.L⁻¹ Cd (Figura 2D). A la mayor concentración del metal pesado la longitud de la radícula fue de 3.81 ± 2.2 mm, significativamente menor a su control 55.36 ± 10.22 mm ($P = 0.000$).

La variedad de arroz menos afectada por el Cd fue 'SFL-11' donde se observó la menor inhibición en el crecimiento inicial de las radículas a 0.25, 4 y 8 mg.L⁻¹

Cd (Figura 2E). Al igual que las otras variedades de INIAP se presentó la máxima inhibición a 8 mg.L⁻¹ Cd con una reducción de la longitud de 30.33 ± 9.33 mm en el control a 13.51 ± 6.68 mm ($H, P = 0.000$).

En general el porcentaje de inhibición del crecimiento de las radículas a 8 mg.L⁻¹ se dio en el orden 'INIAP-14' (98 %) > 'INIAP-FL-Arenillas' (97 %) > 'INIAP-11' (96 %) > 'INIAP-FL-Cristalino' (93 %) > 'SFL-011' (55 %). A 4 mg.L⁻¹ de Cd reportado en suelos agrícolas en Ecuador la inhibición se dio en el orden 'INIAP-14' (97 %) > 'INIAP-FL-Cristalino' (78 %) > 'INIAP-FL-Arenillas' (75 %) > 'INIAP-11' (70 %) > 'SFL-011' (32 %).

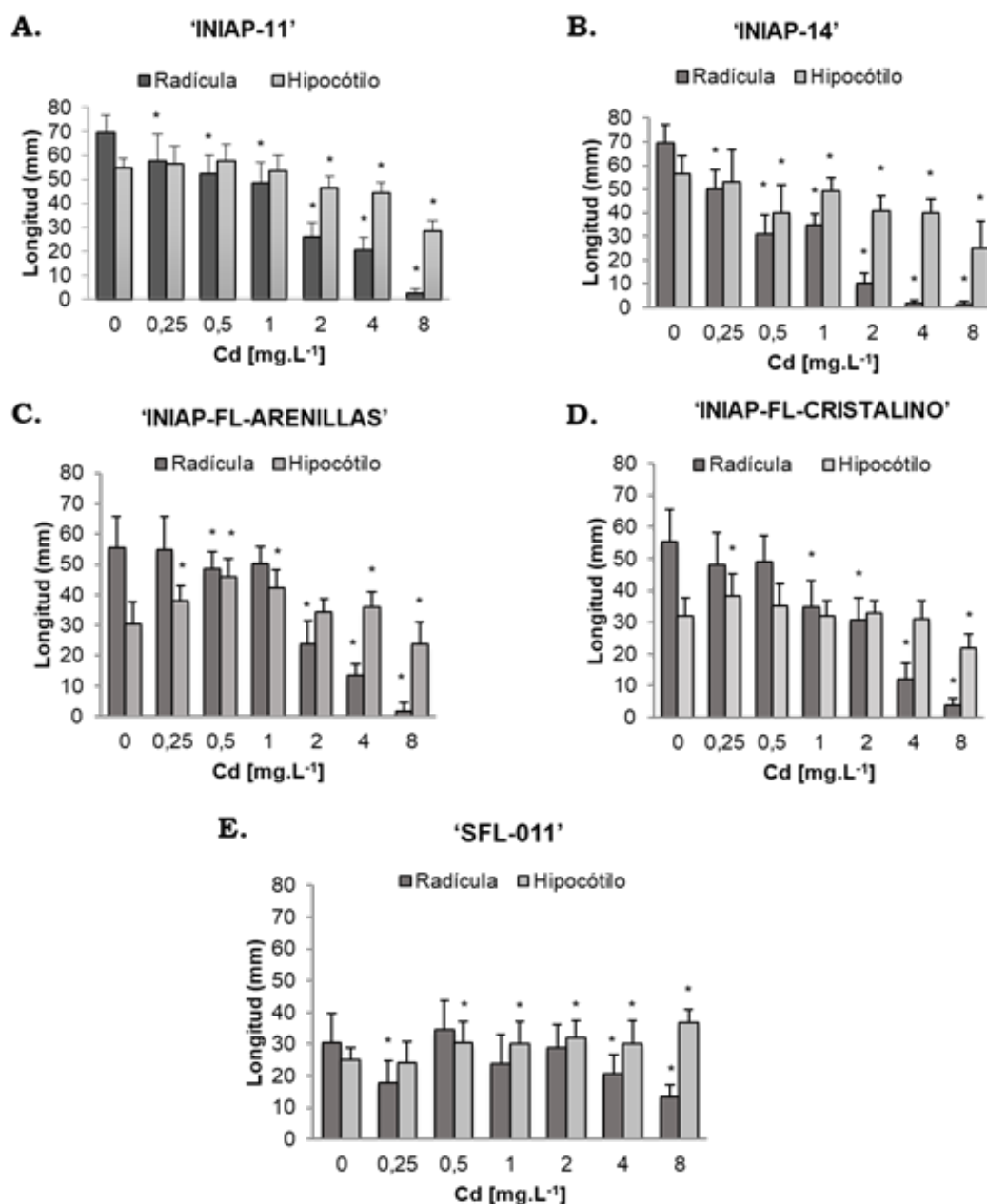


Figura 2. Longitud de las radículas e hipocótilos de las variedades de arroz.

Las variedades fueron expuestas a 0, 0.25, 0.50, 1, 2, 4 y 8 mg.L⁻¹ de Cd a los 8 días. A) 'INIAP-11'; B) 'INIAP-14'; C) 'INIAP-FL-Arenillas'; D) 'INIAP-FL-Cristalino' y E) 'SFL-011'. *Indica que existen diferencias estadísticamente significativas con respecto al control 0 mg.L⁻¹ Cd ($P < 0.05$). Las barras en las columnas indican \pm desviación estándar.

Contrario a lo observado en las radículas, los hipocótilos no se vieron tan afectados por la toxicidad del Cd e incluso se observó estímulo de crecimiento a bajas concentraciones del metal pesado en algunas variedades. La reducción en el crecimiento inicial se apreció a partir de las concentraciones de Cd: 1 mg.L⁻¹ en 'INIAP-14', 2 mg.L⁻¹ en 'INIAP-11', 8 mg.L⁻¹ en 'INIAP-FL-Arenillas' e 'INIAP-FL-Cristalino' y en 'SFL-011' no se observó inhibición del crecimiento de los hipocótilos. Comparativamente, a la mayor concentración de Cd la inhibición se dio en el orden: 'INIAP-14' (56 %) > 'INIAP-11' (48 %) > 'INIAP-FL-

Cristalino' (32 %) > 'INIAP-FL-Arenillas' (22 %) y en 'SFL-11' no hubo reducción de los hipocótilos sino un incremento del 47 %, apreciándose una longitud de 36.92 ± 3.97 mm mayor al control 25.00 ± 3.72 mm ($P = 0.000$).

Por otro lado, el estímulo en el crecimiento inicial de los hipocótilos se apreció en las variedades 'INIAP-FL-Arenillas', 'INIAP-FL-Cristalino' y en 'SFL-011'. En la variedad 'INIAP-FL-Arenillas' se observó un aumento significativo en la longitud de los hipocótilos a las concentraciones de Cd: 0.25 mg.L⁻¹ (37.82 mm), 0.5 mg.L⁻¹ (46.00 mm) y a 1 mg.L⁻¹ (42.30 mm) en

comparación al control (30.33 mm) ($F = 30.72$, $P = 0.000$). De igual manera, 'INIAP-FL-Cristalino' incrementó la longitud de sus hipocótilos en presencia de 0.25 mg.L^{-1} Cd aumentando de $32.04 \pm 5.61 \text{ mm}$ en el control a $38.15 \pm 7.13 \text{ mm}$ (F , $P = 0.000$) y 'SFL-011' presentó estímulo de crecimiento a partir de los 0.5 mg.L^{-1} de Cd hasta los 8 mg.L^{-1} con un incremento del 20 % al 47 %, respectivamente.

Tolerancia de las variedades de arroz al cadmio.

En general la tolerancia al cadmio representada por el índice de tolerancia de los hipocótilos (ITH) se presentó en el orden 'SFL-011' > 'INIAP-FL-Arenilla' > 'INIAP-FL-Cristalino' > 'INIAP-11' > 'INIAP-14'. El ITH mostró un estímulo de crecimiento inicial reflejado en valores mayores a uno en la variedad 'SFL-011' a las concentraciones de Cd: $0.5(1.13)$, $1(1.2)$, $2(1.28)$, $4(1.21)$ y $8(1.47) \text{ mg.L}^{-1}$, lo que refleja una alta tolerancia al Cd en esta variedad. De igual manera, la variedad 'INIAP-FL-Arenillas' mostró una alta tolerancia en los hipocótilos de 0.25 - 4 mg.L^{-1} de Cd y se redujo a 8 mg.L^{-1} (0.77) y la variedad menos tolerante fue 'INIAP-14' cuyos valores se redujeron al incrementar la concentración de Cd desde 0.93 a 0.25 mg.L^{-1} Cd hasta 0.43 a 8 mg.L^{-1} de Cd.

Se evidenció que los hipocótilos son más tolerantes al cadmio que las radículas donde se apreció una reducción significativa del índice de tolerancia proporcional a la concentración de Cd (Figura 3A y 3B). 'SFL-011' disminuyó su tolerancia a 0.

Con respecto al índice integral de fitotoxicidad las variedades más tolerantes fueron 'SFL-011' e 'INIAP-FL-Arenillas' (Figura 4). La variedad 'SFL-11' mostró un estímulo de crecimiento inicial reflejado por su valor negativo a las concentraciones $0.5(-17.44)$, $2(-14.38)$ y $8(-3.33) \text{ mg.L}^{-1}$ lo que refleja la tolerancia de esta variedad al Cd. De igual manera, 'INIAP-FL-Arenilla' presentó un estímulo de crecimiento a $0.25(-15.41)$, $0.5(-19.69)$ y $1(-21.2) \text{ mg.L}^{-1}$ de Cd.

Como se observa en la Figura 3, a la mayor concentración de Cd (8 mg.L^{-1}) el orden de toxicidad fue el siguiente: 'INIAP-14' (77.52) = 'INIAP-11' (72.31) > 'INIAP-FL-Cristalino' (65.14) > 'INIAP-FL-Arenillas' (61.67) > 'SFL-11' (-3.33) con diferencias significativas entre las variedades (F , $P = 0.000$).

La variedad menos tolerante fue 'INIAP-14' donde se observó un alto índice de fitotoxicidad desde la concentración más baja de cadmio con promedios de 54.36 - 77.52 y la variedad más tolerante fue la 'SFL-011' donde el índice más alto fue de 3.54 a 4 mg.L^{-1} de Cd y presentó estímulo de crecimiento incluso a 8 mg.L^{-1} del metal pesado.

Finalmente, se calculó la concentración inhibitoria media, utilizando como referencia la longitud de la radícula por ser las más afectada por el Cd. Las variedades con mayores CI_{50} fueron 'INIAP-11' ($4.56 \text{ mg.L}^{-1} \text{ Cd}$) y 'SFL-011' ($4.02 \text{ mg.L}^{-1} \text{ Cd}$), seguidas por 'INIAP FL Cristalino' ($2.93 \text{ mg.L}^{-1} \text{ Cd}$), 'INIAP FL Arenillas' ($1.94 \text{ mg.L}^{-1} \text{ Cd}$) y la variedad menos tolerante fue 'INIAP-14' con 0.72 mg.L^{-1} .

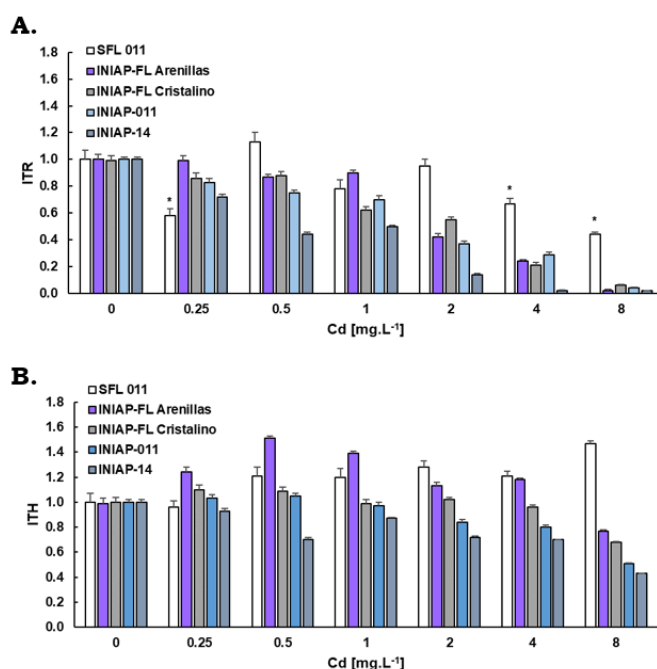


Figura 3. Índice de tolerancia de las variedades de arroz.

Las variedades fueron expuestas a 0, 0.25, 0.50, 1, 2, 4 y 8 mg.L^{-1} de Cd durante ocho días (media \pm error estándar). A) Índice de tolerancia de las radículas (ITHr) y B) Índice de tolerancia de los hipocótilos (ITHh).

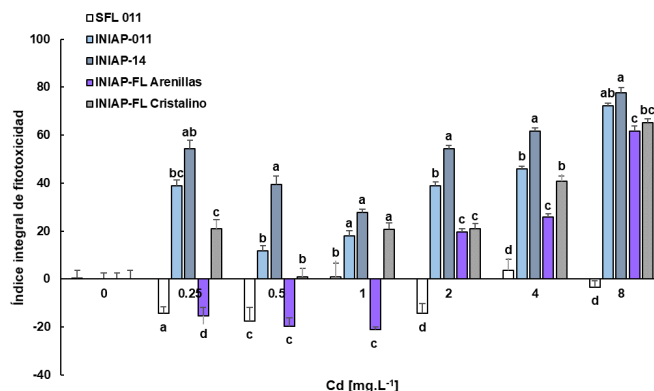


Figura 4. Índice integral de fitotoxicidad de las variedades de arroz.

Las variedades fueron expuestas a 0, 0.25, 0.50, 1, 2, 4 y 8 mg.L⁻¹ de Cd durante ocho días. Las letras iguales indican que no existen diferencias significativas según ANOVA de una vía y test a posteriori de Tukey entre los índices con respecto a otras variedades para una misma concentración de Cd ($P > 0.05$).

Discusión

En la presente investigación el cadmio no afectó el porcentaje, el tiempo medio, ni la velocidad media de germinación de las semillas de *O. sativa* expuestas al metal por ocho días, lo que demuestra tolerancia al cadmio en las diferentes variedades de arroz del Ecuador. Es probable que las semillas de arroz sean más resistentes al cadmio, debido a que están cubiertas además de su testa por un pericarpio duro que podría ejercer la función de filtro e impedir el ingreso del metal pesado hasta el embrión. Al igual que en la presente investigación He *et al.* (2008) analizaron el efecto del cadmio sobre la germinación de dos variedades de arroz en China ('Xiushui 110' y 'Xiushui 111') y solo se inhibió la germinación a altas concentraciones de Cd (200 μ M), superiores a las concentraciones utilizadas en este trabajo.

Aunque la germinación puede ser utilizada como un indicador de fitotoxicidad de metales (Escalante-Campos *et al.*, 2012), en el caso del arroz este no es un buen indicador de toxicidad. Por el contrario, en las variedades 'INIAP-14' e 'INIAP-Arenillas' se observó una tendencia a incrementar el porcentaje de germinación en comparación con el control a 0.25 mg.L⁻¹ de Cd, aumentando de 95 % en el control a 100 % y 97 %, respectivamente. En este sentido, se ha descrito que el estímulo en germinación puede deberse a un exceso en la producción de especies reactivas de oxígeno y especies reactivas de nitrógeno a bajas concentraciones de cadmio, lo cual estimula la germinación (Escalante-Campos *et al.*, 2012).

A diferencia de la germinación, el crecimiento inicial se vio afectado por el Cd. Con respecto a la longitud de las radículas, estas se afectaron a altas concentraciones de Cd en todas las variedades y en cuatro de cinco variedades presentaron una correlación inversamente proporcional entre la concentración de cadmio y la longitud de las radículas. De igual manera, el índice de tolerancia en cuatro de las cinco variedades disminuyó al aumentar

las concentraciones del metal. Según Rodríguez-Serrano *et al.* (2008), la raíz actúa como una barrera de defensa de la planta en presencia del cadmio a través de la inmovilización de este metal por las pectinas de la pared celular, es decir, la radícula o raíz embrionaria de la planta, posee la capacidad de atrapar el cadmio tratando de evitar su distribución al resto de la planta, por esta razón la radícula se ve mayormente afectada por este contaminante.

Esta inhibición del crecimiento de las radículas se debe a la modificación de la homeostasis de auxina en plantas de arroz por parte del Cd, afectando su expresión genética lo que resulta en una diferenciación celular alterada y la inhibición del crecimiento de las raíces (Ronzan *et al.*, 2018). También inhibe la formación de raíces laterales y provoca alteraciones en la raíz principal, haciendo que esta pueda enrollarse, volverse rígida y tomar una coloración marrón, generando reducción del crecimiento e incluso la muerte de la planta (Espanany *et al.*, 2015). En la presente investigación a altas concentraciones se observaron raíces con los ápices marrones y algunas enrolladas. De igual forma, se observó un fototropismo positivo en algunas raíces, creciendo hacia arriba aprovechando el agua condensada en el ambiente como respuesta a la toxicidad generada por el Cd.

Estudios similares demuestran la afectación producida por el cadmio en la longitud de la radícula de semillas de rábano y zanahoria, chocho (*Lupinus mutabilis*), arveja, lechuga, acelga, espinaca, lenteja y frijol (Bautista *et al.*, 2013; Gouia *et al.*, 2003; Prieto *et al.*, 2009).

Con respecto a los hipocótilos las variedades 'INIAP-11' e 'INIAP-14' presentaron inhibición del crecimiento inicial incluso a bajas concentraciones de Cd. Por el contrario, 'SFL-011' e 'INIAP-FL-Arenillas', presentaron alta tolerancia las plántulas expuestas a 0.25, 0.5 y 1 mg.L⁻¹ de Cd donde se apreció un estímulo de crecimiento. En este sentido, ciertas plantas poseen la capacidad de tolerar el cadmio a bajas concentraciones sin mostrar ningún síntoma

de toxicidad (Chávez *et al.*, 2015). Este podría ser el caso de las variedades 'SFL-011' e 'INIAP-FL-Arenillas' que expuestas a bajas concentraciones de Cd no mostraron diferencias en su germinación y crecimiento inicial, incluso, se observó estímulo de crecimiento. Pramanik *et al.* (2018) encontró un comportamiento similar, y mencionaron que la absorción de bajas concentraciones de cadmio es tolerada por las plantas de arroz y estimula el crecimiento de las plántulas; este comportamiento de estas variedades frente al cadmio puede describirse como fenómeno de hormesis, lo cual se puede interpretar como un estímulo de crecimiento en las plántulas expuestas a bajas concentraciones del metal y una inhibición para aquellas plántulas expuestas a mayores concentraciones.

Por otro lado, los mayores índices de tolerancia lo presentaron las variedades 'SFL-011' e 'INIAP-Arenillas'. De igual manera, el índice integral de fitotoxicidad demostró menor o nula toxicidad en estas variedades. En especial se destacó la tolerancia al cadmio de la variedad 'SFL-011' al no afectar su germinación, generar estímulo de crecimiento en los hipocótilos que se reflejó como un índice de fitotoxicidad negativo y un alto IC_{50} de 4.02 mg.L⁻¹ Cd. Además, esta variedad presenta tolerancia a patógenos tales como *Pyricularia grisea* Cooke ex Sacc. 1880 (Pezizomycotina, Ascomycota, Fungi), *Rhizoctonia solani* Kühn 1858 (Agaricomycotina, Basidiomycota, Fungi) y al acame de plantas. De igual manera, la variedad 'INIAP-Arenillas' además de ser tolerante al cadmio tiene la ventaja de tolerar un mayor número de patógenos: virus de la hoja blanca, *Sarocladium oryzae*, *Rhizoctonia solani*, *Pyricularia grisea* y al manchado del grano lo que permite recomendar el cultivo de estas variedades en Ecuador.

De los resultados se concluye que las variedades 'SFL-011' e 'INIAP-FL-Arenillas' son las variedades más tolerantes al Cd y las variedades 'INIAP-11' e 'INIAP-14' son las más sensibles y por ende no se recomienda su cultivo en suelos contaminados con este metal pesado. Además, en la Tabla 2 se muestran algunas características de las variedades de arroz donde se observa que 'SFL-011' e 'INIAP-FL-Arenillas', además de ser tolerantes al cadmio son tolerantes al virus de la hoja blanca (RHBV), pudrición de la vaina (*Sarocladium oryzae*), tizón del tallo (*Rhizoctonia solani*), quemazón (*Pyricularia grisea*) y al manchado del grano (complejo hongo-bacteria), de allí que estas variedades son óptimas para su cultivo en suelos agrícolas de Ecuador.

Por el contrario, los menores índices las de tolerancia los presentaron las variedades 'INIAP-11' e 'INIAP-14', hecho que se confirmó con un alto índice integral de fitotoxicidad. Esta diferencia entre las tolerancias de las variedades podría deberse a variaciones en sus mecanismos de detoxificación de Cd. Wang *et al.* (2013) señalaron que diferentes cultivares de arroz adoptan variadas

estrategias bioquímicas para hacer frente al estrés de Cd tales como el aumento en la concentración de fitosideróforos, incremento de la actividad de las enzimas antioxidantes y la síntesis de fitoquelatinas.

Si bien es cierto que las concentraciones de Cd evaluadas en el presente trabajo son las reportadas en suelos agrícolas de Ecuador y afectaron el crecimiento de las radículas de variedades de arroz, el cadmio se encontraba totalmente biodisponible al encontrarse en agua, por el contrario, el suelo tiene una capacidad amortiguadora que reduce en gran medida la disponibilidad de este elemento, de allí que estos resultados corresponderían a concentraciones biodisponibles del metal pesado en el suelo. La siguiente parte del presente trabajo será analizar los niveles de Cd que acumulan las variedades más tolerantes de arroz a fin de precautelar la inocuidad alimentaria de los ecuatorianos.

Además, se debe tener en cuenta la acumulación de Cd en la biomasa vegetal, que luego de ser cosechada se incorpora al suelo nuevamente y, en el caso de suelos contaminados se recomienda que se extraigan las plantas como una medida de fitorremediación para que el metal pesado no se recicle. También es importante realizar una investigación donde se midan los niveles de metales pesados en los granos de arroz comercializados a nivel nacional.

Para finalizar, a nivel mundial las variedades de arroz se mantienen en una constante renovación donde se busca generar híbridos con mejores rendimientos, mayor resistencia a plagas y enfermedades, mejor calidad del grano y una mayor producción (Franquet *et al.*, 2004; Pérez *et al.*, 2019). Sin embargo, se recomienda que además de las características mencionadas se considere la capacidad de tolerar y acumular metales pesados, para así asegurar la seguridad y la inocuidad alimentaria.

Conclusiones

El porcentaje de germinación no es un buen indicador de contaminación por cadmio en las variedades de arroz. El mejor indicador fue la longitud de las radículas que disminuyó al incrementar la concentración de Cd y hubo correlación entre ambas variables.

Las variedades más tolerantes al metal pesado fueron 'SFL-011' e 'INIAP-Arenillas' y las menos tolerantes 'INIAP-11' e 'INIAP-14'.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Proyecto-FCI-028-2017 de la Universidad de Guayaquil, al INIAP y a Nelson Villavicencio por la donación de las semillas. A Marisol Castrillo (USB), por la revisión del manuscrito.

Referencias

- Bautista, O.V, Fischer, G. y Cárdenas, J. F. (2013). Cadmium and chromium effects on seed germination and root elongation in lettuce, spinach and Swiss chard. *Agronomía Colombiana*, 31(1), 48-57. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/37314/40329>
- Chávez, E., He, Z.L., Stoffella, P.J., Mylavarapu, R.S., Li, Y.C., Moyano, B. y Baligar, V. (2015). Concentration of cadmium in cacao beans and its relationship with soil cadmium in southern Ecuador. *Science of the Total Environment*, 533, 205-214. <https://pubag.nal.usda.gov/download/63005/PDF>
- Chen, B., Wang, Y. y Hu, D. (2010). Biosorption and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous solutions by a consortium of white-rot fungi. *Journal of Hazardous Materials*, 179(1-3), 845-851. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.03.082>
- Cokkizgin, A. y Cokkizgin, H. (2010). Effects of lead (PbCl₂) stress on germination of lentil (*Lens culinaris* Medic.) lines. *African Journal of Biotechnology*, 9(50), 8608-8612.
- Environmental Protection Agency (EPA). (1993). *Probit analysis program*. Version 2. U.S. Environmental Protection Agency (EPA), Washington D.C., USA.
- Escalante-Campos, S., Rodríguez-Dorantes, A., Vásquez-Murrieta, M.S., Rodríguez-Tovar, A.V., Guerrero-Zúñiga, L.A., Pérez, N.O., Franco-Hernández, M.O. y Ponce-Mendoza, A. (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. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-27682012000200010
- Espanany, A., Fallah, S., y Tadayyon, A. (2015). Seed priming improves seed germination and reduces oxidative stress in black cumin (*Nigella sativa*) in presence of cadmium. *Industrial Crops and Products*, 79, 195-204. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.11.016>
- Franquet, J.M. y Borràs Paimès, C. (2004). *Variedades y mejora del arroz (Oryza sativa L.)* [Archivo PDF]. Universitat Internacional de Catalunya. http://62.204.194.45/fez/eserv/bibliuned:UNEDCentroAsociadoTortosa-Libros-5025/Franquet_Bernis_JoseMaria_Variedades.pdf
- Gouia, H., Suzuki, A., Brulfert, J. y Ghorbal, M. H. (2003). Effects of cadmium on the co-ordination of nitrogen and carbon metabolism in bean seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 160(4), 367-376.
- He, J-Y., Ren, Y-F., Zhu, C. y Jiang, D-A. (2008). Effects of Cadmium Stress on Seed Germination, Seedling Growth and Seed Amylase Activities in Rice (*Oryza sativa*). *Rice Science*, 15(4), 319-325.
- Kuo, S., Huang, B. y Bembenek, R. (2007). Release of Cadmium From a Triple Superphosphate and a Phosphate Rock in Soil. *Soil Science*, 172(4), 257-265.
- Li, H., Luo, N., Li, Y. W., Cai, Q. Y., Li, H. Y., Mo, C. H. y Wong, M. H. (2017). Cadmium in rice: Transport mechanisms, influencing factors, and minimizing measures. *Environmental Pollution*, 224, 622-630. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.01.087>
- Liu, Y., Wang, X., Zeng, G., Qu, D., Gu, J., Zhou, M. y Chai, L. (2007). Cadmium-induced oxidative stress and response of the ascorbate-glutathione cycle in *Beckmannia nivea* (L.) Gaud. *Chemosphere*, 69(1), 99-107. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.04.040>
- Marín, D., Orrego-Varón, M., Yanez, F., Mendoza, L., García, M. A., Twyman, J., Andrade, R. y Labarta, R. (2018). Household survey data of adoption of improved varieties and management practices in rice production, Ecuador. *Data in Brief*, 18, 1252-1256. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.04.019>
- Moreno, E., Miranda, D. y Martínez, F. (2013). Zeatin promotes sugar apple seed germination (*Annona squamosa* L.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 7(1), 9-19.
- Pérez, I.B. (2019). Aportes de la biotecnología al mejoramiento del arroz en Ecuador. *Revista Científica ECOCIENCIA*, 6(5), 1-22. <https://doi.org/10.21855/ecociencia.65.225>
- Pernía, B., Rojas-Tortolero, D., Sena, L., de Sisto, A., Inojosa, Y. y Naranjo, L. (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.
- Pernía, B., de Sousa, A., Reyes, R. y Castrillo, M. (2008). Biomarcadores de contaminación por cadmio en plantas. *Interciencia*, 33(2), 112-119.
- Pozo, W., Sanfeliu, T. y Carrera, G. (2011). Metales pesados en humedales de arroz en la cuenca baja del río Guayas. *MASKANA*, 2(1), 17-30.
- Pramanik, K., Mitra, S., Sarkar, A. y Maiti, T. K. (2018). Alleviation of phytotoxic effects of cadmium on rice seedlings by cadmium resistant PGPR strain *Enterobacter aerogenes* MCC 3092. *Journal of Hazardous Materials*, 351, 317-329. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.03.009>
- Prieto, J., González, C., Román, A. y Prieto García, F. (2009). Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 10(1), 29-44.
- Ramírez, R., Subero, N., Sequera, O. y Parra, J. (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.
- Rodríguez-Serrano, M., Martínez-de la Casa, N., Romero-Puertas, M.C., del Río, L.A. y Sandalio, L.M. (2008). Toxicidad del Cadmio en Plantas. *Ecosistemas*, 17(3), 139-146.
- Ronzan, M., Piacentini, D., Fattorini, L., Della Rovere, F., Eiche, E., Riemann, M., Altamura, M. M. y Falasca, G. (2018). Cadmium and arsenic affect root development in *Oryza sativa* L. negatively interacting with auxin. *Environmental and Experimental Botany*, 151, 64-75. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.04.008>
- Sanità di Toppi, L. y Gabbriellini, R. (1999). Response to cadmium in higher plants. *Environmental and Experimental Botany*, 41, 105-130. [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(98\)00058-6](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(98)00058-6)
- Vadillo, G., Suni, M. y Cano, A. (2004). Viabilidad y germinación de semillas de *Puya raimondii* Harms (Bromeliaceae). *Revista Peruana de Biología*, 11(1), 71-78. <https://doi.org/10.15381/rpb.v11i1.2435>
- Wang, X., Zhang, Z., Tu, S., Feng, W., Xu, F., Zhu, F., Zhang, D., Du, J., Yuan, S. y Lin, H. (2013). Comparative study of four rice cultivars with different levels of cadmium tolerance. *Biologia*, 68(1), 74-81. <https://pubag.nal.usda.gov/catalog/101411>
- Wilkins, D.A. (1978). The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth. *New Phytologist*, 80(3), 623-633.
- Zhang, J., Sun, W., Li, Z., Liang, Y. y Song, A. (2009). Cadmium fate and tolerance in rice cultivars. *Agronomy for Sustainable Development*, 29, 483-490. <https://doi.org/10.1051/agro/2009008>