



Efecto de oligogalacturónidos sobre la respuesta bioquímica del tomate con altas concentraciones de metales*

Effect of oligogalacturonides on the biochemical response of tomato under high metal concentrations

Omar Enrique Cartaya-Rubio¹, Ana Ma. Moreno Zamora¹, Fernando Guridi Izquierdo², Yaisys Blanco-Valdes¹

* Recepción: 18 de abril, 2023. Aceptación: 27 de julio, 2023. Este trabajo formó parte de una tesis en opción al título de Ingeniero Agrónomo del primer autor y forma parte de un proyecto de investigación. Se efectuó en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. Fue financiado por el INCA.

¹ Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). Carretera de Tapaste km 3 ½, San José de las Lajas, Mayabeque, 32700, Cuba. ocartaya@inca.edu.cu (autor para correspondencia; <https://orcid.org/0000-0001-7436-0437>), amoreno@inca.edu.cu (<https://orcid.org/0000-0002-6666-9626>), yblanco@inca.edu.cu (<https://orcid.org/0000-0002-6325-1005>).

² Universidad Agraria de la Habana (UNAH). Km 3, gaveta postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, 32700, Cuba. fguridi@unah.edu.cu (<https://orcid.org/0000-0003-0504-0813>).

Resumen

Introducción. La contaminación por metales pesados es un problema que ha ido en aumento, debido a las actividades antrópicas. Las plantas pueden eliminar, destruir o transformar contaminantes del suelo, agua y aire. Con el empleo de reguladores del crecimiento vegetal y agentes quelantes se puede reducir la toxicidad por metales pesados. **Objetivo.** Evaluar el efecto de la aplicación de una mezcla de oligogalacturónidos sobre la actividad peroxidasa y los contenidos de malondialdehído, proteínas totales y clorofilas, en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) var. Amalia sometidas a altos niveles de metales pesados. **Materiales y métodos.** Se colectó suelo contaminado con Cu, Cd y el Fe, en la Empresa cerámica blanca Adalberto Vidal de Mayabeque, Cuba en el año 2020. El experimento se desarrolló en bolsas de 7 kg de capacidad y se utilizaron plantas de tomate, en condiciones semi controladas en áreas del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), con un diseño experimental completamente aleatorizado con siete tratamientos y diez réplicas. Los tratamientos del producto a base de oligogalacturónidos (Ogal) fueron: aplicación al suelo (30 mg kg⁻¹); aspersión foliar (20 mg L⁻¹), la combinación de estas formas de aplicación y un testigo. A los 35 y 56 días de emergidas las plantas, se determinó la actividad peroxidasa y los contenidos de malondialdehído, proteínas totales y clorofilas. **Resultados.** El efecto que provocan el Cu, Cd y el Fe en las plántulas, fue atenuado por todas las variantes de uso de la mezcla Ogal, por lo que las mismas han desarrollado mecanismos de adaptación ante las altas concentraciones metálicas que le permiten subsistir al estrés abiótico. **Conclusiones.** La mezcla de Ogal atenuó el efecto que provocan los metales pesados en la actividad peroxidasa, el contenido malondialdehído, proteínas totales y clorofilas en plantas de tomate var. Amalia.

Palabras claves: contaminación del suelo, estrés oxidativo, contaminantes inorgánicos, bioestimulantes.



Abstract

Introduction. Heavy metal pollution is a growing problem due to human activities. Plants can remove, destroy, or transform contaminants from soil, water, and air. By using plant growth regulators and chelating agents, heavy metal toxicity can be reduced. **Objective.** To evaluate the effect of applying a mixture of oligogalacturonides on peroxidase activity and the contents of malondialdehyde, total protein, and chlorophylls in tomato plants (*Solanum lycopersicum* L.) var. Amalia subjected to high levels of heavy metals. **Materials and methods.** Soil contaminated with Cu, Cd, and Fe was collected from the Adalberto Vidal White Ceramic Company in Mayabeque, Cuba, in 2020. The experiment was conducted in 7 kg capacity bags using tomato plants, under semi-controlled conditions at the Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), with a completely randomized experimental design with each treatment having ten replicates. The treatments with the oligogalacturonides (Ogal) were soil application (30 mg kg⁻¹); foliar spray (20 mg L⁻¹), the combination of these application forms, and a control. Peroxidase activity and the contents of malondialdehyde, total protein, and chlorophylls were determined at 35 and 56 days after the plant's emergence. **Results.** The effect of Cu, Cd, and Fe on the seedlings was attenuated by all the use of the Ogal mixture variants use, indicating that they have developed adaptation mechanisms to high metal concentrations which allows to withstand abiotic stress. **Conclusions.** The Ogal mixture attenuated the effect of heavy metals on peroxidase activity, malondialdehyde content, total proteins, and chlorophylls in Amalia tomato plants.

Keywords: soil pollution, oxidative stress, inorganic contaminants, biostimulants.

Introducción

El término “metal pesado” suele referirse a elementos químicos, en su mayoría metálicos, cuya densidad es superior a 5 kg dm⁻³ y su número atómico está por encima de 20. Debido a las pequeñas cantidades que se manejan, se denominan “elementos traza” o “metales traza” y se incluye el aluminio que no se puede calificar como “metal pesado” por las características antes mencionadas, pero sí por su toxicidad (Kozłowski et al., 2011).

Desde el punto de vista de los seres vivos, hay metales pesados que son nutrientes esenciales (Fe, Mn, Zn, Cu y Mo), otros son elementos beneficiosos en ciertas circunstancias (Ni, Cr, V, Ti, etc.) y elementos que, hasta el momento, no se considera que tengan funciones en los seres vivos (Cd, Hg, Pb, etc.), por lo que se consideran tóxicos. Tanto los elementos metálicos esenciales como los benéficos pueden provocar toxicidad si se sobrepasa el límite de tolerancia de cada organismo (Iram et al., 2013).

La contaminación por metales pesados es un problema que ha ido en aumento, debido a las actividades antrópicas. Entre las principales fuentes de contaminación se encuentran la minería, la metalúrgica, la agricultura, los vehículos automotores y el aporte natural en ciertos acuíferos (Suárez González et al., 2021).

La fitorremediación se define como el uso de plantas para eliminar, destruir o transformar contaminantes del suelo, agua y aire (Delgadillo-López et al., 2011). En este proceso, las plantas son seleccionadas por su potencial fisiológico, por presencia de enzimas presentes para tolerar y asimilar sustancias tóxicas, por su tasa de crecimiento, por la profundidad de sus raíces y su habilidad para bioacumular y/o degradar contaminantes (Silva et al., 2018), lo que indica que las plantas juegan un rol fundamental en los procesos de fitorremediación.

La tolerancia a elementos con potencial tóxico como metales esenciales y no esenciales, en los organismos vegetales, puede definirse como el resultado de un proceso evolutivo que confiere a distintas especies de plantas la capacidad de crecer y desarrollarse en ambientes con concentraciones elevadas de elementos con un potencial de toxicidad (Hu et al., 2018; Ramírez Gottfried et al., 2019). Los cambios evolutivos que han dado origen

a la tolerancia se deben al desarrollo de una serie de mecanismos eficientes y específicos, mediante procesos adaptativos, que permiten mantener la toma de elementos esenciales dentro de intervalos fisiológicos permisibles, además de proporcionar la capacidad de inactivar a nivel metabólico los elementos esenciales y no esenciales cuando representan un riesgo para la integridad celular (Perales Aguilar et al., 2020).

Se han utilizado reguladores del crecimiento vegetal para incrementar la velocidad de crecimiento y la producción de biomasa en plantas hiperacumuladoras (Navarro-Aviñó et al. 2007) y agentes quelantes (Pabón et al., 2020), como uno de los mecanismos de tolerancia más importante utilizado por las plantas para reducir la toxicidad por metales pesados. El Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas de Cuba (INCA), obtuvo una mezcla de oligogalacturónidos (Ogal), que presenta una alta proporción de grupos funcionales ionizables, con un grado de polimerización (GP) entre 6 y 16, compuesta por cadenas lineales de ácido galacturónico (Mederos-Torres et al., 2011), que pudieran permitir la formación de complejos con los metales pesados. El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de la aplicación de una mezcla de oligogalacturónidos sobre la actividad peroxidasa y los contenidos de malondialdehído, proteínas totales y clorofilas, en plantas de tomate var. Amalia sometidas a altos niveles de metales pesados.

Materiales y métodos

La presente investigación se realizó por un periodo de dos años (2019-2020), en el departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal, perteneciente al Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), ubicado en el municipio de San José de las Lajas, provincia Mayabeque, Cuba.

Se colectó suelo clasificado como Ferralítico rojo amarillento lixiviado típico eútrico (Hernández-Jiménez et al., 2019), en áreas donde se descargan los residuos de la Empresa cerámica blanca Adalberto Vidal de San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba, con altos contenidos de Cu, Cd y el Fe según Falcón Rodríguez et al. (2021). Se utilizó un suelo del mismo tipo sin contaminar, recolectado en el mismo sitio alejado de la fuente contaminante, como control absoluto. Los principales parámetros químicos y físico-químico del suelo contaminado y sin contaminar se indican en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Características químicas y físico-químicas del suelo estudiado. San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. 2021.

Table 1. Chemical and physicochemical characteristics of the studied soil. San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. 2021.

Indicadores		Suelo no contaminado	Suelo contaminado
MO (%)		3,07±0,02	2,03±0,03
P(ppm)		158,4±2,2	243,8±,2
K		0,09±0,01	5,78±0,01
Ca	cmol kg ⁻¹	29,33±0,16	35,63±0,12
Mg		6,5±0,2	9,8±0,3
Cu		159,9±1,8	786,3±2,3
Cd	mg kg ⁻¹	5,5±1,3	239,3±3,7
Fe		851,2±2,9	3 700,6±6,1
pH(H ₂ O)		7,2	5,3

MO: materia orgánica. / MO: organic matter.

El experimento se desarrolló mediante el uso de bolsas de 7 kg de capacidad, una mezcla de oligogalacturónidos (Ogal) y se utilizaron como modelo plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) de la variedad Amalia, cuyas semillas fueron suministradas por el Departamento de Genética y Mejoramiento Vegetal del INCA, los tratamientos realizados se describen en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Descripción de los tratamientos aplicados en un suelo contaminado, con las formas de aplicación independientes y algunas de sus combinaciones en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), San José de las Lajas, Cuba, 2021.

Table 2. Description of the treatments Applied to soil contaminated with independent application methods and some of their combinations at the Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), San José de las Lajas, Cuba, 2021.

Tratamiento	Descripción de los tratamientos		
	Suelo	Medio imbibición de semillas	Concentración y método de aplicación de Ogal
1	Normal	Agua	-
2	Contaminado*	Agua	-
3	Contaminado	Ogal	-
4	Contaminado	Agua	Aplicado al suelo (30 mg kg ⁻¹)
5	Contaminado	Agua	Aspersión foliar (20 mg L ⁻¹)
6	Contaminado	Ogal	Aspersión foliar (20 mg L ⁻¹)
7	Contaminado	Agua	Aplicado al suelo y aspersión foliar

* Suelo clasificado como ferralítico rojo amarillento lixiviado típico eútrico, contaminado con Cu, Cd y Fe. / *Soil classified as typical eutric leached red-yellow ferralitic, contaminated with Cu, Cd, and Fe.

** Ogal: producto a base de oligogalacturónidos. / **Ogal: A product based on oligogalacturonides.

En todos los experimentos se utilizaron diez macetas por cada tratamiento, se sembraron tres semillas por maceta y a los siete días de emergidas las plantas se dejó solo una en cada maceta, con un diseño completamente aleatorizado. El riego se realizó mediante la aplicación de 50 mL de agua cada dos días. Este experimento se repitió tres veces en el tiempo (n= 70), los resultados que se presentan son los promedios de sus repeticiones.

Toma de muestras

Las muestras se obtuvieron a los 35 y 56 días de emergidas las plantas, se determinó el contenido de malondialdehído, la actividad peroxidasa, el contenido de proteínas totales y el contenido de clorofilas. Para la determinación de malondialdehído (MDA), la actividad de la enzima peroxidasa y las proteínas totales, se tomaron tres muestras cada una de 0,25 g por planta, estas se congelaron en el momento del muestreo al introducirlas en nitrógeno líquido y se conservaron a -60 °C. Además, se tomaron tres discos en cada tratamiento para expresar los resultados de las determinaciones en base a la masa seca.

Para la extracción, las muestras se maceraron en nitrógeno líquido y se añadió 2,5 mL de tampón fosfato de sodio 100 mmol L⁻¹, pH 7,8, EDTA 0,1 mmol L⁻¹, TritonX-100 0,1 % (v:v) y PVPP 1,5 % (m:v). luego se centrifugaron a 13 000 g durante 20 min a 4 °C en una centrífuga refrigerada y se colectó el sobrenadante (extracto) para los análisis posteriores.

Determinación del contenido de malondialdehído

Para la determinación del contenido de malondialdehído se adicionó en tubos Eppendorf 0,5 mL de extracto, 0,5 mL de ácido tiobarbitúrico al 0,5 % (m:v) disuelto en ácido tricloroacético al 20 %. Se calentó la mezcla en baño de agua durante 25 min a 95 °C y se detuvo la reacción al introducir los tubos en hielo. Luego, se centrifugó a 1300 g por 10 min. Se extrajo la fase sobrenadante y se realizó la lectura de absorbancia a 532 y 600 nm en un espectrofotómetro UV/ Visible. Se estimó la cantidad de MDA a partir del coeficiente de extinción de 155 mmol L⁻¹ cm⁻¹, expresándose como nmol de malondialdehído por milígramo de proteínas del sobrenadante.

Determinación de la actividad peroxidasa

Para la determinación de la actividad de la peroxidasa se añadió 50 µL de extracto y se le adicionó una mezcla de reacción que contenía 100 mmol L⁻¹ del tampón fosfato, pH 7, pirogalol 40 mmol L⁻¹ y peróxido de hidrógeno 0,25 % (v:v), en un volumen total de 1 mL. La formación de pirogalol oxidado se midió en un espectrofotómetro UV/Visible, a través del monitoreo del incremento de la absorbancia de la purpurogalina a 420 nm cada 10 s en un intervalo de 1 min. La actividad enzimática se expresó como µmol de producto transformado por minuto por mg de proteína (actividad específica).

Cuantificación de proteínas totales

Las proteínas totales se cuantificaron por el método de Micro-Lowry, para lo cual se tomaron 20 µL de extracto en tubos Eppendorf y se le añadió 180 µL de H₂O y 1 mL de reactivo de Lowry, se agitó en un vórtex durante 10 s y se dejó reposar 10 min a temperatura ambiente, luego se añadió 100 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu, se agitó y se dejó reposar 30 min a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se realizó la lectura a 750 nm en un espectrofotómetro UV/Visible. Se utilizó la albúmina de suero bovino (BSA) para realizar la curva patrón.

Determinación del contenido de clorofilas

La determinación del contenido de clorofilas se estimó a través de un medidor portátil de clorofilas MINOLTA SPAD* 502 plus (Soil Plant Analysis Development), las mediciones se realizaron en la tercera hoja bien desarrollada del ápice hacia abajo. Los datos se expresaron en unidades SPAD.

Análisis de datos

Para el análisis de los datos se verificó la distribución normal a través de la prueba de Kolmogorov- Smirnov y la homogeneidad de varianza de los datos. Los resultados se sometieron a análisis de varianza (ANDEVA) de clasificación simple y doble (en función de los objetivos del experimento), en caso de diferencias significativas, las medias se compararon según la prueba de Tuckey ($p \leq 0,05$). Para el procesamiento de los datos se utilizó el paquete estadístico STATGRAPHICS Plus versión 5.0 para Windows.

Resultados

Los resultados de la determinación de los indicadores bioquímico-fisiológicos evidenciaron las afectaciones en la síntesis de proteínas por la contaminación, la cual fue significativamente ($p < 0,05$) atenuada por todas las variantes de uso de la mezcla Ogal (Cuadro 3). Las alternativas de aplicación que provocaron niveles equivalentes o muy semejantes al detectado en las plantas crecidas en condiciones normales fueron las independientes. Para el caso del contenido de proteínas, la inclusión de la mezcla Ogal en todas las formas de aplicación, atenuó la disminución que provoca el estrés metálico en ambos momentos. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas respecto a plantas no contaminadas. Una tendencia equivalente se registró en cuanto a la actividad enzimática de las peroxidasas, aunque en general, los valores estuvieron por encima de los encontrados en las plantas de las condiciones normales (Cuadro 3).

Cuadro 3. Contenido de malondialdehído (mmol g^{-1} MS), actividad enzimática peroxidasa ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$ MS) y concentración de proteínas (mg g^{-1} MS), en las hojas de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con diferentes formas de aplicación de la mezcla de Ogal en suelos contaminado y sin contaminar a los 35 y 48 días de germinadas las plantas en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), San José de las Lajas, Cuba. 2021.

Table 3. Malondialdehyde content (mmol g^{-1} MS), peroxidase enzymatic activity ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$ MS), and protein concentration (mg g^{-1} MS), in tomato plants leaves (*Solanum lycopersicum* L.) subjected to different Ogal mixture application methods in contaminated and uncontaminated soils at 35 and 48 days post germination at the Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), San José de las Lajas, Cuba. 2021.

Días	Proteína foliar (mg g^{-1} MS)		Actividad enzimática peroxidasa ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$ MS)		Malondialdehído (mmol g^{-1} MS)	
	35	48	35	48	35	48
T1	5,6a	5,5a	1,1730d	1,3612e	0,4410d	0,4523g
T2	3,2c	3,1c	1,9021a	1,9472a	0,8446a	0,8241a
T3	3,6bc	3,7bc	1,5932b	1,6874bc	0,6432b	0,6548d
T4	4,3b	4,5ab	1,7947a	1,7803b	0,6925b	0,7123b
T5	3,9bc	4,0bc	1,6556b	1,6596bc	0,6544b	0,6695c
T6	3,4c	3,6bc	1,2837d	1,4578de	0,5203c	0,5364f
T7	3,5c	3,8bc	1,4267c	1,5640cd	0,5397c	0,5512e
ESx	0,23**	0,40*	0,04***	0,04***	0,03***	0,07***

T1- Suelo normal y semillas embebidas en agua (Control), T2- Suelo contaminado y semillas embebidas en agua, T3- Suelo contaminado y semillas embebidas con Ogal (30 mg L^{-1}), T4- Suelo contaminado y aplicación de Ogal al suelo (30 mg kg^{-1}) y semillas embebidas con agua, T5- Suelo contaminado, semillas embebidas en agua y aspersión foliar con Ogal (20 mg L^{-1}), T6- Suelo contaminado, semillas embebidas con Ogal (30 mg L^{-1}) y aspersión foliar con Ogal (20 mg L^{-1}), T7- Suelo contaminado y aplicación de Ogal al suelo (30 mg kg^{-1}) y aspersión foliar con Ogal (20 mg L^{-1}). ESx: error estandar. *Letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) según la prueba Tukey. / T1- Normal soil and seeds soaked in water (Control), T2- Contaminated soil and seeds soaked in water, T3- Contaminated soil and seeds soaked with Ogal (30 mg L^{-1}), T4- Contaminated soil and Ogal application to the soil (30 mg kg^{-1}) with seeds soaked in water, T5- Contaminated soil, seeds soaked in water, and foliar spray with Ogal (20 mg L^{-1}), T6- Contaminated soil, seeds soaked in Ogal (30 mg L^{-1}), and foliar spray with Ogal (20 mg L^{-1}), T7- Contaminated soil treated with Ogal application to the soil (30 mg kg^{-1}) with foliar spray of Ogal (20 mg L^{-1}). ESx: Standard error. *Different letters indicate significant differences ($p \leq 0,05$) according to the Tukey's test.

En cuanto a los niveles de malondialdehído, se evidenció que tanto a los 35 como a los 48 días, la inclusión de la mezcla de Ogal provocó que disminuyeran significativamente, en comparación con el de las plantas crecidas

Cuadro 4. Unidades SPAD en las hojas de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con diferentes formas de aplicación de la mezcla de Ogal en suelos contaminado y sin contaminar a los 35 y 48 días de germinadas las plantas en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), San José de las Lajas, Cuba. 2021.

Table 4. SPAD readings in tomato plants leaves (*Solanum lycopersicum* L.) with different Ogal mixture application in contaminated and uncontaminated soils at 35 and 48 days post germination at the Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), San José de las Lajas, Cuba. 2021.

Días	Tratamiento							ESx
	1	2	3	4	5	6	7	
35	30,12a	14,6e	21,76cd	20,42d	22,94c	27,52b	26,32b	0,58***
48	45,44a	20,46e	22,92d	23,82d	22,48d	33,12b	29,46c	0,62**

T1- Suelo normal y semillas embebidas en agua (Control), T2- Suelo contaminado y semillas embebidas en agua, T3- Suelo contaminado y semillas embebidas con Ogal (30 mg L⁻¹), T4- Suelo contaminado y aplicación de Ogal al suelo (30 mg kg⁻¹) y semillas embebidas con agua, T5- Suelo contaminado, semillas embebidas en agua y aspersión foliar con Ogal (20 mg L⁻¹), T6- Suelo contaminado, semillas embebidas con Ogal (30 mg L⁻¹) y aspersión foliar con Ogal (20 mg L⁻¹), T7- Suelo contaminado y aplicación de Ogal al suelo (30 mg kg⁻¹) y aspersión foliar con Ogal (20 mg L⁻¹). ESx: error estandar. *Letras diferentes indican diferencias significativas (p≤0.05) según la pruebaTukey. / T1- Normal soil and seeds soaked in water (Control), T2- Contaminated soil with seeds soaked in water, T3- Contaminated soil and seeds soaked in with Ogal solution (30 mg L⁻¹), T4- Contaminated soil with Ogal (30 mg kg⁻¹) with seeds soaked with water, T5- Contaminated soil, seeds soaked in water, and foliar spray with Ogal (20 mg L⁻¹), T6- Contaminated soil with seeds soaked in Ogal (30 mg L⁻¹), and foliar spray with Ogal (20 mg L⁻¹), T7- Contaminated soil treated with Ogal (30 mg kg⁻¹) and foliar spray of Ogal (20 mg L⁻¹). ESx: Standard error. *Different letters indicate significant differences (p≤0.05) according to the Tukey's test.

en el medio contaminado sin su aplicación, se obtuvieron en algunos casos valores semejantes al de las plantas en condiciones normales, para los tratamientos combinados.

Tanto a los 35 como a los 48 días, el contenido en pigmentos fotosintéticos (Cuadro 4) se vio reducido en las plantas cultivadas en suelo contaminado sin el uso de Ogal (T2), en comparación con el tratamiento control (T1). En las plantas donde se usaron las diferentes formas de aplicación del Ogal, no se observaron diferencias significativas, donde los tratamientos en los que se aplicaron de forma combinada fueron los que mostraron las menores afectaciones.

Discusión

Las modificaciones encontradas en el contenido de proteínas, la actividad enzimática peroxidasa y el contenido de malondialdehído MDA en las plantas de tomate, son un indicador del daño oxidativo provocado por la acumulación de metales pesados en los tejidos de la planta. El efecto que los altos niveles de metales pesados producen en las plantas, se vieron atenuados producto de la aplicación de la mezcla de Ogal, lo que indica el efecto beneficioso de la asociación de la mezcla de Ogal con metales pesados. La producción de especies reactivas de oxígeno y el daño oxidativo se redujo, lo cual trae consigo una mayor detoxificación en las plantas. Esta disminución en el contenido de proteína foliar guarda estrecha relación con los mecanismos de adaptación de las plantas al estrés metálico, por tanto, se ve modificado el metabolismo del nitrógeno (Beltrán-Pineda & Gómez-Rodríguez, 2016).

La presencia de los metales pesados en el medio pudo activar mecanismos de defensa de la planta, relacionados con la producción de enzimas con actividad peroxidasa, como por ejemplo la ascorbato peroxidada, que están implicadas en varios procesos fisiológicos como la desintoxicación del peróxido de hidrógeno, el catabolismo de las auxinas, la lignificación, la suberización, la respuesta a estrés y la senescencia (Delgado-Oramas, 2020).

Las plantas crecidas en el medio contaminado sin la aplicación de Ogal mostraron valores superiores a las plantas control y a todas en las que se emplearon diferentes formas de aplicación de este producto. En estas plantas la actividad de esta enzima manifestó valores intermedios entre T1 y T2. La combinación de la aplicación de Ogal al suelo y la aspersión foliar indujeron valores más cercanos a los de las plantas no estresadas por los metales pesados.

La concentración de malondialdehído es un indicador del estrés oxidativo, en la presente investigación se pudo observar un aumento de los valores de malondialdehído en las plantas sometidas a altos niveles de cationes metálicos con respecto al control, lo que sugiere el efecto en estrés oxidativo del catión metálico, que aumenta la actividad de enzimas lipoxigenasas, que catalizan la peroxidación de lípidos. Además, numerosos estudios informan que los niveles de malondialdehído se incrementan en plantas expuestas a tratamientos con cationes metálicos (Pérez-Álvarez et al., 2022; Sánchez-Zepeda et al., 2021). Se observó de forma preliminar, que los incrementos que el estrés produce en los niveles de malondialdehído y la actividad enzimática peroxidasa, se ven reducidos con la aplicación de reguladores del crecimiento (Alcántara Cortes et al., 2019; Vieira de Sousa et al., 2021).

El contenido de malondialdehído fue superior en las plantas que crecieron en el medio contaminado sin la aplicación de la mezcla Ogal. Las alternativas de combinación de las formas de uso de la mezcla de Ogal fueron con las que se registraron los valores más próximos al de las plantas en condiciones normales, lo que refleja el efecto de los reguladores del crecimiento en la disminución del estrés oxidativo. La disminución de pigmentos fotosintéticos ya ha sido descrita en muchas especies (Llatance Oyarce et al., 2019; Hernández-Baranda et al., 2019; Perales Aguilar et al., 2021) como consecuencia de la exposición a metales pesados.

Se comprobó una sensible reducción de pigmentos fotosintéticos en aquellas plantas crecidas en el suelo contaminado por los cationes metálicos. La disminución más drástica se registró en las plantas en las que no se empleó ninguna de las formas de aplicación de la mezcla Ogal. La combinación de la imbibición de las semillas y la aspersión foliar provocó un descenso menos pronunciado del contenido de estos pigmentos. La clorosis es uno de los primeros síntomas de fitotoxicidad por metales pesados que muestran las plantas y además, se ha visto que esta reducción es mayor en el caso de las hojas en desarrollo que en las hojas completamente desarrolladas (Apaza Machaca et al., 2019).

Los sistemas enzimáticos relacionados con el metabolismo de la clorofila pueden afectarse durante el estrés abiótico por la presencia de metales, por lo que la respuesta encontrada para este indicador puede ser el resultado de la inhibición de las enzimas de su ruta biosintética o por la modificación de la absorción de nutrientes esenciales (Romero-Puertas et al., 2019; Terrón-Camero et al., 2020). Lo obtenido en cuanto a este indicador está en correspondencia con los resultados encontrados por Delince et al. (2015), quienes evaluaron el comportamiento de algunos indicadores bioquímicos-fisiológicos, en condiciones semicontroladas, en los cultivos de papa (*Solanum tuberosum* L.) y arroz (*Oryza sativa* L.) sometidos a condiciones de estrés metálico, similar a lo obtenido al determinar la respuesta a diversos estreses medioambientales de plantas cultivadas con estimuladores del crecimiento (Espinosa-Antón et al., 2020; Hong Zhang et al., 2014).

Los resultados indican que las concentraciones de metales pesados presentes en el suelo, aún cuando sobrepasaron los límites permisibles generales, no resultaron ser letales para las plantas, ya que no se evidenciaron efectos fitotóxicos visibles, por lo que se puede expresar que las mismas han desarrollado mecanismos de adaptación ante las altas concentraciones metálicas, que le permiten subsistir en estas condiciones de estrés abiótico, como plantean Guzmán-Morales et al. (2019). Esto último es de gran interés científico-técnico, pues no hay información anterior de aplicaciones de la mezcla de Ogal en esta etapa de crecimiento del cultivo del tomate en un suelo contaminado. Se hace necesario, por tanto, continuar la investigación, dado que la respuesta de las plantas de tomate dependerá en gran medida de las condiciones de crecimiento.

Conclusiones

Los resultados obtenidos, según los indicadores bioquímicos evaluados, contenido de malondialdehído, actividad peroxidasa, contenido de proteínas totales y contenido de clorofilas, indican que la mezcla de Ogal atenuó el efecto fitotóxico que provocan las altas concentraciones de Cu, Cd y Fe a plántulas de tomate hasta la fase de floración, por lo que la mezcla de Ogal muestra potencialidades para ser utilizada en la fitorremediación de medios contaminados. En la actualidad, está siendo objeto de estudio, para la introducción y validación, lo que posibilita un acercamiento a la rentabilidad de los suelos con altos niveles de cationes metálicos y el incremento de la biodiversidad de especies en ecosistemas frágiles y degradados.

Referencias

- Alcantara Cortes, J. S., Acero Godoy, J., Alcántara Cortés, J. D., & Sánchez Mora, R. M. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *Nova*, 17(32), 109–129. <https://revistas.unicolmayor.edu.co/index.php/nova/article/view/1036>
- Apaza Machaca, D. A., Mestas Valdivia, B. R., Romero Vargas, F. F., & Navarro Oviedo, R. D. (2019). Copper toxicity on the stomata morphology of *Gochnatia arequipensis* Sandwith (Asteraceae) from two localities of Arequipa, Perú. *Idesia (Arica)*, 37(3), 81–87. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292019000300081>
- Beltrán-Pineda, M. E., & Gómez-Rodríguez, A. M. (2016). Biorremediación de metales pesados cadmio (Cd), cromo (Cr) y mercurio (Hg) mecanismos bioquímicos e ingeniería genética: Una revisión. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 12(2), 172–197. <https://doi.org/10.18359/rfcb.2027>
- Falcón Rodríguez, A. B., González-Peña, D., Nápoles García, M. C., Morales Guevara, D. M., Núñez Vázquez, M. C., Cartaya Rubio, O. E., Martínez González, L., Terry Alfonso, E., Costales Menéndez, D., Dell Amico, J. M., Jerez Mompié, E., González Gómez, L. G., & Jiménez Arteaga, M. C. (2021). Oligosacarinas como bioestimulantes para la agricultura cubana. *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba*, 11(1), Artículo e852. <https://revistaccuba.sld.cu/index.php/revacc/article/view/852>
- Delgadillo-López, A. E., González-Ramírez, C. A., Prieto-García, F., Villagómez-Ibarra, J. R., & Acevedo-Sandoval, O. (2011). Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14(2), 597–612. <https://www.revista.ccba.uady.mx/ojs/index.php/TSA/article/view/814/565>
- Delgado-Oramas, B. P. (2020). Induced resistance as an alternative for pest management in crops. *Revista de Protección Vegetal*, 35(1), 1–12.
- Delince, W., Valdés Carmenate, R., López Morgado, O., Guridi Izquierdo, F., & Balbín Arias, M. I. (2015). Riesgo agroambiental por metales pesados en suelos con cultivos de *Oryza sativa* L y *Solanum tuberosum* L. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 24(1), 44–50.
- Espinosa-Antón, A. A., Hernández-Herrera, R. M., & González-González, M. (2020). Extractos bioactivos de algas marinas como bioestimulantes del crecimiento y la protección de las plantas. *Biotecnología Vegetal*, 20(4), 257–282.
- Guzmán-Morales, A., Cruz-La Paz, O., & Valdés-Carmenate, R. (2019). Effects of the pollution by heavy metals in a soil with agricultural use. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 28(1), 1–9.

- Hernández-Baranda, Y., Rodríguez-Hernández, P., Peña-Icart, M., Meriño-Hernández, Y., & Cartaya-Rubio, O. (2019). Toxicidad del Cadmio en las plantas y estrategias para disminuir sus efectos. Estudio de caso: El tomate. *Cultivos Tropicales*, 40(3), Artículo e10. <https://ediciones.inca.edu.cu/index.php/ediciones/article/view/1524>
- Hernández-Jiménez, A., Pérez-Jiménez, J. M., Bosch-Infante, D., & Castro Speck, N. (2019). La clasificación de suelos de Cuba: énfasis en la versión de 2015. *Cultivos Tropicales*, 40(1), Artículo e15. <https://ediciones.inca.edu.cu/index.php/ediciones/article/view/1504>
- Hong Zhang, Z., Jhaveri, D. J., Marshall, V. M., Bauer, D. C., Edson, J., Narayanan, R. K., Robinson, G. J., Lundberg, A. E., Bartlett, P. F., Wray, N. R., & Zhao, Q. -Y. (2014). A comparative study of techniques for differential expression analysis on RNA-Seq data. *PLoS ONE*, 9(8), Article e103207. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103207>
- Hu, Z., Wang, C., Li, K., & Zhu, X. (2018). Distribution, characteristics and pollution assessment of soil heavy metals over a typical nonferrous metal mine area in Chifeng, Inner Mongolia, China. *Environment Earth Science*, 77, Article 638. <https://doi.org/10.1007/s12665-018-7771-1>
- Iram, S., Zaman, A., Iqbal, Z., & Shabbir, R. (2013). Heavy metal tolerance of fungus isolated from soil contaminated with sewage and industrial wastewater. *Polish Journal of Environmental Studies*, 22(3), 691–697. <http://www.pjoes.com/Heavy-Metal-Tolerance-of-Fungus-Isolated-r-nfrom-Soil-Contaminated-with-Sewage-r,89023,0,2.html>
- Kozłowski, R., Jóźwiak, M., Jóźwiak, M. A., & Rabajczyk, A. (2011). Chemism of atmospheric precipitation as a consequence of air pollution: The case of Poland's Holy cross mountains. *Polish Journal of Environmental Studies*, 20(4), 919-924. <http://www.pjoes.com/Chemism-of-Atmospheric-Precipitation-r-nas-a-Consequence-of-Air-Pollution-the-Case,88634,0,2.html>
- Llatance Oyarce, W., Emiliani, J., Bergara, C. D., Salvatierra, L. M., & Pérez, L. M. (2019). Caracterización de los mecanismos de fitorremediación de *Salvinia* sp. frente a la exposición a metales pesados y su impacto sobre la fisiología vegetal. *Energeia*, 16(16), 37–45.
- Mederos-Torres, Y., Hormaza-Montenegro, J., Reynaldo-Escobar, I., & Montesino-Sequi, R. (2011). Caracterización de mezclas de oligogalacturónidos Bioactivos. *Revista CENIC Ciencias Químicas*, 42(2-3), 1–5. <https://revista.cnice.edu.cu/index.php/RevQuim/article/view/547>
- Navarro-Aviñó, J., Aguilar Alonso, I., & López-Moya, J. (2007). Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas*, 16(2), 10–25. <https://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/view/125>
- Pabón, S. E., Benítez, R., Sarria-Villa, R. A., & Gallo, J. A. (2020). Contaminación del agua por metales pesados, métodos de análisis y tecnologías de remoción. Una revisión. *Entre Ciencia e Ingeniería*, 14(27), 9–18. <https://doi.org/10.31908/19098367.1734>
- Perales Aguilar, L., Santos Díaz, M. del S., Gómez Aguirre, Y. A., Ramos Gómez, M. S., & Pérez Molphe Balch, E. (2020). Análisis *in vitro* de la acumulación de metales pesados en plantas de la familia Asparagaceae tolerantes a la baja disponibilidad de agua. *Nova Scientia*, 12(24), 1–22.
- Perales-Aguilar, L., Esquivel-Rivera, J. A., Silos-Espino, H., Carrillo-Rodríguez, J. C., & Perales-Segovia, C. (2021). Tolerancia de plantas de zonas áridas a metales pesados. *Terra Latinoamericana*, 39, Artículo e–759. <https://doi.org/10.28940/terra.v39i0.759>

- Pérez-Álvarez, S., Héctor-Ardisana, E. F., Escobedo-Bonilla, C. M., Flores-Córdova, M. A., Sánchez-Chávez, E., & Urías García, C. (2022). Actividad bioquímica y molecular de enzimas del estrés oxidativo en plantas de tomate creciendo con plomo. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 8(3), Artículo e3163. <https://doi.org/10.19136/era.a8n3.3163>
- Ramírez Gottfried, R., García Carrillo, M., Álvarez Reyna, V. de P., González Cervantes, G., & Hernández Hernández, V. (2019). Potencial fitorremediador de la chicura (*Ambrosia ambrosioides*) en suelos contaminados por metales pesados. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(7), 1529–1540. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i7.1731>
- Romero-Puertas, M. C., Terrón-Camero, L. C., Peláez-Vico, M. Á., Olmedilla, A., & Sandalio, L. M. (2019). Reactive oxygen and nitrogen species as key indicators of plant responses to Cd stress. *Environmental and Experimental Botany*, 161, 107–119. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.10.012>
- Sánchez-Zepeda, M. Y., López-Herrera, M., & Romero-Bautista, L. (2021). Determinación de la capacidad de biacumulación de cadmio en *Vicia faba* L. y su efecto en la raíz y el crecimiento vegetativo. *Revista Biológica Agropecuaria Tuxpan*, 9(2), 46–60. <https://doi.org/10.47808/revistabioagro.v9i2.358>
- Silva, J. R. R., Fernandes, A. R., Silva Junior, M. L., Santos, C. R. C., & Lobato, A. K. S. (2018). Tolerance mechanisms in *Cassia alata* exposed to cadmium toxicity-potential use for phytoremediation. *Photosynthetica*, 56(2), 495–504. <https://doi.org/10.1007/s11099-017-0698-z>
- Suárez González, O., Valcarce Ortega, R. M., Vega Carreño, M., & Rodríguez Miranda, W. (2021). Riesgo de contaminación de las aguas subterráneas en la cuenca Almendares-Vento, Cuba. *Ingeniería Hidráulica y Ambiental*, 42(3), 154–176. <https://riha.cujae.edu.cu/index.php/riha/article/view/555>
- Terrón-Camero, L., del Val, C., Sandalio, L. M., & Romero-Puertas, M. C. (2020). Low endogenous no levels in roots and antioxidant systems are determinants for the resistance of Arabidopsis seedlings grown in Cd. *Environmental Pollution*, 256, Article 113411. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113411>
- Vieira de Sousa, L., da Silva, T. I., de Queiroz Lopes, M. de F., da Silva Leal, M. P., Sousa Basilio, A. G., de Melo Filho, J. S., Leal, Y. H., & Dias, T. J. (2021). Estrés salino y regulador del crecimiento vegetal en la albahaca: efectos sobre las plantas y el suelo. *DYNA*, 88(217), 75–83. <https://doi.org/10.15446/dyna.v88n217.87633>