

Efectos del cadmio sobre el crecimiento y la composición elemental de la alfalfa en cultivo de arena

Effects of cadmium on the growth and elemental composition of alfalfa in sand culture

Klaus P. Raven Willwater¹

Resumen

El cadmio (Cd) es un elemento traza natural que puede provocar toxicidad en las plantas. Los objetivos de esta investigación fueron evaluar los efectos del nivel de Cd en un medio de arena sobre el crecimiento de la alfalfa y su contenido de Cd, calcio (Ca), cobre (Cu), hierro (Fe), potasio (K), magnesio (Mg), manganeso (Mn), nitrógeno (N), sodio (Na), fósforo (P), azufre (S) y zinc (Zn). Los tratamientos fueron 3 dosis de Cd: 0, 5 y 25 mg kg⁻¹ arena. Semillas de alfalfa fueron sembradas en estos medios, en base a un diseño de bloques completos randomizados con tres repeticiones. Las plantas se dejaron crecer por 60 días, siendo periódicamente regadas y fertilizadas. A la cosecha, se evaluaron el contenido de clorofila, la materia seca de raíces y parte aérea y las concentraciones de los mencionados elementos en la materia seca. A mayor dosis de Cd se observaron notorias reducciones del contenido de clorofila y del crecimiento vegetal. Ninguna de las plantas, ya sea expuestas o no a este elemento, mostraron carencia o exceso de algún nutriente mineral estudiado. La adición de Cd tendió a provocar la concentración de elementos nutritivos en la reducida materia seca y la acumulación preferencial de estos en la parte aérea a expensas de las raíces. No se observó ningún efecto específico notorio de este elemento sobre los nutrientes minerales evaluados. Aparentemente, una limitada fotosíntesis en las plantas fue el daño directo principal del Cd en este estudio.

Palabras clave: cadmio; alfalfa; crecimiento; elemento; nutriente; arena.

Abstract

Cadmium (Cd) is a natural trace element that may cause toxicity in plants. The objectives of this research were to evaluate the effects of the Cd level in a sand medium on the growth of alfalfa and its content of Cd, calcium (Ca), copper (Cu), iron (Fe), potassium (K), magnesium (Mg), manganese (Mn), nitrogen (N), sodium (Na), phosphorus (P), sulfur (S) and zinc (Zn). The treatments were 3 Cd doses: 0, 5 and 25 mg kg⁻¹ sand. Alfalfa seeds were sown in these media, according to a randomized complete block design with 3 replicates. The plants were allowed to grow for 60 days, being periodically watered and fertilized. At harvest, the chlorophyll content, the root and shoot dry matter, and the concentrations of the mentioned elements in dry matter were evaluated. Notorious decreases in chlorophyll content and plant growth were observed at higher Cd doses. None of the plants, either exposed or not to Cd, showed shortage or excess of any of the studied nutrient elements. The addition of Cd tended to concentrate the nutrient elements in the reduced dry matter and to preferentially accumulate them in the shoots at the expense of roots. No specific notorious effect of this element was observed on the evaluated mineral nutrients. Apparently, limited photosynthesis in plants was the main direct damage of Cd in this study.

Keywords: cadmium; alfalfa; growth; element; nutrient; sand.

1. Introducción

El cadmio (Cd) es un elemento traza en el ambiente natural, incluyendo suelos y plantas (Kabata-Pendias & Szeke, 2015). Este elemento no es esencial para la vida, pero ha adquirido interés debido al efecto perjudicial que causa en animales y plantas cuando se almacena en sus tejidos.

La acumulación de Cd en las plantas tiende a alterar su metabolismo y fisiología y, eventualmente, puede causar su muerte (DalCorso *et al.*, 2013; Irfan *et al.*, 2013). Sin embargo, una cantidad significativa de este debe ser incorporada para que se produzcan daños notorios en su crecimiento y desarrollo (Bingham *et al.*, 1975).

Un contenido elevado de Cd en especies vegetales afecta su composición elemental (DalCorso *et al.*, 2013; Irfan *et*

al., 2013). La mayor parte de la información existente sobre este tema se originó de datos complementarios generados en estudios acerca de algún aspecto de la toxicidad del Cd en plantas. Estos trabajos generalmente presentaron resultados acerca de un número restringido de elementos nutritivos. Investigaciones específicamente diseñadas para estudiar el efecto del Cd sobre la nutrición mineral de las plantas y que incluyeron a seis o más elementos nutritivos han sido llevados a cabo en solución nutritiva con alfalfa (Ibekwe *et al.*, 1996), *Pfaffia glomerata* (Gomes *et al.*, 2013) y tomate (Hédiji *et al.*, 2015). Estudios de estas características no se han realizado en suelos o sustratos relacionados. Por otra parte, los trabajos hidropónicos mencionados han producido información limitada acerca

¹Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú. Email: kpraven@lamolina.edu.pe

del nitrógeno (N), sodio (Na), fósforo (P) y azufre (S). Finalmente, los efectos provocados por el Cd no siempre han tenido el mismo patrón de respuesta para cada elemento nutritivo en las plantas.

El conocimiento del efecto del Cd sobre la composición elemental de las plantas es útil porque estas son utilizadas para el consumo humano y del ganado. Además, las plantas son empleadas en algunas tecnologías de remediación de suelos contaminados. Esta información permite plantear estrategias para mejorar el contenido de nutrientes y reducir la acumulación de Cd en el producto cosechado y para mejorar la supervivencia de especies vegetales en suelos contaminados. La alfalfa es comúnmente utilizada para alimentar animales domésticos. Esta especie vegetal también ha sido recomendada para fitoestabilizar metales pesados en suelos contaminados (Motesharezadeh *et al.*, 2010).

Los objetivos del presente trabajo fueron evaluar los efectos del nivel de Cd en un sustrato de arena sobre el crecimiento de la alfalfa y su contenido de Cd, calcio (Ca), cobre (Cu), hierro (Fe), potasio (K), magnesio (Mg), manganeso (Mn), N, Na, P, S y zinc (Zn).

2. Materiales y métodos

Para lograr el objetivo de la presente investigación, se ejecutó un experimento con 3 tratamietres y 3 repeticiones. Las 9 unidades experimentales fueron distribuidas en un patio experimental en Lima, Perú, en base a un diseño de bloques completos randomizados. Los tratamientos fueron 3 dosis de aplicación de Cd: 0, 5 y 25 mg kg⁻¹ sustrato. Estas dosis representaron las situaciones prácticas de suelos con grados de contaminación bajo, moderado y alto, respectivamente. Cada unidad experimental consistió de una maceta conteniendo 20 plantas de alfalfa creciendo en 1 kg de arena tratada.

La arena utilizada presentó un pH igual a 8,22, una conductividad eléctrica en extracto de saturación igual 1,31 dS m⁻¹ y un contenido de carbonatos igual a 31 g kg⁻¹. Estos parámetros fueron determinados, así como descrito por Bazán (1996). Nueve porciones de 1 kg de arena seca al aire fueron separadas y colocadas en bolsas plásticas. A cada porción, se adicionaron 25 mL de solución de CdCl₂·2,5H₂O para lograr la dosis de Cd correspondiente. Después de homogeneizar cada porción de arena tratada, estas fueron transferidas a recipientes de plástico de 1 L de capacidad y llevadas a capacidad de campo.

Al cabo de 2 días de equilibración, se inició el experimento con la siembra de 40 semillas de alfalfa de la variedad San Pedro en cada recipiente. A los 26 días después de la siembra, se redujo el número de plantas de alfalfa a 20 por maceta. Durante el ensayo, cada unidad experimental fue regada periódicamente con agua desionizada para evitar estrés hídrico. Además, todas las macetas recibieron un suplemento de 150, 40, 100, 50, 20, 27, 20, 10, 4 y 1,2 mg maceta⁻¹ de N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, Zn y Cu, respectivamente. Durante el bioensayo, la temperatura y humedad relativa medias en el patio experimental fueron 25,9 °C y 64,5 %, respectivamente.

Un día antes de la cosecha, se evaluó el contenido de clorofila en las plantas de alfalfa. Para ello, se realizaron 10 determinaciones por maceta, siendo cada una hecha en un tallo seleccionado al azar. Cada determinación se efectuó en el foliolo central de la hoja localizada en la parte media del tallo. Las mediciones se ejecutaron con un medidor SPAD 502 (Spectrum Technologies, Inc.). Los resultados fueron reportados como promedios de 10 determinaciones por maceta y expresados en unidades SPAD.

La cosecha se realizó a los 60 días después de la siembra. Esta se inició con la colección de biomasa de la parte aérea, mediante corte a nivel de la corona de la planta. Por otra parte, la biomasa de las raíces se obtuvo en base al siguiente procedimiento: (i) desprendimiento de raíces de la arena después de sumergir la maceta íntegra en un balde con agua potable, (ii) colección del material radicular desprendido mediante paso del contenido del balde a través de un tamiz de plástico, y (iii) lavado de raíces colectadas sobre el tamiz bajo chorro de agua potable. La biomasa separada de parte aérea y raíces fue lavada con agua desionizada y colocada en bolsas de papel.

Las bolsas de papel conteniendo la biomasa cosechada fueron colocadas en una estufa graduada a 68 °C y sometidas a secado hasta obtener peso constante en el tiempo. Los pesos de la materia seca así obtenida se registraron. Estos resultados se utilizaron para calcular la materia seca total y el cociente de materia seca de parte aérea a raíces para cada unidad experimental.

Las muestras de materia seca fueron molidas, usando un mini molino Wiley (Thomas Scientific) con malla de 40 mesh. La materia seca molida fue colectada en bolsas de polietileno. Luego, esta fue empleada para determinar sus concentraciones de Cd, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, N, Na, P, S y Zn. Con los datos de concentración para cada elemento químico en la materia seca de raíces y parte aérea, se procedió a calcular las extracciones de este en raíces, parte aérea y total de planta y el cociente de extracciones de parte aérea a raíces.

La concentración de N en la materia seca se determinó mediante el método de micro-Kjeldahl. Cada muestra de 0,1 g fue digerida con H₂SO₄ en presencia de una mezcla catalizadora de CuSO₄:K₂SO₄ 1:9 en un tubo de digestión de 100 ml colocado en un equipo Turbotherm (Gerhardt Analytical Systems). Al cabo de 1,5 horas, se destiló la muestra digerida en un equipo Vapodest 20s (Gerhardt Analytical Systems), y el NH₃ desprendido fue colectado en H₃BO₃ al 2 % conteniendo los indicadores rojo de metilo y azul de metileno. El NH₃ colectado fue titulado con H₂SO₄ 0,02 N.

Las concentraciones de los demás elementos químicos fueron determinadas a partir de extractos de digestión húmeda de la materia seca. La digestión húmeda se realizó usando HNO₃ y HClO₄ de acuerdo con un procedimiento modificado de Jones y Case (1990). Las modificaciones fueron: (i) tamaño de muestra de 1 g, (ii) uso de 10 mL de una mezcla 5:1 de HNO₃:HClO₄ concentrados desde el inicio y sin adiciones posteriores de ácidos, y (iii) filtrado y dilución final a 25 mL. Las concentraciones de Cd, Ca, Cu,

Fe, K, Mg, Mn y Zn en los extractos fueron determinadas por espectrofotometría de absorción atómica en llama de acetileno-aire, utilizando las líneas de absorción de 228,8, 422,7, 324,8, 248,3, 766,5, 285,2, 279,5 y 213,9 nm, respectivamente. Estos análisis se efectuaron con dos instrumentos: Perkin Elmer 3100 AAS y Perkin Elmer AAnalyst 200 AAS. Para Ca y Mg, las lecturas fueron hechas en extractos diluidos que contenían 1000 mg L⁻¹ de lantano (La). Aparte de estas consideraciones, la operación de estos instrumentos se realizó de acuerdo a las recomendaciones generales del fabricante. Por otra parte, la concentración de P en los extractos se evaluó mediante espectrofotometría de absorción molecular UV/visible del complejo molibdofosfórico, así como descrito por Bazán (1996). Finalmente, la concentración de S en los extractos se determinó mediante turbidimetría, así como detallado por Bazán (1996).

La evaluación estadística del experimento se realizó mediante el análisis de variancias y la prueba de comparación múltiple de Tukey para cada parámetro determinado o calculado. Para ello, se siguieron los lineamientos descritos por Ott y Longnecker (2016). En los casos especiales de parámetros con alto coeficiente de variabilidad y falta de significación estadística con los procedimientos paramétricos, el análisis estadístico se complementó con la prueba de Friedman, así como descrito por Hollander *et al.* (2014).

3. Resultados y discusión

El incremento del nivel de Cd en la arena tuvo un efecto depresivo sobre el crecimiento de las plantas de alfalfa, como mostrado en la Tabla 1. Al agregar 5 mg Cd kg⁻¹ arena, las producciones de materia seca de raíces, parte aérea y total se redujeron a 82, 87 y 85 %, respectivamente, de los valores de plantas testigo. Al aplicar 25 mg Cd kg⁻¹ arena, estas llegaron a disminuir hasta 60, 71 y 67 %, respectivamente, con respecto a plantas no tratadas con Cd. Estas reducciones tan notorias, no lograron significación estadística en análisis de variancias y pruebas de Tukey, excepto para la parte aérea. Sin embargo, la prueba no paramétrica de Friedman arrojó diferencias significativas entre los tratamientos para las tres variables discutidas. El efecto negativo de la aplicación de Cd sobre el crecimiento de las plantas ha sido comúnmente documentado en alfalfa (Dražić *et al.*, 2006; Ghnaya *et al.*, 2015; Ibekwe *et al.*, 1996; Motesharezadeh *et al.*, 2010) y otras especies vegetales (Ahmad *et al.*, 2016; Arshad *et al.*, 2016; Astolfi *et al.*, 2014; Borišev *et al.*, 2016; Dias *et al.*, 2013; Eller y Brix, 2016; Gill *et al.*, 2012; Gomes *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2016; Pérez-Romero *et al.*, 2016; Sebastian y Prasad, 2015; Yang *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2014). Por otra parte, el cociente de materia seca de parte aérea a raíces aumentó en un 18 % al aplicar la dosis mas alta de Cd y no alcanzó significación estadística. Ningún resultado comparable pudo encontrarse en otros trabajos

con alfalfa. Sin embargo, reportes de disminución, aunque no siempre significativos, de este parámetro ante la adición de Cd existen para especies vegetales distintas (Gomes *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2016).

La aplicación de 25 mg Cd kg⁻¹ arena disminuyó el contenido de clorofila en los folíolos de las plantas de alfalfa hasta un 85 % del valor de plantas sometidas a menores dosis, como mostrado en la Tabla 1. Esta reducción alcanzó significación estadística. Resultados similares han sido comúnmente observados en alfalfa (Ibekwe *et al.*, 1996) y otras especies vegetales (Ahmad *et al.*, 2016; Arshad *et al.*, 2016; Astolfi *et al.*, 2014; Borišev *et al.*, 2016; Dias *et al.*, 2013; Gill *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2016; Pérez-Romero *et al.*, 2016; Sebastian y Prasad, 2015; Zhang *et al.*, 2014). Una fotosíntesis restringida generalmente acompañó al menor contenido de clorofila (Arshad *et al.*, 2016; Dias *et al.*, 2013; Gill *et al.*, 2012; Pérez-Romero *et al.*, 2016). Esto es coherente con la reducida materia seca de las plantas de alfalfa de este estudio.

La aplicación de Cd afectó de manera notoria y estadísticamente significativa a todos los parámetros de concentración y extracción evaluados para este elemento, como ilustrado en la Tabla 1. Plantas de alfalfa no tratadas tuvieron concentraciones de Cd parecidas en la materia seca de raíces y parte aérea. Estos valores aumentaron 480 y 16 veces, respectivamente, al suministrar la dosis mas alta de Cd. Resultados similares se han reportado frecuentemente para alfalfa (Dražić *et al.*, 2006; Ghnaya *et al.*, 2015; Ibekwe *et al.*, 1996; Motesharezadeh *et al.*, 2010) y otras especies de plantas (Ahmad *et al.*, 2016; Arshad *et al.*, 2016; Astolfi *et al.*, 2014; Borišev *et al.*, 2016; Chaoui *et al.*, 1997; Dias *et al.*, 2013; Gill *et al.*, 2012; Gomes *et al.*, 2013; Lopes Júnior *et al.*, 2014; Pérez-Romero *et al.*, 2016; Sebastian y Prasad, 2015; Yang *et al.*, 2016). En estas investigaciones, también se observó que la concentración de Cd en las raíces tendía a ser mucho mayor que en la parte aérea.

La extracción total de Cd de las plantas de alfalfa se incrementó a unas 124 veces el valor del testigo al aplicar la dosis mayor de Cd. Esta extracción alcanzó un 12 y 6 % del Cd aplicado en las macetas tratadas con 5 y 25 mg Cd kg⁻¹ arena, respectivamente. Debe notarse que el Cd suministrado tuvo una disponibilidad relativamente alta para las plantas, porque fue aplicado como sal muy soluble en agua y el periodo de equilibración y adsorción del mismo con la arena, antes de iniciar el experimento, fue intencionalmente corto. Por ello, los citados porcentajes deben interpretarse como altos. Además, al aumentar la dosis de Cd en la arena, el cociente de extracción parte aérea a raíces para este elemento se redujo notoriamente. En plantas no tratadas, la extracción de Cd en la parte aérea fue aproximadamente 50 % mayor que en las raíces. Sin embargo, al aumentar la dosis de Cd, este se acumuló preferentemente en las raíces, cuyo contenido alcanzó un 95 % del total extraído. Tendencias variadas han sido observadas en estudios con alfalfa (Ghnaya *et al.*, 2015;

Tabla 1. Análisis de variancias y promedios para parámetros de crecimiento y de contenido de Cd en plantas de alfalfa

Parámetro	Cuadrados Medios			C. V. ¹ (%)	Promedios para Dosis Cd		
	Bloques	Dosis Cd	Error Exp.		0 mg kg ⁻¹	5 mg kg ⁻¹	25 mg kg ⁻¹
Materia Seca Raíces (g maceta ⁻¹)	0,552 ^{NS,2}	1,370 ^{NS2}	0,342	21,62	3,36a ³	2,74a	2,01a
Materia Seca Parte Aérea (g maceta ⁻¹)	0,837 ^{NS}	2,338 ^{NS}	0,344	11,13	6,13a	5,32ab	4,36b
Materia Seca Total (g maceta ⁻¹)	2,47 ^{NS}	7,29 ^{NS}	1,22	13,82	9,49a	8,06a	6,38a
Materia Seca Parte Aérea/Raíces	0,0605 ^{NS}	0,0802 ^{NS}	0,0853	14,54	1,84a	2,01a	2,17a
Clorofila (unidades SPAD)	4,78 ^{NS}	34,99*	1,22	2,95	38,9a	40,0a	33,6b
Concentración Cd Materia Seca Raíces (mg kg ⁻¹)	2231 ^{NS}	416626*	5234	23,20	1,51b	208,83b	725,16a
Concentración Cd Materia Seca Parte Aérea (mg kg ⁻¹)	1,14 ^{NS}	251,77*	1,09	11,37	1,19c	7,17b	19,17a
Extracción Cd Total (μg maceta ⁻¹)	1258 ^{NS}	1748678*	374	2,73	12,3c	587,6b	1524,9a
Extracción Cd Parte Aérea/Raíces	0,0462 ^{NS}	1,9757*	0,0454	40,05	1,4690a	0,0692b	0,0576b

¹ Coeficiente de variabilidad.

² Prueba de F para α igual a 0,05: no significativa (NS) o significativa (*).

³ Prueba de Tukey entre promedios para α igual a 0,05: letras distintas indican grupos de tratamientos significativamente diferentes.

Motesharezadeh *et al.*, 2010). Los resultados de esta y otras investigaciones (Elouear *et al.*, 2016; Motesharezadeh *et al.*, 2010) sugieren que el paso del Cd de raíces a forraje es significativamente restringido en la alfalfa. Además, esta planta sería útil para fitoestabilizar, mas que fitoextraer, el Cd en suelos contaminados.

Plantas de alfalfa severamente intoxicadas con Cd han mostrado detención del crecimiento, clorosis severa generalizada, hojas maduras con necrosis internerval y hojas jóvenes cloróticas y deformadas (Ibekwe *et al.*, 1996). En el presente estudio, las plantas tratadas con 25 mg Cd kg⁻¹ arena no llegaron a mostrar estos síntomas. Además, la concentración de Cd en la materia seca de la parte aérea no alcanzó el nivel crítico de 50 mg kg⁻¹ reportado por Ibekwe *et al.* (1996). Finalmente, la producción total de materia seca tampoco disminuyó hasta un 25 % del valor del testigo, como observado en el citado estudio.

La influencia de la adición de Cd al sustrato sobre el contenido de Ca en las plantas de alfalfa se muestra en la Tabla 2. La concentración de Ca en la materia seca de raíces no fue afectada significativamente por la dosis de Cd aplicado. Sin embargo, la aplicación de Cd aumentó en mas de 25 % la concentración de Ca en la materia seca de la parte aérea, lo cual logró ser estadísticamente relevante. En estudios previos con alfalfa, se observó que una mayor dosis de Cd causó una reducción de la concentración de Ca en raíces (Dražić *et al.*, 2006) y un aumento (Dražić *et al.*, 2006; Ibekwe *et al.*, 1996) o disminución (Ghnaya *et al.*, 2015) de aquella en la parte aérea. Reportes en otras especies vegetales, muestran efectos variables de la adición de Cd sobre la concentración de Ca en raíces y parte aérea (Ahmad *et al.*, 2016; Arshad *et al.*, 2016; Chaoui *et al.*, 1997; Dias *et al.*, 2013; Eller y Brix, 2016; Gomes *et al.*, 2013; Hédiji *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2016; Pérez-Romero *et al.*, 2016).

La variación del contenido de Cu en plantas de alfalfa ante la aplicación de Cd se presenta en la Tabla 2. La concentración de Cu en la materia seca de raíces aumentó gradualmente al adicionar mas Cd al sustrato, llegando a ser hasta 58 % mayor que en plantas testigo. Este incremento no alcanzó significación con las pruebas estadísticas empleadas. Una tendencia similar fue reportada en alfalfa

(Motesharezadeh *et al.*, 2010) y otras especies vegetales (Chaoui *et al.*, 1997; Gomes *et al.*, 2013; Lopes Júnior *et al.*, 2014; Hédiji *et al.*, 2015). Sin embargo, también se ha observado el patrón opuesto (Astolfi *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2003). En contraste, la adición de Cd redujo ligeramente, sin significación estadística, la concentración de Cu en la materia seca de la parte aérea. Resultados similares han sido reportados en otros estudios con alfalfa (Ibekwe *et al.*, 1996; Motesharezadeh *et al.*, 2010). En otras especies vegetales, se ha observado que la adición de Cd causó una disminución o ningún efecto sobre el nivel de Cu en la parte aérea (Astolfi *et al.*, 2014; Chaoui *et al.*, 1997; Gomes *et al.*, 2013; Hédiji *et al.*, 2015; Lopes Júnior *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2003).

Los datos de concentración de Fe en las raíces de las plantas de alfalfa tuvieron que ser excluidos del análisis por mostrar muy alta variabilidad y contaminación. El efecto de la adición de Cd sobre el contenido de Fe en la parte aérea de las plantas de alfalfa se muestra en la Tabla 2. La dosis de aplicación de Cd no impactó de manera marcada ni estadísticamente significativa la concentración de Fe en la materia seca de la parte aérea. En otros estudios con alfalfa (Dražić *et al.*, 2006; Ghnaya *et al.*, 2015; Ibekwe *et al.*, 1996; Motesharezadeh *et al.*, 2010), se han reportado observaciones contradictorias. Sin embargo, experimentos con otras plantas (Arshad *et al.*, 2016; Astolfi *et al.*, 2014; Chaoui *et al.*, 1997; Dias *et al.*, 2013; Gomes *et al.*, 2013; Hédiji *et al.*, 2015; Lopes Júnior *et al.*, 2014; Sebastian y Prasad, 2015; Wu *et al.*, 2003) frecuentemente han mostrado un efecto depresivo, aunque no siempre significativo, ante la aplicación de Cd.

La influencia de la adición de Cd al sustrato sobre el contenido de K en las plantas de alfalfa se resume en la Tabla 3. La concentración de K en la materia seca de raíces aumentó con la dosis de Cd aplicado. Sin embargo, este incremento solo resultó estadísticamente significativo al incrementar la dosis de 5 a 25 mg Cd kg⁻¹ arena, siendo la magnitud del aumento igual a 47 % respecto al testigo. Una tendencia opuesta ha sido reportada para alfalfa (Dražić *et al.*, 2006) y otras especies vegetales (Ahmad *et al.*, 2016; Arshad *et al.*, 2016; Gomes *et al.*, 2013; Hédiji *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2016). Sin embargo, algunos

trabajos (Chaoui *et al.*, 1997; Pérez-Romero *et al.*, 2016) obtuvieron patrones diferentes a esta mayoría. La adición de Cd también provocó un aumento significativo, de hasta 72 % respecto al testigo, en la concentración de K en la materia seca de la parte aérea. En otros estudios con alfalfa, se han observado resultados similares (Dražić *et al.*, 2006; Ibekwe *et al.*, 1996) o diferentes (Ghnaya *et al.*, 2015). Trabajos realizados con especies vegetales distintas (Ahmad *et al.*, 2016; Arshad *et al.*, 2016; Chaoui *et al.*, 1997; Gomes *et al.*, 2013; Hédiji *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2016; Pérez-Romero *et al.*, 2016) han mostrado tendencias variadas.

La variación del contenido de Mg en las plantas de alfalfa ante la adición de Cd al sustrato se ilustra en la Tabla 3. La concentración de Mg en la materia seca de raíces tendió a aumentar con la cantidad de Cd aplicada. El incremento fue de 25 a 31 % respecto al testigo, siendo estadísticamente significativo solamente entre las dosis de 5 a 25 mg Cd kg⁻¹ arena. La concentración de Mg en la materia seca de la parte aérea también aumentó progresiva y significativamente, hasta en 44 % respecto al testigo, al incrementar el nivel de Cd en el sustrato. En otros estudios con alfalfa, tendencias opuestas han sido reportadas en raíces (Dražić *et al.*, 2006) y parte aérea (Ghnaya *et al.*, 2015). Sin embargo, un patrón similar al aquí observado también ha sido documentado para la parte aérea (Dražić *et al.*, 2006; Ibekwe *et al.*, 1996). Trabajos con otras plantas (Ahmad *et al.*, 2016; Arshad *et al.*, 2016; Chaoui *et al.*,

Chaoui *et al.*, 1997; Dias *et al.*, 2013; Gomes *et al.*, 2013; Sebastian y Prasad, 2015; Wu *et al.*, 2003), aunque también tendencias diferentes (Arshad *et al.*, 2016; Lopes Júnior *et al.*, 2014). Por otra parte, al incrementar la dosis de Cd en la arena, la concentración de Mn en la materia seca de la parte aérea de las plantas de alfalfa aumentó de manera significativa, hasta en un 66 % respecto al testigo. En alfalfa, Ibekwe *et al.* (1996) han obtenido resultados similares, pero Motesharezadeh *et al.* (2010) observaron el patrón opuesto. Una tendencia opuesta ha sido reportada comúnmente en estudios con otras plantas (Ahmad *et al.*, 2016; Arshad *et al.*, 2016; Astolfi *et al.*, 2014; Gomes *et al.*, 2013; Lopes Júnior *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2003), pero existen excepciones (Chaoui *et al.*, 1997; Dias *et al.*, 2013; Sebastian y Prasad, 2015).

La influencia de la aplicación de Cd al sustrato sobre el contenido de N en las plantas de alfalfa se muestra en la Tabla 4. La concentración de N en la materia seca de raíces no fue afectada significativamente por la dosis de Cd aplicado. Sin embargo, la adición de Cd incrementó, hasta en 27 % respecto al testigo, la concentración de N en la materia seca de la parte aérea, lo cual alcanzó significación estadística. En otros estudios con alfalfa, solo se han reportado efectos no significativos o depresivos del Cd sobre el nivel de N en la parte aérea (Ghnaya *et al.*, 2015; Ibekwe *et al.*, 1996). En otras plantas, también se han observado las citadas tendencias, tanto en la parte

Tabla 2. Análisis de variancias y promedios para parámetros de contenido de Ca, Cu y Fe en plantas de alfalfa

Parámetro	Cuadrados Medios			C. V. ¹ (%)	Promedios para Dosis Cd		
	Bloques	Dosis Cd	Error Exp.		0 mg kg ⁻¹	5 mg kg ⁻¹	25 mg kg ⁻¹
Concentración Ca Materia Seca Raíces (g kg ⁻¹)	0,0297 ^{NS,2}	2,3815 ^{NS}	0,7656	16,27	5,24a ³	4,56a	6,33a
Concentración Ca Materia Seca Parte Aérea (g kg ⁻¹)	8,01 ^{NS}	39,71 [*]	1,93	5,46	21,3b	26,8a	28,2a
Extracción Ca Total (mg maceta ⁻¹)	767 ^{NS}	291 ^{NS}	484	15,03	149a	155a	135a
Extracción Ca Parte Aérea/Raíces	0,765 ^{NS}	12,333 [*]	1,427	12,35	7,61b	11,67a	9,73ab
Concentración Cu Materia Seca Raíces (mg kg ⁻¹)	2,73 ^{NS}	161,95 ^{NS}	41,15	20,84	24,6a	28,9a	38,9a
Concentración Cu Materia Seca Parte Aérea (mg kg ⁻¹)	0,930 ^{NS}	0,816 ^{NS}	0,422	8,10	8,61a	7,82a	7,63a
Extracción Cu Total (μg maceta ⁻¹)	159,2 ^{NS}	377,1 ^{NS}	97,4	8,18	133a	118a	111a
Extracción Cu Parte Aérea/Raíces	0,00373 ^{NS}	0,03645 ^{NS}	0,00526	13,37	0,650a	0,547ab	0,430b
Concentración Fe Materia Seca Parte Aérea (mg kg ⁻¹)	13,8 ^{NS}	77,5 ^{NS}	108,1	15,79	60,4a	70,5a	66,6a
Extracción Fe Parte Aérea (μg maceta ⁻¹)	4192 ^{NS}	6838 ^{NS}	6953	24,06	376a	373a	291a

¹ Coeficiente de variabilidad.

² Prueba de F para α igual a 0,05: no significativa (NS) o significativa (*).

³ Prueba de Tukey entre promedios para α igual a 0,05: letras distintas indican grupos de tratamientos significativamente diferentes.

1997; Dias *et al.*, 2013; Gomes *et al.*, 2013; Hédiji *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2016; Lopes Júnior *et al.*, 2014; Pérez-Romero *et al.*, 2016) han producido resultados variados, tanto para raíces como parte aérea.

El efecto de la aplicación de Cd sobre el contenido de Mn en las plantas de alfalfa se presenta en la Tabla 3. La concentración de Mn en la materia seca de raíces sufrió un leve y estadísticamente intrascendente aumento ante la aplicación de Cd. Motesharezadeh *et al.* (2010) tampoco observaron efecto significativo alguno en alfalfa. En otras especies vegetales la adición de Cd al medio frecuentemente ha provocado una disminución de la concentración de Mn en las raíces (Ahmad *et al.*, 2016; Astolfi *et al.*, 2014;

aérea como en raíces (Gill *et al.*, 2012; Gomes *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2016). Debe tenerse presente que todas las plantas de este estudio presentaron nódulos fijadores de N₂ en las raíces. Nodulación en raíces de alfalfa desarrollando en suelos altamente contaminados también ha sido documentada por Angle y Chaney (1991).

La variación del contenido de Na en las plantas de alfalfa ante la adición de Cd al sustrato se presenta en la Tabla 4. La concentración de Na en la materia seca de raíces sufrió una reducción marcada, hasta un 68 % del valor del testigo, al aplicar Cd al medio. Esta disminución no logró significación con las pruebas estadísticas usadas. Por otra parte, el incremento del nivel de Cd en el sustrato

provocó un aumento de 57 %, respecto al testigo, en la concentración de Na en la materia seca de la parte aérea. Esta diferencia tampoco alcanzó significación con las pruebas estadísticas empleadas. No se pudieron encontrar reportes relacionados para alfalfa en la literatura. En otras plantas, se ha observado que la adición de Cd provocó una reducción de la concentración de Na en raíces (Li *et al.*, 2016; Pérez-Romero *et al.*, 2016) y ninguna tendencia clara en la parte aérea (Pérez-Romero *et al.*, 2016).

El efecto de la adición de Cd sobre el contenido de P en las plantas de alfalfa se ilustra en la Tabla 4. La concentración de P en la materia seca de raíces no fue afectada significativamente por la dosis de Cd. En cambio, la aplicación de Cd incrementó, en hasta 30 % respecto al testigo, la concentración de P en la materia seca de la parte aérea. Esta diferencia alcanzó significación estadística. Ibekwe *et al.* (1996) observó la misma tendencia para la parte aérea de plantas de alfalfa. Estudios con otras plantas (Arshad *et al.*, 2016; Gomes *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2016; Lopes Júnior *et al.*, 2014) han mostrado efectos variados, tanto en parte aérea como raíces.

La influencia de la aplicación de Cd al sustrato sobre el contenido de S en las plantas de alfalfa se presenta en la Tabla 5. La concentración de S en la materia seca de raíces aumentó en un 57 %, respecto al testigo, al variar la dosis de adición de Cd de 5 a 25 mg kg⁻¹. Este incremento no alcanzó significación con las pruebas estadísticas usadas. Además, la adición de Cd incrementó de manera significativa, en hasta 42 % respecto al testigo, la concentración de S en la materia seca de la parte aérea. Reportes relacionados no se han podido encontrar en la literatura de la alfalfa. En estudios con otras plantas (Ahmad *et al.*, 2016; Gill *et al.*, 2012; Gomes *et al.*, 2013) se han observado efectos variados sobre la concentración de S en tejidos vegetales ante la adición de Cd.

La variación del contenido de Zn en las plantas de alfalfa ante la adición de Cd al sustrato se presenta en la Tabla 5. Las concentraciones de Zn en la materia seca de raíces y parte aérea no fueron afectadas significativamente por la dosis de Cd aplicada. Motesharezadeh *et al.* (2010) reportó un aumento de la concentración de Zn en el tejido radicular de alfalfa al suministrar Cd, pero ningún efecto significativo de este sobre el nivel de Zn en la parte aérea. Reportes en otras especies de plantas (Astolfi *et al.*, 2014; Chaoui *et al.*, 1997; Gomes *et al.*, 2013; Hédiji *et al.*, 2015; Wu *et al.*, 2003) no han mostrado ningún patrón generalizable.

Las cantidades de nutrientes minerales absorbidas por las plantas de alfalfa se presentan en las Tablas 2 a 5. Al enriquecer el sustrato con Cd, las extracciones totales de Ca, Cu, Mg, Mn, N, Na, P y Zn y la extracción de la parte aérea de Fe tendieron a disminuir, siendo estadísticamente significativos solo para Mn, Na y Zn. En cambio, K y S mostraron patrones diferentes y estadísticamente no importantes. Plantas expuestas al Cd tuvieron la oportunidad de extraer cantidades similares de elementos nutritivos que individuos testigo y tendieron a concentrarlas en su reducida materia seca. Por otra parte, al adicionar Cd al

sustrato, los cocientes de extracción de parte aérea a raíces de Ca, K, Mg, Mn, N, Na, P y Zn de las plantas de alfalfa tendieron a elevarse, logrando importancia estadística solo para Ca y Mg. En cambio, los valores respectivos para Cu disminuyeron significativamente, mientras que aquellos para el S no mostraron una tendencia simple ni estadísticamente relevante. Esto indica que las plantas de alfalfa tendieron a movilizar la mayoría de los elementos nutritivos a la parte aérea a expensas de las raíces.

El estado nutricional general de las plantas de alfalfa de este experimento se evaluó mediante comparación de las concentraciones de elementos nutritivos en la parte aérea de individuos no tratados con Cd con los datos compilados por Pinkerton *et al.* (1997) para plantas similares. Esta evaluación sugiere que el crecimiento de individuos testigo no fue limitado por el suministro de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, N, P, S o Zn del sustrato. Lo mismo es válido para plantas sujetas a una dosis de 25 mg Cd kg⁻¹ arena. Por lo tanto, ninguna de las plantas de alfalfa de este estudio parece haber sufrido deficiencia o toxicidad de alguno de los elementos nutritivos estudiados.

Un mecanismo común de interacción entre el Cd y otros elementos químicos en las plantas es la competencia al ser absorbidos por las raíces (DalCorso *et al.*, 2013; Irfan *et al.*, 2013). Considerando que la extracción total máxima de Cd en este trabajo fue 0,0133 mmol maceta⁻¹, solo Cu, Mn, Zn y, eventualmente, Fe podrían haber sido afectados. Extracciones totales de otros elementos nutritivos potencialmente competitivos superaron el valor indicado para el Cd en mas de 100 veces. Las extracciones totales de Cu, Mn y Zn disminuyeron al aumentar la dosis de Cd en el sustrato, alcanzando significación estadística solo para Mn y Zn. Sin embargo, los niveles de Mn y Zn en la parte aérea de las plantas expuestas al Cd fueron superiores que o comparables con aquellos de plantas testigo, respectivamente. Por otra parte, la concentración de Cu en la parte aérea no calificó como deficiente. Por lo tanto, efectos depresivos específicos del Cd sobre la absorción de Cu, Mn y Zn no parecen haber ocurrido en el presente estudio, excepto quizás para el Cu.

La ocurrencia de efectos específicos del Cd sobre nutrientes minerales en plantas parece depender de las condiciones particulares del estudio. Esto explicaría la diversidad de respuestas reportadas en la literatura, tanto en alfalfa como otras especies vegetales. Además, se ha observado que el estrés por toxicidad de Cd puede ser reducido mediante la adición de Ca en garbanzo (Ahmad *et al.*, 2016), Fe en arroz (Sebastian y Prasad, 2015), K en garbanzo (Ahmad *et al.*, 2016), Mn en arroz (Sebastian y Prasad, 2015), N en álamo (Zhang *et al.*, 2014), P en arroz (Yang *et al.*, 2016) y S en mostaza (Bashir *et al.*, 2015). El éxito individual de alternativas tan diversas para aliviar los síntomas del mismo problema sugiere la falta de especificidad en la interacción de Cd con elementos nutritivos de plantas. Es posible que dosis de aplicación mas altas que 25 mg Cd kg⁻¹ arena sean requeridas para que las plantas de alfalfa muestren de manera marcada efectos específicos del Cd sobre algún nutriente mineral.

Tabla 3. Análisis de variancias y promedios para parámetros de contenido de K, Mg y Mn en plantas de alfalfa

Parámetro	Cuadrados Medios			C. V. ¹ (%)	Promedios para Dosis Cd		
	Bloques	Dosis Cd	Error Exp.		0 mg kg ⁻¹	5 mg kg ⁻¹	25 mg kg ⁻¹
Concentración K Materia Seca Raíces (g kg ⁻¹)	2,06 ^{NS,2}	23,60*	1,58	8,77	13,8ab ³	11,8b	17,4a
Concentración K Materia Seca Parte Aérea (g kg ⁻¹)	6,66 ^{NS}	73,71*	2,50	8,87	13,5b	16,7b	23,2a
Extracción K Total (mg maceta ⁻¹)	178 ^{NS}	131 ^{NS}	271	12,82	128a	122a	135a
Extracción K Parte Aérea/Raíces	0,497 ^{NS}	1,205*	0,162	15,87	1,80a	2,91a	2,90a
Concentración Mg Materia Seca Raíces (g kg ⁻¹)	0,168 ^{NS}	3,806*	0,352	7,81	7,12b	6,79b	8,89a
Concentración Mg Materia Seca Parte Aérea (g kg ⁻¹)	0,0243 ^{NS}	1,4145*	0,0315	4,66	3,07b	3,93a	4,43a
Extracción Mg Total (mg maceta ⁻¹)	59,6 ^{NS}	23,2 ^{NS}	27,2	13,13	42,6a	39,5a	37,1a
Extracción Mg Parte Aérea/Raíces	0,03268 ^{NS}	0,11191*	0,00878	9,26	0,793b	1,158a	1,086a
Concentración Mn Materia Seca Raíces (mg kg ⁻¹)	557 ^{NS}	3104 ^{NS}	14023	28,20	385a	448a	428a
Concentración Mn Materia Seca Parte Aérea (mg kg ⁻¹)	17,2 ^{NS}	2600,1*	36,1	5,11	89,2c	115,7b	148,0a
Extracción Mn Total (μg maceta ⁻¹)	50569*	100279*	3787	3,63	1810a	1792a	1485b
Extracción Mn Parte Aérea/Raíces	0,0150 ^{NS}	0,1080 ^{NS}	0,0195	24,06	0,428a	0,522a	0,793a

1 Coeficiente de variabilidad.

2 Prueba de F para α igual a 0,05: no significativa (NS) o significativa (*).

3 Prueba de Tukey entre promedios para α igual a 0,05: letras distintas indican grupos de tratamientos significativamente diferentes.

Tabla 4. Análisis de variancias y promedios para parámetros de contenido de N, Na y P en plantas de alfalfa

Parámetro	Cuadrados Medios			C. V. ¹ (%)	Promedios para Dosis Cd		
	Bloques	Dosis Cd	Error Exp.		0 mg kg ⁻¹	5 mg kg ⁻¹	25 mg kg ⁻¹
Concentración N Materia Seca Raíces (g kg ⁻¹)	10,17 ^{NS,2}	3,41 ^{NS}	3,37	7,05	25,9a ³	27,1a	25,0a
Concentración N Materia Seca Parte Aérea (g kg ⁻¹)	7,05 ^{NS}	55,95*	5,73	6,44	32,7b	41,4a	37,4a
Extracción N Total (mg maceta ⁻¹)	3669 ^{NS}	6117 ^{NS}	1590	14,99	288a	295a	214a
Extracción N Parte Aérea/Raíces	0,263 ^{NS}	0,763 ^{NS}	0,272	18,01	2,32a	3,11a	3,25a
Concentración Na Materia Seca Raíces (g kg ⁻¹)	1,61 ^{NS}	7,55 ^{NS}	2,78	22,28	9,29a	6,29a	6,88a
Concentración Na Materia Seca Parte Aérea (g kg ⁻¹)	0,285 ^{NS}	0,572 ^{NS}	0,219	31,42	1,27a	1,21a	1,99a
Extracción Na Total (mg maceta ⁻¹)	128,1 ^{NS}	276,9*	33,7	20,56	39,3a	23,1ab	22,3b
Extracción Na Parte Aérea/Raíces	0,0153 ^{NS}	0,1096 ^{NS}	0,0254	37,56	0,256a	0,386a	0,632a
Concentración P Materia Seca Raíces (g kg ⁻¹)	0,0289 ^{NS}	0,0495 ^{NS}	0,0689	9,44	2,64a	2,81a	2,89a
Concentración P Materia Seca Parte Aérea (g kg ⁻¹)	0,1970 ^{NS}	0,3435*	0,0349	7,23	2,23b	2,64ab	2,90a
Extracción P Total (mg maceta ⁻¹)	1,23 ^{NS}	12,47 ^{NS}	4,98	10,77	22,2a	21,6a	18,4a
Extracción P Parte Aérea/Raíces	0,0977 ^{NS}	0,3088 ^{NS}	0,0813	15,22	1,54a	1,90a	2,18a

1 Coeficiente de variabilidad.

2 Prueba de F para α igual a 0,05: no significativa (NS) o significativa (*).

3 Prueba de Tukey entre promedios para α igual a 0,05: letras distintas indican grupos de tratamientos significativamente diferentes.

Tabla 5. Análisis de variancias y promedios para parámetros de contenido de S y Zn en plantas de alfalfa

Parámetro	Cuadrados Medios			C. V. ¹ (%)	Promedios para Dosis Cd		
	Bloques	Dosis Cd	Error Exp.		0 mg kg ⁻¹	5 mg kg ⁻¹	25 mg kg ⁻¹
Concentración S Materia Seca Raíces (g kg ⁻¹)	2,46 ^{NS,2}	8,33 ^{NS}	1,22	17,23	5,58a ³	5,32a	8,33a
Concentración S Materia Seca Parte Aérea (g kg ⁻¹)	0,136 ^{NS}	1,762 ^{NS}	0,268	11,57	3,70b	4,47ab	5,24a
Extracción S Total (mg maceta ⁻¹)	11,11 ^{NS}	9,16 ^{NS}	24,45	12,53	41,3a	37,8a	39,4a
Extracción S Parte Aérea/Raíces	0,1498 ^{NS}	0,1709 ^{NS}	0,0649	17,47	1,28a	1,73a	1,37a
Concentración Zn Materia Seca Raíces (mg kg ⁻¹)	33,8 ^{NS}	15,4 ^{NS}	39,2	13,22	44,9a	48,0a	49,3a
Concentración Zn Materia Seca Parte Aérea (mg kg ⁻¹)	0,803 ^{NS}	2,596 ^{NS}	1,973	7,20	19,5a	18,5a	20,4a
Extracción Zn Total (μg maceta ⁻¹)	645 ^{NS}	4656*	154	5,47	266a	226b	188c
Extracción Zn Parte Aérea/Raíces	0,00564 ^{NS}	0,01240 ^{NS}	0,00769	10,59	0,807a	0,777a	0,901a

1 Coeficiente de variabilidad.

2 Prueba de F para α igual a 0,05: no significativa (NS) o significativa (*).

3 Prueba de Tukey entre promedios para α igual a 0,05: letras distintas indican grupos de tratamientos significativamente diferentes.

4. Conclusiones

La adición de hasta 25 mg Cd kg⁻¹ arena calcárea provoca una notoria disminución en el crecimiento de plantas de alfalfa, pero sin lograr un efecto tóxico grave. Ningún efecto específico del Cd aplicado fue notado sobre la nutrición de Ca, Fe, K, Mg, Mn, K, N, Na, P, S y Zn en

las plantas. Sin embargo, un leve efecto depresivo pudo haber ocurrido con el Cu. La adición de Cd tuvo un efecto casi generalizado de concentración de estos elementos en la materia seca de raíces y parte aérea. Además, las plantas tendieron a movilizar los nutrientes minerales hacia la parte

aérea a expensas de las raíces. Aparentemente, el efecto principal del Cd fue reducir directamente la fotosíntesis. Posiblemente, una intoxicación mas grave con Cd logre provocar interacciones mas claras de este elemento con nutrientes minerales.

5. Agradecimientos

El autor agradece al Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina por darle las facilidades necesarias para realizar ciertos análisis y ayudar con determinaciones analíticas en el sustrato usado y en plantas de alfalfa.

6. Literatura citada

- Ahmad, P.; Abdel, A.A.; Abd_Allah, E.F.; Hashem, A.; Sarwat, M.; Anjum, N.A. and Guce, S. 2016. Calcium and potassium supplementation enhanced growth, osmolyte secondary metabolite production, and enzymatic antioxidant machinery in cadmium-exposed chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Frontiers in Plant Science*, 7:513. doi: 10.3389/fpls.2016.00513.
- Angle, J.S. and Chaney, R.L. 1991. Heavy metal effects on soil populations and heavy metal tolerance of *Rhizobium meliloti*, nodulation, and growth of alfalfa. *Water, Air, and Soil Pollution*, 57 (1):597-604.
- Arshad, M.; Ali, S.; Noman, A.; Ali, Q.; Rizwan, M.; Farid, M. and Irshad, M.K. 2016. Phosphorus amendment decreased cadmium (Cd) uptake and ameliorates chlorophyll contents, gas exchange attributes, antioxidants, and mineral nutrients in wheat (*Triticum aestivum* L.) under Cd stress. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 62 (4):533-546.
- Astolfi, S.; Ortolani, M.R.; Catarcione, G.; Paolacci, A.R.; Cesco, S.; Pinton, R. and Ciaffi, M. 2014. Cadmium exposure affects iron acquisition in barley (*Hordeum vulgare*) seedlings. *Physiologia Plantarum*, 152 (4):646-659.
- Bashir, H.; Ibrahim, M.M.; Bagheri, R.; Ahmad, J.; Arif, I.A.; Baig, M.A. and Qureshi, M.I. 2015. Influence of sulfur and cadmium on antioxidants, phytochelatin, and growth in Indian mustard. *AoB Plants*, 7:1. doi:10.1093/aobpla/plv001.
- Bazán, T. R. 1996. Manual para el análisis químico de suelos, aguas y plantas. Universidad Nacional Agraria La Molina - Fundación Perú, Lima, Perú. 55 p.
- Bingham, F.T.; Page, A.L.; Mahler, R.J. and Ganje, T.J. 1975. Growth and cadmium accumulation of plants grown on a soil treated with a cadmium-enriched sewage sludge. *Journal of Environmental Quality*, 4 (2):207-211.
- Borišev, M.; Pajević, S.; Nikolić, N.; Orlović, S.; Župunski, N.; Pilipović, A. and Kerbert, M. 2016. Magnesium and iron deficiencies alter Cd accumulation in *Salix viminalis* L. *International Journal of Phytoremediation*, 18 (2):164-170.
- Chaoui, A.; Ghorbal, M.H. and El Ferjani, E. 1997. Effects of cadmium-zinc interactions on hydroponically grown bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Science*, 126 (1): 21-28.
- DalCorso, G.; Manara, A. and Furini, A. 2013. An overview of heavy metal challenge in plants: From roots to shoots. *Metallomics*, 5:1117-1132.
- Dias, M.C.; Monteiro, C.; Moutinho-Pereira, J.; Correia, C.; Gonçalves, B. and Santos, C. 2013. Cadmium toxicity affects photosynthesis and plant growth at different levels. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35 (4):1281-1289.
- Dražić, G.; Mihailović, N. and Lojić, M. 2006. Cadmium accumulation in *Medicago sativa* seedlings treated with salicylic acid. *Biologia Plantarum*, 50 (2):239-244.
- Eller, F. & Brix, H. 2016. Influence of low calcium availability on cadmium uptake and translocation in a fast-growing shrub and a metal-accumulating herb. *AoB Plants*, 8:143. doi:10.1093/aobpla/plv143.
- Elouear, Z.; Bouhamed, F.; Boujelben, N. and Bouzid, J. 2016. Application of sheep manure and potassium fertilizer to contaminated soil and its effect on zinc, cadmium and lead accumulation by alfalfa plants. *Sustainable Environment Research*, 26 (3):131-135.
- Ghnaya, T.; Mnassri, M.; Ghabriche, R.; Wali, M.; Poschenrieder, C.; Lutts, S. and Abdelly, C. 2015. Nodulation by *Sinorhizobium meliloti* originated from a mining soil alleviates Cd toxicity and increases Cd-phytoextraction in *Medicago sativa* L. *Frontiers in Plant Science*, 6:863. doi 10.3389/fpls.2015.00863.
- Gill, S.S.; Khan, N.A. and Tuteja, N. 2012. Cadmium at high dose perturbs growth, photosynthesis and nitrogen metabolism while at low dose it up regulates sulfur assimilation and antioxidant machinery in garden cress (*Lepidium sativum* L.). *Plant Science*, 182:112-120.
- Gomes, M.P.; Marques, T. and Soares, A.M. 2013. Cadmium effects on mineral nutrition of the Cd-hyperaccumulator *Pfaffia glomerata*. *Biologia*, 68 (2):223-230.
- Hédiji, H.; Djebali, W.; Belkadhi, A.; Cabasson, C.; Moing, A.; Rolin, D.; Brouquisse, R.; Gallusci, P. and Chaibi, W. 2015. Impact of long-term cadmium exposure on mineral content of *Solanum lycopersicum* plants: Consequences on fruit production. *South African Journal of Botany*, 97:176-181.
- Hollander, M.; Wolfe, D.A. and Chicken, E. 2014. Nonparametric statistical methods. 3ra Edición. John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, EEUU. 819 p.
- Ibekwe, A.M.; Angle, J.S.; Chaney, R.L. and Van Berkum, P. 1996. Zinc and cadmium toxicity to alfalfa and its microsymbiont. *Journal of Environmental Quality*, 25 (5):1032-1040.
- Irfan, M.; Hayat, S.; Ahmad, A. and Alyemeni, M.N. 2013. Soil cadmium enrichment: Allocations and

- plant physiological manifestations. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20 (1):1-10.
- Jones, J.B. and Case, V.W. 1990. Sampling, handling, and analyzing plant tissue samples. En: Westerman (Comp.). *Soil testing and plant analysis*. 3ra Edición. Soil Science Society of America Book Series No. 3. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, EEUU. 389-427p.
- Kabata-Pendias, A. and Szteke, B. 2015. Trace elements in abiotic and biotic environments. CRC Press, Boca Raton, Florida, EEUU. 505 pp.
- Li, P.; Zhao, C.; Zhang, Y.; Wang, X.; Wang, X.; Wang, J.; Wang, F. and Bi, Y. 2016. Calcium alleviates cadmium-induced inhibition on root growth by maintaining auxin homeostasis in *Arabidopsis* seedlings. *Protoplasma*, 253(1):185-200.
- Lopes Júnior, C.A.; Mazzafera, P. and Zezzi, M.A. 2014. A comparative ionic approach focusing on cadmium effects in sunflowers (*Helianthus annuus* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 107:180-186.
- Motesharezadeh, B.; Savaghebi-Firoozabadi, G.R.; Mirseyed Hosseini, H. and Alikhani, H.A. 2010. Study of the enhanced phytoextraction of cadmium in a calcareous soil. *International Journal of Environmental Research*, 4(3):525-532.
- Ott, R.L. and Longnecker, M.T. 2016. An introduction to statistical methods and data analysis. 7ma Edición. Cengage Learning, Boston, Massachusetts, EEUU. 1174 p.
- Pérez-Romero, J.A.; Redondo-Gómez, S. and Mateos-Naranjo, E. 2016. Growth and photosynthetic limitation analysis of the Cd-accumulator *Salicornia ramosissima* under excessive cadmium concentrations and optimum salinity conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 109:103-113.
- Pinkerton, A.; Smith, F.W. and Lewis, D.C. 1997. 6. Pasture species. En: Reuter, D.J.; Robinson, J.B. (Comp.). *Plant analysis: An interpretation manual*. 2da Edición. CSIRO Publishing, Collingwood, Victoria, Australia. pp. 287-346.
- Sebastian, A. and Prasad, M.N.V. 2015. Iron- and manganese-assisted cadmium tolerance in *Oryza sativa* L.: Lowering the rhizotoxicity next to functional photosynthesis. *Planta*, 241 (6):1519-1528.
- Wu, F.; Zhang, G. and Yu, J. 2003. Interaction of cadmium and four microelements for uptake and translocation in different barley genotypes. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 34 (13):2003-2020.
- Yang, Y.; Chen, R.; Fu, G.; Xiong, J. and Tao, L. 2016. Phosphate deprivation decreases cadmium (Cd) uptake but enhances sensitivity to Cd by increasing iron (Fe) uptake and inhibiting phytochelatin synthesis in rice (*Oryza sativa*). *Acta Physiologiae Plantarum*, 38:28. doi:10.1007/s11738-015-2055-9.
- Zhang, F.; Wan, X.; Zheng, Y.; Sun, L.; Chen, Q.; Zhu, X.; Guo, Y. and Liu, M. 2014. Effects of nitrogen on the activity of antioxidant enzymes and gene expression in leaves of *Populus* plants subjected to cadmium stress. *Journal of Plant Interactions*, 9 (1):599-609.