

**ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL****PHYTOTOXIC EFFECTS OF LEAD ON DEKALB HYBRID MAIZE (*ZEA MAYS* L.)
IN SANDY AND SILTY SOIL****EFFECTOS FITOTÓXICOS DEL PLOMO EN MAÍZ HÍBRIDO DEKALB (*ZEA MAYS* L.)
EN SUELO ARENOSO Y LIMOSO**Paola Yllanes¹; Armando Vélez-Azañero^{1,2} & Sebastián Lozano¹¹Universidad Científica del Sur. Facultad de Ciencias Ambientales. Panamericana Sur km 19. Lima 42.²Universidad Nacional Federico Villarreal. Facultad de Ciencias Naturales y Matemática.
Av. Río Chepén s/n. El Agustino, Lima, Perú. pao.94.la@gmail.com

The Biologist (Lima), 12 (2), jul-dec: 337-348.

ABSTRACT

Dekalb hybrid maize plants (*Zea mays* L.) were exposed to six different concentrations of lead acetate [0.10mM (T1: Control); 0.63mM (T2); 1.25mM (T3); 2.5mM (T4); 5.0mM (T5) and 10.0mM (T6)], in sandy and silty soil for four weeks in order to evaluate the resulting phytotoxic effects. The application of lead caused an increase in leaf chlorophyll concentration in the first five treatments of 14.6%, whereas in the sixth treatment the same parameter decreased by 2.81%. In all treatments, total leaf protein concentration and foliar moisture percentage decreased by 93.43% and 9.36%, respectively. Glucose concentration increased by an average of 420.07% in the first two treatments, decreased by 32.79% in the third, fourth, and fifth treatment, and in the last treatment increased by 46.21%. During the last week of evaluation root necrosis was evident. The soil textural class was not a relevant factor to determine significant changes in the evaluated plants.

Keywords: chlorophyll, maize, glucose, lead, phytotoxicity, protein, root necrosis, *Zea mays*.**RESUMEN**

Plantas de maíz híbrido Dekalb (*Zea mays* L.) fueron expuestas a seis diferentes concentraciones de acetato de plomo [0,10mM (T1: Control); 0,63mM (T2); 1,25mM (T3); 2,5mM (T4); 5,0mM (T5) y 10,0mM (T6)], en suelo arenoso y limoso durante cuatro semanas, a fin de evaluar los efectos fitotóxicos resultantes. La aplicación de plomo causó un aumento en la concentración de clorofila foliar de 14,6% en los primeros cinco tratamientos, mientras que en el sexto tratamiento el mismo parámetro disminuyó en un 2,81%. En todos los tratamientos, la concentración de proteína total de la hoja y el porcentaje de humedad foliar disminuyeron en un 93,43% y 9,36%, respectivamente. La concentración de glucosa se incrementó en un promedio de 420,07% en los dos primeros tratamientos, disminuyó en un 32,79% en el tercero, cuarto, y quinto tratamiento, y en el último tratamiento aumentó en un 46,21%. Durante la última semana de evaluación la necrosis radicular fue evidente. La clase textural del suelo no fue un factor relevante para determinar cambios significativos en las plantas evaluadas.

Palabras clave: Clorofila, maíz, Fitotóxico, Glucosa, Necrosis radicular, plomo, Proteínas, *Zea mays*.

INTRODUCCIÓN

La contaminación del suelo por metales pesados es uno de los problemas actuales más recurrentes y de mayor importancia a nivel internacional. El empleo de estos elementos en actividades industriales, mineras, agrícolas y domésticas ha incrementado la infertilidad y degradación de los suelos, afectando la seguridad alimentaria y el desarrollo económico de muchos países a nivel mundial (Rodríguez *et al.* 2006).

La gran mayoría de los metales pesados tienen efectos tóxicos sobre las poblaciones de plantas y animales, además de acumularse y biomagnificarse en los ecosistemas a través de la cadena trófica. Por esta razón, resalta la necesidad de estudiar los efectos fitotóxicos de los metales pesados en cultivos agrícolas (Rubio *et al.* 2004).

Uno de los metales pesados más tóxicos es el plomo, que debido a su alta densidad ($11.3\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$), su bajo punto de fusión (327°C) y su alto punto de ebullición (1749°C), es un elemento metálico blando, dúctil y maleable, de gran utilidad para el hombre (Scalon 1999). Por tales propiedades el plomo es empleado en la producción de acumuladores, elementos piezoeléctricos, pegamentos, vidrios, esmaltes, entre otros, principalmente en África, el Medio Oriente, Asia y América Latina. Las principales fuentes contaminantes de plomo son los residuos y subproductos de la industria metalúrgica, química, farmacéutica y petroquímica (Swaran *et al.* 2006). Sin embargo, se puede encontrar naturalmente como galena (PbS), cerusita (PbCO_3) y anglesita (PbSO_4) en los suelos agrícolas, presentando niveles entre 2 a $300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Bradl 2005).

Una vez absorbido por las raíces de las plantas, el plomo causa efectos fitotóxicos según la concentración, forma química (Bautista 1999)

y su disponibilidad en el suelo, que a su vez depende de sus características químicas y físicas como el pH, humedad, salinidad, capacidad de intercambio catiónico y materia orgánica (Howard & Sova 1993).

La absorción vegetal se realiza a través de los pelos radiculares y la pared celular donde son almacenados debido a la carga iónica negativa que confieren los grupos carboxilo, parte estructural de glucósidos, proteínas y carbohidratos (García 2006).

El ingreso de este metal causa disrupciones en la estructura celular y a lo largo del proceso fotosintético, provocando así alteraciones fisiológicas como reducción en el crecimiento, clorosis, necrosis y cambios en el régimen hídrico (Ghani *et al.* 2010). La fitotoxicidad en la planta dependerá de su mecanismo para asimilar y acumular el metal, y de sus mecanismos biológicos de defensa que confieren resistencia a la planta ante la presencia de metales pesados en el medio (Seregin & Ivanov 1997). Según Ruiz & Armienta (2012), uno de los cultivos con la capacidad de absorber grandes cantidades de plomo es el maíz (*Zea mays* L.).

En el Perú se ha reportado un trabajo de investigación en plantas de maíz amarillo duro afectadas por metales pesados (entre los que se encuentra el plomo), donde se evaluó la acumulación y el efecto del contaminante en la planta (Flores *et al.* 2014).

El objetivo del proyecto fue determinar los efectos fitotóxicos del plomo en plantas de maíz amarillo duro (*Z. mays*) híbrido Dekalb (MAD) sobre suelo arenoso y limoso.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el invernadero de Ingeniería Ambiental de la Universidad Científica del Sur (UCSUR),

Lima, Perú (12°13'23,61"S, 76°58'41,47"O, 6msnm) se instaló un cultivo hidropónico de MAD sobre sustrato sólido de grava en macetas de polietileno de 1,5 kg y se mantuvieron por seis semanas previas a la evaluación, a temperaturas no controladas entre 15,0°C y 18,3°C, y humedad relativa promedio de 84,5%. Las semillas de maíz fueron obtenidas del Centro de Propagación Vegetal de la UCSUR.

Se tomaron 36 plantas y fueron distribuidas equitativamente en dos grupos (A y B) donde se consideraron seis tratamientos de Acetato de Plomo ($PbC_4H_6O_4$) para cada uno: 0,10mM (T1); 0,63mM (T2); 1,25mM (T3); 2,5mM (T4); 5,0mM (T5) y 10,0mM (T6); el primer tratamiento (T1) representó al control debido a

que el maíz no sufre alteraciones en concentraciones menores a 20ppm de Pb^{2+} (Ghani 2010); cada tratamiento en ambos grupos presentó tres repeticiones. Se agregó arena en las plantas del grupo "A" y limo en las plantas del grupo "B". Se realizaron riegos diarios con 50mL de solución hidropónica para tomates, agregando el contaminante con frecuencia inter-diaria (Fig.1).

Se evaluó durante cuatro semanas la concentración de glucosa (GL), proteínas totales (PT), porcentaje de humedad (HU) y clorofila total (CL). En la última evaluación (semana 4) se consideró el porcentaje de necrosis radicular, siguiendo protocolos estandarizados para cada caso.



Figura 1. Riegos diarios con 50mL de solución hidropónica sobre plantas de maíz (MAD) en el invernadero de Ingeniería Ambiental de la Universidad Científica del Sur, Lima, Perú.

La determinación de PT y GL se realizó en función al método de Vélez & Salas (*In press*) mediante el cual se extrajeron los componentes estudiados por trituración, se aislaron y fueron identificados a través de un Espectrofotómetro Thermo Scientific – Genesys10S VIS.

Para hallar la concentración de CL se utilizó un medidor portátil Spad-502, registrando semanalmente el promedio de tres medidas de la hoja central en unidades SPAD (Soil Plant Analysis Development).

Para establecer el porcentaje de humedad, se tomó un tercio de una hoja de la zona aérea, se midió el peso inicial y se colocó en la estufa a 65°C por 72 h. Además, se determinó el porcentaje de necrosis radicular en la última evaluación.

Los datos fueron analizados usando el software Minitab, Versión 17. Las diferencias entre los tratamientos y el control, al igual que la relación entre los parámetros y la

concentración de plomo en las plantas fueron estudiadas mediante la prueba de Análisis de Varianza ANOVA con una confianza del 95%. Posteriormente se realizó la prueba paramétrica de TUKEY para determinar las diferencias significativas experimentales por cada parámetro.

RESULTADOS

La concentración de clorofila en todos los tratamientos se redujo entre la primera y segunda semana de evaluación, para luego incrementarse de forma homogénea hasta la última semana. En el primero (p=0,008) y cuarto tratamiento (p=0,009) los resultados en el día 7, 21 y 28 fueron mayores a los obtenidos en la segunda semana de evaluación (día 14). Con el segundo (p=0,000), tercero (p=0,000), y quinto tratamiento (p=0,000), la concentración de clorofila total en el día 14 fue menor. Sin embargo, se incrementó en el día 21 y 28 significativamente. No se experimenta un

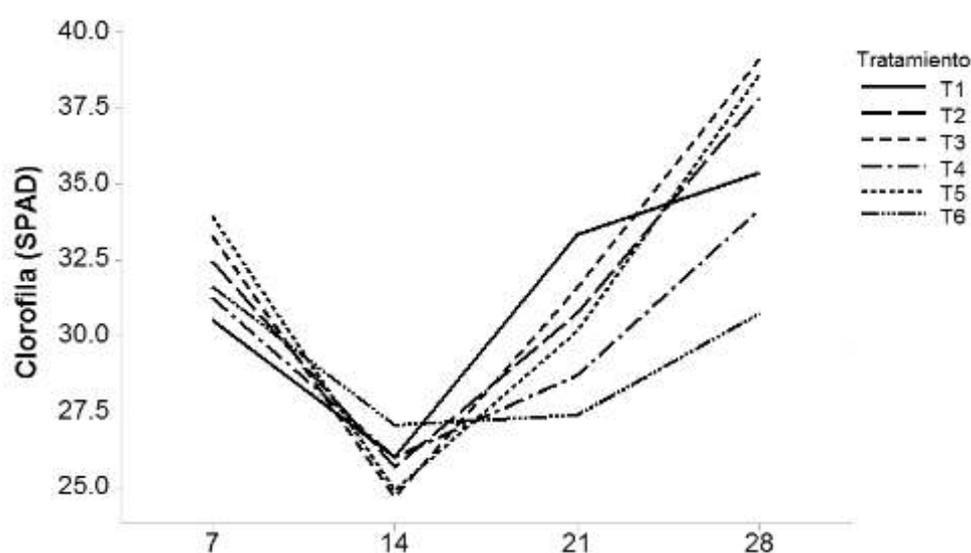


Figura 2. Concentración media de clorofila foliar (SPAD) en maíz amarillo duro (*Zea mays*) híbrido Dekalb según los tratamientos T1: 0,10mM Pb; T2: 0,63mM Pb; T3: 1,25mM Pb; T4: 2,5mM Pb; T5: 5,0mM Pb; y T6: 10,0mM Pb, evaluados a los 7; 14; 21 y 28 días de exposición al contaminante.

incremento o disminución significativo ($p=0,06$) con el tratamiento seis (Figura 2). No se evidenció diferencia significativa entre las concentraciones de clorofila de las plantas sembradas en suelo arenoso y limoso, razón por la cual los datos obtenidos en ambos grupos fueron tomados como repeticiones para el análisis (Figura 2).

La concentración de proteínas totales en relación al tiempo presentó un decrecimiento

en todas las plantas evaluadas. Las plantas del primero ($p=0,000$) y cuarto tratamiento ($p=0,001$) presentaron una reducción significativa de proteínas totales en la segunda semana. La concentración de proteínas en las plantas del quinto tratamiento disminuyeron significativamente ($p=0,000$) en la segunda y en la última semana. En el sexto tratamiento, la disminución fue significativa en la segunda y tercera semana ($p=0,000$) (Fig. 3).

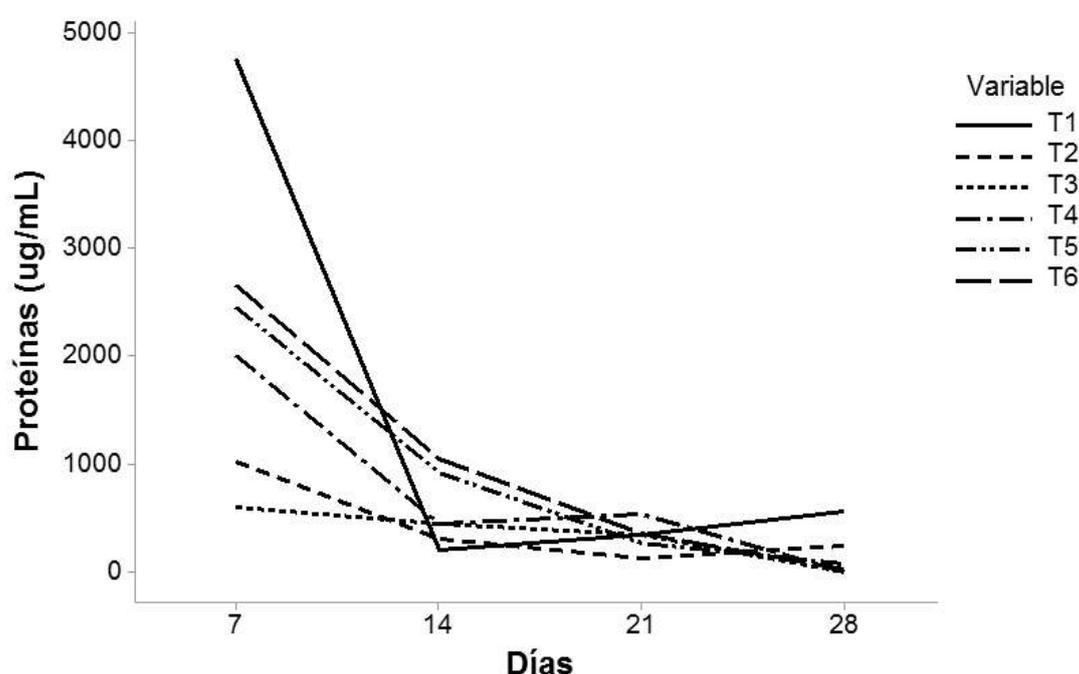


Figura 3. Concentración media foliar de proteínas totales ($\mu\text{g/mL}$) en maíz amarillo duro (*Zea mays*) híbrido Dekalb según los tratamientos T1: 0,10mM Pb; T2: 0,63mM Pb; T3: 1,25mM Pb; T4: 2,5mM Pb; T5: 5,0mM Pb; y T6: 10,0mM Pb, evaluados a los 7; 14; 21 y 28 días de exposición al contaminante.

La concentración de glucosa en todos los tratamientos se incrementó durante las primeras semanas disminuyendo significativamente hacia la última evaluación, a excepción del primer tratamiento. El primer tratamiento incrementó significativamente la concentración de glucosa en la segunda y cuarta semana ($p=0,000$). En el segundo tratamiento los niveles aumentaron de forma significativa la segunda y tercera semana,

disminuyendo significativamente hacia la última evaluación ($p=0,000$). El tercer y sexto tratamiento no presentaron diferencias significativas entre las medias. El cuarto tratamiento presentó un comportamiento similar a todas las plantas estudiadas ($p=0,000$). En el quinto tratamiento, se observa un crecimiento en la segunda semana y un decrecimiento significativo en la última semana de evaluación (Fig. 4).

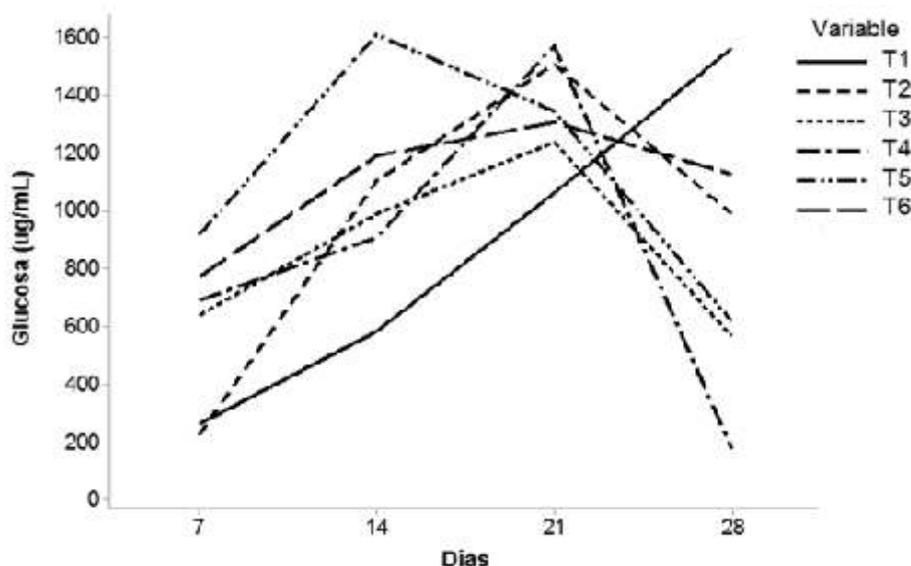


Figura 4. Variación de la concentración foliar de glucosa ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) en maíz amarillo duro (*Zea mays*) híbrido Dekalb según los tratamientos T1: 0,10mM Pb; T2: 0,63mM Pb; T3: 1,25mM Pb; T4: 2,5mM Pb; T5: 5,0mM Pb; y T6: 10,0mM Pb, evaluados a los 7; 14; 21 y 28 días de exposición al contaminante.

En cuanto al porcentaje de humedad foliar, se produjo una disminución significativa en todos los tratamientos, a excepción del tratamiento cuatro. No se evidencia diferencia significativa según el tipo de suelo empleado.

La Figura 5, indica que todos los tratamientos presentaron necrosis radicular. Los resultados arrojan que no existe una diferencia significativa entre los tipos de suelos. Sin embargo, dentro del parámetro de necrosis radicular, la diferencia es evidentemente mayor en plantas sembradas en suelo limoso.

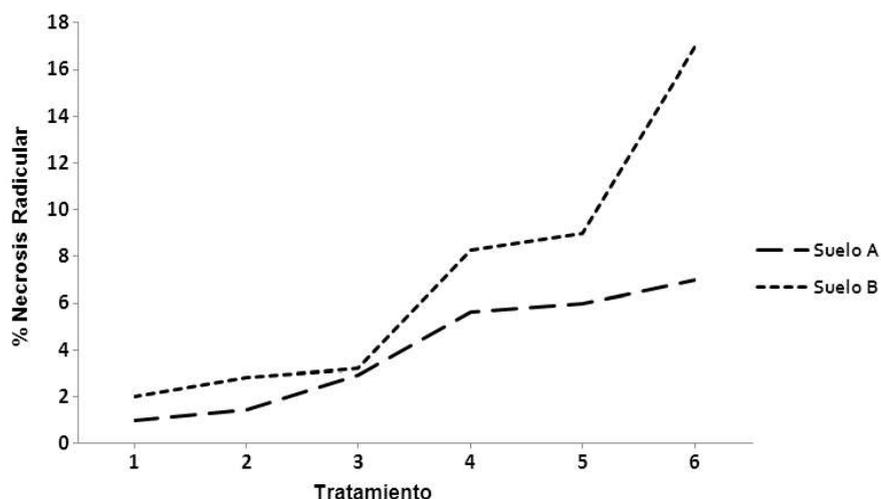


Figura 5. Porcentaje de necrosis radicular en maíz amarillo duro (*Zea mays*) híbrido Dekalb según los tratamientos T1: 0,10mM Pb; T2: 0,63mM Pb; T3: 1,25mM Pb; T4: 2,5mM Pb; T5: 5,0mM Pb; y T6: 10,0mM Pb, a los 28 días de exposición al contaminante. Suelo A: Arenoso, Suelo B: Limoso.

DISCUSIÓN

La disminución de clorofila total en la segunda semana de evaluación estaría influenciada por el efecto inhibitorio del plomo en la fotosíntesis y/o componentes fotosintéticos (Singh *et al.* 2008), lo cual ha sido reportado en plantas de maíz por diferentes autores (Bazzaz *et al.* 1975, Eun *et al.* 2000, Seregin *et al.* 2004). Asimismo, Hartmut *et al.* (1990) señalan que las plantas expuestas a contaminación por plomo muestran una disminución en su tasa fotosintética que resulta del cambio en la ultraestructura del cloroplasto, síntesis de clorofila restringida (Sharma & Dubey 2005) y la deficiencia de CO₂ como resultado de cierre estomático, lo que desencadena una inactivación del fotosistema II (Ibañez & Calderón 2005).

La inhibición en la tasa fotosintética podría conllevar a un menor requerimiento de biosíntesis de clorofila, sumado al hecho que el plomo altera la absorción de algunos elementos esenciales como el magnesio (Kaur 2014) o sustituye a este elemento en cada molécula de clorofila (Haider *et al.* 2006). Por otro lado, Drazkiewicz (1994) y Funamoto *et al.* (2002) la atribuyen a la actividad de la clorofilasa, enzima encargada de hidrolizar las moléculas de clorofila en las plantas. La concentración de plomo en nuestros tratamientos pudo haber provocado efectos similares.

No obstante, resalta el hecho de que a partir de la segunda semana en adelante la concentración de clorofila aumentó en todos los tratamientos. Esto puede deberse a que el periodo de evaluación en nuestra investigación fue mayor que los trabajos citados anteriormente. Otra explicación podría estar relacionada con mecanismos específicos de la planta para absorber, translocar y acumular nutrientes (Lasat 2000). García (2006) menciona que las adaptaciones específicas de

las plantas frente al estrés por metales pesados se basan en mecanismos de resistencia que reducen su entrada en la planta, o que, una vez absorbidos permiten su almacenamiento en lugares no perjudiciales para las células.

El estudio de Maqueda (2003) cuantificó el contenido de plomo en hojas de acelga (*Beta vulgaris* Var. Cicla) en un periodo de 26 días y a diferentes concentraciones de plomo. Los resultados mostraron un incremento en el contenido de este metal los 10 primeros días, y luego esta cantidad fue decreciendo hasta el día 26. Teniendo en cuenta que el plomo genera una disminución en la concentración de clorofila, esto podría explicar el comportamiento de este pigmento mostrado en la presente investigación. Según los resultados del estudio de Ciesla *et al.* (2005) en *Z. mays*. El contenido de clorofila aumentó al cabo de seis semanas para todos los tratamientos con plomo, lo cual respalda nuestros resultados.

Hussain *et al.* (2013) en concordancia con nuestros resultados identificaron una reducción de proteínas totales en plantas de *Z. mays* sometidas a diferentes concentraciones de nitrato de plomo luego de 14 días de evaluación. Asimismo, Iqbal *et al.* (1991), en un estudio en guisantes, demostró que el nivel de proteínas fue inhibido debido al efecto fitotóxico de los metales pesados. Por su parte, Maitra & Mukherji (1977) en cultivos de arroz demostraron que este efecto podría ser explicado por la considerable reducción de la síntesis de ADN, ARN, y proteínas en el embrión axial, y en los endospermos de las plantas sometidas a concentraciones crecientes de plomo.

Ciesla *et al.* (2005) en un estudio en maíz (*Z. mays*) encontraron que el contenido de azúcares solubles (glucosa, fructosa, y sacarosa) fluctuaron poco al cabo de seis semanas de evaluación, lo cual concuerda con lo ocurrido en la mayoría de tratamientos propuestos en esta investigación. No obstante,

señalan una disminución en el contenido de azúcares solubles frente una elevada concentración de plomo ($3200\text{mg Pb}\cdot\text{kg}^{-1}$), lo cual podría explicar el comportamiento de los tratamientos 4 y 5 (Figura 3) en nuestra experiencia. Bhardwaj *et al.* (2009) registraron una disminución en el contenido foliar de azúcares reductores en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) expuestas a diversas concentraciones de plomo; lo que podría estar influenciado en gran medida por una inhibición en la tasa fotosintética (John *et al.* 2008).

El aumento del contenido de glucosa durante las dos primeras semanas para la mayoría de nuestros tratamientos ha sido también reportado por Aldoobie & Beltagi (2013) en plantas de frijol (*P. vulgaris*) donde encontraron aumentos significativos en el contenido de azúcares reductores y azúcares solubles totales. Asimismo, Devi *et al.* (2013) hallaron un aumento del 10-20% en el contenido de sacarosa al cabo de siete días en plantas de guisante (*Pisum sativum* L.). La explicación de estas respuestas según Sharma & Dubey (2005) puede deberse a una serie de mecanismos de defensa no específicos los cuales son activados cuando las plantas son expuestas a contaminación por plomo. Estos incluyen la síntesis de osmolitos, entre los cuales se encuentran la glucosa y la prolina (Seregin & Ivanov 2001, Qureshi *et al.* 2007, Pourrut *et al.* 2011).

Por último, el comportamiento descrito en nuestro primer tratamiento se asemeja a lo encontrado por John *et al.* (2008) en un estudio en lentejas de agua (*Lemna polyrrhiza* L.) en el que encontraron que a bajas concentraciones de plomo hubo un incremento en el contenido de azúcares solubles al cabo de 30 días.

La disminución exponencial del porcentaje de humedad evidenciada en la presente investigación se confirma con los resultados encontrados por Hussain *et al.* (2013) en *Z.*

mays, quienes reportaron una disminución del 89,37% en el peso fresco de los brotes y 71,6% en el peso fresco de las raíces luego de 14 días de exposición a diferentes concentraciones de plomo. Aqeel *et al.* (2011) en un estudio realizado en dos genotipos de *Z. mays* (EV-1098 y EV-77) encontraron que los pesos frescos de brotes y raíces disminuyeron de forma directa con la etapa fenológica de la planta por influencia del plomo. Bhardwaj *et al.* (2009) en frijol (*P. vulgaris*) también llegaron a la conclusión que a diferentes concentraciones de plomo la disminución en el peso húmedo de las plantas era notable y presentaba una relación inversa con la concentración del contaminante. Este fenómeno puede explicarse debido a que las plantas expuestas a contaminación por plomo experimentan una disminución en la tasa de transpiración y contenido de agua en sus tejidos (Mishra & Choudhari 1998). Entre los mecanismos asociados a estos efectos se puede mencionar la resistencia estomática (Bazzaz *et al.* 1974) y el área foliar reducida, la cual es el principal órgano de transpiración (Iqbal & Mushtaq 1987). El desbalance entre CO_2 y O_2 (Pourrut *et al.* 2011) y los desórdenes en la respiración (Elzbieta & Miroslawa 2005) y fosforilación oxidativa también pueden causar desequilibrios en el régimen de agua en la planta (Sharma & Dubey 2005). Suchkova *et al.* (2010) indican que los metales pesados localizados extracelularmente ayudan a la retención completa de agua en las plantas, pero una vez que entran a la célula, interfieren con los procesos metabólicos y aceleran la pérdida de agua. Por otro lado, Devi *et al.* (2013) en un estudio realizado en guisantes (*P. sativum*) mencionan que incluso pequeñas concentraciones de plomo pueden inhibir procesos vitales como la absorción de agua.

Las plantas de maíz tienen la capacidad de acumular plomo principalmente en las raíces, desde donde se transloca a las hojas en menores concentraciones (Ghani *et al.* 2010, Patra *et al.* 2004, Sinha *et al.* 2006); asimismo

Mehra & Farago (1994) en un estudio de nutrición en plantas mencionan que las raíces pueden absorber y acumular grandes cantidades de plomo debido a que este se une a las superficies de la raíz y a las paredes celulares. Específicamente, el proceso involucrado podría deberse a la absorción extracelular del plomo por los grupos carboxilo (-COOH) de los carbohidratos de la pectina (e.g. ácidos galacturónico y glucurónico), lignina o celulosa de la pared celular en la raíz (Mari & Lebrun 2005, Sharma & Dubey 2005). Sengar *et al.* (2008) mencionan que el plomo cambia la estructura y permeabilidad de las membranas alterando el balance de agua y nutrientes minerales, daños que se evidencian por el oscurecimiento de las raíces. Esto podría explicar la necrosis presentada en los ápices radiculares de cada una de las muestras en la presente investigación, resultados que concuerdan con lo encontrado por Solís *et al.* (2012) en calabacita (*Cucurbita pepo* L.).

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos especialmente a Norton Cuba, Carolina Mostajo, Gina Hidalgo, Diana Ricaldi, Vanessa Noriega, Carlos Ibazeta y Raúl Vargas por su apoyo técnico en el trabajo, como también a John P. Janovec, Brenton Ladd, Alfonso Lizárraga y Edwart Rivera por sus valiosos comentarios a la presente investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aldoobie, N.F. & Beltagi, M.S. 2013. Physiological, biochemical and molecular responses of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants to heavy metals stress. African Journal of Biotechnology, 12: 4614-4622.
- Aqeel, M.S.; Ashraf, M.; Tabassam, Q.; Hussain, M. & Firdous, H. 2011. Lead (Pb)-induced regulation of growth, photosynthesis, and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) plants at early growth stages. Biological Trace Element Research, 144: 1229-39.
- Bautista, F. 1999. *Introducción al estudio de la contaminación del suelo por metales pesados*. Universidad Autónoma de Yucatán, México. 22-35p.
- Bazzaz, F.A.; Carlson, R.W. & Rolfe, G.L. 1975. The inhibition of corn and soybean photosynthesis by lead. Physiologia Plantarum, 34: 326-329.
- Bazzaz, F.A.; Rolfe, G.L. & Windle, P. 1974. Differing sensitivity of corn and soybean photosynthesis and transpiration to lead contamination. Environmental Quality, 3: 156-158.
- Bhardwaj, P.; Chaturvedi, A.K. & Prasad P. 2009. Effect of enhanced Lead and Cadmium in soil on Physiological and Biochemical attributes of *Phaseolus vulgaris* L. Nature and Science, 7: 63-65.
- Bradl, H. 2005. *Heavy metals in the environment*. Elsevier Academic Press, Netherlands. 283p.
- Ciesla, L.; Kubis, J. & Stachowiak, J. 2005. Effect of lead on yield and photosynthetic activity of corn *Zea mays* L. Biological Letters, 42: 178-179.
- Devi, R.; Munjral, N.; Gupta, A.K. & Kaur, N. 2013. Effect of exogenous lead on growth and carbon metabolism of pea (*Pisum sativum* L.) seedlings. Physiology and Molecular Biology of Plants, 19: 81-89.
- Drazkiewicz, A. 1994. Chlorophyllase: Occurrence, functions, mechanism of action, effects of external and internal factors. Photosynthetica, 30: 321-331.
- Elzbieta, W. & Miroslawa, C. 2005. Lead-induced histological and ultrastructural changes in the leaves of soybean (*Glycine max* L. Merr.). Soil Science and Plant Nutrition, 51: 203-212.

- Eun, S.O.; Youn, H.S. & Lee, Y. 2000. Lead disturbs microtubule organization in the root meristem of *Zea mays*. *Physiologia Plantarum*, 110: 357-365.
- Flores, R.; Guerra, C.; Ipanaque, J.; Rodríguez, R. & Vega, N. 2014. *Efectos adversos de metales pesados en la agricultura Cuenca baja del río Huaura – provincia Huaura, Lima – Perú*. Universidad Nacional Faustino Sánchez Carrión. H u a c h o , P e r ú . E n : <http://190.116.38.24:8090/xmlui/handle/123456789/138> leído el 5 de diciembre del 2014.
- Funamoto Y.; Yamauchi N.; Shigenaga T. & Sigyo M. 2002. Effects of heat treatments on chlorophyll degrading enzymes in stored broccoli (*Brassica oleracea* L.). *Postharvest Biology and Technology*, 24: 163-170.
- García, D. 2006. *Efectos Fisiológicos y compartimentación radicular en plantas de Zea mays L. Expuestas a la toxicidad por plomo*. Tesis de doctorado. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Ghani, A.; Ullah, A. & Akhtar, U. 2010. Effect of lead toxicity on growth, chlorophyll and lead (Pb⁺) contents of two varieties of maize (*Zea mays* L.). *Pakistan Journal of Nutrition*, 9: 887-891.
- Haider S.; Kanwal, S.; Uddin, F. & Azmat, R. 2006. Phytotoxicity of Pb: II. Changes in Chlorophyll Absorption Spectrum due to Toxic Metal Pb Stress on *Phaseolus mungo* and *Lens culinaris*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9: 2062-2068.
- Hartmut, K.L.; Hak, R. & Rinderle, U. 1990. The chlorophyll fluorescence ratio F690/F730 in leaves of different chlorophyll content. *Photosynthesis Research*, 25: 295-598.
- Howard, J. & Sova, J. 1993. Sequential extraction analysis of lead in Michigan roadside soils: Mobilization in the vadose zone by deicing salts. *Journal of Soil Contamination*, 2: 361-378.
- Hussain, A.; Abbas, N.; Arshad, F.; Akram, M.; Iqbal, Z.; Ahmad, K.; Mansha, M. & Mirzaei, F. 2013. Effects of diverse doses of Lead (Pb) on different growth attributes of *Zea Mays* L. *Agricultural Sciences*, 4: 262-265.
- Ibañez, R.F. & Calderón, A. 2005. Efecto del estrés por salinidad en cuatro cepas de *Dunaliella salina* teod. en el Perú. *Ecología Aplicada*, 4: 128-133.
- Iqbal, J.; Hussain, A.; Din, S. & Salariya, A.M. 1991. Cadmium uptake and distribution in young pea seedlings and its effect on growth. *Acta Scientica*, 1: 37-46.
- Iqbal, J. & Mushtaq, S. 1987. Effect of lead on germination, early seedling growth, soluble protein and acid phosphatase content in *Zea mays*. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research*, 30: 853-856.
- John, R.; Ahmad, P; Gadgil, K. & Sharma, S. 2008. Effect of cadmium and lead on growth, biochemical parameters and uptake in *Lemna polyrrhiza* L. *Plant Soil and Environment*, 54: 262-270.
- Kaur, G. 2014. Alterations in growth and physiology of wheat to lead (Pb) stress under soil culture. *International Journal of Scientific Research*, 3: 173-176.
- Lasat, M. 2000. Phytoextraction of metals from contaminated soil: a review of plant/soil/metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues. *Hazardous Substance Research*, 2: 1-25.
- Maitra, P. & Mukherji, S. 1977. Effect of lead on nucleic acid and protein contents of rice seedlings and its interaction with IAA and GA3 in different plant systems. *Indian Journal of Experimental Biology*, 17: 29-31.
- Maqueda, A. 2003. *Fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados*. Tesis Profesional en Ciencias Biológicas. Universidad de las Américas Puebla, 99p.
- Mari, S. & Lebrun, M. 2005. Metal

- immobilization: where and how?. Topics in Current Genetics, 1: 273-298.
- Mehra, A. & Farago, M.E. 1994. *Metal Ions and Plant Nutrition*. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, Germany, pp. 31-66.
- Mishra, A. & Choudhari, M. A. 1998. Amelioration of lead and mercury effects on germination and rice seedling growth by antioxidants. *Biologia Plantarum*, 41: 469-473.
- Patra, M.; Bhowmik, N.; Bandopadhyay, B. & Sharma, A. 2004. Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 52: 199-223.
- Pourrut, B.; Shahid, M.; Dumat, C.; Winterton, P. & Pinelli, E. 2011. Lead uptake, toxicity, and detoxification in plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 213: 113-136.
- Qureshi, M.; Abidin, M.; Qadir, S. & Iqbal, M. 2007. Lead-induced oxidative stress and metabolic alterations in *Cassia angustifolia* Vahl. *Biologia Plantarum*, 51: 121-128.
- Rodríguez, J.; Valdez, R.; Lara, J.; Rodríguez, H.; Vásquez, R.; Magallanes, R. & García, J. 2006. Soil nitrogen fertilization effects on phytoextraction of Cd and Pb by tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Bioremediation Journal*, 10: 105-114.
- Rubio, C.; Gutiérrez, A.; Martín-Izquierdo, R.; Revert, C.; Lozano, G. & Hardisson, A. 2004. El plomo como contaminante alimentario. *Revista de Toxicología*, 21: 72-80.
- Ruiz, E.A. & Armienta, M.A. 2012. Acumulación de arsénico y metales pesados en suelos cercanos a jales o residuos mineros. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 28: 103-117.
- Scalon, J. 1999. Umbilical cord blood lead concentration. Relationship to urban or suburban residency, during gestation. *American Journal of Diseases of Children*; 121: 325-326.
- Sengar, R.S. *et al.* 2008. Lead stress effects on physiobiochemical activities of higher plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 196: 73-93.
- Seregin, I.V.; Shpigun, L.K. & Ivaniov, V.B. 2004. Distribution and toxic effects of cadmium and lead on maize roots. *Russian Journal of Plant Physiology*, 51: 525-533.
- Seregin, I.V. & Ivanov, V.B. 1997. Histochemical investigation of cadmium and lead distribution in plants. *Fiziologiya Rastenii*, 44: 915-921.
- Seregin, I.V. & Ivaniov, V.B. 2001. Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 48: 606-630.
- Sharma, P. & Dubey, R.S. 2005. Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17: 35-52.
- Singh, R.; Gautam, M.; Kumar, G.; Chaudhary, R. & Sengar, K. 2008. Effect of lead on seed germination, seedling growth, chlorophyll content and nitrate reductase activity in mung bean (*Vigna radiata*). *Research Journal of Phytochemistry*, 2: 61-68.
- Sinha, P.; Dube, B.K.; Srivastava P. & Chatterjee C. 2006. Alteration in uptake and translocation of essential nutrients in cabbage by excess lead. *Chemosphere*, 65: 651-656.
- Solís, F.; Sahagún, J.; Villanueva, C.; Colinas, M.T. & García, M.R. 2012. Distribución de biomasa y acumulación de plomo en calabacita (*Cucurbita pepo* L.) cultivada en suelo contaminado. *Chapingo - Serie Horticultura*, 18: 197-205.
- Suchkova, N.; Darakas, E. & Ganoulis, J. 2010. Phytoremediation as a prospective

method for rehabilitation of areas contaminated by long-term sewage sludge storage: A Ukrainian-Greek case study. *Ecological Engineering*, 36: 373–378.

Swaran, J.; Govinder, F. & Geetu, S. 2006. *Environmental occurrence, health effects and management of lead poisoning. Lead chemistry, analytical aspects, environmental impact and*

health effects. Elsevier, U.K., 158-228.

Vélez-Azañero, A.; Salas, R. (*In press*). *Bioquímica Ambiental. Guía de Laboratorio*. Universidad Científica del Sur. Lima – Perú.

Received November 17, 2014.

Accepted December 20, 2014.