



ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

Respuestas morfogénicas de las raíces de *Arabidopsis thaliana* (Magnoliophyta: Brassicales) al estrés de Cr(VI)

Morphogenic responses of the roots of *Arabidopsis thaliana* (Magnoliophyta: Brassicales) to Cr(VI) stress

MIGUEL MARTÍNEZ-TRUJILLO*, GLORIA SOLÍS-GUZMÁN, JUAN CARLOS JIMÉNEZ-SARAGOZ, DOMINGO LÓPEZ-HERNÁNDEZ, YAZMÍN CARREÓN-ABUD & PATRICIA RÍOS-CHÁVEZ

Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Av Francisco J. Múgica s/n, CP 58066, Morelia, Michoacán, México

*Autor correspondiente: codigogenetico@gmail.com

RESUMEN

La respuesta del crecimiento de las raíces ante las condiciones de estrés es una estrategia que le permite a la planta ya sea evadir las condiciones adversas o bien adaptarse a éstas. Las actividades humanas han ocasionado la acumulación de algunos metales que a partir de ciertas concentraciones tienen un efecto adverso en el crecimiento de las plantas. Entre estos metales se encuentra el Cromo (Cr), el cual es un serio contaminante generado por industrias de tratamiento de metales y del curtido de pieles. Para entender de manera detallada la respuesta de las raíces al estrés del Cr(VI), se utilizó un sistema in vitro con *Arabidopsis thaliana* usando 3 condiciones experimentales. (A) Plantas germinadas y crecidas por 6 días, sin raíces laterales, transferidas a medios con diferentes concentraciones de Cr(VI). Esto permitió evaluar cómo se afectaba el crecimiento de la raíz primaria al pasar rápidamente del medio MS al medio MS con Cr(VI) y en qué medida se estimulaba o inhibía la formación y crecimiento de nuevas raíces laterales. (B) Plantas germinadas y crecidas durante 8 días, con raíces laterales, transferidas a medios con diferentes concentraciones de Cr(VI). Esta condición permitió evaluar cómo se afectaba el crecimiento de raíces primarias y raíces laterales previamente formadas al pasar rápidamente del medio MS a medios suplementados con Cr(VI). Además, permitió comparar cómo se comportaban las raíces laterales nuevas con respecto a las ya existentes. (C) Semillas germinadas directamente en medio MS con difusión de Cr(VI), lo que permitió determinar cómo se afectaba el crecimiento de las raíces primarias y laterales al pasar gradualmente de un medio MS a otro suplementado con Cr(VI). Los resultados obtenidos demostraron que (a) la mayor tolerancia al estrés fue cuando las plantas crecieron en medios de menor a mayor concentración de Cr(VI), (b) las plantas fueron más tolerantes al estrés a mayor desarrollo de éstas, y (c) las raíces laterales formadas directamente en el medio con el metal, siempre fueron más tolerantes que la raíz primaria y las raíces laterales previamente formadas.

Palabras clave: cromo, desarrollo, planta, raíz.

ABSTRACT

The growth response of roots to stress conditions is a strategy that allows the plant to either avoid the adverse conditions or to adapt to them. Human activities have resulted in the accumulation of some metals from certain concentrations have an adverse effect on plant growth. Among these, Chromium (Cr) is a serious pollution caused by metal processing industries and leather tanning. To understand in detail the response of roots Cr(VI) stress, it was used an in vitro system with *Arabidopsis thaliana* utilizing three experimental conditions. (A) Plants germinated and grown for 6 days, without lateral roots, were transferred to media with different concentrations of Cr(VI). This allowed the evaluation as affecting the growth of the primary root to move quickly from MS medium to MS medium with Cr(VI) and the extent to which stimulated or inhibited the formation and growth of new lateral roots. (B) Plants germinated and grown for 8 days, with lateral roots, transferred to media with different concentrations of Cr(VI). This condition allowed us to evaluate how they affected the growth of primary roots and lateral roots previously formed to move quickly from MS medium to media supplemented with Cr(VI). In addition, it was possible to compare how new lateral roots behave. (C) Seeds germinated directly on MS medium with Cr(VI) diffusion, which allowed us to determine how they affected the growth of primary and lateral roots gradually passing from one medium to another MS supplemented with Cr(VI). The results obtained showed that (a) stress tolerance was greater when plants were grown in a gradient from low to high concentration of Cr(VI), (b) the plants were more tolerant to stress with further development of these, and (c) lateral roots formed when the plant was in the medium with the metal, were always more tolerant than the primary root and lateral roots previously formed.

Key words: chromium, development, plant, root.

INTRODUCCIÓN

El crecimiento y desarrollo vegetal involucra la integración de señales ambientales y endógenas, las cuales junto con el programa genético intrínseco determinan la morfofisiología de la planta (Gray 2004). Una característica de su desarrollo post-embrionario es la plasticidad, susceptible a diversas modificaciones causadas por interacciones con su ambiente biótico y abiótico (Forde & Lorenzo 2001). Las raíces de las plantas son órganos heterotróficos, puesto que su nutrición depende de la fotosíntesis producida por las hojas, sin embargo, la fotosíntesis depende del agua y minerales captados por la raíz. Debido a que la planta es sésil, la estrategia para explorar el suelo para la captación de nutrientes y agua es el desarrollo de una raíz primaria, la formación de nuevas raíces y la formación de pelos radicales (Sato & Miura 2011).

La distribución espacial de la raíz primaria, raíces laterales y pelos radicales se conoce comúnmente como arquitectura de la raíz. El grado de ramificaciones determina la eficiencia de absorción de agua, la adquisición de nutrientes y el anclaje de las plantas (Péret et al. 2009). Los estudios histológicos han mostrado que en angiospermas las raíces laterales derivan de una capa interior del periciclo (McCully 1975, Dubrovsky & Rost 2003, Casimiro et al. 2003). Entre los factores que actúan sobre la modificación de la arquitectura de la raíz se encuentran los nutrientes minerales, como nitrato, fosfato, sulfato y hierro, los que dan origen a señales que modifican la división celular y procesos de diferenciación celular en la raíz (López-Bucio et al. 2003).

Las plantas expuestas a condiciones de estrés abiótico subletales exhiben respuestas morfogénicas comunes, que pueden ser consideradas como una “respuesta morfogénica genérica al estrés (SIMR)” y consta de tres componentes: (a) la inhibición de la elongación de las células, (b) la estimulación localizada de la división celular, y (c) alteraciones en el estado de diferenciación celular. Lo anterior sugiere la hipótesis de que las similitudes en las respuestas morfogénicas inducidas por distintos tipos de estrés, parecen responder a procesos moleculares similares (Potters et al. 2007). Se postula que la SIMR inducida por

estrés es parte de una estrategia general de aclimatación, mediante la cual se redirige el crecimiento de las plantas para disminuir la exposición al estrés (Potters et al. 2009).

La mayoría de los metales pesados son fitotóxicos, afectan el crecimiento y desarrollo y en concentraciones subletales inducen un fenotipo SIMR (Potters et al. 2007). Por ejemplo, en *Zea mays* la exposición al aluminio (Al) inhibe la división celular en el meristemo de la raíz primaria en un tiempo de 5 minutos y a la vez estimula la formación de raíces laterales (Doncheva et al. 2005). En *Arabidopsis thaliana* se ha demostrado que el cobre (Cu) también inhibe el crecimiento de la raíz primaria e incrementa la densidad de raíces laterales (Pasternak et al. 2005), así como también aumenta la diferenciación celular formando pelos radicales más cerca del extremo de la raíz (Martínez-Trujillo et al. 2009).

Entre los procesos moleculares comunes que median las respuestas al estrés abiótico se encuentran las especies reactivas de oxígeno (ROS), como el anión superóxido, el peróxido de hidrógeno y los radicales OH, los cuales se incrementan en condiciones de estrés (Mittler et al. 2011), por lo que se ha sugerido que éstos participan en la señalización para generar la SIMR (Van Breusegem et al. 2001, Vranova et al. 2002). Además, en el estrés abiótico la hormona auxina puede ser afectada en su transporte, su catabolismo y su conjugación, lo que altera finalmente la morfogénesis (Kollmeier et al. 2000, Jansen et al. 2001, Junghans et al. 2006).

El crecimiento celular también depende de la red de microtúbulos y filamentos de actina del citoplasma, la cual se afecta por condiciones de estrés. Se ha determinado que en células de tabaco en división, el Al aumenta el número de paquetes de microtúbulos aunque éstos son más delgados y cambian su orientación, lo que se correlaciona con la disminución del crecimiento celular (Schwarzerová et al. 2002). Además, la orientación de los microtúbulos también está influenciada por las auxinas, como se ha demostrado en la formación de pelos radicales (Takahashi et al. 2003).

El Cromo (Cr), se encuentra naturalmente en el suelo, en concentraciones de 10-50 mg Kg⁻¹. Sin embargo, puede alcanzar concentraciones mayores como consecuencia de las actividades antropogénicas derivadas de varias industrias

como el curtido de pieles y el cromado de otros metales (Cervantes et al. 2001). Las formas estables del Cr son la trivalente Cr(III) y la hexavalente Cr(VI), y aunque se presenta en otros estados de valencia éstos son inestables y con un tiempo de vida corto en los sistemas biológicos (Shanker et al. 2005). El Cr(VI) es considerado la forma más tóxica, el cual usualmente ocurre asociado con oxígeno como oxianiones de cromato (CrO_4^{2-}) o dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$), mientras que el Cr(III) en la forma de óxidos, hidróxidos o sulfatos es mucho menos móvil, y se ha encontrado asociado a materia orgánica en suelos y ambientes acuáticos (McGrath & Smith 1990). La reducción del Cr(VI) a Cr(III) ha sido reportada en muchos sistemas biológicos, involucrando la formación intermedia de Cr(V), con la producción de radicales libres que pueden ocasionar alteraciones en proteínas y en el ADN (Kawanishi et al. 1986, Shi & Dalal 1990).

Para conocer en detalle la respuesta de la raíz de las plantas ante el efecto del cromo es conveniente utilizar una especie que facilite el análisis. *Arabidopsis thaliana* es una crucífera que gracias a su reducido tamaño, pequeño genoma y fácil manipulación genética ha llegado a ser uno de los sistemas más importantes para el estudio de muchos aspectos de la biología de las plantas (Koornneef & Meinke 2010, Dolan et al. 1993).

El objetivo de este trabajo fue determinar la respuesta del crecimiento de las raíces de *A. thaliana* ante el Cr(VI), en tres condiciones experimentales que permitieron conocer la variabilidad en la respuesta de las raíces y la tolerancia de las mismas a este metal.

MÉTODOS

Material biológico y condiciones de crecimiento

Se utilizaron plantas de *Arabidopsis thaliana* L. (ecotipo Col-0). Las semillas fueron desinfectadas durante 5 min mediante tratamiento superficial con etanol al 95 % (v/v) y por 8 min con solución al 6 % de hipoclorito de sodio comercial diluido al 20 %. Las semillas se lavaron 3 veces con agua tridestilada estéril y se incubaron en la oscuridad a 4 °C durante 48 h en agua tridestilada estéril. Las semillas fueron sembradas en medios MS 0.5x (Murashige & Skoog 1962), este medio contiene todos los nutrimentos minerales necesarios para el crecimiento y desarrollo de las plantas. El medio fue suplementado con sacarosa al 2 % y agar para plantas (Phytotechnology A111) al 1 % (p/v). El pH se ajustó a 5.7.

Las plantas fueron colocadas en una cámara de crecimiento a 24 °C con un fotoperiodo de 18 h de luz

(300 $\mu\text{M m}^{-2}\text{s}^{-1}$) y 6 h de oscuridad, con una humedad de 70-75 %. Las plantas fueron colocadas en una posición vertical para permitir el crecimiento de la raíz primaria y raíces laterales sobre el medio. Este sistema ha sido utilizado con éxito para analizar el desarrollo de la raíz de *A. thaliana* (Dubrovsky & Forde 2012).

Efecto del Cr sobre el crecimiento de raíces

Se utilizaron tres condiciones experimentales, que se describen a continuación: (a) Se germinaron semillas en cajas de Petri con medio MS 0.5x y se dejaron crecer durante 6 días después de la germinación (6 ddg). Estas plantas carecían de raíces laterales, se trasplantaron a cajas de petri sin división con su respectiva concentración de Cr(VI) como cromato de potasio: 0 μM , 100 μM , 150 μM , 200 μM y 250 μM . Las plantas se dejaron crecer durante 5 días. Esto permitió evaluar cómo se afectaba el crecimiento de la raíz primaria al pasar rápidamente del medio MS al medio MS con Cr(VI) y en qué medida se estimulaba o inhibía la formación y crecimiento de nuevas raíces laterales. (b) Se germinaron semillas en cajas de petri con medio MS 0.5x y se dejaron crecer durante 8 días después de la germinación (8 ddg), para producir raíces laterales. Se transfirieron las plantas a medios MS con diferentes concentraciones de Cr(VI) como cromato de potasio: 0 μM , 100 μM , 150 μM , 200 μM y 250 μM . Posteriormente, las plantas se dejaron crecer durante 5 días más. Esto permitió evaluar cómo se afectaba el crecimiento de raíces primarias y raíces laterales previamente formadas, al pasar rápidamente del medio MS a medios suplementados con Cr(VI). Además, esto permitió comparar cómo se comportaban las nuevas raíces laterales formadas ya en el medio con el metal, con respecto a las raíces laterales ya existentes formadas en un medio sin el metal. (c) Para establecer un medio mixto, con Cr(VI) y sin el metal, con difusión entre ambos, se preparó medio MS en cajas de Petri y se dejó solidificar. Posteriormente se cortó con un bisturí y se eliminó la mitad del medio para ser reemplazado con medio MS suplementado con Cr(VI) 500 μM . Se sembraron las semillas en el medio MS no suplementado con Cr(VI), a 15 mm de la línea de separación del medio suplementado con el metal. Se realizó una primera medición del crecimiento cuando la raíz primaria aun no había llegado a la línea de separación de medios, y una segunda medición cuando la raíz primaria penetró en el medio preparado con Cr(VI).

En las tres condiciones experimentales señaladas se utilizaron 20 plantas para cada concentración de Cr(VI) y se determinó el número de raíces laterales formadas al finalizar los experimentos.

Análisis del crecimiento

El crecimiento de la raíz primaria y raíces laterales fue registrado utilizando una regla graduada en mm. Para analizar el crecimiento de la raíz en las condiciones experimentales a y b se establecieron dos zonas de interés: Z1, que comprende la zona de la raíz que creció antes del trasplante a los medios con Cr(VI) y Z2, que comprende la zona de la raíz que creció a partir del trasplante a los medios con Cr(VI) (Figura 1A). En la condición experimental c, del medio mixto con difusión de Cr(VI), Z1 se definió como la zona de la raíz primaria que creció desde el medio preparado sin el metal hasta la transición con el medio suplementado con Cr(VI), mientras que Z2 consistió en la zona de la raíz primaria

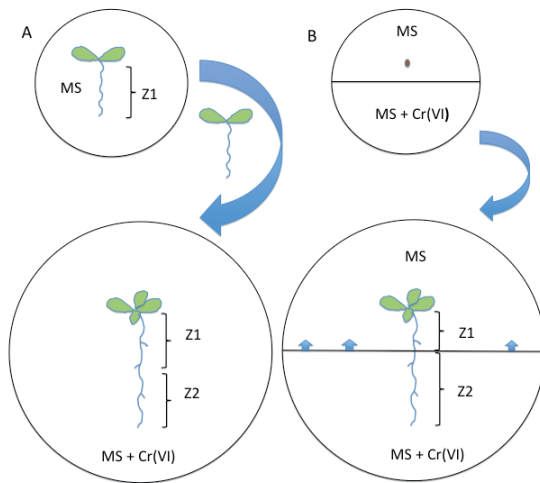


Fig 1: Sistema experimental diseñado para estudiar el crecimiento de la raíz primaria y raíces laterales. A) Las plantas de 6 ddg u 8 ddg germinadas y crecidas en medio MS se transfirieron a medios con diferentes concentraciones de Cr(VI). Z1 se definió como la zona de la raíz primaria que creció en medio MS sin Cr(VI), hasta el momento del trasplante. Z2 es la zona de la raíz primaria que creció a partir del trasplante en el medio con Cr(VI). B) En la exposición gradual al estrés por Cr(VI), en la caja de Petri se preparó una mitad con medio MS y la otra con MS suplementado con Cr(VI) 500 µM, permitiendo la difusión entre ambos medios. Las semillas de *A. thaliana* se germinaron en el medio MS a 15 mm de la separación del medio suplementado con el metal y se dejaron germinar y crecer. Z1 se definió como la zona de la raíz primaria que creció en el medio MS hasta el medio MS con el metal. Z2 se definió como la zona de la raíz primaria que creció en el medio preparado con el metal.

Experimental system designed to study the growth of the primary root and lateral roots. A) Plants 6 or 8 ddg germinated and grown on MS medium were transferred to media with different concentrations of Cr(VI). Z1 is defined as the primary root zone that grew on MS medium without Cr(VI) to the time of transplantation. Z2 is the primary root zone that grew from transplant in the middle with Cr(VI). B) In the stress gradual exposure to Cr(VI), the Petri dish was prepared with half MS medium and the other with MS supplemented with Cr(VI) 500 µM, allowing diffusion between the two media. The seeds of *A. thaliana* were germinated on MS medium, 15 mm separation from the metal-supplemented medium and allowed to germinate and grow. Z1 is defined as the primary root zone that grew in MS medium to MS medium with metal. Z2 is defined as the primary root zone that grew in the medium prepared with metal.

que creció en el medio suplementado con el metal (Figura 1B).

Densidad de raíces laterales

Las raíces laterales fueron contadas al final de los experimentos, para Z1 y Z2 de manera independiente. La

densidad de raíces laterales se calculó como Densidad de RL de la Z1 = Número de RL de la Z1 / Longitud de la Z1, y Densidad de RL de la Z2 = Número de RL de la Z2 / Longitud de la Z2, ambas en centímetros.

Captura de imágenes

El sistema radicular de *A. thaliana* fue analizado utilizando un microscopio estereoscópico (Axiostar Zeiss). Se capturaron las imágenes utilizando una cámara digital SONY Cyber-shot DSC-S75 de 3.3 megapíxeles.

Análisis de datos

Los resultados de las mediciones fueron procesados utilizando el programa estadístico SPSS para Windows versión 17 (2006). Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y pruebas de significancia de Tukey para $\alpha = 0.05$. Los intervalos de confianza para $\alpha = 0.05$ se calcularon con el programa Excel 10.0.

RESULTADOS

Respuestas del sistema radicular de plantas sin raíces laterales, a la presencia de Cr(VI)

Cuando las plantas de 6 ddg sin raíces laterales fueron transferidas a medios MS 0.5x con Cr(VI), se observó una inhibición del crecimiento de la raíz primaria del 50 % en 100 µM de Cr(VI) y del 100 % a partir de 150 µM, con respecto al control sin metal (Figs. 2 y 3). Por el contrario, se observó una estimulación del 60 % en el crecimiento de las raíces laterales nuevas de la Z1 (RLNZ1) en 100 µM de Cr(VI), comparado con las RLNZ1 en los medios sin Cr(VI) (Fig. 3). En 150 µM de Cr(VI) el crecimiento de las RLNZ1 fue igual al control del medio de cultivo MS. A partir de 200 µM de Cr(VI) hubo una inhibición del crecimiento de más del 80 % en el crecimiento de las RLNZ1 con relación al medio MS sin el metal (Fig. 3). Las raíces laterales nuevas de la zona Z2 (RLNZ2) se inhibieron en su crecimiento de manera casi total en 100 µM de Cr(VI) y a partir de 150 µM la raíz primaria no creció, por lo que no hubo una Z2 (Fig. 3).

La densidad de las raíces laterales de la Z1 fue igual en las concentraciones de 100 y 150 µM de Cr(VI) con respecto al control sin metal (Fig. 4). Por el contrario, en las concentraciones de 200 y 250 µM de Cr(VI) disminuyó la densidad de las raíces laterales de la Z1, lo que demostró que después del trasplante, en estas últimas concentraciones, se inhibió la formación de raíces laterales en esta zona. En la Z2 la densidad de raíces laterales disminuyó en las concentraciones de 100 y 150 µM de

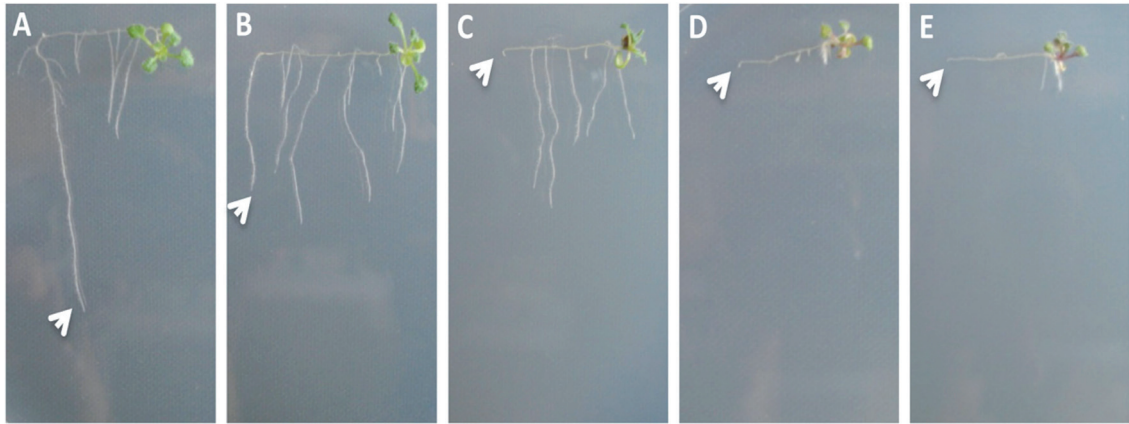


Fig. 2: Efecto del Cr(VI) en la raíz de plantas de *A. thaliana* sin raíces laterales, transferidas de medios MS a medios suplementados con Cr(VI). Las plantas de 6 ddg germinadas y crecidas en MS 0.5x se transfirieron a medios MS con diferentes concentraciones de Cr(VI) y se dejaron crecer por 5 días más. A) Control MS, B) 100 µM Cr(VI), C) 150 µM Cr(VI), D) 200 µM Cr(VI), E) 250 µM Cr(VI). Las imágenes mostradas son representativas de 20 plantas analizadas para cada concentración. La flecha indica la posición de la raíz primaria al final del experimento.

Effect of Cr(VI) on the root of *A. thaliana* plants without lateral roots, transferred from MS media to media supplemented with Cr(VI). 6 ddg plants germinated and grown on MS 0.5x were transferred to MS media with different concentrations of Cr (VI) and allowed to grow for 5 days. A) Control MS B) 100 µM Cr(VI), C) 150 µM Cr(VI), D) 200 µM Cr(VI), E) 250 µM Cr(VI). The images shown are representative of 20 plants analyzed for each concentration. The arrow indicates the position of the primary root at the end of the experiment.

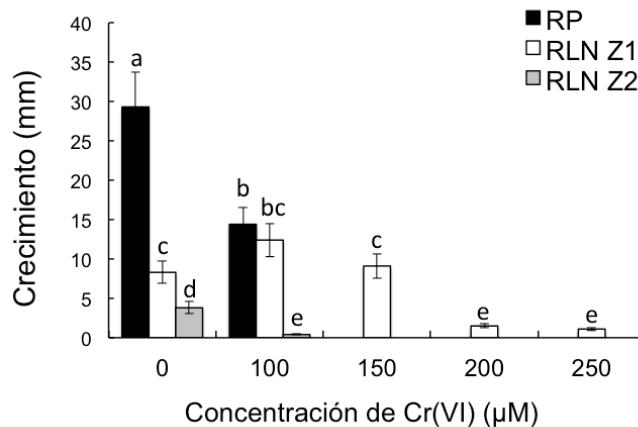


Fig. 3: Efecto del Cr(VI) en el crecimiento de raíces de plantas de *A. thaliana* sin raíces laterales, transferidas de medios MS a medios suplementados con Cr(VI). Las plantas de 6 ddg germinadas y crecidas en MS 0.5x se transfirieron a medios MS con diferentes concentraciones de Cr(VI) y se dejaron crecer por 5 días más. Z1 consiste en la zona de la raíz primaria hasta el momento del trasplante; Z2 comprende la zona de la raíz primaria que creció a partir del trasplante. RP= raíces primarias; RLNZ1 = raíces laterales nuevas de la zona 1, RLNZ2 = raíces laterales nuevas de la zona 2. Las letras indican las diferencias significativas para $P < 0.05$ con la prueba de Tukey, $n=20$ para cada tratamiento. Las barras representan los intervalos de confianza para $\alpha = 0.05$.

Effect of Cr(VI) on the growth of roots of *A. thaliana* plants without lateral roots, transferred from MS media to media supplemented with Cr(VI). 6 ddg plants germinated and grown on MS 0.5x were transferred to MS media with different concentrations of Cr(VI) and allowed to grow for 5 days. Z1 is the primary root zone until the time of transplantation; Z2 includes the zone of the primary root that grew from transplant. RP = primary roots; RLNZ1 = new lateral roots of zone 1, RLNZ2 = new lateral roots of zone 2. The letters indicate significant differences at $P < 0.05$ with Tukey's test, $n = 20$ for each treatment. The bars represent the confidence intervals for $\alpha = 0.05$.

Cr(VI) con respecto al control sin metal y en concentraciones mayores Z2 no se desarrolló, ya que no creció la raíz primaria después del trasplante (Fig. 3).

Respuestas del sistema radicular de plantas con raíces laterales, a la presencia de Cr(VI)

Cuando las plantas de *A. thaliana* de 8 ddg, con raíces laterales, fueron transferidas a medios MS 0.5x con Cr(VI), se observó una disminución del crecimiento de la raíz primaria del 20 % en 100 μ M y 150 μ M de Cr(VI), con relación al crecimiento en el medio MS sin el metal, mientras que a partir de 200 μ M de Cr(VI) se inhibió completamente el crecimiento de la raíz primaria (Figs. 5 y 6). Las raíces laterales ya existentes en la Z1 (RLPREZ1) crecieron 40 % más en 100 μ M de Cr(VI) con respecto al control sin el metal y en cambio crecieron 50 % menos en 150 μ M de Cr(VI) con respecto al control sin el metal (Fig. 6). A 200 μ M de Cr(VI), la inhibición del crecimiento

de las RLPREZ1 fue casi total y no hubo crecimiento en 250 μ M del metal (Fig. 6). En cambio, las raíces laterales nuevas formadas en Z1 (RLNZ1), exhibieron un crecimiento 200 % superior, tanto a 100 μ M como a 150 μ M de Cr(VI), con respecto al control sin el metal, mientras que en 200 μ M del metal tuvieron un crecimiento 60 % menor con respecto al control sin Cr(VI) (Fig. 6). La inhibición del crecimiento de las RLNZ1 fue total en 250 μ M del metal. Las raíces laterales nuevas que se formaron en Z2 (RLNZ2) presentaron un crecimiento 60 % menor, tanto en 100 μ M como en 150 μ M de Cr(VI) con respecto al control sin el metal y el crecimiento se inhibió totalmente en 200 μ M y 250 μ M del metal (Fig. 6).

La densidad de raíces laterales en la Z1, en las concentraciones de 100 y 150 μ M de Cr(VI) se mantuvo igual al control sin el metal y disminuyó 25 % con respecto al control sin metal en las concentraciones de 200 y 250 μ M de Cr(VI) (Fig. 7). No se desarrolló la Z2 en las

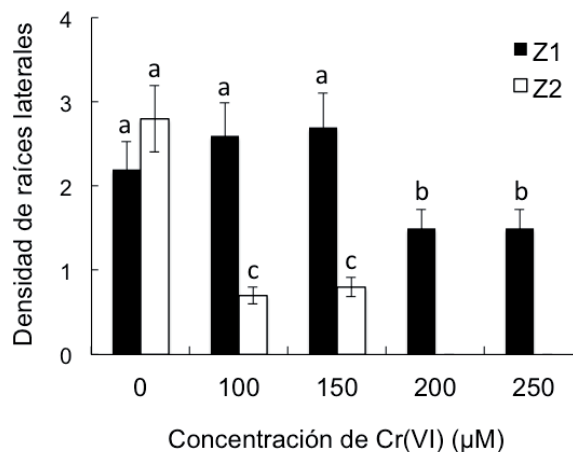


Fig. 4: Densidad de raíces laterales, en plantas de *A. thaliana* sin raíces laterales transferidas de medios MS a medios suplementados con Cr(VI). Las plantas de 6 ddg germinadas y crecidas en MS 0.5x se transfirieron a medios MS con diferentes concentraciones de Cr(VI) y se dejaron crecer por 5 días más. Z1 consiste en la zona de la raíz primaria hasta el momento del trasplante; Z2 comprende la zona de la raíz primaria que creció a partir del trasplante. La densidad se determinó al final del experimento de acuerdo a materiales y métodos. Las letras indican las diferencias significativas para $P < 0.05$ con la prueba de Tukey, $n = 20$. Las barras representan los intervalos de confianza para $\alpha = 0.05$.

Density of lateral roots, in *A. thaliana* plants without lateral roots transferred from MS media to media supplemented with Cr(VI). 6 ddg plants germinated and grown on MS 0.5x were transferred to MS media with different concentrations of Cr(VI) and allowed to grow for 5 days. Z1 is the primary root zone until the time of transplantation; Z2 includes the zone of the primary root that grew from transplant. Density was determined at the end of the experiment according to materials and methods. The letters indicate significant differences at $P < 0.05$ with Tukey's test, $n = 20$ for each treatment. The bars represent the confidence intervals for $\alpha = 0.05$.

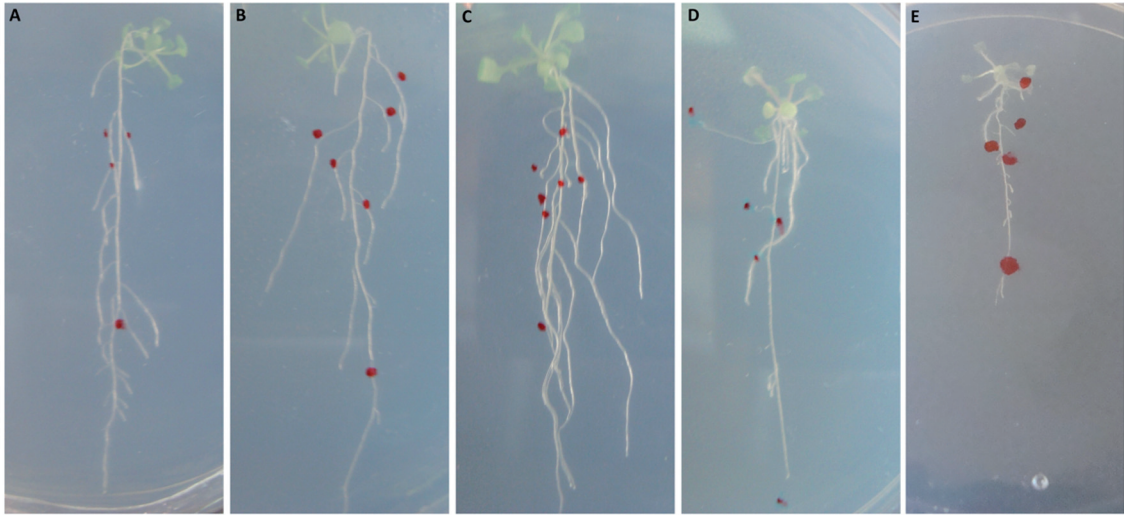


Fig. 5: Efecto del Cr(VI) en la raíz de plantas de *A. thaliana* con raíces laterales, transferidas de medios MS a medios suplementados con Cr(VI). Las plantas de 8 ddg germinadas y crecidas en MS 0.5x se transfirieron a medios MS con diferentes concentraciones de Cr(VI) y se dejaron crecer por 5 días más. A) Control MS, B) 100 μM Cr(VI), C) 150 μM Cr(VI) D), 200 μM Cr(VI), E) 250 μM Cr(VI). Las imágenes mostradas son representativas de 20 plantas analizadas para cada concentración. Los puntos indican las posiciones de la raíz primaria y raíces laterales ya existentes al momento del trasplante.

Effect of Cr(VI) on the root of *A. thaliana* plants with lateral roots, transferred from MS media to media supplemented with Cr(VI). 8 ddg plants germinated and grown on MS 0.5x were transferred to MS media with different concentrations of Cr(VI) and allowed to grow for 5 days. A) Control MS B) 100 μM Cr(VI), C) 150 μM Cr(VI) D), 200 μM Cr(VI), E) 250 μM Cr(VI). The images shown are representative of 20 plants analyzed for each concentration. The dots indicate the positions of the primary root and lateral roots existing at the time of transplantation.

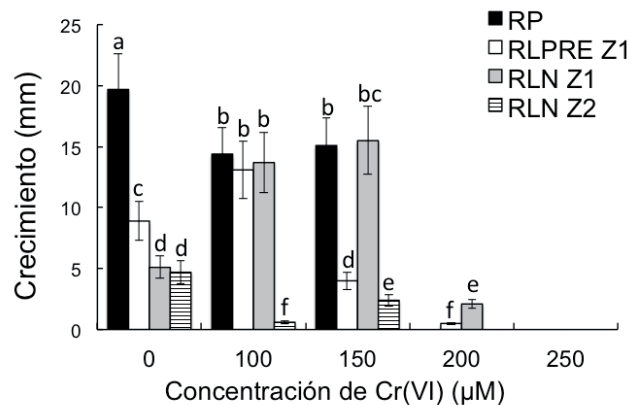


Fig. 6: Efecto del Cr(VI) en el crecimiento de raíces de plantas de *A. thaliana* con raíces laterales, transferidas de medios MS a medios suplementados con Cr(VI). Las plantas de 8 ddg germinadas y crecidas en MS 0.5x se transfirieron a medios MS con diferentes concentraciones de Cr(VI) y se dejaron crecer por 5 días más. Z1 consiste en la zona de la raíz primaria hasta el momento del trasplante; Z2 comprende la zona de la raíz primaria que creció a partir del trasplante. RP= raíces primarias; RLPREZ1= raíces laterales preexistentes de la zona 1; RLN Z1= raíces laterales nuevas de la zona 1; RLNZ2= raíces laterales nuevas de la zona 2. Las letras indican las diferencias significativas para $P < 0.05$ con la prueba de Tukey, $n = 20$. Las barras representan los intervalos de confianza para $\alpha = 0.05$.

Effect of Cr(VI) on the growth of roots of *A. thaliana* plants with lateral roots, transferred from MS media to media supplemented with Cr(VI). 8 ddg plants germinated and grown on MS 0.5x were transferred to MS media with different concentrations of Cr(VI) and allowed to grow for 5 days. Z1 is the primary root zone until the time of transplantation; Z2 includes the zone of the primary root that grew from transplant. RP = primary root, RLPREZ1 pre-existing lateral roots of zone 1, RLNZ1 = new lateral roots of zone 1, RLNZ2 = new lateral roots of zone 2. The letters indicate significant differences at $P < 0.05$ with Tukey's test, $n = 20$. The bars represent the confidence intervals for $\alpha = 0.05$.

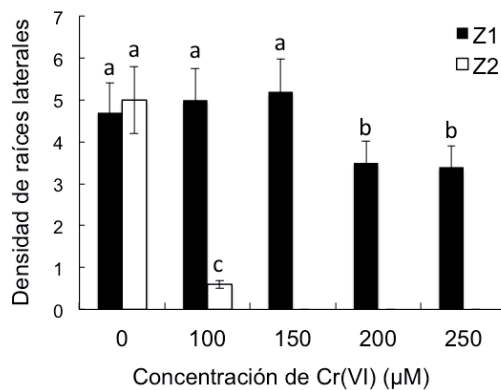


Fig. 7: Densidad de raíces laterales en plantas de *A. thaliana* con raíces laterales, transferidas de medios MS a medios suplementados con Cr(VI). Las plantas de 8 ddg germinadas y crecidas en MS 0.5x se transfirieron a medios MS con diferentes concentraciones de Cr(VI) y se dejaron crecer por 5 días más. Z1 consiste en la zona de la raíz primaria hasta el momento del trasplante; Z2 comprende la zona de la raíz primaria que creció a partir del trasplante. La densidad se determinó al final del experimento de acuerdo a materiales y métodos. Las letras indican las diferencias significativas para $P < 0.05$ con la prueba de Tukey, $n = 20$. Las barras representan los intervalos de confianza para $\alpha = 0.05$.

Density of lateral roots in *A. thaliana* plants with lateral roots, transferred from MS media to media supplemented with Cr(VI). 8 ddg plants germinated and grown on MS 0.5x were transferred to MS media with different concentrations of Cr(VI) and allowed to grow for 5 days. Z1 is the primary root zone until the time of transplattation; Z2 includes the zone of the primary root that grew from transplant. Density was determined at the end of the experiment according to materials and methods. The letters indicate significant differences at $P < 0.05$ with Tukey's test, $n = 20$. The bars represent the confidence intervals for $\alpha = 0.05$.

dos concentraciones mayores del metal, ya que no hubo crecimiento de la raíz primaria (Fig. 6).

Respuestas del sistema radicular por la presencia gradual de Cr(VI)

Considerando que tanto las raíces primarias como las raíces laterales preexistentes son inhibidas al transferirse de un medio MS a otro medio suplementado con 250 µM de Cr(VI), se decidió analizar si ocurría lo mismo cuando las raíces pasan gradualmente de un medio MS a otro medio suplementado con Cr(VI) con concentraciones mayores de 250 µM, con difusión entre ambos medios (Fig. 8).

A los 8 días de la siembra de semillas, se observó que la raíz primaria tuvo un crecimiento 40 % menor en el medio con difusión de Cr(VI) con relación al control sin el metal (Fig. 9). No obstante, con la difusión de Cr(VI) se formaron raíces laterales en la Z1, las cuales crecieron hacia el medio con Cr(VI) y tuvieron un crecimiento 50 % mayor

con relación al crecimiento de la raíz primaria. Por el contrario, en el medio sin Cr(VI) no se formaron raíces laterales (Fig. 9).

En el segundo tiempo de evaluación, entre los días 9 y 15 días después de la germinación (7 días de crecimiento), no hubo una diferencia significativa entre el crecimiento de la raíz primaria en el tratamiento con difusión de Cr(VI) y el control sin el metal (Fig. 9). Las raíces laterales aparecieron en el tratamiento sin el metal y tuvieron un crecimiento 50 % menor con relación a las raíces laterales de las plantas crecidas en el medio con difusión de Cr(VI) (Fig. 9).

La densidad de raíces laterales en la Z1 al final del experimento fue más del doble en el control sin metal con respecto al tratamiento con difusión de Cr(VI), no obstante que a los 8 días de crecimiento sólo había raíces laterales en el tratamiento con el metal (Fig. 10). En la Z2 la densidad de raíces laterales fue mayor en el control sin metal con relación al tratamiento en el medio con difusión de Cr(VI) (Fig. 10).

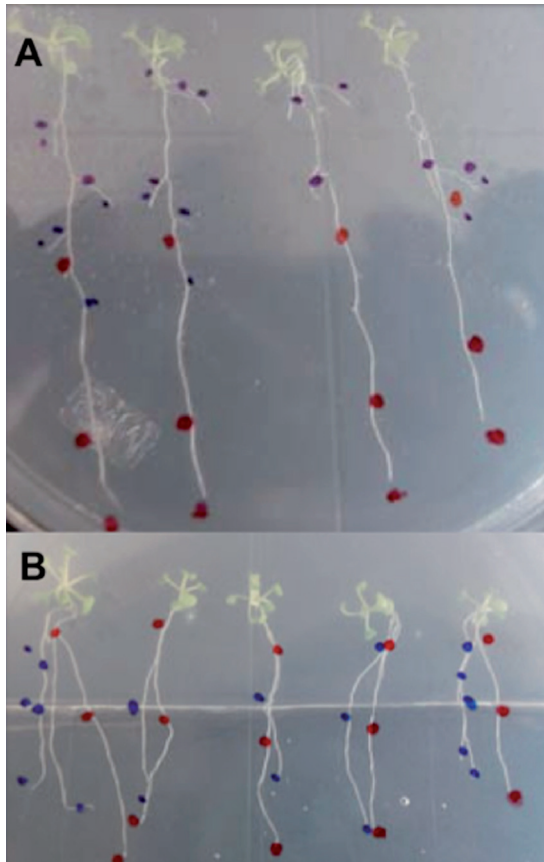


Fig. 8: Plantas de *A. thaliana* germinadas y crecidas en medios MS con difusión de Cr(VI). Las semillas fueron desinfectadas y colocadas en el medio MS 0.5x, a una distancia de 15 mm del medio con Cr(VI) 500 µM. En el control, ambos medios no tuvieron el metal. A) Plantas representativas crecidas por 15 días en medios MS-MS, B) Plantas representativas crecidas en medios MS-MSCr(VI) 500 µM por 15 días. Los puntos rojos y azules indican las señales de crecimiento de la raíz primaria y raíces laterales.

A. thaliana plants germinated and grown in MS medium with diffusion of Cr(VI). The seeds were disinfected and placed on MS medium 0.5x, at a distance of 15 mm of the medium with Cr(VI) 500 µM. In the control, both media had no metal. A) Representative plants grown for 15 days on MS-MS media, B) Representative plants grown on media MS-MSCr(VI) 500 µM for 15 days. The red and blue dots indicate the signals of primary root growth and lateral roots.

DISCUSIÓN

Se ha propuesto que existe una perturbación inespecífica del metabolismo celular debido a la toxicidad de los metales a partir de una determinada concentración (Ivanov et al. 2003), para la que se han propuesto mecanismos

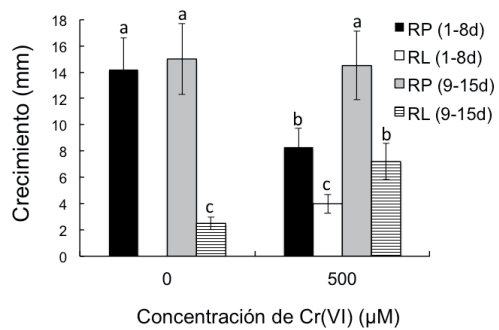


Fig. 9: Efecto del Cr(VI) en el crecimiento de raíces de plantas de *A. thaliana* germinadas y crecidas en un medio con difusión de Cr(VI). Las semillas fueron desinfectadas y colocadas en el medio MS 0.5x, a una distancia de 15 mm del medio con Cr(VI) 500 µM. En el control ambos medios no tuvieron el metal. Las mediciones se hicieron para los periodos de 1 a 8 días y de 9 a 15 días. RP = raíz primaria, RL = raíces laterales. Las letras indican las diferencias significativas para $P < 0.05$ con la prueba de Tukey, $n = 20$. Las barras representan los intervalos de confianza para $\alpha = 0.05$.

Effect of Cr(VI) on the growth of roots of *A. thaliana* plants germinated and grown in a medium with diffusion of Cr(VI). The seeds were disinfected and placed on MS medium 0.5x, at a distance of 15 mm of the medium with Cr(VI) 500 µM. In the control both media had no metal. The measurements were made for periods of 1-8 days and 9-15 days. RP = primary root, RL = lateral roots. The letters indicate significant differences at $P < 0.05$ with Tukey's test, $n = 20$. The bars represent the confidence intervals for $\alpha = 0.05$.

generales que median el estrés y lo canalizan para generar respuestas morfogénicas similares (SIMR) (Potters et al. 2009). No obstante, la toxicidad de los diferentes metales y la generación de respuestas morfogénicas en las plantas en concentraciones subletales se ha correlacionado en parte con la afinidad hacia los grupos SH de las proteínas. Esto hace necesario no sólo estudiar las respuestas generales de las plantas a metales, sino además caracterizar las particularidades de las respuestas generadas por cada metal, como es el caso del Cr(VI).

En este trabajo, las respuestas del crecimiento de las raíces de *A. thaliana* ante el estrés generado por Cr(VI) demostraron que: (a) la tolerancia al estrés cuando éste se presenta de manera repentina, fue mayor en plantas con más días de desarrollo, (b) la

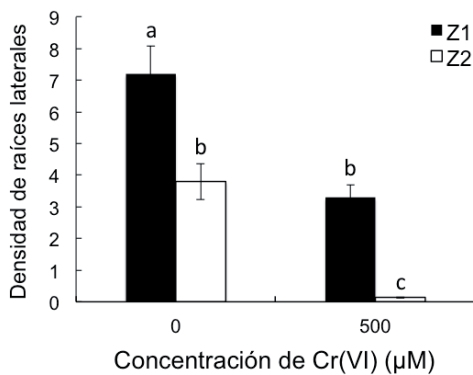


Fig. 10: Densidad de raíces laterales en plantas de *A. thaliana* germinadas y crecidas en un medio con difusión de Cr(VI). Las semillas fueron desinfectadas y colocadas en el medio MS 0.5x, a una distancia de 15 mm del medio con Cr(VI) 500 μM . En el control, los dos medios no tuvieron el metal. Z1 consiste en la zona de la raíz primaria que creció hasta llegar al límite de separación de los medios preparados sin y con Cr(VI). Z2 consiste en la zona de la raíz primaria que creció en el medio preparado con el suplemento de Cr(VI). La densidad se determinó al final del experimento de acuerdo a materiales y métodos. Las letras indican las diferencias significativas para $P < 0.05$ con la prueba de Tukey, $n = 20$. Las barras representan los intervalos de confianza para $\alpha = 0.05$.

Density of lateral roots in *A. thaliana* plants germinated and grown in medium with diffusion of Cr(VI). The seeds were disinfected and placed on MS medium 0.5x, at a distance of 15 mm of the medium with Cr(VI) 500 μM . In the control, both media had no metal. Z1 is the primary root zone that grew to reach the limit of separation media prepared without and with Cr(VI). Z2 is the primary root zone that grew in the medium prepared with the supplement of Cr(VI). Density was determined at the end of the experiment according to materials and methods. The letters indicate significant differences at $P < 0.05$ with Tukey's test, $n = 20$. The bars represent the confidence intervals for $\alpha = 0.05$.

mayor tolerancia se observó cuando el estrés se presentó de manera gradual en un medio con difusión de Cr(VI), y (c) las raíces laterales nuevas, formadas in situ en el medio con el metal, siempre son más tolerantes al estrés con relación a la raíz primaria y raíces laterales pre-existentes.

Cuando el estrés asociado a la toxicidad por Cr(VI) se presentó de manera rápida, fue notorio que la tolerancia estuvo determinada por la etapa de desarrollo de las plantas, ya que mientras individuos de 6 días después de la

germinación (ddg) transferidos a medios con Cr(VI) (Fig. 3) detuvieron el crecimiento de la raíz primaria en 150 μM del metal, las plantas de 8 días ddg mantuvieron el crecimiento (Fig. 6). Incluso, las nuevas raíces laterales crecieron más en las plantas de 8 ddg con relación a las de 6 ddg. Una causa de este comportamiento puede estar en la menor alteración de la capacidad fotosintética en las plantas de 8 ddg, ya que se ha demostrado que en *Arabidopsis* la etapa del desarrollo es importante para tolerar el estrés abiótico y mantener la capacidad fotosintética (Kim et al. 2011). Otro factor que puede influir en la adaptación al estrés es la movilización de nutrientes desde los tejidos fuente hacia los tejidos consumidores como la raíz, como se ha demostrado en plantas de limón (*Citrus limonia*) crecidas en medios con zinc, donde la concentración de sacarosa en la raíz disminuyó con respecto a las plantas control sin el suplemento del metal (Podazza et al. 2006). Para determinar si la movilización de nutrientes influye en la tolerancia al estrés, es necesario determinar en qué magnitud el Cr afecta la movilización de sacarosa a la raíz en plantas de 8 ddg con relación a las de 6 ddg.

La mayor tolerancia de las raíces al Cr(VI) se encontró en condiciones en las cuales el estrés se presenta de manera gradual en medios con difusión de Cr(VI), en el que incluso las raíces primarias y laterales pudieron crecer en 500 μM del metal. Relacionado con este trabajo, Remans et al. (2012) colocaron plantas de *A. thaliana* de 7 días de edad en un medio dividido, sin difusión, con una parte preparada con metal (5 μM de Cadmio, 10 μM de Cobre ó 75 μM de Zinc) y otra sin metal, colocando el extremo de la raíz primaria en el medio con el metal y la parte superior de la raíz y el follaje en el medio sin el metal, encontrando una inhibición del crecimiento de la raíz primaria y una evasión de las raíces laterales formadas en el medio sin el metal a penetrar en el medio con el metal. La diferencia entre lo reportado por Remans et al. (2012) y este trabajo consistió en que el estrés del metal en el primer caso lo experimentó la raíz primaria de manera rápida y no gradual, asimismo, las raíces laterales al llegar al medio con el metal sin tener una difusión gradual, no pudieron aclimatarse al estrés. Por lo tanto, nuestros resultados demuestran que se requiere que la raíz se enfrente de manera directa y gradual a

condiciones crecientes de Cr(VI) para poder crecer en concentraciones altas del metal y no es suficiente que la parte aérea no esté en contacto con el metal para que le pueda conferir mayor tolerancia al estrés a la raíz.

Una de las explicaciones sobre el porqué la raíz se adapta mejor a condiciones graduales de estrés, puede estar relacionada con la inducción de la expresión de genes que codifican para enzimas que se encargan de reducir los niveles de ROS y genes que codifican para proteínas que modifican el metabolismo hormonal, ya que se ha demostrado que diferentes tipos de estrés abiótico inducen la expresión de este tipo de genes (Dubey et al. 2010, Suzuki et al. 2011, Hernández-Madrigal 2011). Además, se ha reportado que para la señalización y respuesta al estrés nutricional de sacarosa en *A. thaliana* se requiere la síntesis de proteínas (Zhang et al. 2011). Por lo anteriormente mencionado, hipotetizamos que una de las razones que le permiten a la raíz crecer en medios con difusión de Cr(VI) 500 μ M, es que hay tiempo suficiente para sintetizar proteínas que permiten a la planta responder mejor al estrés.

En las tres condiciones experimentales utilizadas en este trabajo, las nuevas raíces laterales formadas en el medio con Cr(VI), siempre fueron más tolerantes que la raíz primaria y las raíces laterales previamente formadas. Un aspecto importante es que mientras que las raíces primarias y laterales ya formadas al momento de la transferencia al medio con Cr tienen células con actividad mitótica en el meristemo, las nuevas raíces laterales se formarán de células del periciclo que no están en división en ese momento (Péret et al. 2009). Considerando que el Cr(VI) tiene como uno de los principales blancos subcelulares a los microtúbulos y que la desorganización de éstos es menor en células en interfase con relación a células en división (Eleftheriou et al. 2012), es probable que en las células del periciclo el daño por Cr(VI) sea menor con relación a las células meristemáticas de las raíces primarias y laterales ya formadas, resultando en la mayor tolerancia en las raíces laterales nuevas que provendrán de células del periciclo. La propuesta anterior también se refuerza con los resultados de Sivaguru et al. (1999) que han demostrado que en el maíz, el aluminio altera la organización de los microtúbulos y de filamentos de actina sólo en

la zona apical de la raíz, donde las células están en división.

Además, la desorganización del citoesqueleto ocasiona un cambio en el transporte y distribución de auxina, lo que altera los patrones de desarrollo de la raíz (Muday & DeLong 2001, Michnewicz et al. 2007). En nuestro laboratorio, Ortiz-Castro et al. (2007) reportaron que en plantas de *A. thaliana* de 6 ddg transferidas a medios con Cr(VI) 100 μ M de Cr(VI), la distribución de auxina se modifica en la raíz primaria, la cual deja de crecer, pero la distribución de auxina no se modifica en las raíces laterales nuevas, las cuales crecen en el medio con el metal. Proponemos que en las raíces laterales nuevas, debido a la menor alteración de microtúbulos y filamentos de actina por efecto del Cr(VI), es posible que se establezca un patrón de auxina normal y la raíz pueda crecer normalmente. Otras adaptaciones de las raíces laterales nuevas son cambios sutiles en su morfología, como una menor longitud de la zona meristemática y diferenciación de las células a una menor distancia del ápice, como lo han reportado Ortiz-Castro et al. (2007), lo que ocasiona que las células pasen más rápido de la condición de división a la de célula diferenciada.

Los cambios en la arquitectura de la raíz generados por efecto del estrés, también permiten que el cambio del sitio de generación de raíces laterales a partir de la raíz primaria sea una estrategia para adaptarse de mejor manera a estas condiciones adversas. Tal fue el caso de la formación de raíces laterales en el medio con difusión de Cr(VI), en que éstas aparecieron antes de los 8 días en la Z1, mientras que en la Z2 fue muy baja la formación de raíces laterales (Fig. 9). Este comportamiento fue similar en las plantas transferidas de medios sin metal a medios con Cr(VI), ya que la densidad de raíces laterales de la Z2 fue muy baja con relación a la Z1 (Figs. 4 y 7). Al parecer, las plantas tienen una mejor respuesta tanto de formación como de crecimiento de raíces laterales en las zonas en las que el estrés es menor.

Es necesario considerar que si bien las respuestas morfogénicas de las plantas al efecto de los metales al final son similares en diferentes especies vegetales, la vía particular por la que se llega al cambio de la arquitectura de la raíz puede tener variaciones según la

especie. Por ejemplo, en la transferencia de plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) de 5 días de edad, con raíces laterales, a medios suplementados con Cr(VI) 100 μ M, la raíz primaria puede seguir creciendo, las raíces laterales previamente formadas detienen su crecimiento y se induce la formación de raíces laterales nuevas (Cervantes-García et al. 2011). De manera que, mientras la raíz primaria del tabaco es más tolerante al estrés con relación a la de *A. thaliana*, las raíces laterales previamente formadas son más sensibles en el tabaco y en ambos casos las raíces laterales nuevas son más tolerantes al crecimiento en Cr(VI).

Nuestros resultados demuestran que las respuestas de la raíz al estrés dependen de la etapa de desarrollo y de la rapidez con que se presente el estrés y revelan que las raíces laterales nuevas siempre son más tolerantes. Para comprender los cambios fisiológicos y moleculares que subyacen los cambios morfológicos encontrados, debe ser investigada la expresión de genes, las actividades enzimáticas que permiten la reducción de las ROS, la alteración de los microtúbulos y filamentos de actina, así como la movilización de nutrientes, en las diferentes partes de la raíz en los tres sistemas experimentales utilizados.

LITERATURA CITADA

- CASIMIRO I, T BEECKMAN, N GRAHAM, BHALERAO R, H ZHANG, P CASERO et al. (2003) Dissecting Arabidopsis lateral root development. *Trends in Plant Science* 8: 165-171.
- CERVANTES C, J CAMPOS-GARCÍA, S DEVARIS, F GUTIÉRREZ-CORONA, HL TAVERA, JC TORRES-GUZMÁN & R MORENO-SÁNCHEZ (2001) Interactions of chromium with microorganisms and plants. *FEMS Microbiology Reviews* 25: 335-347.
- CERVANTES-GARCÍA J, G SOLÍS-GUZMÁN & M MARTÍNEZ-TRUJILLO (2011) Análisis del crecimiento de raíces primarias y raíces laterales de *Nicotiana tabacum* L. en condiciones de estrés generado por Cr(VI). *Biológicas (México)* 13: 65-69.
- DOLAN L, K JANMAAT, V WILLEMSSEN, P LINSTEAD, S POETHIG, K ROBERTS & B SCHERES (1993) Cellular organisation of the *Arabidopsis thaliana* root. *Development* 119: 71-84.
- DONCHEVA S, M AMENÓS, C POSCHENRIEDER & J BARCELÓ (2005) Root cell patterning: a primary target for aluminum toxicity in maize. *Journal of Experimental Botany* 56: 1213-1220.
- DUBEY S, P MISRA, S SANJAY, S CHATTERJEE, SK BAG et al. (2010) Transcriptomic and metabolomic shifts in rice roots in response to Cr (VI) stress. *BMC Genomics* 11: 648-667.
- DUBROVSKY JG & BG FORDE (2012) Quantitative analysis of lateral root development: pitfalls and how to avoid them. *Plant Cell* 24: 4-14.
- DUBROVSKY JG & TL ROST (2003) Lateral root initiation. In: Bryan T, Denis JM, Brian GM. (eds) *Encyclopedia of applied plant sciences*: 1101-1107. Academic Press, San Diego, USA.
- ELEFTHERIOU EP, IDS ADAMAKIS & P MELISSA (2012) Effects of hexavalent chromium on microtubule organization ER distribution and callose deposition in root tip cells of *Allium cepa* L. *Protoplasma* 249: 401-416.
- FORDE B & H LORENZO (2001) The nutritional control of root development. *Plant & Soil* 232 (Australia): 51-68.
- GRAY WM (2004) Hormonal regulation of plant growth and development. *PLOS Biology* 2: E311.
- HERNÁNDEZ-MADRIGAL F (2011) Efectos del cromo (VI) sobre la expresión global de genes en *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Tesis de Maestría. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, México.
- IVANOV VB, EI BYSTROVA & IV SEREGIN (2003) Comparative impacts of heavy metals on root growth as related to their specificity and selectivity. *Russian Journal of Plant Physiology* 50: 398-406.
- JANSEN MAK, RE VAN DEN NOORT, A TAN, E PRINSEN, M LAGRIMINI & RNF THORNELEY (2001) Phenol-oxidizing peroxidases contribute to the protection of plants from ultraviolet radiation stress. *Plant Physiology* 126: 1012-1023.
- JUNGHANS U, A POLLE, P DÜCHTING, E WEILER, B KUHLMAN, F GRUBER T & TEICHMANN (2006) Adaptation to high salinity in poplar involves changes in xylem anatomy and auxin physiology. *Plant Cell & Environment* 29: 1519-1531.
- KAWANISHI S, S INOUE & SSANO (1986) Mechanism of DNA cleavage induced by sodium chromate (VI) in the presence of hydrogen peroxide. *Journal of Biological Chemistry* 261:5952-5958.
- KIM JH, YR MOON, MH LEE, JH KIM, SG WI, BJ PARK, CS KIM & BY CHUNG (2011) Photosynthetic capacity of Arabidopsis plants at the reproductive stage tolerates irradiation. *Journal of Radiation Research* 52: 441-449.
- KOLLMEIER M, HH FELLE & WJ HORST (2000) Genotypical differences in aluminum resistance of maize are expressed in the distal part of the transition zone. Is reduced basipetal auxin flow involved in inhibition of root elongation by aluminum? *Plant Physiology* 122: 945-956.
- KOORNNEEF M & D MEINKE (2010) The development of Arabidopsis as a model plant. *Plant Journal* 61: 909-921.
- LÓPEZ-BUCIO J, A CRUZ-RAMIREZ & L HERRERA-ESTRELLA (2003) The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Current Opinion in Plant Biology* 6: 280-287.
- MARTÍNEZ-TRUJILLO M, M SÁNTIZ-GÓMEZ, R ORTIZ-CASTRO & Y CARREÓN-ABUD (2009) Efecto del cobre en el crecimiento y la arquitectura de la raíz de *Arabidopsis thaliana* L. *Biológicas (México)* 11: 122-131.
- McCULLY ME (1975) The development of lateral roots. In: Torrey JG & DT Clarkson (eds) *The development and function of roots*: 105-124. Academic Press, New York.

- McGRATH SP & S SMITH (1990) Chromium and nickel. In: Alloway BJ (ed) Heavy metals in soils: 125-150. Wiley, New York.
- MICHNIEWICZ M, P BREWER & J FRIML (2007) Polar auxin transport and asymmetric auxin distribution. *The Arabidopsis Book* 5:e0108. doi:10.1199/tab.0108.
- MITTLER R, S VANDERAUWERA, N SUZUKI, G MILLER, VB TOGNETTI, K VANDEPOELE, M GOLLERY, V SHULAEV & FV BREUSEGEM (2011) ROS signaling: the new wave? *Trends in Plant Science* 16: 300-309.
- MUDAY GK & A DELONG (2001) Polar auxin transport: controlling where and how much. *Trends in Plant Science* 6 : 535-546.
- MURASHIGE T & F SKOOG (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- ORTIZ-CASTRO R, M MARTÍNEZ-TRUJILLO, J LÓPEZ-BUCIO & C CERVANTES (2007) Effects of dichromate on growth and root system architecture of *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plant Science* 172: 684-691.
- PASTERNAK T, V RUDAS, G POTTERS & MAK JANSEN (2005) Morphogenic effects of abiotic stress: reorientation of growth in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Environmental & Experimental Botany* 53: 299-314.
- PÉRET B, BD RYBEL, I CASIMIRO, I BENKOVA, R SWARUP, L LAPLAZE et al. (2009) Arabidopsis lateral root development: an emerging story. *Trends in Plant Science* 14: 399-408.
- PODAZZA G, M ROSA, JA GONZÁLEZ & FE PRADO (2006) Cadmium induces changes in sucrose partitioning, invertase activities, and membrane functionality in roots of Rangpur lime (*Citrus limonia* L. Osbeck). *Plant Biology* 8: 706-714.
- POTTERS G, TP PASTERNAK, Y GUISEZ, KJ PALME, MARCEL AK JANSEN (2007) Stress-induced morphogenic responses: growing out of trouble? *Trends in Plant Science* 12: 98-105.
- POTTERS G, TP PASTERNAK, YVES GUISEZ & MARCEL AK JANSEN (2009) Different stresses, similar morphogenic responses: integrating a plethora of pathways. *Plant Cell & Environment* 32: 158-169
- REMANS T, S THIJS, S TRUYENS, N WEYENS, K SCHELLINGEN, E KEUNEN et al (2012) Understanding the development of roots exposed to contaminants and the potential of plant-associated bacteria for optimization of growth. *Annals of Botany* 110: 239-252.
- SATO A & K MIURA (2011) Root architecture remodeling induced by phosphate starvation. *Plant Signaling & Behavior (USA)* 6: 1122-1126.
- SCHWARZEROVÁ K, S ZELENKOVÁ, P NICK & Z OPATERNY (2002) Aluminum-induced rapid changes in the microtubular cytoskeleton of tobacco cell lines. *Plant & Cell Physiology* 43: 207-216.
- SHANKER AK, C CERVANTES, H LOZA-TAVERA & S AVUDAINAYAGAM (2005) Chromium toxicity in plants. *Environment International* 31: 739-753.
- SHI XL & NS DALAL (1990) On the hydroxyl radical formation in the reaction between hydrogen peroxide and biologically generated chromium (V) species. *Archives of Biochemical and Biophysics* 277: 342-350.
- SIVAGURU M, B FRANTISEK, D VOLKMANN, H FELLE & W HORST (1999) Impacts of Aluminum on the cytoskeleton of the Maize root apex. Short-term effects on the distal part of the transition zone1. *Plant Physiology* 119: 1073-1082.
- SUZUKI N, S KOUSSEVITZKY, R MITTLER & GAD MILLER (2012) ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress. *Plant Cell & Environment* 35: 259-270.
- TAKAHASHI H, A KAWAHARA & Y INOUE (2003) Ethylene promotes the induction by auxin of the cortical microtubule randomization required for low-pH-induced root hair initiation in lettuce (*Lactuca sativa* L.) seedlings. *Plant & Cell Physiology* 44: 932-940.
- VAN BREUSEGEM F, E VRANOVA, JF DAT & D INZÉ (2001) The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Science* 161: 405-414.
- VRANOVA E, D INZÉ & F VAN BREUSEGEM (2002) Signal transduction during oxidative stress. *Journal of Experimental Botany* 53: 1227-1236.
- ZHANG H, X MAO & R JING (2011) SnRK2 acts within an intricate network that links sucrose metabolic and stress signaling in wheat. *Plant Signaling & Behavior (USA)* 6: 652-654.

Responsabilidad editorial: Javier Figueroa

Recibido el 16 de junio de 2012; aceptado el 29 de mayo de 2013

