

***Bradyrhizobium* sp. en el fortalecimiento de la defensa bioquímica del trébol bajo estrés por metales**

Hoceme Degaïchia^{1,§}

Lamia Tafifet²

Nihal Guellabi²

Fatima Bouchenak²

Ahcène Hakem¹

1 Centro de Investigación en Agropastoralismo.

2 Universidad de Blida. Argelia.

§Autor para correspondencia: hoceme.degaichia@crapast.dz.

Resumen

Este estudio explora el papel de *Bradyrhizobium* sp. (*Lotus*) en la mejora de la resiliencia bioquímica de *Lotus ornithopodioides* durante la germinación bajo condiciones de estrés por metales. Específicamente, se evaluaron los efectos del cadmio (Cd) y el cobre (Cu) sobre la germinación y diversos parámetros bioquímicos. Las semillas se inocularon con *Bradyrhizobium* sp. (*Lotus*) y se sometieron a diferentes concentraciones de metales traza. Se analizaron parámetros bioquímicos clave, incluidos la prolina, los aminoácidos, los azúcares solubles totales, la actividad de #-amilasa y el contenido de ADN. Los resultados demostraron que la inoculación con *Bradyrhizobium* sp. (*Lotus*) mitigó significativamente los efectos adversos del estrés por metales, lo que llevó a una mejora de las tasas de germinación y un aumento de las respuestas bioquímicas. Cabe destacar que los niveles de prolina y de aminoácidos disminuyeron, mientras que la actividad de #-amilasa y el contenido de ADN aumentaron en las semillas inoculadas en comparación con las semillas de control no inoculadas. Estos hallazgos sugieren que *Bradyrhizobium* sp. (*Lotus*) desempeña un papel esencial en la promoción de la resiliencia en *Lotus ornithopodioides* bajo estrés por metales, lo que destaca su potencial para su uso en la biorremediación y en prácticas agrícolas sostenibles.

Palabras clave:

bioquímica, cadmio, cobre, germinación, estrés por metales, RPCV, trébol.



Introducción

La contaminación por metales pesados en los suelos agrícolas es una preocupación creciente a nivel global, lo que plantea desafíos significativos para la producción agrícola y la seguridad alimentaria (Rizwan *et al.* , 2016). Metales traza tóxicos como el cadmio (Cd) y el cobre (Cu) pueden afectar gravemente la germinación de las semillas, el crecimiento de las plantas y el rendimiento general de los cultivos (Hossain *et al.* , 2012).

La creciente presencia de metales pesados y traza en los sistemas agrícolas exige estrategias sostenibles y ecológicas para reducir el estrés de las plantas. Un enfoque eficaz es el uso de interacciones planta-microbioma, especialmente las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) (Etesami y Maheshwari, 2018).

Las especies de *Bradyrhizobium* son RPCV bien conocidas que mejoran el crecimiento, la absorción de nutrientes y la tolerancia al estrés en legumbres, incluida la mitigación del estrés por metales (Ahemad y Kibret, 2014 ; Shameer y Prasad, 2018). Sin embargo, los mecanismos por los cuales *Bradyrhizobium sp.* (*Lotus*) modula las respuestas bioquímicas de *Lotus ornithopodioides* L. durante la germinación bajo estrés por metales siguen siendo poco comprendidos.

La investigación se centra en evaluar el impacto de la inoculación con *Bradyrhizobium sp.* (*Lotus*) sobre parámetros bioquímicos clave, incluidos la prolina, los aminoácidos, los azúcares solubles totales, la actividad de α -amilasa y el contenido de ADN, bajo diferentes concentraciones de metales traza.

Material y métodos

Cepa bacteriana

Se utilizó *Bradyrhizobium sp.* (*Lotus*), descrito por Degaichia *et al.* (2024) , a una concentración de 10^8 UFC ml⁻¹.

Ensayo de inoculación y germinación

La germinación de las semillas de *Lotus ornithopodioides* L. y la prueba se llevaron a cabo según el protocolo de trabajo de Degaichia *et al.* (2025) .

Inoculación y aplicación del estrés

La inoculación de semillas con *Bradyrhizobium sp.* (*Lotus*) se realizó con base en Silini *et al.* (2016) . Las semillas se germinaron en placas de Petri (20 semillas por placa) sobre papel de filtro humedecido con agua destilada (control) o con soluciones de CdCl₂ y CuCl₂·2H₂O (Degaichia *et al.* , 2025) (Cuadro 1). La germinación se realizó en la oscuridad a 25 °C.

Cuadro 1. Concentración (g L⁻¹) de cobre y cadmio utilizada (Degaichia *et al.* , 2025).

Cu(II)	Cd(II)	Cu(II):Cd(II)
1.5	2	1.5:2 I
2	3.5	2:3.5.... II
3	6	3:6 III

Después de tres días de incubación, se realizó el análisis de los parámetros bioquímicos (Degaichia *et al.* , 2025).

Dosis del contenido de prolina

El contenido de prolina se determinó mediante el método desarrollado por Singh *et al.* (1973) . La absorbancia se leyó a 520 nm. Los resultados se reportan en una curva estándar de prolina.

Dosis de aminoácidos solubles

Las muestras se almacenaron a menos de -15 °C antes del análisis. La extracción se realizó según el método descrito por Naidu *et al.* (1998). Los resultados se expresaron en μmoles de equivalentes de leucina por gramo de materia fresca (μM equiv leucina g^{-1} MF).

Contenido de azúcares solubles totales

La extracción de azúcares se realizó según Babu *et al.* (2002). La determinación de los azúcares solubles totales se llevó a cabo mediante el método de Dubois (Dubois *et al.*, 1956). Los resultados de las densidades ópticas se informaron en la curva estándar de azúcares solubles (expresada como glucosa).

Contenido de α -amilasa

La alfa-amilasa se midió según el método de Xiao *et al.* (2007). Los resultados se expresaron en unidades enzimáticas por mililitro (U ml^{-1}), calculadas según la siguiente fórmula:

$$\alpha\text{-contenido de amilasa} \left(\text{U ml}^{-1} \right) = \frac{(A_{580T} - A_{580E})}{A_{580ET} \times T \times V_{\text{ext}}}$$

Donde: A_{580T} = absorbancia del almidón sin añadir el extracto enzimático; A_{580E} = absorbancia del almidón tras la adición del extracto enzimático; A_{580ET} = absorbancia para 1 mg de almidón derivada de la curva estándar; T = tiempo de incubación en minutos; V_{ext} = volumen del extracto enzimático añadido en mililitros.

Contenido de ADN

El ADN se midió según la técnica utilizada por Burton (1956). La lectura de la densidad óptica de las muestras se realizó a 600 nm (DO_{600}). El contenido de ADN se determina según la fórmula:

$$\text{ADN} \left(\mu\text{mol g}^{-1} \text{MS} \right) = \frac{(\text{DO}_{600} - 0.015)}{0.0059862}$$

Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el software SPSS (versión 20.0.0). Se realizó una prueba Manova con un nivel de significancia del 5% para evaluar el efecto de la inoculación bacteriana en parámetros bioquímicos bajo condiciones de estrés por metales.

Resultados

En todos los cuadros, Conc denota concentración en MT; N ino e I no indican semillas no inoculadas e inoculadas con *Bradyrhizobium sp.* (Lotus), respectivamente. Los valores representan las medias. Letras mayúsculas diferentes dentro de filas y letras minúsculas dentro de columnas indican diferencias significativas según la prueba t de Student y la prueba de Tukey, respectivamente ($p \leq 0.05$).

Contenido de prolina

En el control se registra un valor de $0.97 \mu\text{g g}^{-1}$ MF para el contenido de prolina; este valor aumenta significativamente con el incremento de la concentración de Cd(II) y alcanza $1.41 \mu\text{g g}^{-1}$ MF a 6 g L^{-1} de Cd(II). En un medio de cobre, el contenido de prolina se correlaciona positivamente con la concentración, donde se registra un máximo de $1.55 \mu\text{g g}^{-1}$ MF para la concentración de 3 g L^{-1} . La mezcla de ambos elementos también genera aumentos significativos en comparación con el control (Cuadro 2).

Cuadro 2. Efecto de la inoculación con *Bradyrhizobium sp.* (*Lotus*) en el contenido de prolina.

	Conc (g L ⁻¹)	Prolina (µg g ⁻¹ MF)	
		N ino	Ino
Control	0	0.97aB	0.24aA
Cu(II)	1.5	1.06bB	0.76eA
	2	1.52fB	0.82fA
	3	1.55fB	0.74dA
Cd(II)	2	1.35dB	0.56bA
	3.5	1.28cB	0.61cA
	6	1.41eB	0.94iA
Cu(II) + Cd(II)	I	1.35dB	0.88gA
	II	1.52fB	0.9hA
	III	1.39eB	0.96jA

La inoculación bacteriana reduce significativamente el nivel de prolina en comparación con las pruebas no inoculadas. De hecho, en el control se registra un contenido de prolina de 0.24 µg g⁻¹ MF, un valor significativamente bajo en comparación con la prueba inoculada (0.97 µg g⁻¹ MF).

Contenido de aminoácidos

El estrés por metales aumentó significativamente el contenido de aminoácidos (AA) en las muestras tratadas. Sin inoculación, los niveles de AA aumentaron más del doble (200.66%) con 2 g L⁻¹ de Cd(II) en comparación con el control. Bajo estrés por Cu(II), el contenido de AA aumentó proporcionalmente con la concentración, alcanzando 0.135, 0.185 y 0.19 µM equiv leucina g⁻¹ MF a 1.5, 2 y 3 g L⁻¹, respectivamente. En contraste, en el tratamiento combinado de metales, el contenido de AA aumentó a medida que disminuían las concentraciones de metales (Cuadro 3).

Cuadro 3. Efecto de la inoculación con *Bradyrhizobium sp.* (*Lotus*) en el contenido de aminoácidos.

	Conc (g L ⁻¹)	Aminoácidos (µM equiv leucina g ⁻¹ MF)	
		N ino	Ino
Control	0	0.08aB	0.01aA
Cu(II)	1.5	0.14cB	0.05gA
	2	0.2fB	0.03fA
	3	0.19eB	0.07hA
Cd(II)	2	0.2fB	0.0243eA
	3.5	0.11bA	0.1iA
	6	0.17dB	0.12jA
Cu(II) + Cd(II)	I	0.22gB	0.018bA
	II	0.16dB	0.024cA
	III	0.08aB	0.024cA

La inoculación de semillas con *Bradyrhizobium sp.* (*Lotus*) reduce significativamente el contenido de AA. De hecho, se observó una caída significativa del 8.37 al 18.66% en el contenido de AA para todas las concentraciones en comparación con las pruebas no inoculadas. También se observó que los contenidos de AA aumentan con el incremento de la concentración de Cd(II) en el medio y del MT asociado.

Contenido de azúcares solubles totales

En semillas no inoculadas, el contenido de azúcares solubles totales aumentó significativamente en todos los tratamientos con metales individuales y sus mezclas en comparación con el control ($3.74 \mu\text{g g}^{-1}$ MF). Los niveles de azúcar aumentaron con el aumento de las concentraciones de metales. En cambio, la inoculación con *Bradyrhizobium sp.* (*Lotus*) redujo significativamente el contenido de azúcares solubles totales en comparación con las semillas no inoculadas (Cuadro 4).

Cuadro 4. Efecto de la inoculación de *Bradyrhizobium sp.* (*Lotus*) en el contenido de azúcares solubles.

	Conc (g L ⁻¹)	Azúcares solubles ($\mu\text{g g}^{-1}$ MF)	
		N ino	Ino
Control	0	3.77aA	4.08eA
Cu(II)	1.5	6.73hB	5.21gA
	2	8.16iB	3.6bA
	3	5.21dB	2.4aA
	3	5.21dB	2.4aA
Cd(II)	2	5.69eB	3.97dA
	3.5	4.83cA	4.8fA
	6	4.16bB	4.08eA
Cu(II) + Cd(II)	I	6.7hB	5.32iA
	II	6.29gB	5.28hA
	III	6.22fB	3.71cA

Contenido de α -amilasa

En ausencia de inoculación bacteriana, se observa una actividad de amilasa muy baja en el control (5.74×10^{-5} U ml⁻¹). El contenido de #-amilasa aumenta ligeramente con el incremento de la concentración de Cd(II) y Cu(II), donde el aumento de la concentración de la mezcla de ambos elementos provoca una caída en la #-amilasa y alcanza 2.55×10^{-5} U ml⁻¹ (Cuadro 5).

Cuadro 5. Efecto de la inoculación con *Bradyrhizobium sp.* (*Lotus*) en el contenido de α -amilasa.

	Conc (g L ⁻¹)	#-amilasa (10^{-5} U ml ⁻¹)	
		N ino	Ino
Control	0	5.74dA	61.1jB
Cu(II)	1.5	2.42aA	49.2hB
	2	2.44aA	11.4cB
	3	0.12gA	40.8gB
	3	0.12gA	40.8gB
Cd(II)	2	6.72eA	51.3iB
	3.5	7.94fA	25.5fB
	6	0.15hA	18.4dB
Cu(II) + Cd(II)	I	12.2gA	24.9eB
	II	5.49cA	7.57bB
	III	2.55bB	0.97aA

La inoculación de semillas de trébol con *Bradyrhizobium sp.* (*Lotus*) aumentó significativamente la actividad de la #-amilasa en comparación con los controles no inoculados, los cuales mostraron 61.1×10^{-5} U ml⁻¹. La actividad de la amilasa disminuyó progresivamente con el aumento de la concentración de Cu(II), con la actividad más baja observada en los tratamientos con mezcla de Cu(II)+Cd(II) (0.97×10^{-5} U ml⁻¹ a la concentración III).

Contenido de ADN

Sin preinoculación bacteriana de las semillas de trébol, se observaron bajos contenidos de ADN en las pruebas tratadas en comparación con el control ($26.35 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$), salvo en la concentración II del medio que contenía la mezcla Cu(II)+Cd(II), donde el contenido de ADN aumenta significativamente en un 58.56% ($41.76 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$) (Cuadro 6).

Cuadro 6. Efecto de la inoculación con *Bradyrhizobium sp.* (*Lotus*) en el contenido de ADN.

	Conc (g L ⁻¹)	ADN ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$)	
		N ino	Ino
Control	0	26.41iB	20.88aA
Cu(II)	1.5	2.51bA	130.3hB
	2	8.52eA	58.3eB
	3	25.56hA	47.94cB
Cd(II)	2	2.34aA	151.35jB
	3.5	7.35cA	48.28dB
	6	7.52dA	126.46gB
Cu(II) + Cd(II)	I	16.04gA	112.43fB
	II	41.76jA	25.73bB
	III	12.7fA	133.47iB

En ausencia de *Bradyrhizobium sp.* (*Lotus*), el contenido de ADN fue notablemente bajo, con ligeros aumentos a concentraciones más altas de MT. La inoculación con *Bradyrhizobium sp.* (*Lotus*) aumentó significativamente el contenido de ADN en todos los tratamientos con metales en comparación con el control ($29.23 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$). No obstante, los niveles de ADN en las semillas de trébol disminuyeron significativamente con el aumento de las concentraciones de metales individuales y de sus mezclas.

Discusión

La prolina representa menos del 5% de los aminoácidos libres totales y se reconoce como uno de los metabolitos de estrés más prevalentes (Matysik *et al.* , 2002 ; Sharma y Dietz, 2006 ; Lei *et al.* , 2007). Desempeña múltiples funciones, entre ellas la osmorregulación, la quelación y la desintoxicación de metales pesados, la protección enzimática, la regulación del pH citosólico, la estabilización de la maquinaria de síntesis de proteínas y la captura de especies reactivas de oxígeno (ERO) (Sharmila *et al.* , 2002).

En nuestro estudio, el contenido de prolina aumentó con la exposición al cadmio (Cd), lo cual es coherente con informes que indican que el Cd induce la síntesis de prolina en varias plantas, incluidos los cotiledones de rábano (Biteur, 2012). Se ha observado una acumulación similar de prolina en respuesta a otros metales pesados, como el Cd en cacahuates (Anuradha y Rao, 2007) y el Cu en arroz y zanahorias (Chen *et al.* , 2004 ; Szafranska *et al.* , 2011).

Nuestros resultados indican que la exposición al Cd y al Cu inhibió significativamente la actividad de la #-amilasa, aunque el tratamiento con una concentración específica de la mezcla Cu/Cd estimuló la enzima. Estos hallazgos coinciden con los de Mihoub *et al.* (2005) , quienes reportaron una disminución notable de la actividad amilolítica en presencia de dichos metales. La inhibición observada puede deberse a interacciones directas de Cd y Cu con #-amilasa o sus proteínas reguladoras, lo que dificulta la movilización de carbohidratos durante la germinación.

Además, el contenido de ADN en cotiledones de *Lotus ornithopodioides* L. disminuyó bajo estrés por metales, lo que indica una mayor sensibilidad a los metales pesados. Esta observación coincide con estudios previos que reportaron un contenido reducido de ADN en plantas como la mostaza y el frijol expuestas a metales pesados en condiciones salinas (Chatterjee *et al.* , 1985 ; Bouzid,

2009). Niveles bajos de ADN sugieren un desarrollo celular y una síntesis de proteínas afectados, fundamentales para el crecimiento de las plantas y la tolerancia al estrés (Bouzid, 2009).

La inoculación con *Bradyrhizobium sp.* (*Lotus*) condujo a una reducción significativa de los aminoácidos totales, de la prolina y de los azúcares solubles en presencia de iones de cobre y de cadmio. Esto contrasta con los hallazgos previos de Silini *et al.* (2016) , quienes reportaron un aumento de los osmoprotectores en semillas de trigo tras la inoculación con *Azotobacter* bajo estrés abiótico.

Conclusión

La presencia de cadmio (Cd) y cobre (Cu) afectó negativamente la germinación y varios parámetros bioquímicos; sin embargo, las semillas inoculadas mostraron un mejor desempeño en comparación con los controles no inoculados. Específicamente, la inoculación condujo a una reducción de los niveles de prolina y de aminoácidos, al tiempo que promovió una mayor actividad de la #-amilasa y un mayor contenido de ADN, lo que indica una respuesta metabólica más robusta al estrés por metales.

Estos hallazgos sugieren que *Bradyrhizobium sp.* (*Lotus*) desempeña un papel fundamental en la mitigación de los efectos negativos de los metales pesados en la germinación y el crecimiento de las plantas. Los mecanismos por los cuales esta bacteria mejora la resiliencia pueden implicar la modulación de osmoprotectores y de actividades enzimáticas, las cuales son esenciales para mantener la homeostasis celular bajo condiciones de estrés. En general, esta investigación destaca el potencial de utilizar *Bradyrhizobium sp.* (*Lotus*) como herramienta biotecnológica en la agricultura sostenible para mejorar la resiliencia de los cultivos en ambientes contaminados con metales.

Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por la Direction Générale de la Recherche Scientifique et du Développement Technologique (DGRSDT) y el CRAPast, Argelia.

Los autores extienden sus agradecimientos a la Direction Générale de la Recherche Scientifique et du Développement Technologique (DGRSDT), Argelia.

Bibliografía

- 1 Ahemad, M. and Kibret, M. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. Journal of King Saud University-Science. 26(1):1-20. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>.
- 2 Anuradha, S. and Rao, S. S. R. 2007. The effect of brassinosteroids on radish (*Raphanus sativus*) seedlings growing under cadmium stress. Plant Soil Environ. 53(11):465-472. <https://doi.org/10.17221/2307-PSE>.
- 3 Babu, P.; Bryan, J. D.; Panek, H. R.; Jordan, S. L.; Forbrich, B. M.; Kelley, S. C.; Colvin, R. T. and Robinson, L. C. 2002. Plasma membrane localization of the Yck2p yeast casein kinase 1 isoform requires the C-terminal extension and secretory pathway function. J. Cell Sci. 115(24):4957-4968. <https://doi.org/10.1242/jcs.00203>.
- 4 Biteur, N. 2012. Essais d'utilisation du radis (*Raphanus sativus*) dans la phytoremédiation (biodépollution) au niveau du sol contaminé par les métaux lourds (plomb): étude du stress oxydatif et quelques paramètres enzymatiques. Thèse de Doctorat, Oran, Alger. 110 p.
- 5 Bouzid, S. 2009. Étude de l'effet de la salinité et de la présence du molybdène sur le comportement écophysologique de deux variétés de plantes de l'espèce *Phaseolus vulgaris* L. Thèse de Magister. 124 p.

- 6 Burton, K. 1956. A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. *Biochem. Journal.* 62(2):315-322. <https://doi.org/10.1042/bj0620315>.
- 7 Chatterjee, C.; Nautiyal, N. and Agarwala, S. C. 1985. Metabolic changes in mustard plant associated with molybdenum deficiency. *New Phytologist.* 100(4):511-518. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1985.tb02797.x>.
- 8 Chen, C. T.; Chen, T. H.; Lo, K. F. and Chu, C. Y. 2004. Effects of proline on copper transport in rice seedlings under excess copper stress. *Plant Sci.* 166(1):103-111. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2003.08.015>.
- 9 Degaichia, H.; Boussahoua, A. R. and Bakria, T. 2024. Resistance of *Bradyrhizobium* sp. (*Lotus*) to metallic stress. *Agropastoralis Scientia.* 1(2):73-83. <https://asjp.cerist.dz/index.php/en/article/262816>.
- 10 Degaichia, H.; Hamas, F.; Boussahoua, A. R.; Bakria, T. and Bouchenak, F. 2025. Enhancing trefoil germination under metal stress through *Bradyrhizobium* sp. (*Lotus*) inoculation. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas.* 16(4):1-11. <https://doi.org/10.29312/remexca.v16i4.3658>.
- 11 Dubois, M.; Gilles, K. A.; Hamilton, J. K.; Rebers, P. A. and Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem. J.* 28(3):350-356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>.
- 12 Etesami, H. and Maheshwari, D. K. 2018. Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: action mechanisms and future prospects. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 156(1):225-246. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.013>.
- 13 Hossain, M. A.; Piyatida, P.; da Silva, J. A. T. and Fujita, M. 2012. Molecular mechanism of heavy metal toxicity and tolerance in plants: central role of glutathione in detoxification of reactive oxygen species and methylglyoxal and in heavy metal chelation. *Journal of Botany.* 1:1-37. <https://doi.org/10.1155/2012/872875>.
- 14 Lei, Y. B. Korpelainen, H. and Li, C. Y. 2007. Physiological and biochemical responses to high Mn concentrations in two contrasting *Populus cathayana* populations. *Chemosphere.* 68(4):686-694. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.01.066>.
- 15 Matysik, J.; Alia, Bhalu, B. and Mohanty, P. 2002. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. *Current Science.* 82(5):525-532. <https://www.jstor.org/stable/24105959>.
- 16 Mihoub, A.; Chaoui, A. and El Ferjani, E. 2005. Biochemical changes induced by cadmium and copper during germination of pea seeds (*Pisum sativum* L.). *Comptes Rendus Biologies.* 328(1):601-609. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2004.10.003>.
- 17 Naidu, B. P., Cameron, D. F. and Konduri, S. V. 1998. Improving drought tolerance of cotton by glycine betaine application and selection. *Proceedings of the Australian Agronomy Conference. The Australian Society of Agronomy, Australia.* 1-5 pp.
- 18 Rizwan, M.; Ali, S.; Adrees, M.; Rizvi, H.; Zia-ur-Rehman, M.; Hannan, F. and Ok, Y. S. 2016. Cadmium stress in rice: toxic effects, tolerance mechanisms and management: a critical review. *Environmental Science and Pollution Research.* 23(18):17859-17879. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6436-4>.
- 19 Shameer, S. and Prasad, T. N. V. K. V. 2018. Plant growth promoting rhizobacteria for sustainable agricultural practices with special reference to biotic and abiotic stresses. *Plant Growth Regulation.* 84(3):603-615. <https://doi.org/10.1007/s10725-017-0365-1>.
- 20 Sharma, S. S. and Dietz, K. J. 2006. The significance of amino acids and amino-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *J. Exp. Bot.* 57(4):711-726. <https://doi.org/10.1093/jxb/erj073>.

- 21 Sharmila, P. and Pardha, S. P. 2002. Proline accumulation in heavy metal stressed plants: an adaptative strategy. In: physiology and biochemistry of metal toxicity and tolerance in plants. Prasad, M. N. V. and Strzalka, K. (Eds.). 179-199 pp. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-2660-3-7>.
- 22 Silini, A.; Cherif-Silini, H. and Yahiaoui, B. 2016. Growing varieties durum wheat (*Triticum durum*) in response to the effect of osmolytes and inoculation by *Azotobacter chroococcum* under salt stress. Afr. J. Microbiol. Res. 10(12):387-399. <https://doi.org/10.5897/AJMR2015.7723>.
- 23 Singh, T. N.; Aspinall, D.; Paleg, L. G. and Bogges, S. F. 1973. Stress metabolism. II. Changes in proline concentration in excised plant tissues. Australian Journal of Biological Sciences. 26(1):57-63.
- 24 Szafrariska, K.; Cvikrovsk, M.; Kowalska, U.; Gdrecki, R.; Martincova, I. and Janas, K. M. 2011. Influence of copper ions on growth, lipid peroxidation, proline and polyamines content in carrot rosettes obtained from another culture. Acta Physiol. Plant. 33(3):851-859. <https://doi.org/10.1007/s11738-010-0610-y>.
- 25 Xiao, Z.; Storms, R. and Tsang, A. 2006. A quantitative starch-iodine method for measuring alpha-amylase and glucoamylase activities. Anal. Biochem. 351(1):146-148. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2006.01.036>.



***Bradyrhizobium sp.* en el fortalecimiento de la defensa bioquímica del trébol bajo estrés por metales**

Journal Information
Journal ID (publisher-id): remexca
Title: Revista mexicana de ciencias agrícolas
Abbreviated Title: Rev. Mex. Cienc. Agríc
ISSN (print): 2007-0934
Publisher: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

Article/Issue Information
Date received: 01 March 2026
Date accepted: 01 June 2026
Publication date: 01 August 2026
Volume: 17
Issue: 5
Electronic Location Identifier: e3742
DOI: 10.29312/remexca.v17i5.3742

Categories

Subject: Artículo

Palabras clave:

Palabras clave:

bioquímica
cadmio
cobre
germinación
estrés por metales
RPCV
trébol

Counts

Figures: 0
Tables: 6
Equations: 2
References: 25