

## COMPORTAMIENTO EN LA ABSORCIÓN DE Na Y Pb EN PLANTAS DE CUCURBITÁCEAS E INOCULACIÓN DE MICORRIZAS ARBUSCULARES NATIVAS EN ESPECIE TOLERANTE Y SUCEPTIBLE

Behavior in the absorption of Na and Pb in cucurbit plants and inoculation of native arbuscular mycorrhizae in tolerant and susceptible species

Jaime Alberto NARANJO-MORÁN<sup>1,3</sup>, Andy Fabricio MORA-GONZÁLEZ<sup>1</sup>, Emy MOINA-QUIMÍ<sup>1</sup>, Omar RUÍZ-BARZOLA<sup>1</sup>, Omar ALVARADO-CADENA<sup>1</sup>, Paola CALLE-DELGADO<sup>1</sup>, José FLORES-CEDENO<sup>1,4</sup>, Javier OVIEDO-ANCHUNDIA<sup>1</sup> y Milton Senen BARCOS-ARIAS<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> Escuela Superior Politécnica del Litoral, Campus Gustavo Galindo, kilómetro 30.5 Vía Perimetral, Guayaquil, apartado postal 09015863, Guayas, Ecuador.

<sup>2</sup> Universidad Espíritu Santo, Samborondón, apartado postal 0901952, Guayas, Ecuador.

<sup>3</sup> Universidad Politécnica Salesiana, Campus María Auxiliadora, kilómetro 19.5 Vía a la Costa, Guayaquil, apartado postal 09012074, Guayas, Ecuador.

<sup>4</sup> Universidad de Guayaquil, Campus Mapasingue, Avenida. Raúl Gómez Lince y Avenida. Juan Tanca Marengo, Guayaquil, apartado postal 090014, Guayas, Ecuador.

\*Autor para correspondencia: [mbarcos@espol.edu.ec](mailto:mbarcos@espol.edu.ec)

(Recibido: mayo de 2020; aceptado: octubre de 2022)

Palabras clave: *Citrullus lanatus*, *Cucumis melo*, *Cucurbita ecuadoriensis*, *Cucurbita moschata*, endomicorrizas.

### RESUMEN

El Na y el Pb en concentraciones altas pueden afectar el desarrollo de los cultivos. Una alternativa para mitigar el estrés vegetal ocasionado por estos elementos es la inoculación con hongos micorrízicos arbusculares (HMA). El presente trabajo se realizó con el objetivo de evaluar la absorción del Na y Pb en plantas de cucurbitáceas (*Citrullus lanatus*, *Cucumis melo*, *Cucurbita ecuadoriensis*, *Cucurbita moschata*) bajo condiciones controladas, además de evaluar el efecto de un consorcio de hongos micorrízicos arbusculares sobre una especie tolerante y otra susceptible. Los experimentos se realizaron en sustrato (casarilla de arroz:arena en proporción 1:1). El Na y el Pb fueron aplicados a concentraciones de 0, 97, 309, 529, 741 mg/kg y 0, 150, 250, 500, 1000 mg/kg, respectivamente. Se evaluaron parámetros agronómicos y se cuantificó la acumulación de ambos elementos en la biomasa por espectrometría de absorción atómica. Como resultado, *Cucurbita ecuadoriensis*, especie tolerante a Na y Pb, acumuló en su biomasa total 10 301.3 mg/kg de Na y 5293.1 mg/kg de Pb. Mientras, la especie susceptible *Cucumis melo* acumuló 22 091.6 mg/kg de Na y 14 407 mg/kg de Pb en su biomasa total. En el ensayo con inoculación de hongos micorrízicos arbusculares se observó una disminución en *Cucurbita ecuadoriensis* que alcanzó 3419.3 mg/kg de Na y 4866.1 mg/kg de Pb. Asimismo, *Cucumis melo* acumuló 8681 mg/kg de Na y 3133.1 mg/kg de Pb en su biomasa total. En conclusión, la inoculación con HMA, permitió que ambas plantas acumulen menor cantidad de Na y Pb en sus sistemas.

Key words: *Citrullus lanatus*, *Cucumis melo*, *Cucurbita ecuadoriensis*, *Cucurbita moschata*, endomycorrhizas.

## ABSTRACT

Na and Pb in high concentrations can affect the growth of crops. An alternative to mitigate plant stress caused by these elements is inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. The present work was carried out with the objective of evaluating Na and Pb uptake in Cucurbitaceae plants (*Citrullus lanatus*, *Cucumis melo*, *Cucurbita ecuadoriensis*, *Cucurbita moschata*) under controlled conditions, in addition to evaluating the effect of a consortium of arbuscular mycorrhizal fungi on a tolerant and a susceptible species. The experiments were conducted in rice husk:sand substrate in a 1:1 ratio. Na and Pb were applied at concentrations of 0, 97, 309, 529, 741 mg/kg and 0, 150, 250, 500, 1000 mg/kg, respectively. Agronomic parameters were evaluated and the accumulation of both elements in the biomass was quantified by atomic absorption spectrometry. As a result, *Cucurbita ecuadoriensis*, a Na and Pb tolerant species, accumulated 10 301.3 mg/kg Na and 5293.1 mg/kg Pb in its total biomass. Meanwhile, the susceptible species *Cucumis melo* accumulated 22 091.6 mg/kg Na and 14 407 mg/kg Pb in its total biomass. In the trial with inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi, a decrease was observed in *Cucurbita ecuadoriensis*, which reached 3419.3 mg/kg Na and 4866.1 mg/kg Pb. Likewise, *Cucumis melo* accumulated 8681 mg/kg Na and 3133.1 mg/kg Pb in its total biomass. In conclusion, inoculation with AMF allowed both plants to accumulate less Na and Pb in their systems.

## INTRODUCCIÓN

A nivel mundial existen problemas en los suelos agrícolas, tales como el aumento de la salinidad y la presencia de metales pesados. Ambas problemáticas están relacionadas con el uso intensivo de fertilizantes y agroquímicos (Martí et al. 2002, Seiler 2005). Ecuador no es la excepción debido a la génesis de sus suelos. Los principales problemas de salinidad se dan en la península de Santa Elena (Proaño et al. 2011), donde los altos niveles de sodio no permiten que los cultivos puedan prosperar de la mejor manera y alcanzar la producción esperada. El sodio (Na) y el plomo (Pb) producen desequilibrios fisiológicos y nutricionales en las plantas (Zhao et al. 2017) y si se encuentran en altas concentraciones dentro de las unidades de producción agrícola causan pérdidas.

En la península de Santa Elena crecen cucurbitáceas silvestres como *Cucurbita ecuadoriensis* y el zapallo *Cucurbita moschata* (Piperno y Stothert 2003), especies que por su tolerancia al estrés biótico y abiótico han sido utilizadas en programas de mejoramiento genético de cucurbitáceas de mayor demanda comercial (Gong et al. 2008).

Está reportado que los microorganismos rizosféricos asociados a las especies vegetales pueden estabilizar al Na y al Pb evitando daños severos en las plantas (Yang et al. 2015). Entre esos microorganismos están los hongos micorrízicos arbusculares que retienen en sus estructuras a los metales pesados presentes en el suelo, además, permiten que las

plantas prosperen en condiciones adversas (Rizzi et al. 2004, Elhindi et al. 2017, Pang et al. 2018).

Las micorrizas arbusculares brindan múltiples beneficios como la estimulación de la producción de fitohormonas, mejoran la absorción de macro y microelementos, y favorecen la aclimatación de las plantas al trasplante, mejorando su desarrollo en campo. Asimismo, los hongos micorrízicos arbusculares fortalecen el sistema de defensa frente a los agentes patógenos, retienen metales pesados y elementos radioactivos contaminantes de los suelos (cadmio, plomo, cobre, mercurio, uranio) (Hashem et al. 2016, Davies et al. 2018). Estos microorganismos tienen la capacidad de producir ciertas proteínas como la glomalina, que se acumula en sus hifas y raíces, permitiendo la retención de estos elementos químicos (González et al. 2004); también se ha demostrado que las esporas de las micorrizas arbusculares absorben cantidades significativas de metales pesados (Cornejo et al. 2013).

Martínez y Pugnaire (2009), hacen énfasis en el estudio y manipulación de las comunidades de hongos micorrízicos arbusculares para mitigar las condiciones de estrés abiótico de las plantas. En este sentido, el presente trabajo se realizó con el objetivo de evaluar la absorción del Na y el Pb, elementos con alta y baja movilidad, respectivamente, en cucurbitáceas (*Citrullus lanatus*, *Cucumis melo*, *Cucurbita ecuadoriensis*, *Cucurbita moschata*) y el efecto de adsorción en las raíces de los dos elementos usando un consorcio nativo de hongos micorrízicos arbusculares bajo condiciones controladas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Obtención del material biológico

Las semillas de *Citrullus lanatus* y *Cucumis melo* fueron de las variedades Charleston grey y Edisto 47, respectivamente, mientras que las especies *Cucurbita ecuadoriensis* y *C. moschata* fueron colectadas en la parroquia Juan Gómez Rendón (Progreso) del cantón Guayaquil, provincia del Guayas, Ecuador. El consorcio nativo de hongos micorrízicos arbusculares utilizado en esta experimentación fue proveído por el Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE-ESPOL), constituido por miembros de seis géneros (*Acaulospora*, *Ambispora*, *Diversispora*, *Entrophospora*, *Funneliformis* y *Glomus*).

### Condiciones del sistema

El estudio se llevó a cabo en dos fases como se describe en el diseño experimental, cada experimentación tuvo una duración de siete semanas. Con el fin de obtener plantas homogéneas para los experimentos se procedió a preparar semilleros de las cuatro especies seleccionadas. A los 12 días después de la siembra se procedió al trasplante cuando las plantas alcanzaron 7 cm de altura. El sustrato estuvo constituido por cascarilla de arroz y arena de río en proporción 1:1, con una conductividad eléctrica de 0.44 dS/m y un pH de 6.98 (Galindo Pardo et al. 2014). Un volumen de sustrato de 2.7 kg fue colocado en fundas de polietileno. Una vez establecido el primer ensayo se conservó a capacidad de campo, aplicando 70 mL de solución hidropónica de Steiner tres veces por semana. Los ensayos de las dos fases se mantuvieron a 26 °C y 60 % de humedad relativa y luminosidad constante en invernadero durante los meses de julio a noviembre (clima ecuatorial).

### Diseño experimental

Se aplicó un diseño experimental bifactorial, factor A (Na y Pb) con cinco niveles de concentración y el factor B (las cuatro especies de cucurbitáceas en estudio). Los tratamientos experimentales fueron los siguientes: 0 (testigo), 97, 309, 529, 741 mg/kg de Na (Montes-Rentería et al. 2011) y 0 (testigo), 150, 250, 500, 1000 mg/kg de Pb (Maldonado-Magaña et al. 2011). Por cada tratamiento se realizaron seis repeticiones. Para el primer ensayo se evaluaron los siguientes parámetros: altura, número de hojas, área foliar, biomasa seca, absorción de Na y Pb, y determinación de los factores de bioconcentración (FBC) y traslocación (FT).

En la segunda fase del experimento se seleccionó una especie tolerante (*Cucurbita ecuadoriensis*) y

otra susceptible (*Cucumis melo*). Los tratamientos fueron establecidos con las mismas concentraciones de Na y Pb del primer ensayo, además una variante fue adicionada, la que consistió en la inoculación de un consorcio de hongos micorrízicos arbusculares a una concentración de 20 esporas/g de suelo, para determinar su efecto en la absorción de Pb y Na en las plantas bajo estudio. Dado que los microorganismos ayudan a las plantas a soportar la toxicidad y promueven efectos beneficiosos para ellas (Pang et al. 2018), se consideró volver a evaluar parámetros agronómicos y fisiológicos como altura, número de hojas, área foliar, biomasa seca, contenido de clorofila, absorción de Na y Pb, FBC y FT para Na y Pb y el porcentaje de infección por micorrizas en raíces.

### Determinación de parámetros agronómicos y fisiológicos

La altura se midió con una regla graduada en milímetros desde la base del pseudotallo hasta donde se bifurcan las dos últimas hojas. Se contabilizaron todas las hojas que alcanzaron la abertura del foliolo (González 2017).

Para medir el área foliar se seleccionaron las hojas siete, ocho y nueve ya que contienen un desarrollo idóneo en su estado fenológico y una estructura celular estable (Peng et al. 2019), puesto que las hojas jóvenes y viejas pueden brindar resultados sesgados. Para medir este parámetro se eligieron plantas con un crecimiento promedio. Las hojas fueron digitalizadas haciendo uso de un escáner Epson L395, las imágenes se guardaron en formato JPG y se utilizó el programa de computación libre ImageJ para determinar el área foliar al finalizar el ensayo.

Para obtener la biomasa seca se procedió a retirar las plantas de las fundas de polietileno se cortó la parte aérea, mientras que la parte radical fue lavada cuidadosamente con agua del grifo para eliminar las impurezas del suelo. Posteriormente se procedió a secar las plantas de cada tratamiento a 80 °C en una estufa eléctrica hasta obtener peso contante (Santacruz-Vázquez et al. 2013).

Los datos de clorofila fueron tomados in situ en plantas inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares en las hojas cinco, seis y siete, mediante un medidor electrónico CCM-200 Plus, Opti-Science. Este parámetro se evaluó en la séptima semana de crecimiento (Callejas et al. 2013).

### Cuantificación de Na y Pb

Para el análisis de Pb, las muestras de tejidos vegetales fueron pulverizadas mediante un molino eléctrico, se procedió a depositar 0.5 g en viales de

teflón y se les adicionaron 6 mL de ácido nítrico al 65 % y 2 mL de peróxido de hidrógeno al 30 %. Luego, las muestras se colocaron en un digestor de microondas a temperatura de 200 °C por 1 h (Milestone, Vac-1000 Acid Scrubber Module). Transcurrido este tiempo se llevó a cabo la digestión total de la muestra, el producto digerido se aforó hasta 10 mL con ácido nítrico al 5 %, para luego ser analizado en el espectrofotómetro de absorción atómica (Perkin Elmer, Analyst 400). Previo se realizó una curva de calibración usando las siguientes concentraciones: 1, 2, 4, 8, 12, y 20 ppm de un estándar de Pb (Luna et al. 2010, Ribeiro et al. 2012).

Para la cuantificación del Na las muestras fueron enviadas y analizadas según metodologías estándar del Laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) de Ecuador.

#### **Determinación de los factores de bioconcentración (FBC) y de traslocación (FT)**

El FBC fue estimado a partir de la cantidad absorbida del elemento por la planta sobre la cantidad del elemento presente en el suelo (Maldonado-Magaña et al. 2011).

El FT se calculó a partir de la concentración del elemento absorbido en la biomasa aérea dividido entre la concentración del elemento absorbido en la biomasa radicular (Ribeiro et al. 2012).

#### **Determinación del porcentaje de colonización**

Se tomaron muestras de raíces a los 21 y 52 días después del trasplante; fueron lavadas con agua del grifo, luego cortadas y depositadas en un recipiente con 1 mL de hidróxido de potasio al 10 %, después colocadas por 10 min a 121 °C y 15 lb de presión en un autoclave, posteriormente se retiró el hidróxido de potasio y fueron lavadas con agua del grifo. Luego, las raíces quedaron sumergidas por 3 min en ácido clorhídrico al 1 %, se descartó el ácido y se aplicó azul de tripano al 0.05 % en autoclave a 15 lb por 15 min. Finalmente, se dejó enfriar y se procedió a colocar las raíces en portaobjetos, donde se depositó una gota de lactoglicerol con un cubreobjetos para luego visualizar las estructuras infectivas. El porcentaje de colonización total se determinó usando la fórmula propuesta por McGonigle et al. (1990).

#### **Análisis estadístico**

Todos los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza y a la prueba de Tukey con valores  $p < 0.05$  para las variables en estudio, con el programa Infostat v. 1.2.0 (2017).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Parámetros de crecimiento**

Se puede evidenciar que *Cucurbita ecuadoriensis* y *C. moschata* no se vieron afectadas en la altura a medida que se incrementaron las concentraciones de Na y Pb. Ambas especies tratadas con 741 mg/kg de Na alcanzaron 17 y 9 cm, respectivamente, en comparación con los testigos que llegaron a 14 y 10 cm. Mientras, *Citrullus lanatus* y *Cucumis melo* se vieron afectadas en su crecimiento a medida que se incrementaron las concentraciones de Na. En lo que respecta al Pb, las especies presentaron un patrón de crecimiento similar al observado con el Na (**Cuadro I**). Manousaki y Kalogerakis (2009) reportan que no existe una tendencia clara de afectación en el crecimiento en las plantas cuando crecen en presencia de Na y Pb.

En lo que respecta al número de hojas la especie más afectada fue *C. melo* con siete hojas en la séptima semana con el tratamiento de 741 mg/kg de Na, en comparación con el testigo que alcanzó 10 hojas. Las otras especies no se vieron afectadas con las diferentes concentraciones de Na. En los tratamientos con Pb, la especie *C. moschata* fue la única que no se vio afectada, al tener siete hojas al finalizar el ensayo igual que el testigo. En las especies de *Cucurbita ecuadoriensis*, *Citrullus lanatus* y *Cucumis melo* se vio reducido este parámetro. En lo que concierne al área foliar se observó que *C. lanatus* y *C. melo* se vieron muy afectadas en los tratamientos con 741 mg/kg de Na, alcanzando un área foliar de 8 y 10 cm<sup>2</sup>, respectivamente, en comparación con los testigos que tuvieron 22 y 30 cm<sup>2</sup>. En los tratamientos con Pb todas las especies también se vieron muy afectadas al compararlas con sus respectivos testigos (**Cuadro I**). Maldonado-Magaña et al. (2011) reportaron que la no afectación de una especie de planta por las altas concentraciones de algún elemento se traduce como tolerancia de la especie a dicho elemento. La biomasa seca total (BST) de *C. ecuadoriensis* y *C. moschata* presentó un incremento a medida que se aumentó la concentración de Na en el sustrato; alcanzó valores de 3.31 y 2.63 g/planta respectivamente, en comparación con los testigos que tuvieron 2.18 y 2.30 g/planta respectivamente, mientras que la biomasa seca en las especies *Citrullus lanatus* y *Cucumis melo* se vio afectada por las concentraciones de Na. En cuanto al Pb se evidencia un patrón similar al observado en el Na (**Cuadro II**).

La acumulación de Na y Pb en altas concentraciones inhibió el crecimiento y la ganancia de biomasa

**CUADRO I.** PARÁMETROS DE CRECIMIENTO EVALUADOS EN PLANTAS DE CUCURBITÁCEAS SEMBRADAS EN SUSTRATOS CONTAMINADOS CON Na Y Pb.

Especies	Na				Pb			
	Tratamientos (mg/kg)	Altura (cm)	Número de hojas	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	Tratamientos (mg/kg)	Altura (cm)	Número de hojas	Área foliar (cm <sup>2</sup> )
<i>Cucurbita ecuadoriensis</i>	0*	14 ± 4.2B	8 ± 0.9F	49 ± 11.1C	0*	10 ± 2.0A	10 ± 2.4C	41 ± 1.8D
	97	13 ± 3.3B	8 ± 0.6F	57 ± 7.8C	150	14 ± 3.1B	8 ± 0.5B	61 ± 11.3E
	309	15 ± 3.1B	8 ± 0.5F	54 ± 5.4C	250	18 ± 3.4C	8 ± 0.5B	55 ± 6.0E
	529	20 ± 7.4D	9 ± 1.0G	57 ± 4.0C	500	21 ± 6.3D	8 ± 0.5B	51 ± 3.1E
	741	17 ± 3.9C	8 ± 0.5F	49 ± 6.2C	1000	17 ± 4.8C	8 ± 0.9B	39 ± 4.4D
<i>Citrullus lanatus</i>	0*	41 ± 8.3I	8 ± 1.1F	22 ± 3.1B	0*	36 ± 6.2H	9 ± 1.3B	15 ± 2.7B
	97	45 ± 8.1I	11 ± 1.2G	17 ± 0.7B	150	39 ± 6.6H	9 ± 1.3C	10 ± 0.2A
	309	37 ± 4.4H	9 ± 1.7G	12 ± 2.0A	250	38 ± 6.6H	8 ± 0.8B	9 ± 0.6A
	529	32 ± 6.1G	7 ± 0.8F	11 ± 1.2A	500	39 ± 3.3H	9 ± 1.7C	8 ± 0.7A
	741	29 ± 6.1F	9 ± 0.6F	8.0 ± 1.6A	1000	25 ± 4.5F	7 ± 1.1A	7 ± 0.3A
<i>Cucumis melo</i>	0*	50 ± 7.5I	10 ± 0.9G	30 ± 0.51B	0*	46 ± 2.7H	9 ± 1.8C	26 ± 4.2C
	97	38 ± 5.7H	9 ± 0.5G	11 ± 1.4B	150	35 ± 3.8H	9 ± 2.1B	20 ± 0.5B
	309	32 ± 4.1G	8 ± 0.5F	14 ± 0.4A	250	33 ± 5.7H	9 ± 0.9B	17 ± 1.7B
	529	27 ± 1.6E	7 ± 1.0E	12 ± 1.8A	500	29 ± 5.7G	8 ± 0.8B	14 ± 0.4B
	741	21 ± 7.1D	7 ± 0.5D	10 ± 1.5A	1000	23 ± 5.2E	7 ± 0.9A	9 ± 0.2A
<i>Cucurbita moschata</i>	0*	10 ± 1.1A	6 ± 0.3A	56 ± 1.3C	0*	11 ± 1.0B	7 ± 0.0A	78 ± 5.6F
	97	0.9 ± 0.7A	6 ± 0.2B	60 ± 3.8C	150	13 ± 0.5B	7 ± 0.7A	76 ± 1.5F
	309	10 ± 0.9A	6 ± 0.2B	60 ± 1.6C	250	13 ± 0.4B	7 ± 0.4A	80 ± 6.5F
	529	10 ± 0.9A	7 ± 0.0C	60 ± 3.7C	500	13 ± 0.6B	7 ± 0.0A	76 ± 6.5F
	741	9 ± 1.2A	7 ± 0.0C	58 ± 2.7C	1000	12 ± 1.1B	7 ± 0.0A	51 ± 4.4E

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticas significativas según la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ); ± desviación estándar; n = 6; \* testigos.

**CUADRO II.** BIOMASA SECA TOTAL DE CUCURBITÁCEAS A LA SÉPTIMA SEMANA DE TRASPLANTE EN SUSTRATOS CONTAMINADOS CON Na Y Pb.

Especies	Na		Pb	
	Tratamientos (mg/kg)	BST (g/planta)	Tratamientos (mg/kg)	BST (g/planta)
<i>Cucurbita ecuadoriensis</i>	0*	2.18 ± 0.66F	0*	2.18 ± 0.75F
	97	2.94 ± 0.42F	150	3.02 ± 0.53G
	309	3.65 ± 0.78G	250	3.18 ± 0.58G
	529	3.47 ± 1.16G	500	3.25 ± 0.56G
	741	3.31 ± 0.41F	1000	2.79 ± 0.38G
<i>Citrullus lanatus</i>	0*	1.43 ± 0.41C	0*	0.87 ± 0.12A
	97	1.35 ± 0.49C	150	1.12 ± 0.23B
	309	1.07 ± 0.21B	250	1.59 ± 0.41D
	529	0.78 ± 0.31A	500	0.95 ± 0.23A
	741	0.69 ± 0.19A	1000	0.62 ± 0.16A
<i>Cucumis melo</i>	0*	2.14 ± 0.49E	0*	2.47 ± 0.46G
	97	1.78 ± 0.53D	150	2.12 ± 0.85E
	309	1.75 ± 0.63D	250	2.18 ± 0.37F
	529	1.10 ± 0.27B	500	1.54 ± 0.37D
	741	0.82 ± 0.35A	1000	1.33 ± 0.36C
<i>Cucurbita moschata</i>	0*	2.30 ± 0.66F	0*	2.92 ± 0.52G
	97	2.00 ± 0.32E	150	3.65 ± 0.62H
	309	2.68 ± 0.51F	250	3.06 ± 0.61G
	529	2.83 ± 0.59F	500	2.83 ± 0.40G
	741	2.63 ± 0.44F	1000	2.94 ± 0.49G

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticas significativas según la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ); ± desviación estándar; n = 6; \* testigos; BST = Biomasa seca total.



en las plantas, demostrando la toxicidad de estos elementos en *C. lanatus* y *C. melo*. Está reportado que el Na altera el balance osmótico de la membrana celular y el Pb interfiere con los procesos fotosintéticos (Kaur et al. 2012, Shu et al. 2015, Ortas et al. 2017). Estos resultados demuestran que existió un efecto negativo en el crecimiento de *C. lanatus* y *C. melo* a las concentraciones de 741 mg/kg de Na y 1000 mg/kg de Pb en la séptima semana de evaluación, evidenciando que *C. melo* fue la especie más susceptible y *Cucurbita ecuadoriensis* la especie más tolerante para ambos elementos (**Fig. 1**).

### Cuantificación de Na y Pb en la biomasa de las cucurbitáceas

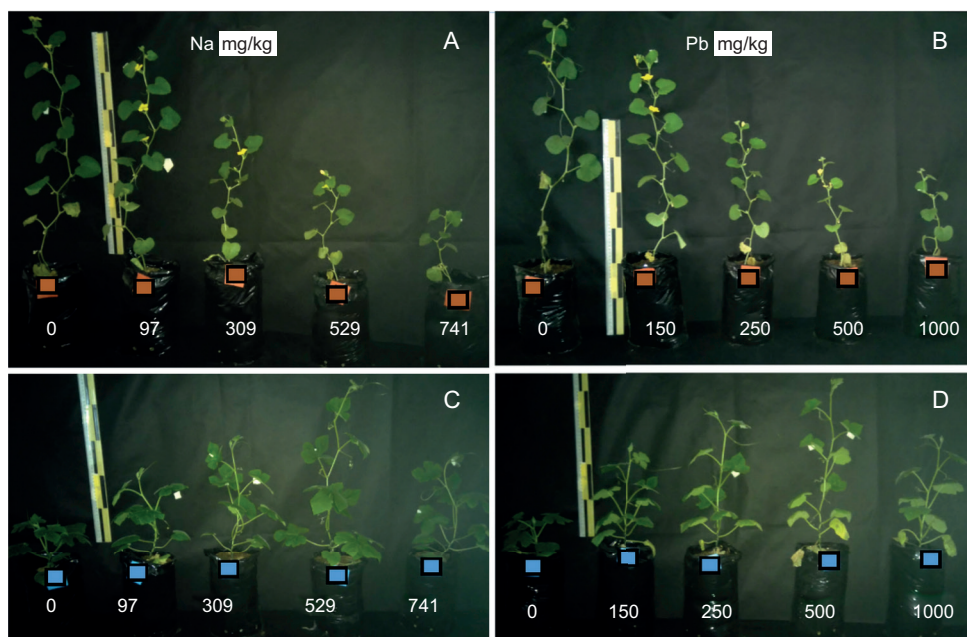
La acumulación de Na en la biomasa de las cucurbitáceas estudiadas se incrementó a medida que aumentó la concentración aplicada del elemento al sustrato. Las especies *Cucurbita ecuadoriensis* y *Cucumis melo* acumularon en la biomasa aérea 3768 y 7441.6 mg/kg de Na, respectivamente, mientras que, en la biomasa radical fue de 6533 y 14650 mg/kg de Na, en el tratamiento con 741 mg/kg de Na, respectivamente (**Cuadro III**). Para el Pb, las especies con mayor absorción en la parte aérea fueron *Cucurbita ecuadoriensis* y *C. moschata* alcanzando valores de 545.7 y 484.1 mg/kg

de Pb, y para la biomasa radical las especies con mayor absorción fueron *Citrullus lanatus* y *Cucumis melo* con valores de 16598.9 y 11124.0 mg/kg de Pb en los tratamientos de 1000 mg/kg. Los resultados coinciden con lo reportado por Montes-Rentería et al. (2011), quienes encontraron que la captación de Na aumentó en el tejido foliar de *Carya illinoensis* a medida que aumentó la concentración de Na en el sustrato.

Los valores de Pb obtenidos en la parte aérea de *Cucurbita ecuadoriensis* y *C. moschata* son similares a los reportados en vetiver (*Chrysopogon zizanioides*) con 426 mg/kg de Pb, mientras que difieren de los de maíz (*Zea mays*) 8.7 mg/kg de Pb (Pidatata et al. 2018). Ambos ensayos fueron desarrollados bajo condiciones similares, lo que evidencia que la absorción de Pb en la parte aérea y radical depende de cada especie.

### FBC y FT de Na y Pb en las plantas de cucurbitáceas

La habilidad de absorber Na y Pb en las cucurbitáceas se determinó mediante el FBC, teniendo en cuenta que si el resultado es más distante de 1.0, significa que la planta absorbió más del elemento (Yoon et al. 2006). Las especies *C. ecuadoriensis* y *C. moschata* alcanzaron valores de 13.9 y 12.8 de



**Fig. 1.** Respuesta del crecimiento a la séptima semana del trasplante: A-B) plantas de *Cucumis melo*; C-D) plantas de *Cucurbita ecuadoriensis*, en sustratos contaminados con Na (izq.) y Pb (der.). Las cifras debajo de las plantas indican la concentración de Na o Pb adicionada al sustrato en mg/kg de sustrato.

**CUADRO III.** ACUMULACIÓN DE Na EN BIOMASA DE CUCURBITÁCEAS EVALUADAS A LA SÉPTIMA SEMANA DE TRASPLANTE EN SUSTRATOS CONTAMINADOS CON Na.

Especies	Tratamientos (mg/kg)	Na acumulado en biomasa (mg/kg)		Factores	
		Aérea	Radicular	FBC	FT
<i>Cucurbita ecuadoriensis</i>	0*	00.0 ± 0.0A	00.0 ± 0.0A	0.0 ± 0.00A	0.00 ± 0.00A
	97	1305.0 ± 5.2H	3039.6 ± 34.7C	44.4 ± 0.10K	0.43 ± 0.00H
	309	2109.3 ± 2.5I	3162.6 ± 32.4D	17.0 ± 0.09F	0.67 ± 0.01K
	529	3076.0 ± 27.1J	4247.3 ± 28.1F	13.8 ± 0.09E	0.73 ± 0.01M
	741	3768.0 ± 7.9K	6533.3 ± 83.2I	13.9 ± 0.03E	0.58 ± 0.01J
<i>Citrullus lanatus</i>	0*	00.0 ± 0.0A	00.0 ± 0.0A	0.0 ± 0.00A	0.00 ± 0.00A
	97	371.6 ± 3.1D	3252.6 ± 18.7E	37.1 ± 0.24J	0.11 ± 0.00E
	309	458.6 ± 4.1E	5375.3 ± 30.6G	18.8 ± 0.08G	0.09 ± 0.01D
	529	393.3 ± 7.3D	5462.6 ± 58.4H	11.1 ± 0.01C	0.07 ± 0.00C
	741	810.3 ± 11.5G	6663.3 ± 90.9J	10.1 ± 0.04B	0.12 ± 0.00E
<i>Cucumis melo</i>	0*	00.0 ± 0.0A	00.0 ± 0.0A	0.0 ± 0.00A	0.00 ± 0.00A
	97	5407.6 ± 6.6L	7245.0 ± 52.0L	129.5 ± 0.51M	0.75 ± 0.01N
	309	6455.0 ± 26.5M	9340.0 ± 80.0O	51.0 ± 0.04L	0.69 ± 0.01L
	529	6680.0 ± 10.0N	12 966.6 ± 40.4P	37.1 ± 0.07J	0.52 ± 0.00I
	741	7441.6 ± 30.6O	14 650.0 ± 207.8Q	29.8 ± 0.08I	0.51 ± 0.00I
<i>Cucurbita moschata</i>	0*	00.0 ± 0.0A	00.0 ± 0.0A	0.0 ± 0.00A	0.00 ± 0.00A
	97	227.6 ± 2.1B	856.6 ± 25.1B	11.1 ± 0.14C	0.27 ± 0.01G
	309	338.3 ± 1.5C	6851.6 ± 45.8K	23.2 ± 0.03H	0.05 ± 0.00B
	529	686.0 ± 9.5F	9259.6 ± 40.0N	18.8 ± 0.07G	0.07 ± 0.00C
	741	1340.0 ± 6.2H	8166.6 ± 82.3M	12.8 ± 0.03D	0.16 ± 0.00F

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticas significativas según la prueba de Tukey (p < 0.05); ± desviación estándar; n = 6; \* testigos; FBC = Factor de bioconcentración; FT = Factor de traslocación.

FBC, respectivamente, en el tratamiento con 741 mg/kg de Na (**Cuadro III**). Mientras, las especies *Citrullus lanatus* y *Cucumis melo* alcanzaron 10.1 y 29.8 de FBC respectivamente, demostrando que el Na ingresa fácilmente en los tejidos foliares y se acumula en mayor medida en la especie *C. melo*. La acumulación de Na resulta negativa para el crecimiento de las plantas, debido a que causa disrupción de los procesos enzimáticos (Maldonado-Magaña et al. 2011) y deterioro de las estructuras celulares (Shu et al. 2015). Por su parte, Yoon et al. (2006) observaron un comportamiento similar en los FBC de plantas nativas crecidas en suelos contaminados. En lo que concierne al Pb, las especies *C. ecuadoriensis* y *C. moschata* tuvieron 5.2 y 9.7 de FBC en el tratamiento con 1000 mg/kg de Pb, mientras que *Citrullus lanatus* y *Cucumis melo* obtuvieron 16.9 y 11.5 de FBC, respectivamente, demostrando una mayor capacidad de acumular Pb respecto a las otras dos especies en estudio. Małkowski et al. (2005) y Manousaki y Kalogerakis (2009) reportaron resultados similares en *Zea mays* y *Atriplex halimus*, lo que indica que la bioacumulación está sujeta a la

especie y ruta de movilización de cada elemento (Sekara et al. 2005).

La habilidad de translocar los elementos desde la raíz hasta los tejidos foliares se mide mediante el FT; los valores superiores o cercanos a 1 indican que son fuertemente transferibles en cualquier especie estudiada (Yoon et al. 2006). Los resultados del FT en las especies *Cucurbita ecuadoriensis*, *Citrullus lanatus*, *Cucumis melo* y *Cucurbita moschata* fueron 0.58, 0.12, 0.51 y 0.16, respectivamente, en el tratamiento con 741 mg/kg Na. Los FT para el Pb fueron 0.11, 0.01, 0.03 y 0.05, respectivamente, en los tratamientos con 1000 mg/kg de Pb (**Cuadro IV**), evidenciando que *C. ecuadoriensis* es la especie que más moviliza Na y Pb a la biomasa aérea en comparación con el resto de las cucurbitáceas estudiadas. Montes-Rentería et al. (2011) reportaron que a mayor concentración y aplicación de Na se incrementan los niveles en la biomasa aérea. *C. ecuadoriensis* podría tener una utilidad similar a *Robinia pseudoacacia*, especie que sirve como bioindicador de la contaminación ocasionada por metales pesados al evaluar su corteza y brotes jóvenes (Palowski et al. 2016).

**CUADRO IV.** ACUMULACIÓN DE Pb EN BIOMASA DE CUCURBITÁCEAS EVALUADAS A LA SÉPTIMA SEMANA DE TRASPLANTE EN SUSTRATOS CONTAMINADOS CON Pb.

Especies	Tratamientos (mg/kg)	Pb acumulado en biomasa (mg/kg)		Factores	
		Aérea	Radicular	FBC	FT
<i>Cucurbita ecuadoriensis</i>	0*	00.0 ± 0.0A	00.0 ± 0.0A	0.0 ± 0.00A	0.00 ± 0.00A
	150	44.2 ± 0.5C	1594.2 ± 12.3D	10.9 ± 0.09H	0.03 ± 0.01D
	250	58.9 ± 0.1E	1004.4 ± 3.4C	4.2 ± 0.02C	0.06 ± 0.00G
	500	86.6 ± 0.3G	2213.0 ± 21.7E	4.6 ± 0.04D	0.04 ± 0.00E
	1000	545.7 ± 2.3N	4747.4 ± 14.3I	5.2 ± 0.02E	0.11 ± 0.01I
<i>Citrullus lanatus</i>	0*	00.0 ± 0.0A	3.6 ± 0.0A	0.0 ± 0.00A	0.00 ± 0.00A
	150	34.4 ± 0.2B	426.3 ± 0.5B	3.0 ± 0.01B	0.08 ± 0.00H
	250	46.7 ± 1.0C	1009.4 ± 13.8C	4.2 ± 0.05C	0.05 ± 0.00F
	500	60.4 ± 0.0F	1450.6 ± 10.8D	3.0 ± 0.02B	0.04 ± 0.00E
	1000	204.7 ± 0.7K	16 598.9 ± 51.4M	16.9 ± 0.06L	0.01 ± 0.01B
<i>Cucumis melo</i>	0*	00.0 ± 0.0A	00.0 ± 0.0A	0.0 ± 0.00A	0.00 ± 0.00A
	150	55.8 ± 0.1D	2671.6 ± 12.9F	18.1 ± 0.09M	0.02 ± 0.00C
	250	87.2 ± 0.7G	2821.3 ± 27.1F	11.6 ± 0.11I	0.03 ± 0.00D
	500	148.5 ± 0.8I	6652.4 ± 19.1J	13.6 ± 0.04J	0.02 ± 0.00C
	1000	328.3 ± 3.1L	11 124.0 ± 49.2L	11.5 ± 0.05I	0.03 ± 0.00D
<i>Cucurbita moschata</i>	0*	00.0 ± 0.0A	00.0 ± 0.0A	0.0 ± 0.00A	0.00 ± 0.00A
	150	63.4 ± 0.3F	2684.9 ± 2.9F	18.3 ± 0.02M	0.02 ± 0.00C
	250	100.6 ± 0.6H	3680.4 ± 65.6H	15.1 ± 0.26K	0.03 ± 0.00D
	500	157.1 ± 2.7J	3254.4 ± 13.4G	6.8 ± 0.03F	0.05 ± 0.00F
	1000	484.1 ± 1.2M	9163.7 ± 54.0K	9.7 ± 0.05G	0.05 ± 0.00F

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticas significativas según la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ); ± desviación estándar; n = 6; \*testigos; FBC = Factor de bioconcentración; FT = Factor de traslocación.

### Cucurbitáceas tolerante y susceptible inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares

De las cuatro cucurbitáceas evaluadas se seleccionaron dos especies, la más tolerante (*Cucurbita ecuadoriensis*) y la más susceptible (*Cucumis melo*) al Na y al Pb. Se estableció un nuevo ensayo, donde se inocularon hongos micorrízicos nativos. Ambas especies, tanto la tolerante como la susceptible al Na y al Pb, al ser inoculadas, no se vieron afectadas por los elementos en estudio ya que alcanzaron alturas de 122 y 118 cm, respectivamente, en el tratamiento con 741 mg/kg de Na, en comparación con los testigos que alcanzaron 155 y 99 cm, lo que evidenció que la especie susceptible logró una mejor respuesta al ser inoculada con hongos micorrízicos arbusculares (**Cuadro V**) (**Fig. 2**). En lo que respecta al Pb, ambas especies, *Cucurbita ecuadoriensis* y *Cucumis melo*, consiguieron alturas de 189 y 147 cm en el tratamiento con 1000 mg/kg de Pb, valores superiores a los testigos 173 y 100 cm, respectivamente. Con esto se demuestra una vez más el efecto positivo de los

hongos micorrízicos arbusculares en las plantas que crecen en presencia de Na y Pb (**Cuadro V**).

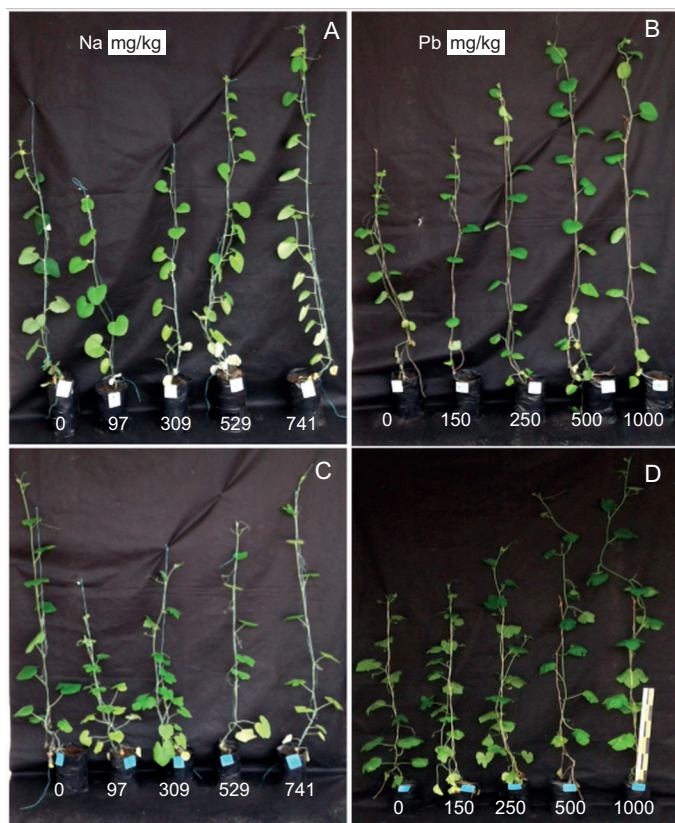
En cuanto al número de hojas y área foliar en ambas especies, en ninguno de los tratamientos con Na hubo diferencias estadísticas significativas (**Cuadro V**). Para los tratamientos con Pb, a la concentración de 1000 mg/kg, *Cucurbita ecuadoriensis* presentó diferencias estadísticas significativas en el área foliar al tener 134 cm<sup>2</sup> en comparación con el testigo que alcanzó 72 cm<sup>2</sup>. Mientras *Cucumis melo*, también en el tratamiento con 1000 mg/kg de Pb, presentó diferencias estadísticas significativas en el número de hojas y el área foliar con 15 hojas y 59 cm<sup>2</sup>, respecto al testigo, que presentó 10 hojas y 24 cm<sup>2</sup> de área foliar. Los resultados pueden deberse a la inoculación del consorcio de hongos micorrízicos arbusculares, dado que estos microorganismos brindan múltiples beneficios a la homeostasis de las células vegetales mediada por potasio en condiciones de estrés por Na (Giri et al. 2007, Chen et al. 2017). También los hongos micorrízicos arbusculares pueden retener al Pb en



**CUADRO V.** PARÁMETROS DE CRECIMIENTO EVALUADOS EN PLANTAS DE *Cucumis melo* Y *Cucurbita ecuadoriensis* INOCULADAS CON UN CONSORCIO DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EN SUSTRATOS CONTAMINADOS CON Na Y Pb.

Elementos	Especies	Tratamientos (mg/kg)	Parámetros evaluados				
			Altura (cm)	Número de hojas	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	BST (g/planta)	Clorofila (unidad SPAD)
Na	<i>Cucurbita ecuadoriensis</i>	0*	155 ± 36C	15 ± 2.1B	36 ± 6.6A	2.86 ± 0.77C	9.9 ± 3.9C
		97	108 ± 22.8B	12 ± 1.7A	44 ± 4.5A	1.70 ± 0.57A	6.80 ± 1.4B
		309	102 ± 19.8B	12 ± 1.1A	44 ± 5.5A	2.01 ± 0.31B	7.18 ± 2.1B
		529	110 ± 14.7B	13 ± 1.7A	45 ± 9.4A	2.05 ± 0.35C	8.06 ± 0.7B
		741	122 ± 17.7C	14 ± 1.7A	48 ± 9.8A	2.49 ± 0.49C	8.73 ± 1.9B
	<i>Cucumis melo</i>	0*	99 ± 17.4B	14 ± 1.7A	34 ± 7.3A	3.07 ± 0.65C	27.42 ± 4.2D
		97	83 ± 11.1A	11 ± 0.8A	28 ± 4.9A	1.99 ± 0.67B	6.32 ± 1.4B
		309	97 ± 12.8B	12 ± 1.6A	31 ± 10.7A	1.46 ± 0.37A	5.18 ± 1.4A
		529	106 ± 11.5B	12 ± 1.8A	39 ± 17.6A	2.21 ± 0.63B	5.71 ± 1.4B
		741	118 ± 26.5C	14 ± 2.5A	46 ± 16.9A	1.93 ± 0.55B	5.84 ± 0.7B
Pb	<i>Cucurbita ecuadoriensis</i>	0*	173 ± 25.7B	18 ± 1.2C	72 ± 15.4D	4.11 ± 0.81D	13.31 ± 1.5C
		150	146 ± 21.5A	16 ± 1.3C	49 ± 2.1C	2.62 ± 0.42C	17.80 ± 2.7E
		250	171 ± 21.3B	17 ± 2.3C	73 ± 4.4D	3.00 ± 0.64D	13.64 ± 1.0D
		500	176 ± 33.4B	17 ± 2.3C	89 ± 6.3D	2.95 ± 0.88C	14.01 ± 4.0D
		1000	189 ± 36.4B	18 ± 2.3C	134 ± 19.3E	3.89 ± 1.09D	17.38 ± 2.0E
	<i>Cucumis melo</i>	0*	100 ± 11.2A	10 ± 1.6A	24 ± 2.5A	1.05 ± 0.46A	23.37 ± 5.0F
		150	164 ± 55.4B	14 ± 1.7A	58 ± 1.3C	1.42 ± 0.31B	8.26 ± 1.0A
		250	160 ± 23.7B	16 ± 2.6C	27 ± 7.2A	1.83 ± 0.46B	9.12 ± 1.1A
		500	176 ± 23.8B	17 ± 1.7C	39 ± 6.3B	2.30 ± 0.40C	9.57 ± 1.0B
		1000	147 ± 25.8A	15 ± 2.4B	59 ± 5.6C	2.34 ± 0.39C	11.63 ± 0.8C

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticas significativas según la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ); ± desviación estándar; n = 6; \*testigos; BST = Biomasa seca total.



**Fig. 2.** Respuesta de las dos especies de cucurbitáceas a la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares: A-B) plantas de *Cucumis melo* susceptibles al Na y al Pb; C-D) plantas de *Cucurbita ecuadoriensis* tolerantes al Na y al Pb. Ambas de siete semanas de edad crecidas en un sustrato contaminado con Na (izq.) y Pb (der.). Las cifras debajo de las plantas indican la concentración de Na o Pb adicionada al sustrato en mg/kg de sustrato.

sus estructuras fúngicas permitiendo el desarrollo de las plantas sin mayor afectación (Chico et al. 2012).

La biomasa seca de *Cucurbita ecuadoriensis* y *Cucumis melo* fue de 2.49 y 1.93 g/planta, respectivamente, en el tratamiento con 741 mg/kg de Na, en comparación con los testigos que tuvieron 2.86 y 3.07 g/planta, respectivamente. Se observaron diferencias estadísticas significativa entre los valores del tratamiento y del testigo de *Cucumis melo*; asimismo, *Cucurbita ecuadoriensis* y *Cucumis melo* alcanzaron 3.89 y 2.34 g/planta en el tratamiento con 1000 mg/kg de Pb, en relación con los testigos que tuvieron 4.11 y 1.05 g/planta (**Cuadro V**). La ganancia de biomasa seca en la especie *Cucumis melo* puede deberse a la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares. Existen reportes de plantas como *Oryza sativa*, *Glycyrrhiza glabra* y *Cymbopogon citratus* que al ser inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares lograron tener mayor biomasa (Schneider et al. 2016). Por su parte Wang et al. (2019) mencionan que la comunidad de microorganismos tiene influencia directa en la disminución de Pb acumulado en plantas de trigo (*Triticum aestivum*), lo que les permitió un mejor desarrollo.

### Clorofila

En los tratamientos con 741 mg/kg de Na el contenido de clorofila en *Cucurbita ecuadoriensis* y *Cucumis melo*, inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares en la séptima semana, fue de 8.73 y 5.84 unidades de desarrollo de análisis para planta-suelo (SPAD), en comparación con los testigos que registraron 9.89 y 27.42 unidades SPAD. Estos resultados demuestran que el Na en altas concentraciones afecta el sistema fotosintético de ambas especies; las plantas que crecieron sin la presencia de este elemento alcanzaron valores superiores de clorofila (**Cuadro V**). En cuanto al Pb, en *Cucurbita ecuadoriensis* y *Cucumis melo* se obtuvieron valores de clorofila de 17.38 y 11.63 unidades SPAD en el tratamiento con 1000 mg/kg de Pb, en comparación con los testigos que alcanzaron valores de 13.31 y 23.37 unidades SPAD. Se evidenció que la clorofila no se vio afectada en la especie tolerante al Pb al crecer ésta en altas concentraciones de este elemento. En contraste, en la especie susceptible la producción de clorofila se vio disminuida. Estos cambios en la producción de clorofila pueden deberse a los efectos del Na y el Pb al afectar el proceso fotosintético de manera diferente, donde el Na produce colapso de las membranas (Yang et al. 2014) y el Pb inhibe el complejo del citocromo (Sharma y Dubey 2005), es decir, la producción de la clorofila está sujeta a la presencia de

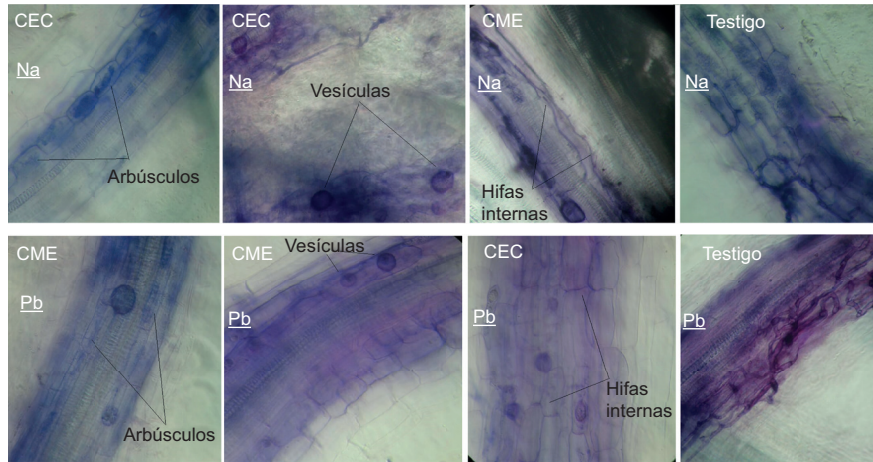
ciertos elementos del medio (Khaleghi et al. 2012). Por su parte, los hongos micorrízicos arbusculares pueden contribuir al incremento de la clorofila en plantas que crecen en presencia de estos elementos, debido a que los retienen en sus estructuras fúngicas (Elhindi et al. 2017). Frosi et al. (2017) reportan que los hongos micorrízicos arbusculares facilitan una alta tasa de fotosíntesis neta y un mayor incremento de la biomasa en condiciones no salinas y salinas. Por su parte, Scharnagl et al. (2018) reportan que los hongos micorrízicos arbusculares pueden reemplazar el papel de las raíces en el suelo, absorbiendo el agua y los nutrientes esenciales para las plantas que logran una mayor biomasa vegetal. Los hongos micorrízicos arbusculares desempeñan un papel fundamental en la absorción de los elementos y su destino en los sistemas suelo-plantas (Wei et al. 2016).

### Colonización por micorrizas

Las plantas inoculadas con los hongos micorrízicos arbusculares en sustratos con Na y Pb, a los 21 días presentaron un porcentaje de colonización superior al 40 % en ambas especies, y a los 52 días un nivel mayor al 60 % en todos los tratamientos (**Fig. 3**), respecto a los testigos que en esos periodos tuvieron 19 y 45 % de colonización. Estos resultados de colonización son similares a los reportados en diversos cultivos que alcanzaron porcentajes de colonización superiores al 40 % (Fernández Suárez et al. 2017). Scharnagl et al. (2018) reportaron una colonización entre el 10 y 100 % en *Galactia smallii* en condiciones salinas. Por otra parte, Begum et al. (2019) mencionan que existe una mayor colonización micorrízica en condiciones de estrés abiótico.

### Cuantificación de Na y Pb en cucurbitáceas inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares

La absorción de Na en *Cucurbita ecuadoriensis* cultivada en sustrato con 741 mg/kg de Na alcanzó 669.3 y 2750 mg/kg en la biomasa aérea y radical, respectivamente. *Cucumis melo* acumuló 3917 y 4764 mg/kg de Na (**Cuadro VI**). Estos resultados demuestran que la especie tolerante *Cucurbita ecuadoriensis* presenta algún tipo de mecanismo que no le permite absorber altas concentraciones de este elemento, mientras que la especie susceptible, *Cucumis melo*, absorbe concentraciones considerables de Na, a pesar de estar colonizadas. El Na es el elemento que más se acumuló en ambas especies. Elhindi et al. (2017) reportaron que al inocular hongos micorrízicos arbusculares en plantas de *Ocimum basilicum* mejoraron la tolerancia a la salinidad, como consecuencia de una mejor absorción de P,



**Fig. 3.** Estructuras infectivas observadas con lente 40 x en plantas de *Cucumis melo* (CME) y *Cucurbita ecuadoriensis* (CEC) evaluadas a los 52 días en sustratos contaminados con Na y Pb. Los testigos corresponden a *C. melo*.X

**CUADRO VI.** ACUMULACIÓN DE Na Y Pb EN BIOMASA DE *Cucurbita ecuadoriensis* y *Cucumis melo* INOCULADAS CON UN CONSORCIO DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EN SUTRATOS CONTAMINADOS CON Na Y Pb.

Elementos	Especies	Tratamientos (mg/kg)	Acumulado en la biomasa (mg/kg)		Factores	
			Aérea	Radicular	FBC	FT
Na	<i>Cucurbita ecuadoriensis</i>	0	00.0 ± 0.0A	00.0 ± 0.0A	0.0 ± 0.00A	0.00 ± 0.00A
		97	499.0 ± 5.2B	1636.0 ± 18.1B	21.8 ± 0.23H	0.31 ± 0.01C
		309	615.0 ± 5.3C	2163.0 ± 12.0C	8.9 ± 0.06D	0.28 ± 0.01C
		529	756.3 ± 5.5D	2789.0 ± 28.8D	6.7 ± 0.06C	0.27 ± 0.00C
		741	669.3 ± 60.6C	2750.0 ± 16.5D	4.6 ± 0.06B	0.24 ± 0.03B
	<i>Cucumis melo</i>	0	00.0 ± 0.0A	00.0 ± 0.0A	0.0 ± 0.00A	0.00 ± 0.00A
		97	2999.0 ± 13.8E	3210.0 ± 13.8E	63.5 ± 0.28I	0.94 ± 0.01E
		309	3061.0 ± 46.9E	3145.0 ± 46.9E	20.0 ± 0.18G	0.97 ± 0.02E
		529	3266.0 ± 37.2F	4111.0 ± 37.3F	13.9 ± 0.07F	0.79 ± 0.01D
		741	3917.0 ± 76.1G	4764.0 ± 76.1G	11.7 ± 0.06E	0.82 ± 0.02D
Pb	<i>Cucurbita ecuadoriensis</i>	0	00.0 ± 0.0A	00.0 ± 0.0A	0.0 ± 0.00A	0.00 ± 0.00A
		150	18.1 ± 0.7C	244.6 ± 3.8B	1.8 ± 0.02B	0.08 ± 0.01F
		250	42.3 ± 0.8G	1020.0 ± 7.3D	3.9 ± 0.03G	0.04 ± 0.00E
		500	49.4 ± 0.7H	1911.6 ± 77.2F	4.3 ± 0.15F	0.03 ± 0.01D
		1000	110.8 ± 0.1I	4755.3 ± 18.6H	4.9 ± 0.02H	0.02 ± 0.00C
	<i>Cucumis melo</i>	0	00.0 ± 0.0A	00.0 ± 0.0A	0.0 ± 0.00A	0.00 ± 0.00A
		150	15.9 ± 0.5B	532.0 ± 24.3C	3.7 ± 0.16C	0.03 ± 0.00D
		250	22.9 ± 0.1D	570.7 ± 5.4C	2.4 ± 0.02H	0.04 ± 0.00E
		500	25.7 ± 0.4E	1510.6 ± 20.9E	3.1 ± 0.04G	0.02 ± 0.00C
		1000	35.0 ± 0.4F	3098.1 ± 22.9G	3.1 ± 0.03D	0.01 ± 0.00B

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticas significativas según la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ); ± desviación estándar; n = 6; FBC = Factor de bioconcentración; FT = Factor de traslocación.



K<sup>+</sup> y Ca<sup>2+</sup> afectando la homeostasis de las plantas de manera positiva.

A una concentración de 1000 mg/kg de Pb, la absorción de Pb por *C. ecuadoriensis* inoculada con los hongos micorrízicos arbusculares, alcanzó 110 y 4755 mg/kg en biomasa aérea y radicular respectivamente. Con este tratamiento *C. melo* acumuló 35 y 3098 mg/kg de Pb en las mismas estructuras. Schneider et al. (2016) reportaron resultados similares en *Vetiveria zizanoides*, *Pteris vitata*, *Pteridium aquilinum* y *Ricinus communis* desarrolladas en sustratos con 1000 mg/kg de Pb. La fitoestabilización depende de la capacidad de las plantas y de los diversos factores del suelo como los microorganismos (Moreira et al. 2011). Por ejemplo, un consorcio diverso y funcional de hongos micorrízicos arbusculares consiguió desempeñar un papel importante en el crecimiento de las plantas y la supervivencia en condiciones extremas de suelo (Aka-Kacar et al. 2010).

#### **FBC y FT en tratamientos con Na y Pb en plantas inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares**

Los FBC y FT analizados en *C. ecuadoriensis* inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares y crecidas en presencia de 741 mg/kg de Na, alcanzaron 4.6 y 0.24, mientras que, *C. melo* obtuvo valores de 11.7 y 0.82 en FBC y FT, respectivamente, para este elemento (**Cuadro VI**). En función de los resultados se puede decir que *C. melo* pudo acumular y trasladar mayor cantidad de Na respecto a la especie *C. ecuadoriensis*. El Na por su fácil movilidad llega a las estructuras celulares y causa problemas al activar y aumentar el nivel de alcaloides y la putrescina endógena (Shu et al. 2015); no obstante, los hongos micorrízicos arbusculares pueden retener este elemento en sus estructuras fúngicas mitigando su efecto en el desarrollo de las plantas. Vicente-Sánchez et al. (2014) investigaron que los hongos micorrízicos arbusculares mitigaron los efectos negativos del estrés por Na en plantas de *Lactuca sativa*. Hashem et al. (2016) reportaron mejor crecimiento y rendimiento simbiótico de los hongos micorrízicos arbusculares con plantas de *Glycine max*, pudiendo estimular el nivel endógeno de auxinas que se traduce en incremento de biomasa radicular y ganancia de nutrientes bajo estrés salino.

En el tratamiento con 1000 mg/kg de Pb, *C. ecuadoriensis* presentó valores de 4.9 y 0.02 para el FBC y FT respectivamente y *C. melo* alcanzó 3.1 y 0.01, respectivamente, para los FBC y FT (**Cuadro VI**). Las especies *C. ecuadoriensis* y *C. melo* acumularon mayor cantidad de Pb en su biomasa radicular en presencia de los hongos micorrízicos arbusculares.

El Pb fue movilizado en menor cantidad a la biomasa aérea, ya que los valores del FT se encontraron muy alejados de 1. Esta característica fitoestabilizadora fue reportada en plantas vasculares (Hatami et al. 2018) y pteridofitas asociadas con hongos micorrízicos arbusculares en condiciones de estrés (Schneider et al. 2012). Por su parte, Schneider et al. (2016) mencionan que los hongos micorrízicos arbusculares confirieron tolerancia a los metales debido a su alta diversidad y adaptación a las condiciones extremas del suelo. Zhan et al. (2019) reportan que la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en plantas de *Cynodon dactylon* incrementaron la absorción de nutrientes y redujeron significativamente la traslocación de elementos nocivos para la planta como es el caso de los metales pesados.

#### **CONCLUSIONES**

Los resultados de los parámetros agronómicos de las cuatro especies de cucurbitáceas en estudio en presencia de Na y Pb permitieron evidenciar que *Citrullus lanatus* y *Cucumis melo* son susceptibles para ambos elementos ya que disminuyeron significativamente su crecimiento. *Cucurbita ecuadoriensis* y *Cucurbita moschata* se comportaron como especies tolerantes para Na y Pb ya que su crecimiento no se vio afectado en presencia de estos elementos.

La absorción de Na y Pb en las Cucurbitáceas permitió demostrar que *Cucumis melo* pudo acumular en mayor medida Na, mientras que *Cucurbita ecuadoriensis* tuvo una mayor concentración de Pb sin verse afectada.

Con el FBC y el FT se demostró que el Na se acumuló y movilizó en mayor medida en *Cucumis melo* en comparación con las demás especies estudiadas. También se demostró, con estos factores, que el Pb llegó a altas concentraciones en la biomasa de la especie *Cucurbita ecuadoriensis* en comparación con las otras cucurbitáceas.

El Na y Pb no afectaron el crecimiento de las plantas colonizadas con hongos micorrízicos arbusculares, por el contrario, el crecimiento se vio favorecido a medida que incrementó la concentración de ambos elementos en el sustrato. Las plantas de *Cucumis melo* y *Cucurbita ecuadoriensis* colonizadas demostraron una respuesta positiva en biomasa y clorofila aun creciendo en altas concentraciones de estos elementos. Los resultados de la cuantificación de Na y Pb en ambas especies colonizadas indicaron que el Na se acumuló en mayor medida en *C. melo* y el Pb en *C. ecuadoriensis*.



*C. ecuadoriensis* es una especie promisoriosa ya que presenta mejor respuesta ante la acumulación Na y Pb. Puede ser usada en programas de mejora genéticas de los parientes comerciales como *Cucurbita moschata*, *C. máxima*, *C. ficifolia* y *C. pepo* entre otras, que se pueden desarrollar en zonas contaminadas por Na y Pb.

*Cucumis melo* es una especie cultivada susceptible al incremento de Na y Pb, no obstante, el uso de un consorcio de micorrizas puede favorecer al crecimiento de las plantas en condiciones adversas.

Se encontró que el FBC y el FT en ambas especies colonizadas disminuyeron sus valores a medida que se incrementaron las concentraciones de Na y Pb en el sustrato, demostrando así que los hongos micorrízicos arbusculares retienen ambos elementos según el nivel de concentración (efecto fitoestabilizador), evitando que se movilizaran a la biomasa vegetal.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE) y al Laboratorio de Ecotoxicología de la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL) por el soporte brindado para el desarrollo de este trabajo.

### REFERENCIAS

- Aka-Kacar Y., Akpınar C., Agar A., Yalcin-Mendi Y., Serce S. y Ortas I. (2010). The effect of mycorrhiza in nutrient uptake and biomass of cherry rootstocks during acclimatization. *Romanian Biotechnological Letters* 15 (3), 5246-5252.
- Begum N., Qin C., Ahanger M.A., Raza S., Khan M.I., Ahmed N. y Zhang L. (2019). Role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant growth regulation: implications in abiotic stress tolerance. *Frontiers in Plant Science* 10, 1068. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01068>
- Callejas R., Kania E., Contreras A., Peppi C. y Morales L. (2013). Evaluación de un método no destructivo para estimar las concentraciones de clorofila en hojas de variedades de uva de mesa. *Idesia (Arica)* 31 (4), 19-26. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292013000400003>
- Chen J., Zhang H., Zhang X. y Tang M. (2017). Arbuscular mycorrhizal symbiosis alleviates salt stress in black locust through improved photosynthesis, water status, and K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> homeostasis. *Frontiers in Plant Science* 8, 1739. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01739>
- Chico J., De Chico L., Rodríguez M. y Guerrero M. (2012). Capacidad remediadora de la raíz de girasol, *Helianthus annuus*, cuando es sometida a diferentes concentraciones de plomo. *REBIOL* 32 (2), 13-19.
- Cornejo P., Pérez J., Meir s., Valderas A., Borie F., Azcón C. y Ferrol N. (2013). Copper compartmentalization in spores as a survival strategy of arbuscular mycorrhizal fungi in Cu-polluted environments. *Soil Biology and Biochemistry* 57, 925-928. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.10.031>
- Davies H.S., Rosas-Moreno J., Cox F., Lythgoe P., Bewsher A., Livens F.R., Robinson C.H. y Pittman J.K. (2018). Multiple environmental factors influence 238 U, 232 Th and 226 Ra bioaccumulation in arbuscular mycorrhizal-associated plants. *Science of The Total Environment* 640, 921-934. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.370>
- Elhindi K.M., El-Din A.S. y Elgorban A.M. (2017). The impact of arbuscular mycorrhizal fungi in mitigating salt-induced adverse effects in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Saudi Journal of Biological Sciences* 24 (1), 170-179. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.02.010>
- Fernández K., Declerck S., Fernández L. y Ortega E. (2017). Aplicación del sistema de planta donante de micelio (PDM) en la micorrización in vitro de papa. *Cultivos Tropicales* 38 (1), 31-38.
- Frosi G., Barros V.A., Oliveira M.T., Santos M., Ramos D.G., Maia L.C. y Santos M.G. (2017). Arbuscular mycorrhizal fungi and foliar phosphorus inorganic supply alleviate salt stress effects in physiological attributes, but only arbuscular mycorrhizal fungi increase biomass in woody species of a semiarid environment. *Tree Physiology* 38 (1), 25-36. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpx105>
- Galindo Pardo F.V., Fortis Hernández M., Preciado Rangel P., Trejo Valencia R., Segura Castruita M.Á. y Orozco Vidal J.A. (2014). Caracterización físico-química de sustratos orgánicos para producción de pepino (*Cucumis sativus* L.) bajo sistema protegido. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 5 (7), 1219-1232. <https://doi.org/10.29312/remexca.v5i7.867>
- Giri B., Kapoor R. y Mukerji K.G. (2007). Improved tolerance of *Acacia nilotica* to salt stress by arbuscular mycorrhiza, *Glomus fasciculatum* may be partly related to elevated K/Na ratios in root and shoot tissues. *Microbial Ecology* 54 (4), 753-760. <https://doi.org/10.1007/s00248-007-9239-9>
- Gong L., Stift G., Kofler R., Pachner M. y Lelley T. (2008). Microsatellites for the genus *Cucurbita* and an SSR-based genetic linkage map of *Cucurbita pepo* L. *Theoretical and Applied Genetics* 117 (1), 37-48. <https://doi.org/10.1007/s00122-008-0750-2>
- González C. (2017). Efecto de la sustitución del cloruro de potasio por el nitrato de potasio en un programa de

- fertilización bananero. Tesis de Licenciatura. Universidad Técnica de Machala. Machala, Ecuador, 54 pp.
- González M., Gutiérrez M. y Wright S. (2004). Hongos micorrízicos arbusculares en la agregación del suelo y su estabilidad. *Terra Latinoamericana* 22 (4), 507-514.
- Hashem A., Abd-Allah E.F., Alqarawi A.A., Wirth S. y Egamberdieva D. (2016). Comparing symbiotic performance and physiological responses of two soybean cultivars to arbuscular mycorrhizal fungi under salt stress. *Saudi Journal of Biological Sciences* 26 (1), 38-48. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.11.015>
- Hatami E., Abbaspour A. y Dorostkar V. (2018). Phytoremediation of a petroleum-polluted soil by native plant species in Lorestan Province, Iran. *Environmental Science and Pollution Research International* 26 (24), 24323-24330. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1297-7>
- Kaur G., Singh H.P., Batish D.R. y Kumar R.K. (2012). Growth, photosynthetic activity and oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum*) after exposure of lead to soil. *Journal of Environmental Biology* 33 (2), 265-269.
- Khaleghi E., Arzani K., Moallemi N. y Barzegar M. (2012). Evaluation of chlorophyll content and chlorophyll fluorescence parameters and relationships between chlorophyll a, b and chlorophyll content index under water stress in *Olea europaea* cv. Dezfúl. *International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering* 68, 1154-1157.
- Luna J. R., Di Bernardo M. L., Valdivieso A., Quintero T. H. M. y Ovalles J. (2010). Digestión de productos fitoterapéuticos, asistido por microondas, para el análisis espectrofotométrico de plomo. *Revista de Toxicología en línea* 32, 20-32.
- Maldonado-Magaña A., Favela-Torres E., Rivera-Cabrera F. y Volke-Sepulveda T.L. (2011). Lead bioaccumulation in *Acacia farnesiana* and its effect on lipid peroxidation and glutathione production. *Plant Soil* 339 (1-2), 377-389. <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0589-6>
- Małkowski E., Kurtyka R., Kita A. y Karcz W. (2005). Accumulation of Pb and Cd and its effect on Ca distribution in maize seedlings (*Zea mays* L.). *Polish Journal of Environmental Studies* 14 (2), 203-207.
- Manousaki E. y Kalogerakis N. (2009). Phytoextraction of Pb and Cd by the mediterranean saltbush (*Atriplex halimus* L.). Metal uptake in relation to salinity. *Environmental Science and Pollution Research International* 16 (7), 844-854. <https://doi.org/10.1007/s11356-009-0224-3>
- Martí L., Burba J.N. y Cavagnaro M. (2002). Metales pesados en fertilizantes fosfatados, nitrogenados y mixtos. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo* 34 (2), 43-48.
- Martínez L.B. y Pugnaire F.I. (2009). Interacciones entre las comunidades de hongos formadores de micorrizas arbusculares y de plantas. Algunos ejemplos en los ecosistemas semiáridos. *Revista Ecosistemas* 18 (2), 44-54.
- McGonigle T.P., Miller M.H., Evans D.G., Fairchild G.L. y Swan J.A. (1990). A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 115 (3), 495-501. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1990.tb00476.x>
- Montes-Rentería G.D., Arreola-Ávila J.G., Trejo-Calzada R. y Rodríguez-López J.S. (2011). Acumulación de iones en nogal pecanero [*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch] de maduración temprana, sometidos a diferentes condiciones de salinidad. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas* 10 (2), 131-139.
- Moreira H., Marques A.P., Rangel A.O. y Castro P.M. (2011). Heavy metal accumulation in plant species indigenous to a contaminated portuguese site: prospects for phytoremediation. *Water, Air and Soil Pollution* 221, 377. <https://doi.org/10.1007/s11270-011-0797-6>
- Ortas Í., Rafique M., Akpinar C. y Kacar Y.A. (2017). Growth media and mycorrhizal species effect on acclimatization and nutrient uptake of banana plantlets. *Scientia Horticulturae* 217, 55-60. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.01.025>
- Palowski B., Małkowska E., Kurtyka R., Szymanowska-Pułka J., Gucwa-Przepióra E., Małkowski Ł., Woźnica A. y Małkowski E. (2016). Bioaccumulation of heavy metals in selected organs of black locust (*Robinia pseudoacacia*) and their potential use as air contamination bioindicators. *Polish Journal of Environmental Studies* 25 (5). <https://doi.org/10.15244/pjoes/62641>
- Pang X., Lei P., Feng X., Xu Z., Xu H. y Liu K. (2018). Poly- $\gamma$ -glutamic acid, a bio-chelator, alleviates the toxicity of Cd and Pb in the soil and promotes the establishment of healthy *Cucumis sativus* L. seedling. *Environmental Science and Pollution Research* 25 (20), 19975-19988. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1890-9>
- Peng C., Chang L., Yang Q., Tong Z., Wang D., Tan Y., Sun Y., Yi X., Ding G., Xiao J., Zhang Y. y Wang X. (2019). Comparative physiological and proteomic analyses of the chloroplasts in halophyte *Sesuvium portulacastrum* under differential salt conditions. *Journal of Plant Physiology* 232, 141-150. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.10.028>
- Pidatala VR, Li K., Sarkar D., Wusirika R. y Datta R. (2018). Comparative metabolic profiling of vetiver (*Chrysopogon zizanioides*) and maize (*Zea mays*) under lead stress. *Chemosphere* 193, 903-911. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.087>

- Piperno D.R. y Stohert K.E. (2003). Phytolith evidence for early *Holocene cucurbita* domestication in southwest Ecuador. *Science* 299 (5609), 1054-1057. <https://doi.org/10.1126/science.1080365>
- Proaño J., Suarez C. y Briones C. (2011). Estudio de metodologías para la validación de un modelo predictivo para el manejo y control de la salinidad del suelo y del agua en la península de Santa Elena. Memorias. VIII Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo. Guayaquil, Ecuador. 2-10 de octubre, 2011.
- Ribeiro D.S., Adrián L.D., Anjos D.S. y Schiavinato M.A. (2012). Lead tolerance and phytoremediation potential of Brazilian leguminous tree species at the seedling stage. *Journal of Environmental Management* 110, 299-307. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.06.015>
- Rizzi L., Petruzzelli G., Poggio G. y Guidi G.V. (2004). Soil physical changes and plant availability of Zn and Pb in a treatability test of phytostabilization. *Chemosphere* 57 (9), 1039-1046. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.08.048>
- Santacruz-Vázquez V., Santacruz-Vázquez C., Toxqui-López S. y Laguna-Cortés J.O. (2013). Cambios en la textura de la superficie de esferas de melón (*Cucumis melo*) durante el secado por fluidización. *Vitae* 20 (3), 161-171.
- Scharnagl K., Sanchez V. y Wettberg E. (2018). The impact of salinity on mycorrhizal colonization of a rare legume, *Galactia smallii*, in South Florida pine rocklands. *BMC Res Notes* 11 (1), 2. <https://doi.org/10.1186/s13104-017-3105-8>
- Schneider J., Bundschuh J. y do Nascimento C.W.A. (2016). Arbuscular mycorrhizal fungi-assisted phytoremediation of a lead-contaminated site. *Science of the Total Environment* 572, 86-97. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.185>
- Schneider J., Oliveira L.M., Guilherme L.R.G., Stürmer S.L. y Soares C.R. (2012). Espécies tropicais de pteridófitas em associação com fungos micorrízicos arbusculares em solo contaminado com arsênio. *Química Nova* 35 (4), 709-714.
- Seiler R. L. (2005). "Combined use of 15N and 18O of nitrate and 11B to evaluate nitrate contamination in groundwater." *Applied Geochemistry* 20 (9), 1626-1636. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2005.04.007>
- Sekara A., Poniedzialek M., Ciura J. y Jedrzczyk E. (2005). Cadmium and lead accumulation and distribution in the organs of nine crops: Implications for phytoremediation. *Polish Journal of Environmental Studies* 14 (4), 509-516.
- Sharma P. y Dubey R.S. (2005). Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17 (1), 35-52. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202005000100004>
- Shu S., Yuan Y., Chen J., Sun J., Zhang W., Tang Y., Zhong M. y Guo S. (2015). The role of putrescine in the regulation of proteins and fatty acids of thylakoid membranes under salt stress. *Scientific Reports* 5, 14390. <https://doi.org/10.1038/srep14390>
- Vicente-Sánchez J., Nicolás E., Pedrero F., Alarcón J.J., Maestre-Valero J.F. y Fernández F. (2014). Arbuscular mycorrhizal symbiosis alleviates detrimental effects of saline reclaimed water in lettuce plants. *Mycorrhiza* 24 (5), 339-348. <https://doi.org/10.1007/s00572-013-0542-7>
- Wang M., Chen S., Han Y., Chen L. y Wang D. (2019). Responses of soil aggregates and bacterial communities to soil-Pb immobilization induced by biofertilizer. *Chemosphere* 220, 828-836. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.12.214>
- Wei Y., Su Q., Sun Z., Shen Y., Li J., Zhu X., Huo H., Chen Z. y Wu F.C. (2016). The role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant uptake, fractions, and speciation of antimony. *Applied Soil Ecology* 107, 244-250. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.04.021>
- Yang Y., Han X., Liang Y., Ghosh A., Chen J. y Tang M. (2015). The combined effects of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and lead (Pb) stress on Pb accumulation, plant growth parameters, photosynthesis, and antioxidant enzymes in *Robinia pseudoacacia* L. *PLOS ONE* 10 (12), e0145726. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145726>
- Yang Z., Chang Z., Sun L., Yu J. y Huang B. (2014). Physiological and metabolic effects of 5-aminolevulinic acid for mitigating salinity stress in creeping bentgrass. *PLOS ONE* 9 (12), e116283. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116283>
- Yoon J., Cao X., Zhou Q. y Ma L.Q. (2006). Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *Science of the Total Environment* 368 (2-3), 456-464. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.01.016>
- Zhan F., Li B., Jiang M., Li T., He Y., Li Y. y Wang Y. (2019). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth and heavy metal accumulation of bermudagrass [*Cynodon dactylon* (L.) Pers.] grown in a lead-zinc mine wasteland. *International Journal of Phytoremediation* 21 (9), 849-856. <https://doi.org/10.1080/15226514.2019.1577353>
- Zhao M., Liu Y., Li H., Cai Y., Wang M.K., Chen, Y., Xie T. y Wang G. (2017). Effects and mechanisms of meta-sodium silicate amendments on lead uptake and accumulation by rice. *Environmental Science and Pollution Research International* 24 (27), 21700-21709. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9746-2>