

Efecto protector de los hongos micorrízicos arbusculares en plantas de jitomate (*Solanum lycopersicum*) expuestas a Cr(VI)

Protective effect of arbuscular mycorrhizal fungi on plants of tomato (*Solanum lycopersicum*) exposed to Cr(VI)

Carreón-Abud Y, MA Beltrán-Nambo, M Martínez Trujillo

Resumen. El cromo (Cr) es un metal no esencial altamente tóxico para los microorganismos y las plantas y debido a su frecuente uso industrial, ha llegado a ser un agente contaminante para los diferentes agroecosistemas. Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) se asocian con la mayoría de las plantas angiospermas y les confieren efectos benéficos en la absorción de algunos nutrientes. Además, se ha reportado que en algunos casos los HMA pueden conferirle mayor tolerancia a las plantas ante la presencia de metales pesados. El jitomate (*Solanum lycopersicum*) es un cultivo de gran importancia en México y en la mayoría de los casos se aplica agua de riego proveniente de embalses a los cuales llegan desechos domésticos e industriales. En este trabajo se determinó el efecto que tienen los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en la protección de plantas de jitomate en suelos suplementados con diferentes concentraciones de Cr: 1000 ppm (3,9 mM), 3000 ppm (10,2 mM) y 6000 ppm (20,4 mM). Se evaluó la supervivencia, colonización micorrízica, tamaño y peso seco de la parte aérea, tamaño y peso seco de la raíz. Los resultados mostraron que la presencia del Cr incrementa la colonización micorrízica, como una posible estrategia de la planta que contribuye a reducir los efectos nocivos del metal. La supervivencia de las plantas fue mayor en presencia de HMA en presencia de Cr a 6000 ppm. La inoculación con HMA tuvo un efecto protector en las plantas inoculadas con Cr, en el peso seco de la raíz y el tamaño de la parte aérea. Consideramos que la inoculación de plantas de jitomate con HMA es una práctica que puede integrarse en los cultivos de esta planta para mitigar los problemas de la presencia de metales pesados en concentraciones tóxicas.

Palabras clave: Micorriza; Cromo; Jitomate.

Abstract. Chromium (Cr) is a highly toxic non-essential metal for microorganisms and plants; due to its frequent industrial use, it has become a pollutant for different agroecosystems. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are associated with most angiosperms and provide them with beneficial effects on the absorption of some nutrients. Moreover, it has been reported that in some cases the AMF can confer greater tolerance to plants in the presence of heavy metals. The tomato (*Solanum lycopersicum*) is an important crop in Mexico. In most cases, it grows under applied irrigation water from reservoirs which include domestic and industrial wastes. In this study we determined the effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on the protection of tomato plants in soils supplemented with different concentrations of Cr: 1000 ppm (3.9 mM), 3000 ppm (10.2 mM) and 6000 ppm (20.4 mM). Mycorrhizal colonization, the size and dry weight of shoots, the size and dry weight of roots, and survival, were assessed. The results showed that the presence of Cr increases mycorrhizal colonization, as a possible strategy of the plant to better resist the harmful effects of metal. The survival of plants was greater in the presence of AMF under exposure to Cr 6000 ppm. Inoculation with AMF had a protective effect in plants inoculated with Cr in the root dry weight and size of shoots. We believe that the tomato plants inoculated with AMF could be integrated into the culture of this plant to mitigate the problems of the presence of heavy metals in toxic concentrations.

Keywords: Mycorrhiza; Chromium; Tomato.

INTRODUCCIÓN

Los metales pesados constituyen un grupo cercano a los 40 elementos de la tabla periódica que normalmente tienen un peso específico mayor o igual a 5g/cm^3 (Passow et al., 1961). Aunque algunos metales son esenciales para la vida, cuando están presentes en exceso muestran toxicidad, principalmente relacionados con la oxidación y mecanismos genotóxicos (Briat y Lebrun, 1999; Schützendübel y Polle, 2002).

Debido a su movilidad en los ecosistemas acuáticos naturales y a su toxicidad para las formas superiores de vida, a los iones de metales pesados presentes en los abastecimientos de aguas superficiales y subterráneos se les ha dado prioridad como los contaminantes inorgánicos más importantes en el ambiente. Aun cuando se encuentran presentes en concentraciones bajas, los metales pesados pueden ser detectados ya sea en su estado elemental o ligados en varios complejos con sales. Una vez en el ambiente, los metales pueden sufrir transformaciones a diferentes formas móviles y/o pueden ser inmovilizados en trampas ambientales (Cañizales-Villanueva, 2000). Para evitar la toxicidad relacionada con estos metales, se han desarrollado varias tecnologías y métodos.

Los usos del Cr y sus compuestos en la industria son muy diversos, del 60 al 70% se utiliza en aleaciones, incluyendo al acero inoxidable y el 15% es utilizado en procesos químicos industriales, principalmente en el curtido de pieles, en pigmentos y galvanoplastia. Estas actividades incrementan su concentración en el ambiente, por lo que se ha convertido en un contaminante importante del aire, suelo y agua (Armienta-Hernández y Rodríguez-Castillo, 1995). En contraste a otros metales tóxicos como el cadmio, mercurio, plomo y aluminio, el Cr ha recibido poca atención como agente contaminante, siendo una de las razones la complejidad de las interacciones con los sistemas biológicos y su dificultad para estudiarlos (Shanker et al., 2009). En el citoplasma, la toxicidad del Cr está principalmente relacionada con los procesos de reducción del Cr(VI) a Cr(III), por acción tanto enzimática como no enzimática, pasando por estados inestables intermedios de Cr(V) y Cr(IV), en el cual se forman radicales libres (Cervantes y Campos-García, 2007).

Las plantas son capaces de reducir el Cr (VI) a Cr (III) en las raíces y se sugiere que este proceso podría estar catalizado por reductasas de Cr similares a las encontradas en bacterias. Sin embargo, hasta la fecha estas enzimas no se han identificado (Lytle et al., 1998). El Cr(VI) tiene efectos inhibitorios en el crecimiento, aún en concentraciones pequeñas, en *Arabidopsis thaliana*; el efecto inhibitorio del Cr(VI) en el crecimiento de la raíz primaria se presenta en concentraciones de $200\ \mu\text{M}$ (Ortiz-Castro et al., 2007), mientras que en tabaco (*Nicotiana tabacum*) esta inhibición se presenta en concentraciones aún menores, de $100\ \mu\text{M}$ (Méndez-Ferreira, 2010). El Cr se transporta desde la raíz hasta la parte aérea a través del xilema, acumulándose principalmente en las raíces y en canti-

dades menores en el follaje y órganos reproductivos (Huffman y Allaway, 1973).

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son microorganismos del suelo que establecen una simbiosis mutualista con la mayoría de las plantas, formando una unión física entre el suelo y las raíces de éstas. Pertenecen al Phylum Glomeromycota (Schuβler et al., 2001), y sólo pueden germinar, pero no crecer, en ausencia de las raíces de las plantas (Smith y Read, 1997).

En condiciones naturales, del 80% al 90% de las plantas están colonizadas con HMA, los que se encuentran en la mayoría de los sistemas vegetales y climas (Read, 1991). La extensa red hifal extraradical de estos hongos permite a las plantas tener acceso a un mayor volumen de suelo, permitiendo el aumento de la absorción de nutrientes y su movilización (Giovanetti et al., 2002). Además de mejorar el estado nutricional de las plantas, los HMA captan los metales pesados por la vía de la hifa fúngica y pueden ser transportados por la planta, mientras que en otros casos los HMA contribuyen a la inmovilización de los metales pesados dentro del suelo (Gaur y Adholeya, 2004). El efecto de la inoculación con HMA sobre la acumulación de metales es variable entre las diferentes especies de plantas (Malcova, et al., 2003). Dependiendo del metal pesado, el HMA interacciona con las especies de plantas (Kaldorf, et al., 1999). Un rango de factores como son las propiedades inherentes del hongo, la capacidad de captar el metal pesado por las plantas y la absorción desde el suelo son características que pueden influenciar en la captación del metal en el suelo por las plantas micorrizadas (Leyval, et al., 1996).

El jitomate es una planta nativa de América Tropical, cuyo origen se localiza en la región de los Andes (Chile, Colombia, Ecuador, Bolivia y Perú) (Valadez, 1998) y donde se encuentra la mayor variabilidad genética y abundancia de tipos silvestres. En México, el jitomate o tomate está considerado como la segunda especie hortícola más importante por la superficie sembrada que ocupa, y la primera por su valor de producción (<http://www.sagarpa.gob.mx>). Al igual que otros sistemas agrícolas que se encuentran contaminados con metales pesados, los cultivos de jitomate están sujetos a este riesgo, por lo que en este trabajo se analizó el efecto protector de los HMA en plantas de esta hortaliza sometidas a concentraciones tóxicas de Cr(VI).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Vegetal. Las semillas de jitomate (*Solanum lycopersicum*) se esterilizaron superficialmente mediante inmersión en una solución de 4% de hipoclorito de sodio durante 5 minutos, y se sometieron posteriormente a dos lavados con agua destilada estéril. Después se colocaron en un germinador utilizando sustrato a base de suelo estéril tipo Peatmosse y arena blanca fina estéril (1:1); esto permitió obtener plántulas que luego fueron trasplantadas a cada una de las macetas con los diferentes tratamientos.

Siembra de plántulas. Las plántulas fueron trasplantadas en macetas previamente esterilizadas con una suspensión de cloro y agua al 70% durante 1 día, posteriormente se llenaron con suelo estéril Peatmosse y arena en proporción de 3:1. Para garantizar el tamaño adecuado de las plántulas y que pudieran resistir las condiciones de aclimatación que implica el trasplante, éste se realizó a los 21 días después de la germinación, colocando las plantas en macetas de 500 ml de capacidad. Se trasplantaron un total de 1600 plantas.

Inóculo de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA). Se utilizó un consorcio de especies de *Glomus* conformado por las siguientes especies: *Glomus invermaium* Hall, *Glomus mosseae* (Nicol & Ger) Gerd & Trappe, *Glomus aggregatum* Scheck & Smith y *Gigaspora* sp. aff. *margarita* (Martínez, 2003). Este consorcio se consiguió mediante la extracción de esporas propagadas en macetas trampa, de pH 3,9 en suspensión agua-suelo, proveniente de cultivos de maíz de la localidad de Tiripetío, Michoacán. Posteriormente se homogeneizó el suelo en conjunto con los sistemas radicales (conteniendo raíces colonizadas, esporas y micelio externo) para cada maceta de los tratamientos. Para la inoculación de los hongos micorrízicos arbusculares se realizó previamente una cuantificación del número de esporas presentes en 100 g de suelo seco, por el método de tamizado y decantación de Gerdemann & Nicholson (1963).

Diseño Experimental. El experimento fue desarrollado bajo condiciones de invernadero (30 °C), utilizando plantas de jitomate variedad criolla. Las plántulas se sacaron del germinador, con el objeto de colocarlas en las macetas de experimentación, y se seleccionaron las que fueran homogéneas en tamaño y vigor. Posteriormente se prosiguió con la colocación del inóculo de HMA en consorcio. La inoculación se realizó con 100 gr de inóculo por planta; dicho inóculo contenía aproximadamente 5 esporas por gramo de suelo. Ya que se inocularon las plantas, se les aplicó un riego a capacidad de campo, para evitar la desecación y se pusieron en el invernadero para su aclimatación.

A la semana de trasplante se aplicó riego con una solución de dicromato de potasio hasta dejar a capacidad de campo con diferentes concentraciones: 1000 ppm (3,9 mM), 3000 ppm (10,2 mM) y 6000 ppm (20,4 mM). Las plantas se regaron cada 15 días con solución nutritiva de Long-Ashton, baja en fósforo (Hewitt, 1952). Dicha solución se aplicó en una cantidad de 25 mL/planta, con el objetivo de evitar filtraciones de cromo de las macetas y con ello la contaminación del invernadero.

Se establecieron 8 tratamientos en bloques al azar, con 4 concentraciones diferentes de Cr(VI), 0, 1000, 3000 y 6000 ppm, con y sin inoculación con HMA. Cada tratamiento consistió de 200 plantas.

Evaluación de las variables agronómicas. Se evaluaron las variables agronómicas en diferentes tiempos, el final de ellos a los 52 días, en que se detuvo el experimento debido a la poca

supervivencia en uno de los tratamientos. Se evaluaron las siguientes variables agronómicas: tamaño de la planta, tamaño de la raíz, peso seco de la parte aérea, peso seco de la raíz y porcentaje de colonización, procesando 10 plantas en cada ocasión.

Las raíces se lavaron con agua corriente, con mucho cuidado para evitar desprenderlas de la planta, y quitando en la mayor medida posible todos los residuos de suelo. Posteriormente se midió con ayuda de una regla la parte aérea y la raíz de cada planta, se cortó cada una de las raíces y se pesó en fresco la raíz y la parte aérea de cada planta, luego se colocaron por separado en bolsas de papel y se colocaron a secar en el horno a una temperatura de 80 °C durante dos días.

El porcentaje de supervivencia en cada tratamiento se determinó a los 52 días, considerando que después de coleccionar 60 plantas para su análisis en los diferentes periodos, el 100% de supervivencia consistió de las 140 plantas restantes.

Determinación del porcentaje de colonización. Para el desarrollo de este objetivo se midió la efectividad de los HMA bajo los diferentes tratamientos, evaluando el grado de colonización y determinación de algunas estructuras como arbusculos y vesículas. Una vez cultivadas las plántulas después de tres meses, fueron separadas de la parte aérea y lavadas para eliminar cualquier exceso de suelo adherido, las raíces se tiñeron con la técnica de Phillips & Hayman (1970), la cual emplea la tinción del colorante azul de tripano. El porcentaje de colonización fue determinado usando el método de la línea-intercepta siguiendo a Giovanetti & Mosse (1980). Se determinó la colonización por HMA en las raíces de 10 plantas a los 15, 30 y 52 días.

Análisis estadístico. Los datos se analizaron utilizando un análisis de datos multifactorial (ANOVA) con la finalidad de examinar el nivel de significancia ($p < 0,05$) de los tratamientos y su interacción. Para la supervivencia se utilizó el análisis de ji cuadrada. El tratamiento estadístico se realizó utilizando el programa JMP versión 8.

RESULTADOS

Porcentaje de supervivencia en plantas de jitomate expuestas a diferentes concentraciones de Cr(VI). La supervivencia se determinó al final del experimento (52 días) y se obtuvo una interacción significativa de la inoculación con HMA y la aplicación del Cr (Tabla 1). En los tratamientos sin Cr y de 1000 ppm de Cr, con y sin inóculo, sobrevivieron el 100% de las plantas. En el tratamiento de 3000 ppm sobrevivieron el 86,4% y el 95,7% de las plantas no inoculadas e inoculadas con HMA, respectivamente, sin diferencias significativas (Tabla 1). Donde se obtuvo una diferencia significativa fue en el tratamiento de 6000 ppm de Cr, ya que de las plantas no inoculadas con HMA sólo sobrevivieron el 22,9%, mientras que de las plantas inoculadas sobrevivieron el 80,7% (Fig. 1).

Tabla 1. Análisis de ji cuadrada de la supervivencia. Se determinó el efecto de la inoculación de HMA en plantas de jitomate (*S. lycopersicum*) crecidas en concentraciones de Cr de 0, 1000, 3000 y 6000 ppm.

Table 1. Chi square analysis of survival. The effect of HMA inoculation was determined on plants of jitomate (*S. lycopersicum*) grown in Cr concentrations of 0, 1000, 3000 and 6000 ppm.

| Tratamiento con Cr (ppm) | Plantas sobrevivientes inoculadas con HMA | Plantas sobrevivientes no inoculadas con HMA | Ji cuadrada | Probabilidad |
|--------------------------|---|--|-------------|--------------|
| 0 | 140 | 140 | 0 | >0,5 |
| 1000 | 140 | 140 | 0 | >0,5 |
| 3000 | 134 | 121 | 0,66 | 0,46 |
| 6000 | 113 | 32 | 45,24 | <0,01 |
| Interacción de HMA y Cr | | | 37,10 | <0,01 |

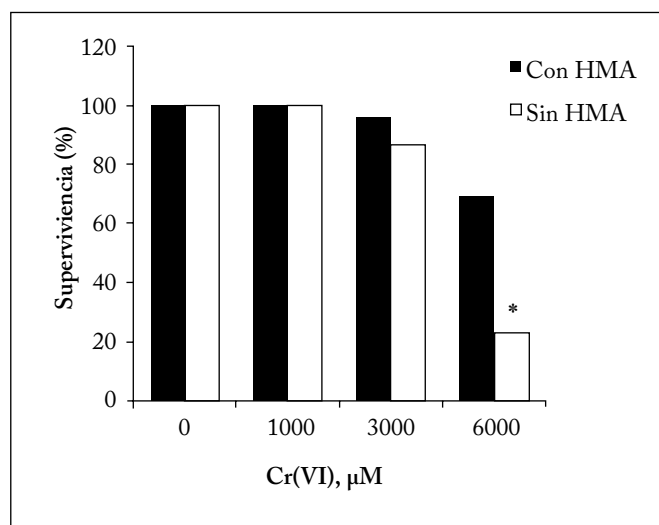


Fig. 1. Porcentaje de supervivencia en plantas de jitomate (*S. lycopersicum*) a los 52 días del trasplante. Se analizaron 8 tratamientos, con y sin inoculación con HMA y cuatro concentraciones diferentes de Cr. El asterisco indica diferencia significativa para $p < 0,05$.

Fig. 1. Survival percentage on plants of jitomate (*S. lycopersicum*) after 52 days from transplanting. Eight treatments were analyzed: with or without HMA inoculation, and four different Cr concentrations. The asterisk indicates significant differences at $p < 0.05$.

Porcentaje de colonización en plantas de jitomate expuestas a diferentes concentraciones de Cr(VI). La colonización micorrízica en plantas de jitomate inoculadas con HMA se presentan en la Figura 2. Los porcentajes fueron aumentando a lo largo del experimento, presentándose una colonización del 100% a los 52 días. Los resultados mostraron que la colonización micorrízica fue más rápida en las plantas en que se aplicaron concentraciones mayores de Cr, como una posible estrategia

de éstas que les permitió asociarse con los hongos, y resistir de mejor manera los efectos nocivos del metal.

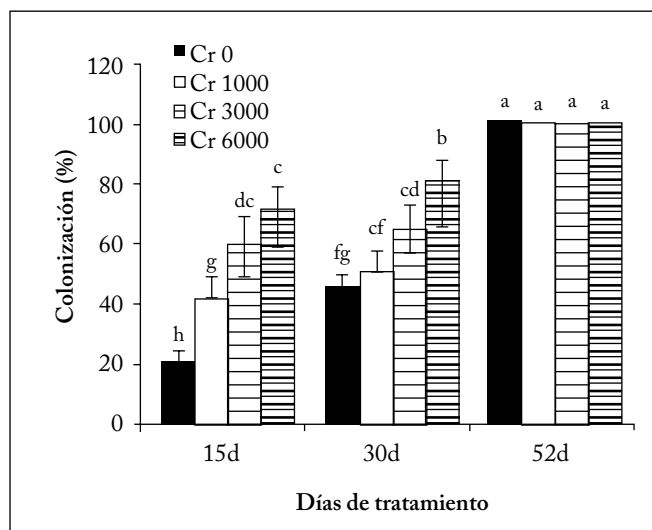


Fig. 2. Porcentaje de colonización de plantas de jitomate (*S. lycopersicum*) crecidas en diferentes concentraciones de Cr. Las letras indican las diferencias significativas para $p < 0,05$.

Fig. 2. Colonization percentage on plants of jitomate (*S. lycopersicum*) grown at different Cr concentrations. Different letters indicate significant differences at $p < 0.05$.

Efecto de la inoculación de HMA en el tamaño de plantas de jitomate expuestas a diferentes concentraciones de Cr. La inoculación con HMA incrementó de manera significativa el tamaño de las plantas, mientras que la aplicación de Cr disminuyó esta variable. Además, se encontró una interacción significativa entre HMA y Cr, lo que demostró que los HMA tienen un efecto positivo en el tamaño aún en la presencia de Cr (Tabla 2). Este efecto fue notable a 3000 y 6000 ppm (Fig. 3).

Tabla 2. Análisis de varianza multifactorial para las variables agronómicas. Se determinó el efecto de la inoculación de HMA en plantas de jitomate (*S. lycopersicum*) crecidas en concentraciones de Cr de 0, 1000, 3000 y 6000 ppm.

Table 2. Multifactorial analysis of variance for the study agronomic variables. The effect of HMA inoculation was determined on plants of jitomate (*S. lycopersicum*) grown in Cr concentrations of 0, 1000, 3000 and 6000 ppm.

| | Tamaño de planta | Tamaño de raíz | Peso seco de parte aérea | Peso seco de raíz |
|----------------------|------------------|----------------|--------------------------|-------------------|
| HMA | *** | *** | *** | *** |
| Cromo | *** | *** | *** | *** |
| Interacción HMA y Cr | *** | 0,4036 | 0,1204 | *** |

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

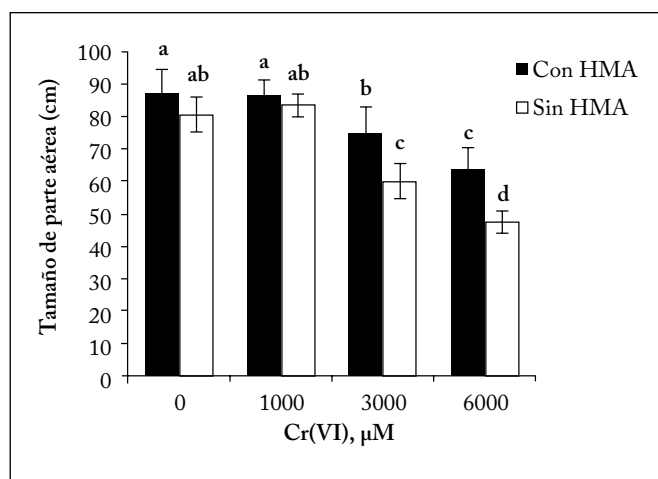


Fig. 3. Efecto de la inoculación de HMA sobre el tamaño de la parte aérea de plantas de jitomate (*S. lycopersicum*) expuestas a diferentes concentraciones de Cr. Las letras indican las diferencias significativas para $p < 0,05$.

Fig. 3. Effect of HMA inoculation on aboveground size of plants of jitomate (*S. lycopersicum*) grown at different Cr concentrations. Different letters indicate significant differences at $p < 0.05$.

Efecto de la inoculación de HMA en el peso seco de la parte aérea en plantas de jitomate expuestas a diferentes concentraciones de Cr(VI). De manera independiente, los HMA tuvieron un efecto significativo en el aumento del peso seco de la parte aérea, mientras que el Cr lo disminuyó. Sin embargo, no se presentó una interacción significativa entre es-

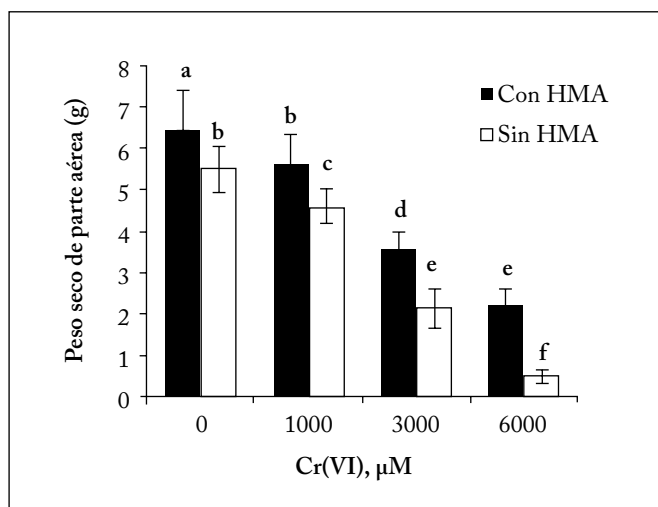


Fig. 4. Efecto de la inoculación de HMA sobre el peso seco de la parte aérea de plantas de jitomate (*S. lycopersicum*) expuestas a diferentes concentraciones de Cr. Las letras indican las diferencias significativas para $p < 0,05$.

Fig. 4. Effect of HMA inoculation on aboveground dry weight of plants of jitomate (*S. lycopersicum*) grown at different Cr concentrations. Different letters indicate significant differences at $p < 0.05$.

tas dos variables (Tabla 2). Esto demostró que el Cr disminuyó el peso seco de la parte aérea de manera proporcional, tanto en plantas inoculadas con HMA como en las que no fueron inoculadas (Fig. 4).

Efecto de la inoculación de HMA en el tamaño de la raíz en plantas de jitomate expuestas a diferentes concentraciones de Cr(VI). El tamaño de la raíz se vio modificado de manera independiente por la inoculación con HMA y por la aplicación de Cr, pero no existió interacción significativa entre estos dos factores (Tabla 2). El tamaño de la raíz fue mayor cuando se inocularon las plantas con HMA, incluso cuando no se aplicó Cr (Fig. 5). No obstante, las raíces fueron menos robustas, lo cual se evidenció con la cuantificación del peso seco.

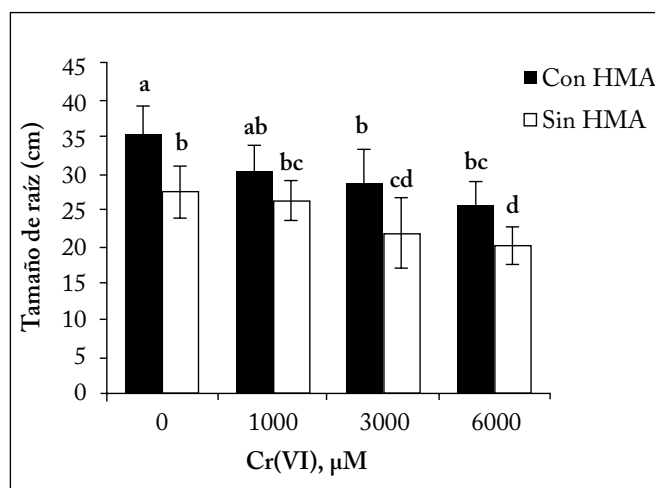


Fig. 5. Efecto de la inoculación de HMA sobre el tamaño de la raíz en plantas de jitomate (*S. lycopersicum*) expuestas a diferentes tratamientos con Cr. Las letras indican las diferencias significativas para $p < 0,05$.

Fig. 5. Effect of HMA inoculation on root size of plants of jitomate (*S. lycopersicum*) grown at different Cr concentrations. Different letters indicate significant differences at $p < 0.05$.

Efecto de la inoculación de HMA en el peso seco de la raíz en plantas de jitomate expuestas a diferentes concentraciones de Cr(VI). El peso seco de la raíz se vio incrementado de manera significativa por la inoculación con HMA y disminuido por la aplicación de Cr, con una interacción significativa entre estos dos factores (Tabla 2). El efecto protector de los HMA ante la presencia de Cr fue notable en 1000 y 3000 ppm, pero no así en 6000 ppm, ya que en esta condición no hubo diferencia significativa entre las plantas inoculadas con HMA y las no inoculadas (Fig. 6).

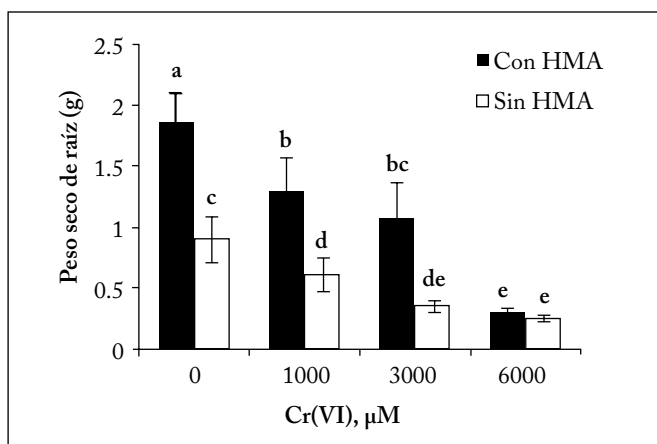


Fig. 6. Efecto de la inoculación de HMA sobre el peso seco de la raíz en plantas de jitomate (*S. lycopersicum*) expuestas a diferentes concentraciones de Cr. Las letras indican las diferencias significativas para $p < 0,05$.

Fig. 6. Effect of HMA inoculation on root dry weight of plants of jitomate (*S. lycopersicum*) exposed to different Cr concentrations. Different letters indicate significant differences at $p < 0.05$.

DISCUSIÓN

Las plantas poseen un rango potencial de mecanismos celulares que pueden estar involucrados en la detoxificación de los metales pesados y crear tolerancia a éstos. La captación del metal por las plantas por medio de los HMA puede variar drásticamente dependiendo del papel funcional de los hongos asociados, el tipo de planta y el metal en cuestión (Gamalero et al., 2008). Por otra parte, algunos aislados de HMA encontrados en suelos contaminados con metales pesados han mostrado un potencial adaptativo de las poblaciones de HMA autóctonas (Hildebrant, 1999). Por lo tanto, en este trabajo se utilizó un inóculo de HMA proveniente de campos de cultivo de maíz, en donde no se ha detectado contaminación por Cr.

Es muy posible que los altos porcentajes de colonización por HMA encontrados en este trabajo en las plantas de jitomate fueron un factor importante en los efectos benéficos, que permitieron proteger a las plantas del Cr, logrando una mejor supervivencia, un mayor tamaño de la parte aérea y un mayor peso de la raíz. Esto reafirma lo reportado por Trotta et al. (2006) referente a que cuando la colonización micorrízica es alta en las plantas, es posible que conlleve efectos benéficos hacia ellas al incrementar la concentración del metal. Si bien los HMA no tuvieron un efecto protector hacia el Cr en el tamaño de la raíz, ésta fue más robusta, con mayor número de raíces laterales, lo que se reflejó en un mayor peso seco. Se ha reportado que en condiciones de estrés las raíces en vez de aumentar su tamaño en longitud se vuelven más ramificadas y de mayor biomasa, lo que les permite tener una mayor capacidad de absorción y mayor tolerancia al estrés (López-Bucio et al.,

2003). Además, la colonización de los HMA puede ser considerada una extensión funcional de las raíces de las plantas que les permite aumentar considerablemente la superficie de captación de nutrientes (Harrison, 1999). Esto es lo que posiblemente ocurrió en los experimentos de este trabajo, en que las plantas con HMA pudieron tolerar mejor las altas concentraciones de Cr. El uso de un consorcio de HMA, en el que se encuentran varias especies, coincide con lo propuesto con Wang et al. (2007), referente a que los inoculantes mixtos o en consorcio tienen mayor efectividad que los inoculantes puros o constituidos de una sola especie de HMA.

Algunos reportes indican que existe una mayor captación de metales pesados en las plantas debido a los HMA (Joner y Leyval, 1997). La gran mayoría de los metales pesados son también almacenados en las estructuras micorrízicas presentes en las raíces de las plantas y en las esporas (Gaur y Aldohleya, 2004). Estos pueden ser secuestrados en las vacuolas o ser quelados por medio de agentes quelantes secretados (glomulina) que se unen a los metales en el suelo. Los HMA también impiden la entrada de los metales pesados a través de la unión de éstos a los componentes de la pared y la membrana plasmática, que funciona como una barrera viva y selectiva en plantas y hongos (Göhre y Paszkowski, 2008). Wright et al. (1998) y González-Chávez et al. (2004) demostraron que la glicoproteína glomalina (extraída de hifas de HMA de suelos contaminados) secuestra metales como Cu, Cd y Zn, lo que reafirma que los HMA estabilizan a los metales del suelo y reducen su disponibilidad, disminuyendo el riesgo de toxicidad para otros microorganismos y plantas vecinas.

Un caso específico de la efectividad de un consorcio de HMA en la protección de plantas es el reportado por Wang (2007). Este autor estudió el crecimiento de *Zea mays* en suelos contaminados con metales pesados, inoculando en un caso con una sola especie, *Glomus caledonium* 90036, y en otro caso con un inoculante mixto constituido por *Gigaspora margarita*, Z8439, *Gigaspora decipiens*, *Scutellospora glimori* ZJ39, *Acaulospora* spp. y *Glomus* spp.). Lo anterior concuerda con nuestros resultados en jitomate, referente a que aunque un inóculo no sea autóctono de suelos contaminados con metales pesados, la mezcla de especies del inoculante es más efectiva para promover la eficiencia de la tolerancia al metal. Esto es debido al papel funcional de cada una de las especies de HMA. Este comportamiento de los HMA hace posible que para generar efectos de protección en plantas contra metales pesados, no es necesario aislar especies autóctonas de los suelos contaminados con diferentes metales. Sin embargo, aunque lo ideal sería tener cepas aisladas y tolerantes a metales pesados, para aumentar su eficiencia.

El mejor crecimiento de la parte aérea encontrado en plantas de jitomate inoculadas con HMA pueden compararse con resultados obtenidos en otros trabajos, donde se demostró que la planta *Viola calaminaria* desarrolló mejor tamaño cuando creció asociada con una especie de *Glomus*

con resistencia a Zn en suelos contaminados con metales pesados (Hildebrandt et al., 1999). Además, en análisis posteriores se demostró que el crecimiento del maíz en suelos con metales pesados fue, por lo menos en parte, debido a la inmovilización selectiva de los metales dentro de los tejidos radicales que contienen las células del hongo (Hall, 2002). No es posible todavía asegurar que el consorcio de HMA utilizado en este trabajo tiene su efecto benéfico en las plantas mediante la inmovilización selectiva de Cr. Sin embargo, podemos considerar que los HMA del consorcio utilizado en nuestro experimento, tuvieron un papel funcional de fitoestabilización, debido a que se aumentó considerablemente la colonización micorrízica.

Nuestros resultados demuestran, de una manera global, que un consorcio de HMA proveniente de suelo no contaminado con metales, puede conferir mayor supervivencia, una raíz más robusta con un mayor peso seco y un mayor tamaño de la parte aérea en plantas de jitomate expuestas a concentraciones tóxicas de Cr(VI). Esto genera una alternativa en la protección de esta hortaliza a diversos metales.

REFERENCIAS

- Armenta-Hernández, M.A. y R. Rodríguez-Castillo (1995). Environmental exposure to chromium compounds in the valley of León, México. *Environmental Health Perspectives* 103: 47-51.
- Berta, G., A. Fusconi y J.E. Hooker (2002). Arbuscular mycorrhizal modifications to plant root systems: scale, mechanisms, and consequences. En: S. Gianinazzi, H. Schuepp, J.M. Barea and K. Haselwandter (eds.). *Mycorrhizal technology in agriculture*. Birkhäuser Verlag, Basel, Boston, Berlin. pp. 71-85.
- Briat, J.F. y M. Lebrun (1999). Plant responses to metal toxicity. *C.R. Acad Sci Ser III* 322: 43-54.
- Cañizales-Villanueva, R.O. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 42:131-143.
- Cervantes, C. y J. Campos-García (2007). Reduction and efflux of chromate in bacteria. En: Nies D.H. y Silver S. (eds.). *Molecular Microbiology of Heavy Metals*. Springer-Verlag, Berlin.
- Clemens, S. (2006). Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie* 88: 1707-1719.
- Gamalero, E., G. Berta, N. Massa, B.R. Glick y G. Lingua (2009). Beneficial role of plant growth promoting bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on plant responses to heavy metal stress. *Canadian Journal of Microbiology* pp. 501-514.
- Gamalero, E., G. Berta, N. Massa, B.R. Glick y G. Lingua (2008). Synergistic interactions between the ACC deaminase producing bacterium *Pseudomonas putida* UW4 and the AM fungus *Gigaspora rosea* positively affect cucumber plant growth. *FEMS Microbiology Ecology* 64: 459-467.
- Gerdeman, J.W. y T.H. Nicolson (1963). Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society* 46: 235-244.
- Giovannetti, M. y B. Mosse (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* 84: 489-500.
- Giovannetti, M., C. Sbrana y L. Avio (2002). Arbuscular mycorrhizal fungal mycelium: from germlings to hyphal networks. En: S. Gianinazzi, H. Schuepp, J.M. Barea, K. Haselwandter (eds.). *Mycorrhizal technology in agriculture*. Birkhauser Verlag, Basel, Boston, Berlin. pp. 49-58.
- Gaur, A. y A. Adholeya (2004). Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Current Science* 86: 528-534.
- González-Chávez, M.C., R. Carrillo-González, S.F. Wright y K.A. Nichols (2004). The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. *Environmental Pollution* 130: 317-323.
- Göhre, V. y U. Paszkowski (2006). Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation. *Planta* 223: 1115-1122.
- Hall, J.L. (2002). Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany* 53: 1-11366-11374.
- Harrison, M.J. (2002). Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany* 53: 1-11
- Hewitt, E.J. (1952). Sand water culture methods used in the study of plant nutrition. Commonwealth Agricultural Bureau Technical Communication No. 22, London.
- Hildebrandt, U, M. Kaldorf y H. Bothe (1999). The zinc violet and its colonization by arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Plant Physiology* 154: 709-717.
- Huffman, E.W. (jr) y W.H. Allaway (1973). Chromium in plants: distribution in tissues, organelles, and extracts, and availability of bean leaf Cr to animals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 21: 982-986.
- Joner, E.J. y C. Leyval (1997). Uptake of Cd by roots and hyphae of a *Glomus mosseae*/*Trifolium subterraneum* mycorrhizal from soil amended with high and low concentration of cadmium. *New Phytologist* 135: 353-360.
- Kaldorf, M., A.J. Kuhn, W.H. Schröder, U. Hildebrandt y H. Bothe (1999). Selective element deposits in maize colonized by a heavy metal tolerance conferring arbuscular mycorrhizal fungus. *Journal of Plant Physiology* 154: 718-728.
- Liu, D. y I. Kottke (2003). Subcellular localization of chromium and nickel in root cells of *Allium cepa* by EELS and ESI. *Cell Biology and Toxicology* 19: 299-311.
- Leyval, C., E.J. Joner, C. Del Val y K. Haselwandter (2002). Potential of arbuscular mycorrhizal fungi for bioremediation. En: S. Gianinazzi, H. Schuepp, J.M. Barea, K. Haselwandter (eds.). *Mycorrhizal technology in agriculture*. Birkhauser-Verlag, Basel, Switzerland.
- Leyval, C. y H. Weissenhorn (1996). Tolerance to metals of arbuscular mycorrhizal fungi from heavy metal polluted soils. A summary of results. En: Azcón-Aguilar C. y Barea, J. M. (eds). *Mycorrhizae in integrated systems: from genes to plant development*. pp. 452-454. European Commission, Brussels. Belgium.
- López-Bucio, J., A. Cruz-Ramírez y L. Herrera-Estrella (2003). The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Current Opinion in Plant Biology* 6: 280-287.
- Lytle, C.M., F.W. Lytle, N. Yang, J.H. Qian, D. Hansen, D. Zayed y N. Terry (1998). Reduction of Cr (VI) to Cr (III) by wetland plants: Potential for *in situ* heavy metal detoxification. *Environmental Science and Technology* 32: 3087-3093.
- Malcova, R., M. Vosátka y M. Gryndler (2003). Effects of inoculation with *Glomus intraradices* on lead uptake by *Zea mays* L. and *Agrostis capillaries* L. *Applied Soil Ecology* 23: 55-67.

- Méndez-Ferreira, G.D (2009). Efecto del Cromo (VI) en el crecimiento y el desarrollo de *Nicotiana tabacum* L. Tesis Profesional de Biólogo. Universidad Michoacana. Morelia, Michoacán, México.
- Ouziad, F., U. Hildebrandt, E. Schmelzer y H. Bothe (2005). Differential gene expressions in arbuscular mycorrhizal-colonized tomato grown under heavy metal stress. *Journal of Plant Physiology* 162: 634-649.
- Passow, H., A. Rothstein y T.W. Clarkson (1961). The general pharmacology of heavy metals. *Pharmacological Reviews* 13:185-224.
- Pawlowska, T.E. y I. Charvat (2004). Heavy-metal stress and developmental patterns of arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 6643-6649.
- Phillips, J.M. y D.S. Hayman (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55: 158-161.
- Read, D.J. (1991). Mycorrhizas in ecosystems. *Experientia* 47: 376-390.
- Shanker, A.K., M. Djanaguiraman y N. Venkateswarlu (2009). Chromium interaction in plants: current status and future strategies. *Metallomics* 1: 375-383
- Schützendübel, A. y A. Polle (2002). Plant responses to abiotic stresses: heavy metal induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *Journal of Experimental Botany* 53: 1351-1365.
- Trotta, A., P. Falaschi, L. Cornara, V. Minganti, A. Fusconi, G. Drava y G. Berta (2006). Arbuscular mycorrhizae increase the arsenic translocation factor in the As hyperaccumulating fern *Pteris vittata* L. *Chemosphere* 65: 74-81.
- Valadez, L.A. (1998). Producción de hortalizas. México. UTEHA. 298 p.
- Wang, F.Y., X.G. Lin y R. Yin (2007). Effect of arbuscular mycorrhizal fungal inoculation on heavy metal accumulation of maize grown in a naturally contaminated soil. *International Journal of Phytoremediation* 9: 345-353.
- Wright, S.F. y A. Upadhyaya (1998). A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil* 198: 97-107.
- Zayed, A.M., C.M. Lytle, J.H. Qian y N. Terry (1998). Chromium accumulation, translocation and chemical speciation in vegetable crops. *Planta* 206: 293-299.