

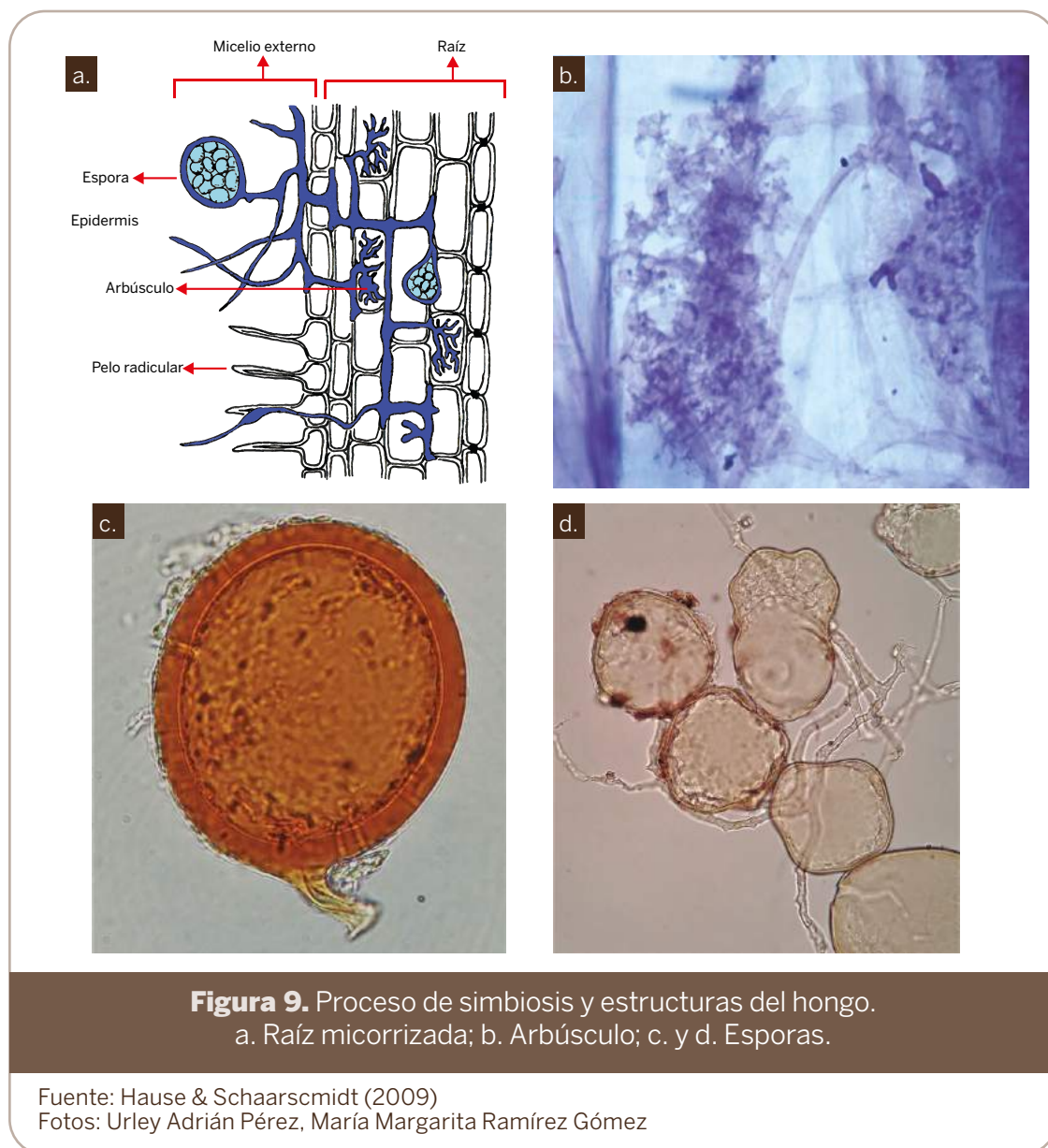
# Capítulo 4. ¿Que son y por qué usar hongos formadores de micorrizas arbusculares en procesos de bioremediación de cadmio?

## Generalidades

Los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) son microorganismos ampliamente distribuidos en los suelos de diferentes ecosistemas terrestres. Estos microorganismos se asocian con el 90 % de las plantas, mediante una simbiosis natural en la cual la planta y el hongo se benefician. Esta relación permite que los HFMA actúen como una extensión de las raíces de la planta; de esta manera, se da una mayor exploración de suelo y se llega a lugares que están por fuera del alcance de las raíces, lo que convierte a estos microorganismos en una alternativa biológica sostenible para la optimización de la nutrición vegetal, con todas las ventajas productivas que implica, tanto ambientales como económicas (Bonfante & Genre, 2008).

Las micorrizas son el resultado de la asociación simbiótica entre una planta y una o más especies de HFMA. Los HFMA son organismos microscópicos, cuyas esporas se pueden encontrar en la mayoría de los suelos, y los cuales muestran una amplia capacidad de adaptación a diversas condiciones edafoclimáticas (Smith & Read, 2008). Las esporas que están en el suelo establecen un diálogo con la planta a través de señales químicas y respuestas genéticas, bajo condiciones de estrés (biótico o abiótico) que favorecen y estimulan la germinación; además, producen una hifa que llega hasta la raíz y entra en contacto con ella. Una vez que

la planta reconoce al HFMA como un organismo benéfico le permite entrar a través de las células de la raíz para formar una estructura especializada llamada arbusculo, para producir de nuevo hifas que salen de la raíz a explorar el suelo y producir nuevas esporas. No es posible para el hongo esporular sin presencia de una raíz, por lo que se les llama simbiosites obligados (figura 9) (Guerrero Forero & Azcon, 1996; Hamel & Plenchette, 2007).



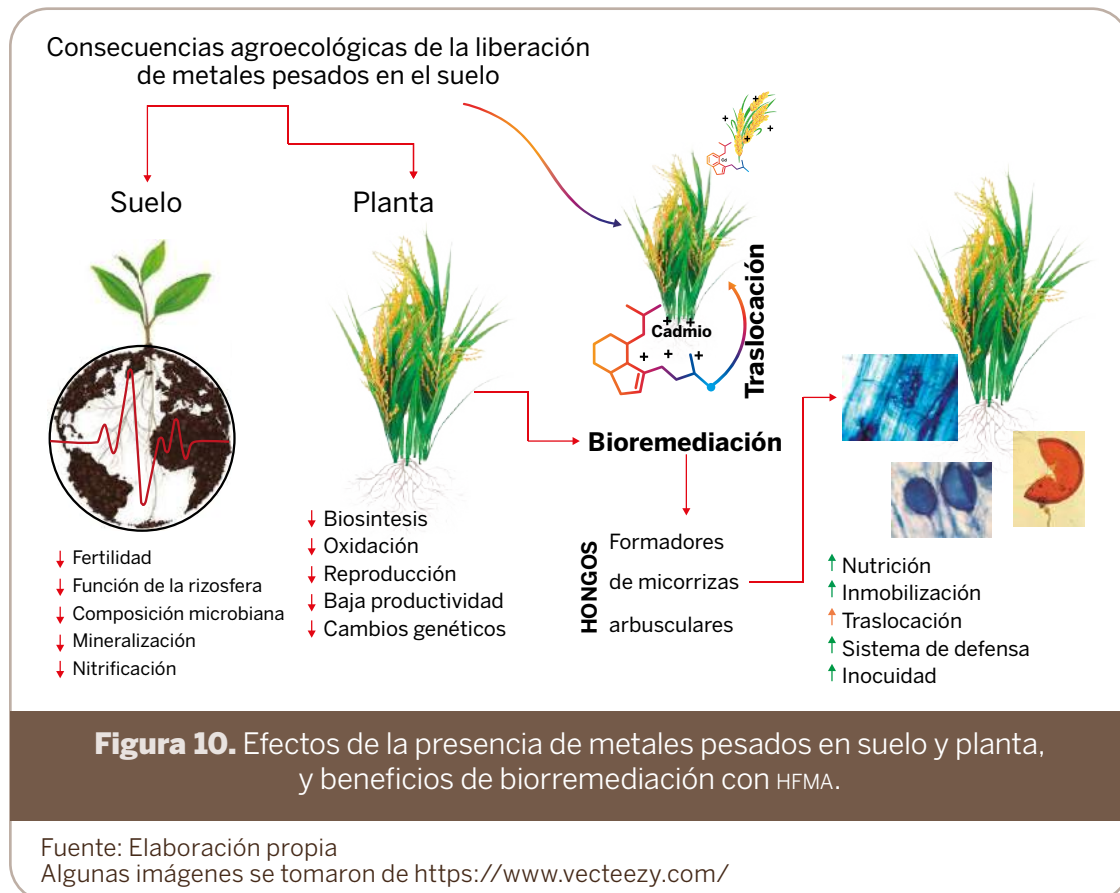
En esta asociación, la planta recibe nutrientes del hongo y agua que toma desde zonas lejanas de la raíz o de poros en los que la raíz no puede entrar por su tamaño; por su parte, el hongo recibe carbohidratos para la formación de sus estructuras (hifas, esporas), que le permiten crecer y multiplicarse. Este intercambio bidireccional de nutrientes se realiza en el arbusculo, que es una estructura que puede permanecer entre 8 y 15 días en la raíz, y luego se reabsorbe sin afectar la célula (Guerrero Forero & Azcon, 1996; Hamel & Plenchette, 2007). Las vesículas son órganos de almacenamiento ausentes en los géneros *Gigaspora* y *Scutellospora*, y las hifas sirven para transporte de nutrientes y agua (figura 9) (Guerrero Forero & Azcon, 1996; Sylvia et al., 2005).

Una de las estrategias de colonización de ecosistemas terrestres por las plantas fue la asociación de sus raíces con HFMA para mejorar la eficiencia en toma de nutrientes y aumentar la tolerancia a condiciones de estrés biótico y abiótico. Esto explica, en gran medida, la alta importancia de los HFMA en ecosistemas naturales y su amplia distribución en todo el planeta (Bonfante & Genre, 2008; Redecker, 2008; Sylvia et al., 2005; Remy et al., 1994).

La gran diversidad de suelos y las condiciones ambientales y de manejo de los sistemas de producción afectan la disponibilidad de nutrientes y generan diversos tipos de estrés dentro de los cuales está la contaminación de suelos con MP. Estas condiciones afectan directamente a la planta, a los HFMA y al establecimiento y desarrollo de la simbiosis, debido a la afectación de los procesos fotosintéticos, que reducen el aporte de carbohidratos de la planta a los HFMA para su crecimiento y multiplicación en el suelo (Kernaghan, 2005; Sylvia et al., 2005; Miller, 2000) (figura 10).

Los HFMA específicamente producen glomalina, que juega un papel importante en la inmovilización de Cd y otros MP. Se ha demostrado su capacidad de secuestrar Cu, Cd, Fe, Pb, Zn y Cr, así como su facultad para reducir la biodisponibilidad de MP (González-Chávez et al., 2004; Cornejo et al., 2008; Gil-Cardesa et al., 2014).

La glomalina se reporta como una glicoproteína estable y persistente producida copiosamente por los HFMA (Gillespie et al., 2011), la cual aporta a la estabilidad de agregados del suelo y captura de carbono (Seguel, 2008). Su disponibilidad no depende del tipo de suelo, pero sí del género y la especie de HFMA. Esta proteína, además de aglutinar partículas de suelo para mejorar su estructura, tiene un papel muy importante en el establecimiento de enlaces con moléculas de alta toxicidad como los MP, pues forma una barrera que permite su acumulación en el micelio del hongo, y así impide su ingreso en la planta. El MP queda inmovilizado en las partículas de suelo y en el interior de las hifas que forman parte de la estructura del suelo (Hildebrandt et al., 2007; González Guerrero, 2005), lo que permite considerar estos microorganismos como parte de las estrategias para mitigar el efecto de los MP en plantas y en una alternativa para la recuperación de suelos degradados.



## Beneficios del uso de HFMA en las plantas

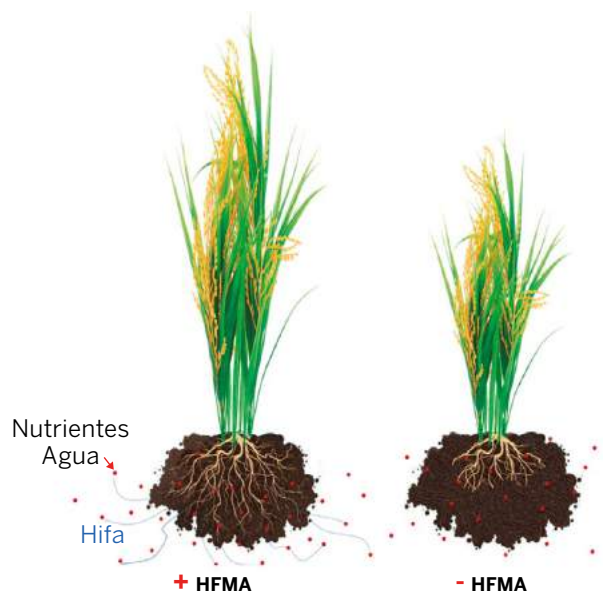
Las bondades de la simbiosis con HFMA no se reducen a su capacidad como biofertilizantes, pues con este mecanismo también se promueven estrategias de biocontrol y biorremediación dentro del complejo sistema planta-microorganismo-ambiente. Como biocontroladores, los HFMA pueden reducir significativamente el ataque por otros microorganismos patógenos, dado que en los primeros contactos planta-HFMA la planta activa sus mecanismos de defensa y a través de señales bioquímicas permite la entrada de los HFMA, pero reduce la de patógenos por tener una mayor capacidad de defensa frente a ellos. Adicionalmente, se ha demostrado a través de diversos estudios que los HFMA actúan como biorremediadores, ya que establecen una serie compleja de enlaces con MP, y los acumula en sus hifas, vesículas e hifas extra e intrarradiculares, lo que impide la traslocación a las células vegetativas.

Aunque no se conoce exactamente el mecanismo de absorción del Cd por el HFMA, se ha encontrado su presencia en hifas extra e intrarradiculares y en vesículas dentro de las hifas (Godbold & Sharrock, 2003). La absorción del MP a través de HFMA se inicia con la toma a través de la membrana del micelio extraradical. Para *Rhizophagus irregularis*, se han identificado genes que codifican proteínas transportadoras para la toma de Cu, Fe, Zn y Mn desde la solución del suelo (Tisserant et al., 2013; Tamayo et al., 2014), que incluyen miembros de la familia CTR de transportadores de Cu; de la familia ZIP, transportadores de Fe y Zn; un miembro de NRAMP (*natural resistance associated macrophage protein*), de la familia RiSMF1 y de Fe-permeasa Ri FTR1, de la cual se desconoce su localización, función y sustrato (Ferrol et al., 2016). Los MP son transportados desde las hifas extrarradiculares y almacenados en vesículas o inmovilizados en las hifas (González-Guerrero et al., 2008; Nayuki et al., 2014). Es posible que no existan transportadores específicos

para algunos MP y que utilicen los transportadores de Cu, Zn, Fe y Mn e incluso transportadores de P (González-Chávez et al., 2011).

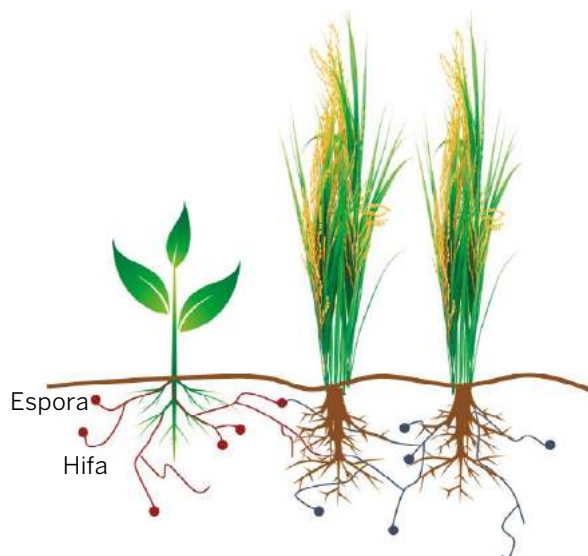
Los beneficios de la asociación se han estudiado en diversos ecosistemas y agroecosistemas (Ramírez, 2003; Roveda, Ramírez et al., 2009; Roveda, Ramírez, & Peñaranda, 2009; Godbold & Sharrock, 2003; Li et al., 2022; Jiang, Zhuo et al., 2016; Kullu et al., 2020). Algunas de las principales ventajas son:

- 1.** Incremento de la eficiencia en la toma de nutrientes y agua. Se ha encontrado que un cultivo micorrizado puede reducir en un 50% la aplicación de fertilizantes químicos y orgánicos, ya que las hifas del HFMA toman permanentes nutrientes de un volumen de suelo mayor que el que pueden explorar las raíces. Las hifas del HFMA se convierten en una extensión de la raíz para toma de nutrientes y el agua (figura 11).
- 2.** Tolerancia a plagas y enfermedades.
- 3.** Tolerancia a condiciones de estrés abiótico.
- 4.** Mejoras en la estructura del suelo.
- 5.** Promoción de actividad de otros microorganismos benéficos.
- 6.** Inmovilización de metales pesados.
- 7.** Incremento en biodiversidad del sistema y formación de redes de interconexión entre plantas (figura 12).
- 8.** La micorrización de los cultivos tiene efectos positivos en la competitividad y sostenibilidad de los sistemas de producción, por reducción de costos, incremento en producción y mejoras en calidad e inocuidad de productos.



**Figura 11.** Distribución de las raíces y de las hifas del hongo en el suelo.

Fuente: Elaboración propia, a partir de Gandia (2013). Algunas imágenes se tomaron de <https://www.vecteezy.com/>



**Figura 12.** Asociaciones simbióticas plata-HFMA.

Fuente: Elaboración propia, a partir de Sanders y Croll (2010)  
Algunas imágenes se tomaron de <https://www.vecteezy.com/>

## Importancia de la diversidad de HFMA para las plantas

Se han identificado más de 240 especies de HFMA, que pertenecen a la subfamilia Glomeromycota (Parvin et al., 2019; Wang et al., 2017; Soury et al., 2017). Algunas viven en ecosistemas inundables como *Rhizophagus irregularis*, *Funneliformis mosseae* y *Claroideoglossum claroideum* (Cui et al., 2007). Múltiples estudios han mostrado cómo la diversidad de HFMA varía significativamente en diferentes ecosistemas y depende de múltiples factores como el tipo de suelos, los contenidos de nutrientes y de materia orgánica, las plantas hospederas, las prácticas culturales y las condiciones ambientales (Miransari, 2017). La diversidad de especies vegetales tiene un especial efecto sobre la diversidad de HFMA y, asimismo, la diversidad de HFMA favorece la presencia de una alta variedad de especies vegetales y microbianas en un ecosistema (Smith & Read, 2008).

Los HFMA permiten que las plantas sean más resistentes al estrés biótico y abiótico, ya que activan mecanismos antioxidantes como producción de glutatión peroxidasa (GPx), ascorbato peroxidasa (APx), catalasas (CAT) y super óxido dismutasa (SOD) (Smith & Read, 2008). Las esporas de HFMA expuestas a condiciones de estrés reducen la producción de ROS e incrementan la actividad antioxidante relacionada con superóxido dismutasa (SOD), glutatión (GSH) y vitaminas B6, C y E (Spagnoletti et al., 2018).

Se ha demostrado que los HFMA son capaces de establecer simbiosis con plantas de arroz, independientemente de la forma de siembra (fangueo, riego, riego favorecido o seco) (Xavier & Rodrigues, 2020; International Rice Research institute, 1983; Toppo et al., 2012); sin embargo, bajo completa inundación se reduce la colonización de la planta (Ilag et al., 1987). Barea (1991) ha demostrado la supervivencia de los HFMA en condiciones de completa inundación. Los resultados de diversidad de HFMA en

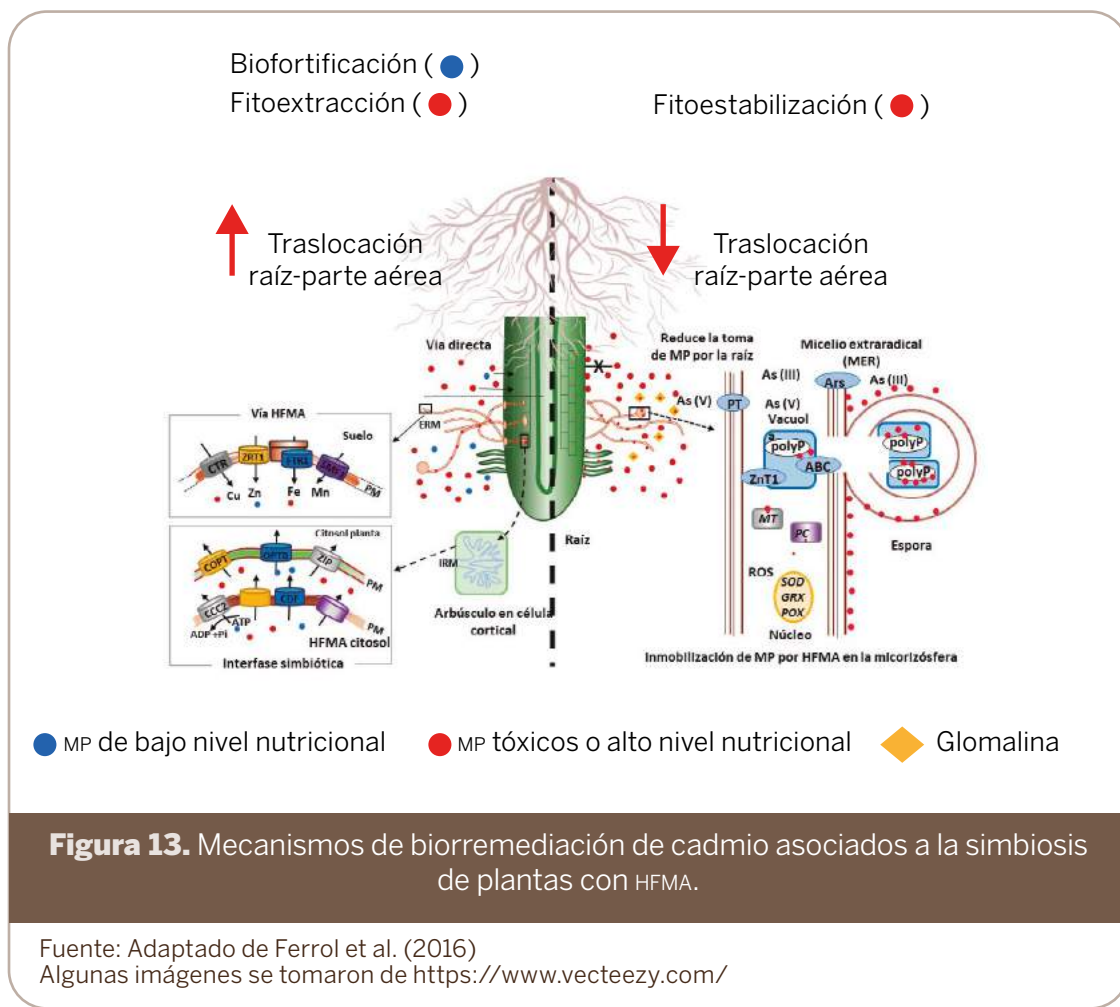
Goa (India) bajo diversos métodos de siembra mostraron la presencia de diferentes géneros y especies. Así, se encontraron 6 géneros y 17 especies de HFMA: *Acaulospora* (9), *Rhizoglosum* (1), *Entrophospora* (1), *Claroideoglosum* (2), *Funneliformis* (1) y *Gigaspora* (3); se observó una mayor presencia de *Acaulospora* en tierras bajas, de *Gigaspora* en tierras medias y de *Claroideoglosum* en tierras altas (Xavier & Rodrigues, 2020).

## ¿Por qué los HFMA pueden promover la inmovilización de metales pesados?

Los HFMA tienen la capacidad de favorecer el crecimiento de las plantas en condiciones de estrés biótico y abiótico, por su capacidad de activar mecanismos de defensa de las plantas o de favorecer su crecimiento y desarrollo (Ramírez Gómez & Rodríguez, 2012).

El Cd es uno de los MP que se encuentra con mayor frecuencia en suelos y puede ser transferido a las plantas debido a que sigue las mismas vías de ingreso del potasio y el calcio (Uraguchi et al., 2009). Las plantas tienen mecanismos de defensa para incrementar la tolerancia al Cd; por ejemplo, reducción de la transmisión de la membrana celular, unión del Cd a la pared celular, quelación y compartimentación (Gai et al., 2018). Otra de las estrategias es la coexistencia en las raíces de la planta con microorganismos, en especial con HFMA, que reducen la toxicidad del Cd, su biodisponibilidad y la migración en el suelo (Chen et al., 2018). Se ha reportado para *Lonicera japónica*, madre selva, que *Glomus versiforme* reduce significativamente la acumulación de Cd en raíces y parte aérea, mientras que *Rhizophagus intraradices* incrementa la concentración de Cd en raíces, pero reduce la concentración en parte aérea (Jiang, Tan, et al., 2016; Jiang, Zhuo et al., 2016).

Los HFMA tienen diversas estrategias para mitigar la toxicidad de MP. En la figura 13, se muestran dos procesos en los cuales participan los HFMA, la fitoextracción por medio de la cual una planta toma grandes cantidades de Cd con la ayuda de los HFMA, con lo cual se extrae del suelo el MP, y la inmovilización o fitoestabilización, que se establece en las hifas del hongo presentes en el suelo y en las raíces de las plantas. En este proceso, la glomalina juega un papel importante ya que moviliza el Cd en el suelo, unido a las partículas de este y en las raíces por acumulación en paredes y vacuolas del HFMA; esto impide que el Cd se transloque a la parte aérea o reduce la cantidad de Cd en los diversos tejidos.



Una de las estrategias es restringir la entrada de MP a la planta, mediante el favorecimiento de microorganismos en la rizosfera, que sean capaces de liberar compuestos que puedan precipitar o unir el MP a la superficie de la célula.

La glomalina, glicoproteína secretada por el micelio de los HFMA, tiene la capacidad de formar complejos con los MP, y los inmoviliza en el suelo (Wang et al., 2017; Pedroso et al., 2018; Zhu et al., 2019). Los HFMA ayudan a la fitorremediación por el incremento de la inmovilización, conversión, detoxificación y extracción (Wu et al., 2019). Se ha observado que el crecimiento de hifas en ambientes contaminados por MP se reduce debido a los efectos en las plantas, especialmente en la fotosíntesis. Con esto se reduce la cantidad de carbohidratos que la planta le entrega al hongo para su crecimiento y desarrollo, pero se incrementa la cantidad de micelio asociado con procesos de formación de agregados, lo cual aumenta la toma e inmovilización de MP (Kullu et al., 2020; Janoušková & Pavlíková, 2010).

El P y el S, así como otros compuestos en el micelio, pueden prevenir el transporte de MP formando compuestos (ácidos oxálicos) que tienen poca actividad biológica (Wang et al., 2012). Chen, Liu et al. (2004) reportan que la presencia de Cd en el suelo (0-100  $5 \mu\text{g Cd g}^{-1}\text{suelo}$ ) no inhibe la formación de hifas de HFMA ni reduce la colonización de raíces en plantas de maíz y algunas solanáceas (Jiang, Tan et al., 2016), lo que muestra la alta tolerancia a MP por parte de algunos géneros de HFMA.

La pared del hongo juega un papel importante en la inmovilización de MP, pues se considera que es responsable del 50% del metal retenido por el hongo, además de tener una muy rápida adsorción (González-Chávez et al., 2002). La acumulación de MP en las paredes de hifas, esporas y vacuolas se ha evidenciado mediante el uso de imágenes de microscopio electrónico de transmisión conectado a espectrómetro de rayos X (González-Chávez et al., 2002). Con esto se encontró que las paredes de las esporas son capaces de retener mayores concentraciones de MP que las paredes de las hifas, y que

la capacidad de retención de MP depende de la especie y del género de los HFMA, ya que la conformación de la pared de esporas difiere entre ellas (González-Guerrero et al., 2008).

Otro mecanismo es la quelación intracelular en el citosol debido a la presencia de ligandos (aminoácidos, ácidos orgánicos, péptidos) de alta afinidad, que permite tanto la detoxificación como la tolerancia a los MP. En *Gigaspora margarita* y *R. irregularis*, se ha identificado un gen que codifica por metalotioneina, que permite la quelación de MP y se asocia con mecanismos de tolerancia a MP (Lanfranco et al., 2002).

El secuestro de MP y su almacenamiento en vacuolas es otro mecanismo de tolerancia. Se ha observado acumulación de Zn, Cu y Cd en vacuolas de micelio extra radical de *R. irregularis*, asociado a raíces de zanahoria *in vitro* que están expuestas a MP y acumulación de Cd en raíces de trébol blanco; de igual forma, se han encontrado en el micelio extraradical de *Gigaspora margarita* en simbiosis con *Lotus japonicus* (Nayuki et al., 2014).

El estrés por presencia de Cd puede afectar el crecimiento de raíces y, por tanto, la capacidad de absorción de nutrientes, en especial el P (Garg & Chandel, 2012), así como inhibir la germinación de semillas, reducir la elongación de la raíz, inhibir el crecimiento, afectar las tasas de transpiración y fotosíntesis, y generar clorosis de plantas y senescencia prematura de hojas; igualmente, se han observado reducciones en área fotosintética y de la biosíntesis de la clorofila (Drzewiecka et al., 2012). Otros estudios han mostrado interferencia de MP con sitios activos de enzimas como fosfatasa, ATPasa y enzimas con actividad antioxidante (Drzewiecka et al., 2012). Lo anterior se puede mitigar a través de la simbiosis por el aumento de área de exploración de suelo y transporte de nutrientes y agua por los HFMA, lo cual incrementa la tolerancia de la planta a los MP, bien sea cuando existen comunidades de HFMA eficientes en el suelo o cuando se requiere inocular el suelo con comunidades de HFMA. Algunos de los mecanismos de los HFMA para reducir el efecto de los MP están relacionados con restricción de disponibilidad por compuestos secretados por los hongos, precipitación de MP en

gránulos de polifosfatos en el suelo, adsorción de metales en células de la pared, quelación de MP en el interior del hongo, cambios en el pH de la rizosfera y regulación de genes de expresión en condiciones de estrés para proteger la planta (Malekzadeh et al., 2011).

Los HFMA pueden aumentar los contenidos de MP en raíces, pero reducir el transporte de estos a la parte aérea de la planta (Bissonnette et al., 2010). Wu et al. (2005) encontraron que la inoculación con HFMA en plantas de arroz disminuye considerablemente las concentraciones de MP en cáscara y follaje, en suelos con  $70 \mu\text{g As g}^{-1}\text{suelo}$ . Qui-Yun et al. (2016), por su parte, indican que la inoculación con HFMA (*Glomus versiforme* y *Rhizophagus intraradices*) en arroz redujo el Cd en raíces y parte aérea de arroz, pero aumentó este metal en raíces, posiblemente debido a la inmovilización de Cd en las hifas del hongo (Meharg & Cairney, 2000) y a un efecto de dilución asociado con el aumento de biomasa de la planta (Li et al., 2021, 2022).

Otra forma de acción de los HFMA para mitigar el efecto nocivo del Cd es a través del incremento de la tolerancia de la planta al metal, por mejoras en la capacidad fotosintética, incremento en la cantidad de enzimas antioxidantes, mejor nutrición y toma de agua (Zhang, Chen et al., 2019). Igualmente, la asociación con HFMA favorece la actividad de SOD, CAT, APX peroxidasas (POD), así como el contenido total de proteínas solubles en tejidos que están en crecimiento (Chang, Sui et al., 2018; Abdelhameed & Metwally, 2019).

Algunos microorganismos, entre ellos los HFMA, son capaces de concentrar metales (Unz & Shuttleworth, 1996) mediante la inmovilización de los MP y a través de procesos activos y pasivos (conocidos como bioacumulación y biosorción, respectivamente). La bioacumulación es “la acumulación neta, con el paso del tiempo, de metales (u otras sustancias persistentes) en un organismo a partir de fuentes tanto bióticas (otros organismos) como abióticas (suelo, aire y agua)” (Facts on Health and the Environment [GreenFacts], 2023), mientras que la biosorción es la captación de metales que realiza una biomasa viva o muerta por medio de mecanismos

físico-químicos (adsorción o el intercambio iónico); en el caso de microorganismos, se retira o inmovilizan los iones metálicos de un medio (Mejía Sandoval, 2006).

Aunque los HFMA pueden proteger a las plantas del estrés por Cd, aún no es claro el mecanismo de tolerancia de la simbiosis a la toxicidad por Cd, en especial, a nivel molecular. La adición de Cd disminuye la colonización por HFMA y en genotipos de soya tolerantes al Cd aumenta el peso seco de la planta, el crecimiento de la raíz y la toma de P. Bajo condiciones de presencia de Cd, se observó la expresión de genes transportadores de P, *GmPT8*, *GmPT9*, *GmPT10* en raíces y se redujo la expresión de genes relacionados con MP ATPase *GmHMA19*. Además, se incrementaron los niveles de Mg, Cu y Zn y se redujeron los contenidos de Cu y Zn en raíces (Cui et al., 2019).

La expresión de genes asociados a diversos mecanismos de transporte a nivel celular es uno de los mecanismos de la tolerancia a los diferentes MP (Xin et al., 2010) y se puede observar con el micelio (intra y extraradical), como respuesta al daño ocasionado por las especies reactivas de oxígeno (ROS) (Hildebrandt et al., 2007). Los MP que ingresan a las raíces se depositan en el parénquima, en el cual se encuentran las estructuras de los HFMA (hifas, arbusculos, vesículas) (Arriagada et al., 2010).

El Cd es fitotóxico, incluso a niveles muy bajos ( $0,5 \mu\text{g Cd g}^{-1}\text{suelo}$ ) (Aibibu et al., 2010), ya que induce la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS), las cuales causan peroxidación de lípidos y esto aumenta la permeabilidad de las membranas celulares (Devi et al., 2007). Los HFMA, además de inmovilizar los MP en las hifas y con la glomalina de forma irreversible, estimulan la producción de sustancias antioxidantes por la planta (González-Chávez et al., 2004; Vodnik et al., 2008) a través de expresión de genes específicos (Azcón et al., 2009; Hildebrandt et al., 2007).