

Manual para el diagnóstico de cadmio en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) y su inmovilización mediante el uso de hongos formadores de micorrizas arbusculares

Autores

María Margarita Ramírez Gómez

Nesrine Chaali

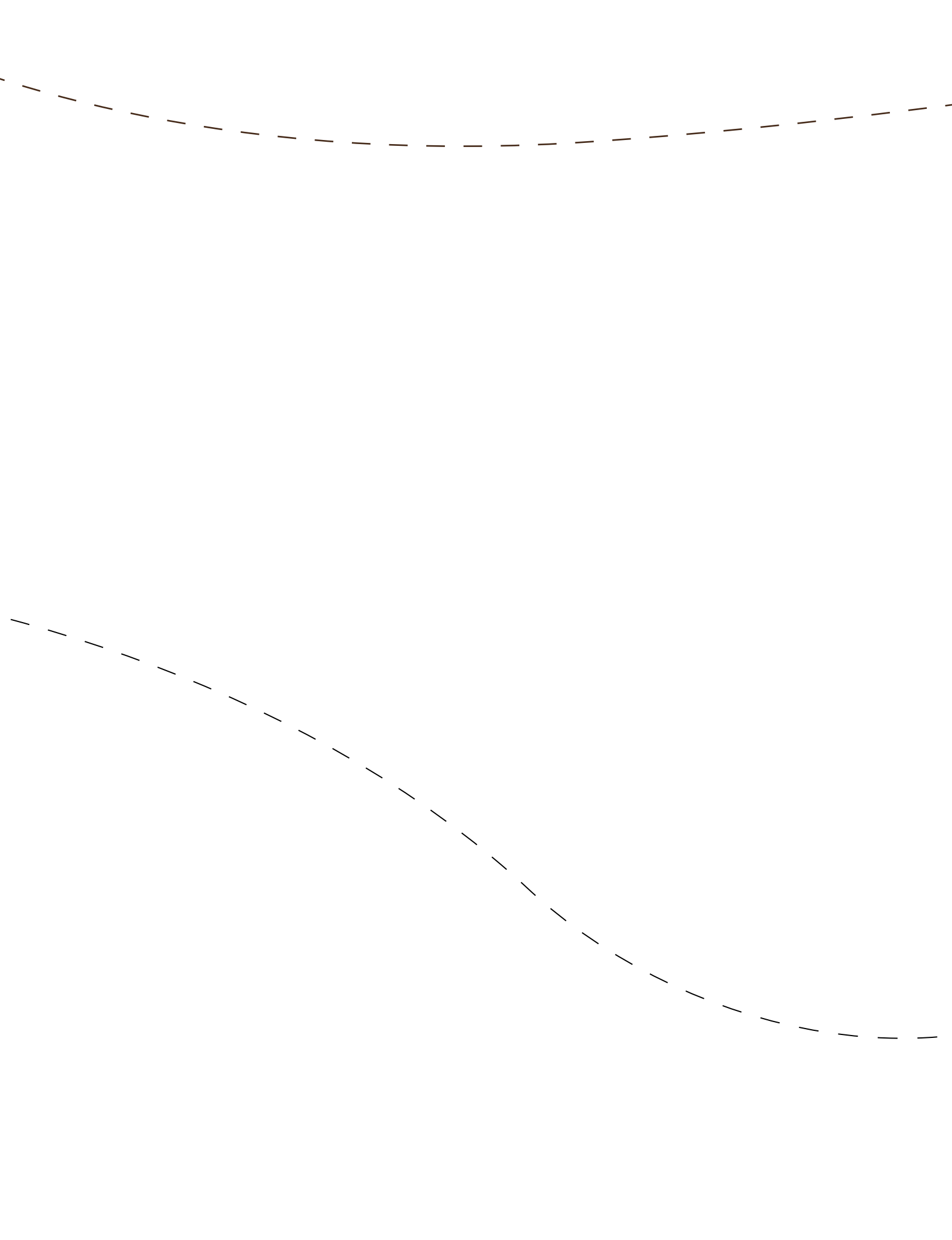
Diana Paola Serralde Ordóñez

Andrea María Peñaranda Rolón

José Isidro Beltrán Medina

Camilo Ignacio Jaramillo Barrios

Sofiane Ouazaa



Manual para el diagnóstico de cadmio en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) y su inmovilización mediante el uso de hongos formadores de micorrizas arbusculares

María Margarita Ramírez Gómez

Nesrine Chaali

Diana Paola Serralde Ordóñez

Andrea María Peñaranda Rolón

José Isidro Beltrán Medina

Camilo Ignacio Jaramillo Barrios

Sofiane Ouazaa

AGROSAVIA

EDITORIAL

Manual para el diagnóstico de cadmio en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) y su inmovilización mediante el uso de hongos formadores de micorrizas arbusculares. / María Margarita Ramírez Gómez [y otros seis]
– Mosquera, (Colombia): AGROSAVIA, 2023.

112 páginas (Colección Transformación del Agro)
Incluye referencias, gráficos y tablas.
ISBN e-Book: 978-958-740-638-2

1. *Oryza sativa* 2. Cadmio 3. Control de la contaminación 4. Micorrizas arbusculares 5. Hongos del suelo
6. Contaminación del suelo.

Palabras clave normalizadas según Tesauro Multilingüe de Agricultura -Agrovoc

Catalogación en la publicación – Biblioteca Agropecuaria de Colombia

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA).

Centro de Investigación Nataima. Kilómetro 9, vía Espinal-Chicoral, Tolima. Código postal 733520, Colombia.
Centro de Investigación Tibaitatá. Kilómetro 14 vía Mosquera-Bogotá. Código postal 250047, Colombia.

Esta publicación es el resultado del proyecto
"Caracterización biofísica del sistema productivo
de arroz (*Oryza sativa* L.) en los departamentos del
Tolima y Meta por presencia de elementos traza,
con énfasis en Cadmio y Arsénico para establecer
prácticas de manejo que permitan incrementar la
inocuidad del producto".

Colección: Transformación del Agro
Tipología: Manual

Fecha de recepción: 1 de agosto de 2022
Fecha de evaluación: 17 de agosto de 2022
Fecha de aceptación: 21 de diciembre de 2022

Publicado: junio de 2023

Preparación editorial

Editorial Agrosavia
editorial@agrosavia.co
Dirección editorial: Astrid Verónica Bermúdez Díaz
Edición: Liliana Elvira Gaona García
Corrección de estilo: Nathalie De la Cuadra Núñez N.
Diseño: Mónica Cabiativa
Diagramación: María Paula Berón Ramírez

Citación sugerida: Ramírez Gómez, M. M., Chaali, N.,
Serralde Ordóñez, D. P., Peñaranda Rolón, A. M.,
Beltrán Medina, J. I., Jaramillo Barrios, C. I., & Ouazaa, S. (2023).
*Manual para el diagnóstico de cadmio en el cultivo de
arroz (*Oryza sativa* L.) y su inmovilización mediante el uso
de hongos formadores de micorrizas arbusculares.*
Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA).
<https://doi.org/10.21930/agrosavia.analisis.7406382>

Cláusula de responsabilidad: AGROSAVIA no es responsable de las
opiniones y de la información recogida en el presente texto. Los
autores asumen de manera exclusiva y plena toda responsabilidad
sobre su contenido, ya sea este propio o de terceros, declarando
en este último supuesto que cuentan con la debida autorización
de terceros para su publicación. Igualmente, expresan que no
existe conflicto de interés alguno en relación con los resultados
de la investigación propiedad de tales terceros. En consecuencia,
los autores serán responsables civil, administrativa o penalmente,
frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros,
relativa a los derechos de autor u otros derechos que se vulneren
como resultado de su contribución.



https://co.creativecommons.org/?page_id=13

Línea de atención al cliente: 018000121515
atencionalcliente@agrosavia.co
www.agrosavia.co



Contenido

Autores	9
Introducción	15
Capítulo 1. Generalidades del cultivo de arroz y presencia de cadmio en suelos arroceros	19
Taxonomía, descripción botánica y origen del arroz	19
Generalidades del cultivo de arroz	20
Posibles fuentes de contaminación por cadmio	21
Dinámica de cadmio en el sistema suelo-arroz	23
Efectos de la contaminación por cadmio sobre el suelo y las plantas de arroz	27
Mecanismos de toxicidad de cadmio en plantas de arroz	30
Mecanismos de tolerancia del arroz a la presencia de cadmio	30
Capítulo 2. ¿Cómo saber si hay cadmio en suelos arroceros y en plantas de arroz?	31
Protocolo de toma y conservación de muestras de tejidos vegetales de arroz y suelo para determinar el contenido de cadmio en laboratorio	31
Métodos directos de determinación de Cd	36
Preparación de las muestras para análisis de cadmio en matrices de suelo, tejido y grano de arroz	38
Métodos indirectos	39

Capítulo 3. ¿Qué hacer si hay cadmio en suelos y en plantas?	41
Métodos para mitigar la contaminación	41
Capítulo 4. ¿Que son y por qué usar hongos formadores de micorrizas arbusculares en procesos de bioremediación de cadmio?	49
Generalidades	49
Beneficios del uso de HFMA en las plantas	53
Importancia de la diversidad de HFMA para las plantas	56
¿Por qué los HFMA pueden promover la inmovilización de metales pesados?	57
Capítulo 5. Establecimiento de ensayos en vivero para evaluación de cadmio	63
Contaminación de sustratos con metales pesados	63
Multiplicación e inoculación con HFMA	67
Mediciones agronómicas y de simbiosis para evaluar respuesta de las plantas al cadmio y alternativa de biorremediación	75
Medición de la translocación de cadmio en la planta	77
Disposición de residuos contaminados y reducción de riesgos en el manejo de metales pesados	79
Conclusiones	81
Referencias	83

Contenido figuras

Figura 1	Posibles fuentes de contaminación con cadmio	22
Figura 2	Translocación de cadmio en plantas de arroz	26
Figura 3	Efecto de la contaminación por cadmio en suelo y planta	28
Figura 4	Efectos de toxicidad del cadmio en plantas de arroz y mecanismos de tolerancia de la planta al metal pesado	29
Figura 5	Materiales, equipos, herramientas e infraestructura que se requieren para toma y conservación de muestras	32
Figura 6	Métodos de recolección de muestras	34
Figura 7	Análisis químico de cadmio en suelo, planta y grano	37
Figura 8	Métodos no invasivos de identificación de zonas contaminadas. ERT	40
Figura 9	Proceso de simbiosis y estructuras del hongo	50
Figura 10	Efectos de la presencia de metales pesados en suelo y planta, y beneficios de biorremediación con HFMA	52
Figura 11	Distribución de las raíces y de las hifas del hongo en el suelo	55
Figura 12	Asociaciones simbióticas plata-HFMA	55
Figura 13	Mecanismos de biorremediación de cadmio asociados a la simbiosis de plantas con HFMA	58
Figura 14	Proceso de escalamiento de HFMA	68
Figura 15	Aislamiento e identificación de esporas de HFMA	71
Figura 16	Proceso para la tinción diferencial con azul de tripán para cuantificación del porcentaje de micorrización	74
Figura 17	Variables durante el periodo de floración en plantas de arroz bajo condiciones de estrés por presencia de cadmio	76
Figura 18	Variables durante el periodo de madurez fisiológica en plantas de arroz bajo condiciones de estrés por presencia de cadmio	76
Figura 19	Disposición de metales pesados	79

Contenido de tablas

Tabla 1	Instrumentos y materiales requeridos para la preparación de las soluciones de cadmio	64
Tabla 2	Ficha técnica del cloruro de cadmio empleado en evaluaciones de MP	65





Autores

María Margarita Ramírez Gómez

Correo: mmramirez@agrosavia.co

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-7407-7321>

Ingeniera agrónoma de la Universidad Nacional de Colombia, MPhil en Microbiología de Suelos de la University of Wales, Reino Unido, y doctora en Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia. Tiene una amplia experiencia en el estudio de la simbiosis con rizobios y hongos formadores de micorrizas arbusculares. Sus investigaciones parten del aislamiento, la identificación y selección de las mejores interacciones planta-microorganismos en laboratorio, invernadero y campo. Ha liderado la formulación, el escalamiento, el registro y la venta de siete biofertilizantes basados en microorganismos benéficos y ha participado en numerosos proyectos de investigación; asimismo, en la conformación, coordinación y puesta en marcha de los programas nacionales de manejo integrado de suelos y aguas, de recursos biofísicos y en el Banco de Germoplasma de Microorganismos con Interés en Biofertilización, y en la Escuela de Pensamiento en Agricultura Tropical. Es creadora y líder del grupo de investigación Raíces del Futuro y actualmente se desempeña como investigadora PhD senior en el Centro de Investigación Tibaitatá, de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA).

Nesrine Chaali

Correo: nchaali@agrosavia.co

Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-7007-7079>

Ingeniera hidráulica con MSc en Manejo del Recurso Agua y Suelo del Instituto Agronómico Mediterráneo de Bari, Italia. PhD en Física de Suelos con énfasis en Geofísica de la Universidad de la Basilicata, Italia, en convenio con la Universidad de Western Australia (UWA), Perth. Cuenta con una amplia experiencia en la integración de los métodos geofísicos en la agricultura como métodos robustos y no invasivos dirigidos especialmente al estudio del continuo suelo-planta-atmósfera, seguimiento y monitoreo de las propiedades hidrodinámicas del suelo, monitoreo y modelamiento de la respuesta de los cultivos bajo estrés hídrico y salino, seguimiento y modelamiento de la dinámica de metales pesados e hidrocarburos en la matriz suelos-cultivos y evaluación de parámetros electromagnéticos del suelo para la determinación de zonas de manejo a escala de agricultura de precisión. Trabaja principalmente con cultivos transitorios, cacao, frutales y hortalizas. Es investigadora del Centro de Investigación Nataima, de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA).

Diana Paola Serralde Ordóñez

Correo: dserralde@agrosavia.co

Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-6422-5071>

Ecóloga de la Pontificia Universidad Javeriana y máster en Ciencias-Geofísica de la Universidad Nacional de Colombia. Tiene experiencia en la relación planta-microorganismo-ambiente, especialmente en la simbiosis con hongos formadores de micorrizas arbusculares y su respuesta nutricional en diferentes cultivos de interés agrícola y forestal. Ha participado en la evaluación de la capacidad de estos microorganismos como potenciales biocontroladores de enfermedades fitosanitarias, como el ataque por *Fusarium oxysporum* en uchuva, y biorremediadores, por su capacidad para inmovilizar

metales pesados en plantas de cacao y arroz. Además, ha hecho parte de la evaluación de la aplicación de métodos geofísicos en la agricultura como alternativas de bajo impacto para la prospección del subsuelo. En la actualidad, se desempeña como investigadora máster asociada del Centro de Investigación Tibaitatá, de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA).

Andrea María Peñaranda Rolón

Correo: apenarandarolon@gmail.com

Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-1231-646X>

Ingeniera de producción biotecnológica de la Universidad Francisco de Paula Santander y máster en Ciencias Ambientales de la Universidad Jorge Tadeo Lozano. Cuenta con una amplia experiencia en el estudio de hongos formadores de micorrizas arbusculares y rizobios, y en su potencial como biofertilizante en invernadero, vivero y campo. Ha participado en la formulación y ejecución de varios proyectos de investigación en especies frutícolas, leguminosas, forestales y transitorias, como la caña para producción de panela. Su experiencia profesional está enfocada en la evaluación de microorganismos con potencial biofertilizante y su impacto económico y ambiental en diversos cultivos. En la actualidad, se desempeña como investigadora máster del Centro de Investigación Tibaitatá, de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA).

José Isidro Beltrán Medina

Correo: jibeltran@agrosavia.co

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-3395-4877>

Ingeniero agrónomo de la Universidad del Tolima y máster en Fisiología Vegetal de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC). Tiene experiencia en las áreas de ecofisiología, mejoramiento genético, nutrición mineral (biofertilización con microorganismos) y estrés abiótico (metales pesados) relacionadas

con cultivos de cítricos, cacao y transitorios (arroz, algodón y maíz). En la actualidad, está vinculado como investigador máster a la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), en el Centro de Investigación Nataima.

Camilo Ignacio Jaramillo Barrios

Correo: cijaramillo@agrosavia.co

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-8302-2736>

Ingeniero agrónomo de la Universidad de Cundinamarca, especialista en Estadística Aplicada de la Fundación Universitaria Los Libertadores y magíster en Estadística Aplicada de la Universidad Santo Tomás. Tiene experiencia en el diseño y la implementación de experimentos y modelamiento de datos complejos en diferentes áreas del sector agropecuario y agroindustrial. Su línea de investigación está enfocada en estadística espacial, principalmente en geoestadística, aplicación de *machine learning* en agricultura, modelamiento de datos espectrales y delimitación de zonas de manejo por sitio específico. Actualmente, es coinvestigador de proyectos de agricultura de precisión, estudio de metales pesados, arroz por trasplante, interacción enfermedad-insecto, manejo de riego y nutrición en diferentes cultivos. Es investigador máster asociado en el Centro de Investigación Nataima, de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA).

Sofiane Ouazaa

Correo: souazaa@agrosavia.co

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-5301-4639>

Ingeniero hidráulico, magíster en Gestión de Agua y Suelos (Agricultura de Riego) del Instituto Agronómico Mediterráneo de Bari, Italia, y en Ciencia e Ingeniería Agrarias de la Universidad de Castilla-La Mancha, España; doctor en Ciencias Agrarias con énfasis en Riego de la Universidad de Zaragoza con formación en el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), España, y

el Agricultural Research Service - U.S. Department of Agriculture (ARS-USDA), Kimberly-Idaho. Es investigador en el área de manejo integrado del recurso hídrico, y tiene experiencia en el diseño, la optimización y la modelización del agua de riego con los sistemas de riego por aspersión, pivotes centrales y goteo, así como en el aprovechamiento eficiente de recursos de agua y suelo como estrategia de mejoramiento en producción agropecuaria en escenarios de vulnerabilidad climática en los distritos de riego. Actualmente, lidera proyectos en el área de la agricultura de precisión (plataformas UAV, cámara multiespectral, cámara termográfica) y de manejo por sitio específico (determinación de zonas de manejo) en cultivos transitorios (arroz, maíz, algodón). Es investigador PhD del Centro de Investigación Nataima, de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA).





Introducción

El suelo es uno de los recursos naturales fundamentales para el mantenimiento de la vida en el planeta; está formado por una mezcla compleja de minerales, materia orgánica y una red de espacios porosos llenos de agua y aire. El suelo juega un importante papel en la producción de alimentos y el almacenamiento de agua, además de ser hábitat de un sin número de especies macro y microscópicas, incluyendo al ser humano (Joos & De Tender, 2022).

La función y la calidad del suelo pueden ser afectadas por la presencia de varios contaminantes, entre los que se encuentran los metales pesados (MP), que son aquellos elementos cuya densidad es por lo menos cinco veces mayor que la del agua. Los más frecuentes de estos metales son: arsénico (As), cadmio (Cd), cobalto (Co), cromo (Cr), cobre (Cu), hierro (Fe), mercurio (Hg), manganeso (Mn), níquel (Ni), plomo (Pb), estaño (Sn) y zinc (Zn); están distribuidos en pequeñas proporciones en la corteza terrestre y se introducen en los suelos por dinámicas geogénicas relacionadas con meteorización de materiales originales (Shi et al., 2022) o por actividades antropogénicas que incluyen actividades culturales, descargas industriales, minería y emisiones vehiculares (Shi et al., 2019).

La contaminación que generan dichos metales se ha convertido en un problema grave, debido a su carácter acumulativo, su baja biodegradabilidad, su capacidad inadvertida de acumulación en el perfil del suelo hasta concentraciones tóxicas y bioacumulación en organismos vivos, lo cual afecta la salud del ecosistema y, por

supuesto, la humana y la animal. En su relación con los cultivos, los MP se clasifican como esenciales, ya que son requeridos por la mayoría de los cultivos en cantidades muy pequeñas; por ejemplo, el caso de micronutrientes esenciales como el Cu, Fe, Zn (Ferrol et al., 2016) y los no esenciales como Cd, As, Pb. Los últimos no tienen una función biológica; no obstante, son absorbidos y acumulados en la planta porque presentan un comportamiento electroquímico similar a los elementos nutritivos que se necesitan. Sin embargo, su presencia puede ser tóxica y esto afecta el crecimiento y el desarrollo de la planta, debido a la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS); esto puede generar consecuencias detrimentales para las células (Puig & Peñarrubia, 2009).

Algunos cultivos los absorben y acumulan, lo cual causa problemas de contaminación y reduce la inocuidad de productos agrícolas; por ejemplo, las proteínas transportadoras clave involucradas en la absorción de Cd por las raíces del arroz son similares a las de los elementos esenciales, incluidos el Fe, el Mn y Zn (Zhang, Chen et al., 2019).

El arroz (*Oryza sativa* L.) es un producto importante para la seguridad alimentaria a nivel mundial (Nawaz et al., 2022); en efecto, la producción mundial de arroz se estima en 970,4 millones de toneladas, de las cuales Colombia aportó 3,42 millones, equivalentes al 0,35%, y ocupó el puesto 23 (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2021). En cuanto a exportaciones, Colombia exportó \$1,79 millones de arroz durante 2020, y con esto se situó en el número 75 como país exportador de arroz en el mundo. Por su parte, las importaciones, para ese mismo año, fueron de \$146 millones; de esta manera, Colombia se posicionó en el puesto 50 como país importador de arroz a nivel global (The Observatory of Economic Complexity [OEC], 2022). En 2021, el consumo per cápita de arroz en Colombia fue de 42,9 kg por persona (Federación Nacional de Arroceros [Fedearroz], 2022).

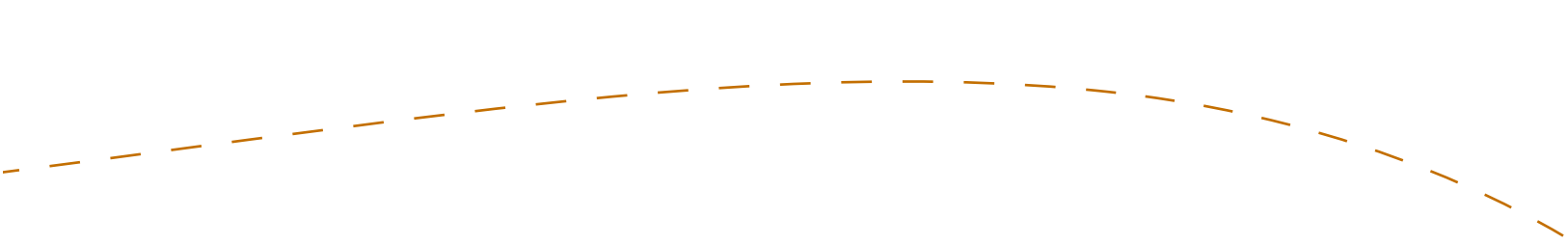
Es preocupante que un cultivo tan importante para la seguridad alimentaria mundial y nacional como es el arroz se vea afectado por la presencia de MP , en específico de Cd . En sus diferentes etapas de crecimiento, está expuesto a la acumulación de MP , provenientes de fuentes antropogénicas o naturales (Mosquera González, 2020). A nivel mundial se encontró que en África Oriental el contenido de Cd en grano era el más bajo, con una mediana tanto para Malawi como para Tanzania de $4,9 \mu g/kg$, comparado con China, que presentó la mediana más alta: $69,3 \mu g/kg$. En América, la presencia de Cd en grano de arroz se consideraba relativamente baja, en contraste con los niveles de los otros continentes. En Bangladesh, país con un gran consumo de arroz, los niveles de Cd son altos, lo que conduce a que la población tenga una alta exposición a este metal. En un estudio que evaluó las concentraciones de Cd en 2.270 muestras compradas a minoristas en 32 países, que abarcan 6 continentes, se encontró que el 5 % de la cadena de suministro mundial superó el estándar europeo para arroz pulido de $200 \mu g/kg$ (Shi et al., 2020).

En Colombia, para 2021, los departamentos de Casanare (35,33 %), Tolima (16,31 %), Meta (13,32 %) y Huila (5,82 %) presentaron las mayores áreas de siembra (Departamento Administrativo Nacional de Estadística [DANE], 2021a, 2021b); además, los suelos en estos departamentos tienen presencia de Cd (Mahecha Pulido et al., 2017; Torrente Trujillo et al., 2020). De esta forma, los cultivos de arroz que se siembren en suelos contaminados absorben MP , lo cual genera riesgos para la seguridad alimentaria y la salud de los ecosistemas (Urango Baquero & Marrugo Negrete, 2017).

A pesar de la relevancia que este tipo de estudios representa, los avances en Colombia en este sentido son insuficientes para abordar la magnitud de esta problemática. En los suelos arroceros de los principales departamentos productores, se desconoce a profundidad la forma de identificar zonas contaminadas por Cd , los efectos de la acumulación en la planta, las posibles fuentes y los orígenes de contaminación, y el control que se pueda tener para disminuir los niveles de acumulación en el producto final.

Por lo anterior, en Colombia es necesario conocer de forma detallada el problema de contaminación por Cd y plantear soluciones de remediación y biorremediación, partiendo de la base de que los contenidos, las dinámicas y la bioacumulación de MP son variables dependiendo de las condiciones edafoclimáticas, del manejo de los cultivos y de la especie vegetal que se encuentra en el suelo contaminado (Sharpley et al., 2003; Cui et al., 2007; Hu et al., 2019).

El presente manual está constituido por cinco capítulos que tienen el propósito de orientar a los investigadores, al gremio arrocero y demás interesados en las metodologías para el diagnóstico y la remediación de suelos arroceros contaminados con Cd y la evaluación del efecto en la inmovilización de este metal pesado en plantas de arroz, mediante el uso de hongos formadores de micorrizas arbusculares. En el primer capítulo, se presentan las generalidades del cultivo de arroz y de la presencia de Cd en suelos arroceros, que incluyen la descripción botánica y taxonómica, y el origen del arroz, las posibles fuentes, la dinámica y los efectos de la contaminación por Cd en el sistema productivo (suelo-planta), además de mecanismos de toxicidad y tolerancia al estrés generado por la absorción de Cd. En el segundo capítulo, se presenta una orientación sobre las metodologías para la toma de muestras de suelo, tejidos vegetales y granos de arroz para análisis de contenidos de Cd en laboratorio. En el tercer capítulo, se muestran algunas de las diferentes alternativas propuestas para la mitigación de la presencia de Cd en planta y suelo. En el cuarto capítulo, se aborda detalladamente el uso de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) como inmovilizadores de MP en el cultivo del arroz. Y el quinto capítulo evidencia los pasos para el establecimiento y el manejo de experimentos y evaluación de efectos del Cd.



Capítulo 1. Generalidades del cultivo de arroz y presencia de cadmio en suelos arroceros

Taxonomía, descripción botánica y origen del arroz

El arroz pertenece a la familia de las gramíneas. El género *Oryza* tiene veintiún especies silvestres y dos especies cultivadas; nueve de las especies silvestres son tetraploides y las demás son diploides (Khush, 2000). Su origen es asiático; sin embargo, existen dos lugares más precisos respecto a su origen: el oriente de la antigua península de Indochina (hoy ocupada por Vietnam, Camboya y Laos) y el valle del río Yang-Tse Kiang, en China (Degiovanni Beltramo et al., 2010). En esta gramínea anual se destacan los tallos (cilíndricos y huecos, con nudos y entrenudos), las hojas de lámina plana y angosta, unidas al tallo mediante vainas y la inflorescencia en panícula (Degiovanni Beltramo et al., 2010).

La anatomía de las raíces de la planta de arroz es similar a la de las plantas acuáticas, aunque tienen mayor abundancia de pelos absorbentes. En las hojas, se diferencian dos partes: la vaina y la lámina. La vaina se caracteriza por las lagunas aeríferas que tiene en el mesófilo, cuya importancia aumenta a mayor altitud del sitio de cultivo. Por su parte, la panícula soporta las estructuras reproductivas de la planta y desarrolla actividad fotosintética. Por su parte, el fruto del arroz es una cariósida, que consta de endospermo y de varias capas exteriores de células: la aleurona, el tegumento y el pericarpio (Degiovanni Beltramo et al., 2010).

Generalidades del cultivo de arroz

Los cereales, dentro de estos el arroz, han acompañado a la humanidad en su desarrollo. A nivel nutricional, el arroz blanco presenta una gran fuente de calorías, pero también provee importantes minerales (por ejemplo, magnesio [Mg], Mn, selenio [Se], hierro (Fe) y fósforo [P]) y vitaminas (como tiamina, niacina, ácido fólico). Los fitoquímicos bioactivos incluyen polifenoles, antocianinas y flavonoides. El salvado de arroz es rico en compuestos como γ -orizanol, tocoferol, tocotrienol, aminoácidos y fibras dietéticas (Ravichanthiran et al., 2018).

La producción mundial de arroz es de 2.768 millones de toneladas (FAO, 2022), y existe un área sembrada de 165 millones de ha; India es el mayor productor (43,7 millones de ha), seguido por China (31 millones de ha) e Indonesia (14 millones de ha). Durante 2021, en América Latina, Brasil tuvo la mayor área (1.679.497 de ha) y Colombia contó con una superficie de 544.635 ha, con una producción que se orientó fundamentalmente al consumo interno (Fedearroz, 2021; Embrapa Arroz e Feijão, 2022).

El rendimiento promedio mundial de arroz Paddy seco se estimó en 4,6 t/ha (2012-2017), con un máximo de 10,2 t/ha en Australia, mientras que en Colombia el rendimiento es de 4,8 t/ha, cifra que deja al país en el puesto 34 a nivel mundial (Becerra et al., 2020). En Colombia, el área sembrada de arroz (544.635 ha) es la tercera en superficie después del café (840.111 ha) y del maíz (576.230 ha), y se encuentra en 211 municipios de 23 departamentos. Los departamentos con mayores áreas de siembra son Casanare, Meta, Tolima y Huila; en estos dos últimos, se encuentra la producción asociada a distritos de riego (Fedearroz, 2011, 2021; Federación Nacional de Cultivadores de Cereales, Leguminosas y Soya [Fenalce], 2022; Federación Nacional de Cafeteros [FNC], 2022).

La producción de arroz se realiza a partir de diversos tipos de manejo: el primero se clasifica como sistema mecanizado y manual, dependiendo del tipo y de la intensidad de uso de maquinaria, y el segundo es definido como sistema secano o de riego, dependiendo

de la forma y cantidad de agua suministrada al cultivo. La mayor siembra en el país se lleva a cabo durante el primer semestre del año (65 %); así, se encuentra un porcentaje de secano manual del 4 %, cerca del 50 % bajo riego y el restante bajo otros sistemas de producción. Aunque el área de arroz secano (320.772 ha) a nivel nacional es mayor que la de riego (223.864 ha), la producción de arroz riego es superior (1.725.319 t/año) a la de secano (1.601.210 t/año) (Fedearroz, 2021). El secano manual es un sistema en el cual, además de la no aplicación de riego, no se emplea maquinaria para las labores de preparación del terreno, siembra, aplicaciones de agroquímicos y cosecha. En algunas zonas, estas siembras se hacen en las vegas de los ríos para aprovechar la alta humedad de la zona y la fertilidad de los sedimentos. La productividad de este sistema es baja (1,8 t/ha), se emplean variedades tradicionales o semilla no certificada y lo usan pequeños productores, principalmente para pancoger.

Para el caso del arroz secano mecanizado, para el cual se utiliza maquinaria en las labores (preparación, siembra, aplicaciones y cosecha), no se aplica riego, ni está el cultivo bajo inundación. Por lo general, se siembra en zonas donde no hay disponibilidad de distritos de riego para el manejo bajo inundación y por ello se han desarrollado variedades con mayor tolerancia a sequía. Existe otro sistema denominado secano favorecido que se usa en zonas con alta precipitación, lo que permite mantener el lote inundado sin necesidad de riego. Por su parte, el arroz riego requiere la aplicación de agua, especialmente en germinación, floración y llenado de grano (Becerra et al., 2020).

Posibles fuentes de contaminación por cadmio

El Cd, en su forma natural en la tierra, se encuentra principalmente en el estado de oxidación Cd^{2+} . La aplicación continua de diferentes fertilizantes como el superfosfato afecta su disponibilidad y hace que las plantas de arroz no lo absorban de manera correcta (Huang

et al., 2018). Asimismo, los fertilizantes que se obtienen a partir de minerales de fosfato comprenden aproximadamente el 56 % de la entrada total de Cd de origen antropogénico. Otras rutas de entrada de Cd en suelos arroceros se pueden dar a través de prácticas agrícolas como la aplicación de fungicidas que contienen este metal, aplicación de lodos de depuradora, riego con aguas contaminadas y del agua que se libera debido a las explotaciones mineras, lo cual podría estar causando una contaminación masiva.

La deposición atmosférica aporta el 40 % del contenido de Cd proveniente de actividades antropogénicas (Liang et al., 2017). Además, la lluvia ácida puede incrementar la disponibilidad o absorción de Cd por su efecto en la variabilidad del pH del suelo (Yang et al., 2018) (figura 1).



Dinámica de cadmio en el sistema suelo-arroz

Tanto las plantas como los microorganismos han desarrollado mecanismos para la obtención de nutrientes y, de forma similar, han desplegado estrategias para prevenir toxicidad de algunos metales. La absorción de MP considera algunos transportadores para translocación del metal con diferente ubicación a nivel celular, el sustrato sobre el que actúan y los patrones de expresión (Colangelo & Guerinot, 2006).

Algunos de esos mecanismos están relacionados con la modificación del entorno de la rizósfera mediante la excreción de compuestos orgánicos (Sharma et al., 2007), lo cual permite una mayor disponibilidad de los nutrientes presentes en el suelo (Sylvia et al., 2005), que incluyen procesos de quelación y acidificación de la rizósfera, lo que disminuye la movilidad de MP en exceso (González Guerrero, 2005).

La absorción del Cd por la planta de arroz depende de varios factores y componentes ecofisiológicos, los cuales, a su vez, dependen de las características físicas del terreno y de las características morfológicas de la planta (Sebastian & Vara Prasad, 2014). Los componentes físicos que influyen en la absorción del Cd son principalmente el potencial redox del suelo, pH, oligoelementos esenciales y estado y contenido de materia orgánica en el suelo (Jung, 2008).

Debido a su alta movilidad, el Cd ingresa fácilmente a las raíces a través de la epidermis y puede llegar al xilema vía apoplasto o simplasto (Ronzan et al., 2018). Los procesos clave de transporte de Cd desde el suelo hasta los granos de arroz son: primero, la absorción por la raíz y la carga de xilema (translocación de raíz a brote); segundo, redireccionamiento del transporte a través de transferencia intervascular en los nudos de la planta, y tercero, la movilización a las hojas a través del floema (Luo et al., 2022) (figura 2). El arroz permanece durante un largo periodo bajo

condiciones de anoxia, salvo en el momento de la cosecha, cuando está en condiciones aeróbicas; esto permite un incremento de la dinámica del potencial redox del suelo, momento en el cual el Fe se oxida (Magneschi & Perata, 2009).

Las características morfológicas del arroz favorecen la toma de Cd, debido a que tiene un sistema radicular fibroso (Coudert et al., 2010). Los ácidos orgánicos y la solubilización de Cd pueden favorecer la toma de Cd por las células de las raíces (Römheld, 1991; Clemens et al., 2002). La presencia de Fe y Mn en la matriz del suelo facilita la precipitación de la fracción soluble de Cd en el suelo (So & Ringrose-Voase, 2000). En el caso del arroz, la placa formada por Fe y Mn que se precipita en el apoplasto de la raíz cuando se desarrolla el tejido del aerénquima tiene un alto potencial redox; esto hace que durante la época que el arroz está bajo inundación, el Cd no esté disponible para ser translocado en el interior de la raíz (Liu et al., 2008). Los bajos coeficientes de difusión de Cd en sistemas acuosos indican que su toma por la raíz depende de la transpiración y por ello el manejo adecuado del agua es importante en el control de la absorción de Cd por la planta (Lux et al., 2010).

La primera barrera para el ingreso de nutrientes y metales es la pared celular y su composición varía dependiendo de la célula, su afinidad por cationes y retención de algunos MP (Wang & Chen, 2009). Existen diferentes transportadores para la absorción de micronutrientes en el interior de la célula, incluyendo el Cd, dentro de los cuales están los ZIP (*Zn and Fe transporters*), que introducen cationes divalentes en el citoplasma; los CDF (*cation diffusion facilitator*), los cuales reducen la concentración de cationes divalentes en el citoplasma; los tipo primario ABC (*ATP binding cassette*), que utilizan la hidrólisis de ATP para movilizar sustancias que incluyen lípidos, péptidos, azúcares y complejos de glutatión (Rodríguez-Serrano et al., 2008).

Las plantas de arroz absorben el Cd de forma activa, principalmente por las raíces, por la vía simplásmica, con consumo de energía

mediado por transportadores de Cd, dentro del cilindro vascular por el plasmodesmo; así, las raíces son el primer contacto con el Cd y, a su vez, la primera barrera para impedir el ingreso del metal. De esta manera, es mucho mayor el contenido de Cd en raíz que en la parte aérea de la planta. El Cd también puede ser absorbido pasivamente a través de compartimientos extracelulares como el espacio intercelular, lo cual ocurre cuando la concentración de Cd es mayor en el suelo que en la raíz. El Cd puede ser almacenado en la vacuola que tiene forma de quelato o continuar al xilema para ingresar a la parte aérea de la planta (Zhang et al., 2022).

De manera similar, el Cd se mueve en el interior de la planta desde la raíz hasta la parte aérea, y de la parte aérea al grano. Los transportadores que están involucrados en este proceso son de la familia ZIP, y están localizados en el plasma de la membrana de la raíz y en los tejidos del tallo, lo que permite el paso del Cd. Este transporte se realiza a través del xilema y muy poco a través del floema (Zhang et al., 2022).

Para la retención de MP a nivel citoplasmático, la quelación juega un papel muy importante para el direccionamiento o la reserva de estos. El glutatión asociado al potencial redox del citoplasma es fundamental en la eliminación de compuestos tóxicos mediante el proceso de conjugación (González Guerrero, 2005). A través de las fitoquelatinas, reguladas por MP, se usan transportadores específicos en el citoplasma para retirar las fitoquelatinas que están unidas a los MP (Yadav, 2010). En cuanto a las metalotioneinas (proteínas de menor tamaño 6.000-7.000 Da), estas posibilitan la quelación de iones metálicos y la protección contra agentes oxidantes (González Guerrero, 2005); principalmente, se acumulan en el citoplasma y requieren otras proteínas como las metalochaperonas, que sirven como impulsoras del metal para que se transfiera con rapidez.

Muchas de las funciones fisiológicas de la planta se afectan por la presencia de Cd, lo que se puede observar en la respuesta de la planta frente a estreses abióticos (Gill & Tuteja, 2011). Uno de los síntomas es la pérdida de pigmentos, ya que se alteran procesos como la

The diagram illustrates the mechanism of Cd translocation in rice plants. It shows two rice plants. The left plant is labeled 'Rizósfera' (rhizosphere) and shows Cd being immobilized by organic matter and pH, leading to 'Cd biodisponible' (Cd bioavailable). The right plant is labeled 'Cd inmovilizado' (Cd immobilized) and shows 'Abсорción y translocación de Cd' (Cd absorption and translocation). A vertical arrow labeled 'Traslocación' (translocation) points from the roots to the grain. Chemical structures of Cd complexes are shown above each plant.

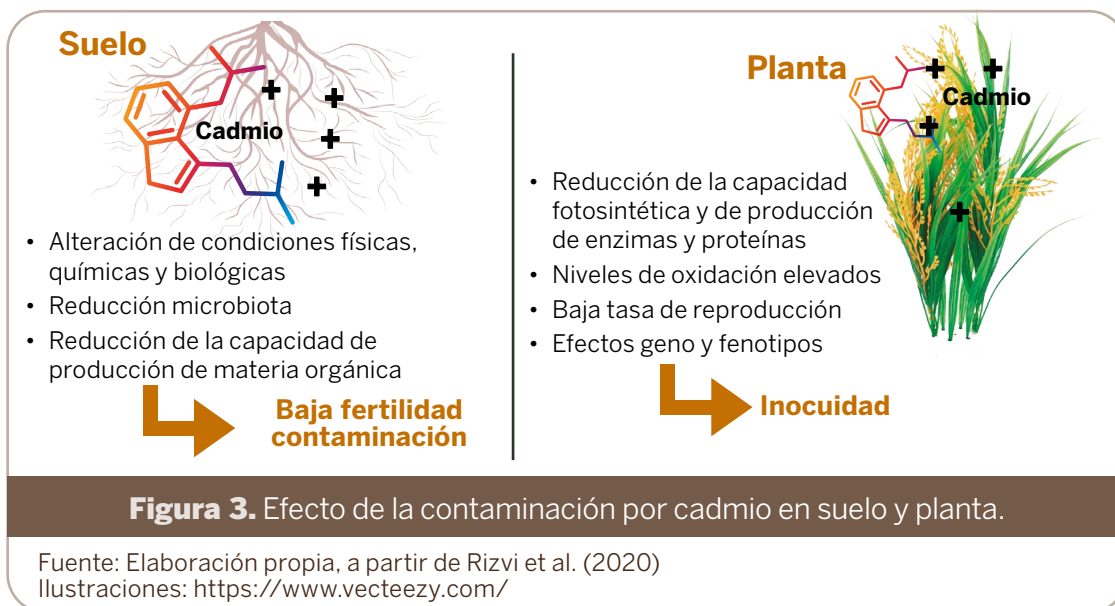
Figura 2. Translocación de cadmio en plantas de arroz.

Fuente: Elaboración propia, a partir de Liu et al. (2020)
Ilustraciones: <https://www.vecteezy.com/>

Efectos de la contaminación por cadmio sobre el suelo y las plantas de arroz

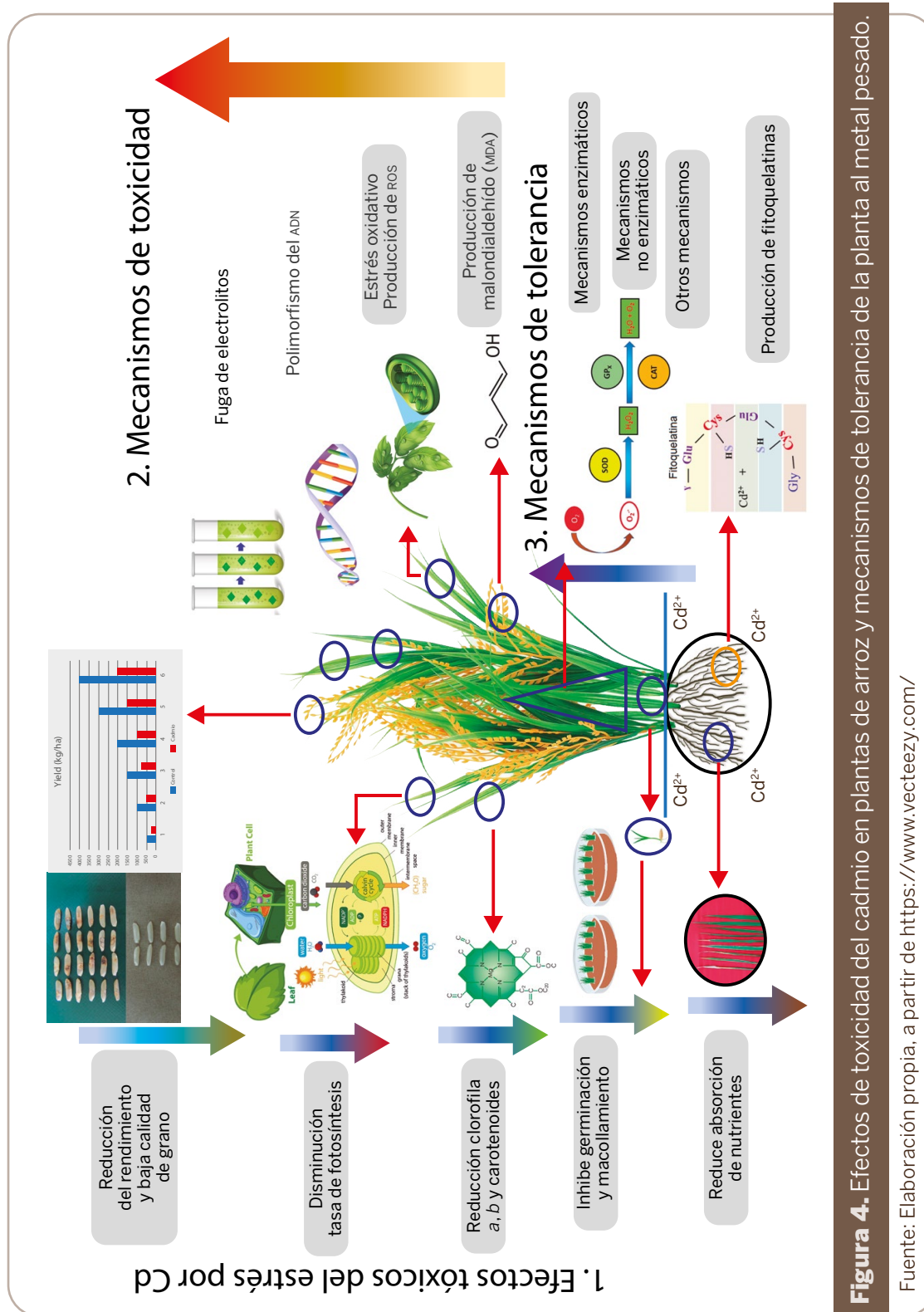
En términos generales, las funciones físicas, químicas y biológicas del suelo se ven afectadas por la presencia de Cd, lo que causa una degradación del sistema y, por lo tanto, se reduce la productividad de este importante recurso natural (figura 3).

La toxicidad de Cd afecta el metabolismo y la fisiología de la planta de arroz e incluso puede causar su muerte (Raven Willwater, 2018). Los efectos fisiológicos se observan en la reducción de crecimiento y en el desarrollo de las plantas, lo que afecta la longitud de raíz, el área foliar y la biomasa, así como la reducción en producción de frutos; esto se ha observado en pimentones, rábano, soja y lechuga (Hernández-Barnada et al., 2019). En alfalfa, por ejemplo, se encuentran reducciones en crecimiento en acumulación de materia seca de raíz, parte aérea y total, de 82 % y 87 %, al aplicar 5 mg/kg de Cd (Raven Willwater, 2018). Asimismo, se ha observado una reducción en la actividad fotosintética, que se refleja en reducciones del contenido de clorofila y carotenoides, y en reducción de la tasa de fotosíntesis neta, en cultivos de tomate, arveja, papa y soja (Hernández-Baranda et al., 2019); también se presenta interferencia en absorción y transporte de nutrientes, lo cual afecta la toma de N y su fijación simbiótica en cultivos de soja (Balestrasse et al., 2003). De la misma manera, hay reducciones en K, P, Ca, Mn, Zn, S, B, en arveja y tomate; reducciones de Mn e incremento de Zn en soja, y aumento de P, K, Ca, Mg, Fe y Zn en cebolla (Hernández-Baranda et al., 2019). A nivel fisiológico, el Cd induce estrés oxidativo de manera indirecta al elevar la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) o al disminuir la defensa antioxidante, lo que posiblemente daña las macromoléculas como los lípidos.



Huybrechts et al. (2020) demostraron que las plantas de arroz expuestas a Cd bajo condiciones controladas, en Bélgica, presentaron una reducción en la producción de biomasa del 24 % al 39 % en 10 y 50 μm Cd, así como hojas más cortas y una afectación mayor en la biomasa radicular. Los principales efectos de la acumulación de Cd, específicamente en plantas de arroz, están representados por una disminución en el rendimiento del grano, dado por un menor llenado, debido a la baja fertilidad del polen y la inmovilización del almidón; de igual forma, la calidad del grano se ve afectada por la alteración de algunas propiedades como la producción de amilasa, la dureza, la gelatinización, la forma y el tamaño del grano.

Además, las plantas expuestas a niveles tóxicos de Cd tienen complicaciones en los procesos fotosintéticos por alteraciones en la antena colectora lumínica (Raven Willwater, 2018). También se evidencia una reducción en el tamaño y tiempo de aparición de la hoja, siendo mayor en plantas expuestas a niveles de 50 μm de Cd (figura 4). En cuanto a los elevados contenidos de Cd, estos inhiben la germinación de la semilla por reducción de la absorción de agua (imbibición) y nutrientes; asimismo, se alteran los procesos de respiración, diferenciación celular y metabolismo del N, que inciden en la emisión de macollas (Raven Willwater, 2018).

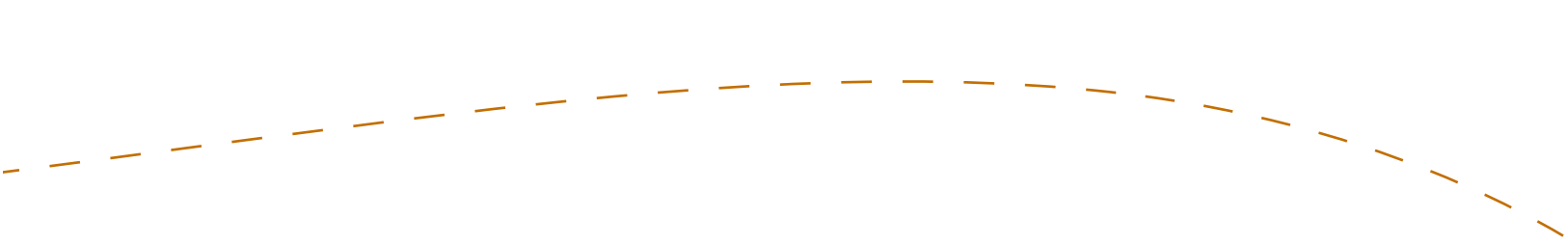


Mecanismos de toxicidad de cadmio en plantas de arroz

Existen mecanismos de toxicidad relacionados con el estrés por altos contenidos de Cd a nivel de planta; por ejemplo, la fuga de electrolitos, que es la permeabilidad generada por pérdida de la estructura de la membrana y de las paredes celulares que alteran las relaciones hídricas y la distribución de los micro y macronutrientes, el polimorfismo del ADN, generado por las roturas en las cadenas de ADN, la formación de micronúcleos y las aberraciones cromosómicas (Rahman et al., 2021). Igualmente, se reporta estrés oxidativo por producción de especies reactivas de oxígeno “ROS” ($O_2^{\bullet-}$, $HO^{\bullet-}$ y H_2O_2) que se generan por la producción indirecta, debido al debilitamiento de barreras enzimáticas y no enzimáticas de los cloroplastos, peroxisomas y mitocondrias. Incluso, se genera una sobreproducción de malondialdehído (MDA) producto de la peroxidación lipídica, que expresa el daño oxidativo, y su concentración indica el grado y la duración del estrés.

Mecanismos de tolerancia del arroz a la presencia de cadmio

Los mecanismos de tolerancia al estrés por Cd más comunes en plantas de arroz son los enzimáticos, los cuales generan producción de las enzimas superóxido (dismutasa [SOD], catalasa [CAT], ascorbato peroxidasa [APX] y glutatión reductasa [GR]), y los no enzimáticos, que estimulan la producción de ascorbato y glutatión (antioxidantes del ciclo del ascorbato-glutatión), así como la producción de carotenoides y α -tocoferol (Sohag et al., 2020). De igual forma, existen otros mecanismos que estimulan el sistema de defensa antioxidante, como la osmorregulación, la homeostasis iónica, la sobreproducción de moléculas de señalización y la regulación de crecimiento (PGR) (Lakaew et al., 2021). Lo anterior genera una producción de fitoquelatinas que participan en la retención del Cd en las raíces a través de la quelación con compuestos tioles no proteicos (NPT) (Pál et al., 2017).



Capítulo 2. ¿Cómo saber si hay cadmio en suelos arroceros y en plantas de arroz?

Protocolo de toma y conservación de muestras de tejidos vegetales de arroz y suelo para determinar el contenido de cadmio en laboratorio

En este apartado, se presenta un protocolo de campo válido para realizar la toma y conservación de muestras para la determinación de contenidos de Cd en tejido, raíz, tallo, hojas, grano y suelo.

Consideraciones previas

Dependiendo del objetivo del estudio, de la distribución de contaminación por Cd y de los niveles de concentración encontrados en el lote de estudio, se tomará la decisión del nivel de detalle de muestreo. En la figura 5, se observan los materiales, la infraestructura, las herramientas y los equipos requeridos para toma y conservación de muestras. Los materiales necesarios para llevar a cabo estos muestreos son: costal de polipropileno con capacidad para 50 kilos, bolsas de papel kraft, cinta de enmascarar, nevera refrigerante, bolsas herméticas con capacidad para 1 kg, bolsas de polietileno y marcadores. La infraestructura necesaria para el procesamiento de estas muestras está compuesta por la casa de mallas y el laboratorio de química analítica. En cuanto a las herramientas, se usan la pala, la espátula y el cuchillo, en el caso de muestras de suelos, y la hoz para muestras de grano y tejido. Dentro de los principales equipos se tienen el GPS, el medidor de pH y la desgranadora.

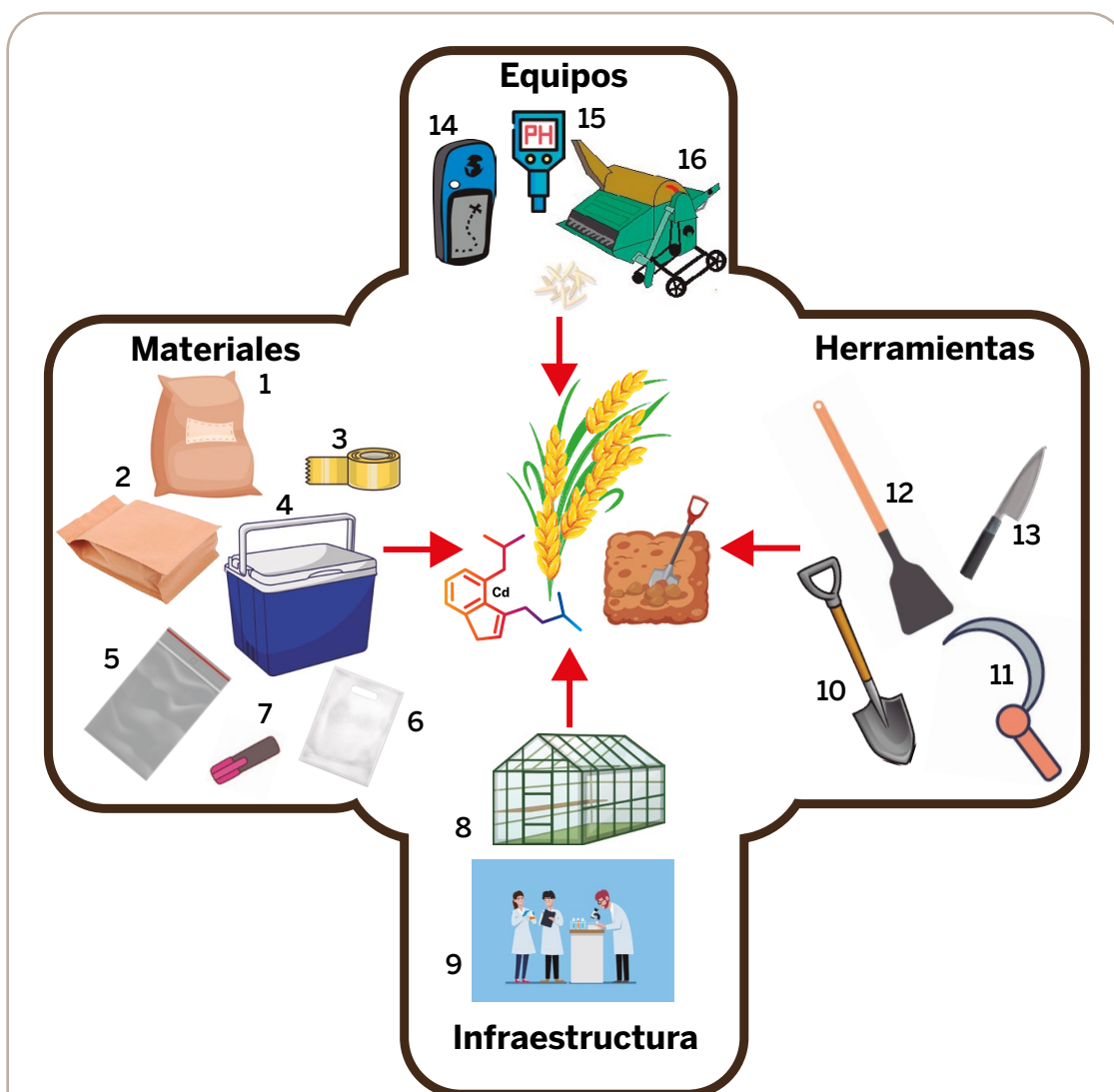


Figura 5. Materiales, equipos, herramientas e infraestructura que se requieren para toma y conservación de muestras.

Nota: Materiales: 1. Costal de polipropileno con capacidad para 50 kilos; 2. Bolsa de papel kraft; 3. Cinta de enmascarar; 4. Nevera refrigerante; 5. Bolsas herméticas con capacidad para 1 kg; 6. Bolsas de polietileno; 7. Marcadores. Infraestructura: 8. Casa de mallas; 9. Laboratorio de química analítica. Herramientas: 10. Pala; 11. Hoz; 12. Espátula; 13. Cuchillo. Equipos: 14. GPS; 15. Medidor de pH; 16. Desgranadora.

Fuente: Elaboración propia

Algunas imágenes se tomaron de <https://www.vecteezy.com/>

En el momento de realizar los muestreos de suelo y de tejido vegetal de arroz, hay que tener en cuenta las siguientes consideraciones:

- **Georreferenciación:** verificar las coordenadas geográficas para el punto de muestreo y registrar el estado fenológico del cultivo, el cual debe encontrarse en grano pastoso blando o madurez fisiológica.
- **Rotulado de muestras:** cada muestra debe ir identificada con el número del muestreo y la coordenada geográfica.
- **Número de muestras:** tomar submuestras de suelo y tejido (raíz, tallo, hojas y grano) por lote de producción, dependiendo de su tamaño.
- **Topografía del lote:** el grado de pendiente del lote determina el submuestreo, y hace énfasis en las zonas de entrada y salida del riego, tomando mínimo una submuestra en dichos sitios.

Muestreo en campo

En la figura 6, se evidencian diferentes distribuciones de muestras en un lote, dependiendo de las características topográficas, del paisaje y de los niveles de contaminación. Cuando un lote presenta una topografía plana u homogénea se puede utilizar un muestreo aleatorio o en cuadrícula. Cuando presenta varios tipos de relieve o de topografía es más conveniente usar un muestreo estratificado, en zigzag o en X, con el fin de tener una muestra representativa del lote.

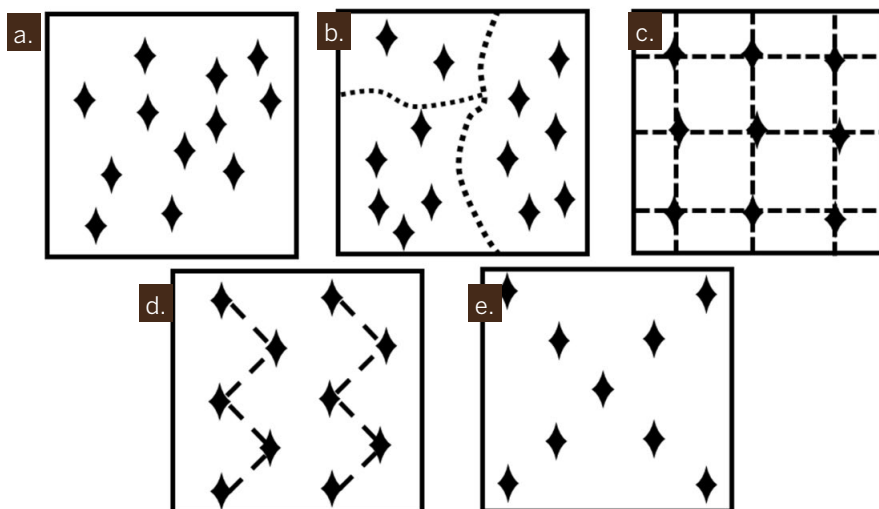


Figura 6. Métodos de recolección de muestras. a. Muestreo aleatorio; b. Muestreo estratificado; c. Muestreo en cuadrícula; d. Muestreo en zigzag; e. Muestreo en X.

Fuente: Elaboración propia

Se toma una muestra de suelo compuesta (por lote), a una profundidad de 0 a 20 cm del perfil de suelo comprendido en la zona radicular. Se recomienda coleccionar entre 3 y 5 submuestras por cada punto, las cuales se mezclan para tener una muestra compuesta final con un peso de 1000 g en seco. Por lo anterior, la muestra de campo debe tener un aproximado de 2000 g de suelo saturado o semisaturado.

Preparación de las muestras de suelo

El secado de la muestra se realiza bajo cubierta (casa de malla) o en un horno a una temperatura no mayor de 40 °C, para no interferir con los resultados del contenido de Cd en la muestra. El tiempo de secado de la muestra depende de su humedad inicial y se considera seca cuando se logra un peso estable. Para la preparación y el empaque de la muestra en seco, se debe desterronar y mezclar el suelo de manera uniforme; luego, se pasa por un tamiz de 2 mm, se realiza un empaque de 1.000 g de la muestra en doble bolsa plástica hermética y se guarda una contramuestra de 250 g.

Muestreo y preparación del tejido (tallo, hojas y raíz)

Es necesario verificar el estado físico de las plantas; en lo posible, deben estar libres de plagas y enfermedades a nivel de tallo, hojas y panícula. Se realiza un corte con hoz a una altura de 5 a 10 cm a partir del suelo, tomando un aproximado de plantas equivalente a un marco de 30 cm x 30 cm. Estas se deben guardar en un costal de polipropileno, el cual va con el mismo rótulo indicado para el suelo. Las muestras de tallo y tejido se ponen al aire libre para secar la humedad de campo (24 horas) y luego se realiza un desgrane mecánico o manual, dependiendo de la disponibilidad del equipo.

Posteriormente, se toma una porción de tallos y hojas en relación 50:50 con un peso aproximado de 1.200 g, para secar en un horno por 72 horas a una temperatura de máximo 60°C. Luego, se toma la muestra y se muele en un molino de martillo con un tamaño de criba de 2 mm; se mezcla y se pesa una cantidad de 500 g por muestra, que deberá ser empacada en una bolsa plástica hermética. Además, se debe guardar una contramuestra de 250 g, y ambas deben ir rotuladas con la información del punto de muestreo.

Si se requiere muestra de raíz, esta se toma, se retira el suelo alrededor, se pesa y se lava. Es conveniente tomar la muestra de suelo y de tejido en el mismo sitio en caso de que sea necesario hacer un análisis de correlación entre los contenidos de Cd en suelo y el Cd que es tomado por la planta. Si se quiere analizar el enriquecimiento de Cd en la planta, se deben tomar muestras separadas de raíz, tallo, hojas y grano. Cuando se realiza un análisis global con el fin de conocer si hay presencia y absorción de Cd, se pueden tomar muestras de suelo y de grano, y posteriormente detallar los muestreos en los diversos órganos de la planta.

Muestreo y preparación del grano integral

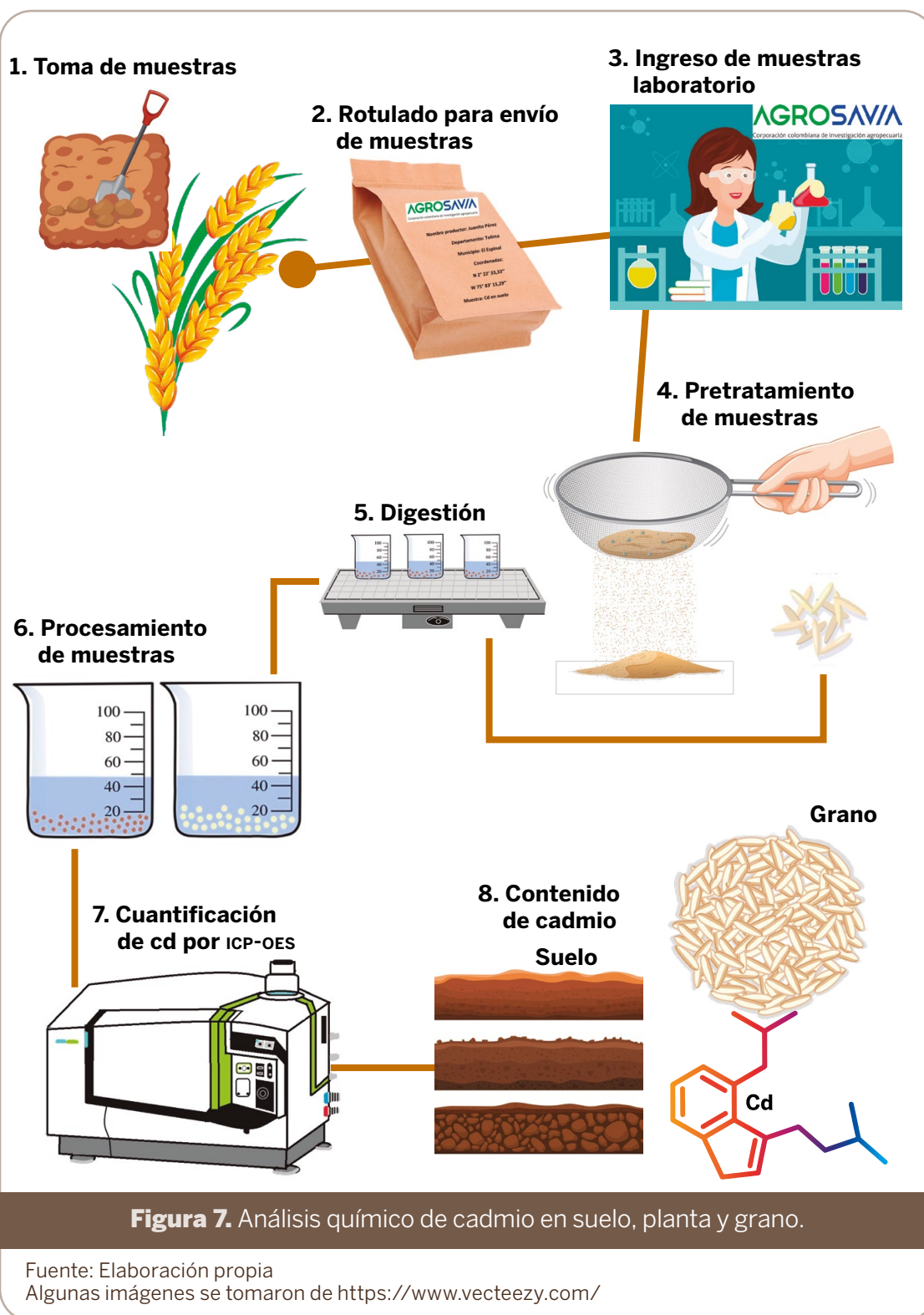
El grano Paddy, que se obtuvo de la muestra de tejido, se pone a secar a temperatura ambiente hasta lograr una humedad entre el 14 % y el 18 %. Luego, se retira la cascarilla del grano integral, y se mezcla y se pesa una cantidad de 500 g del grano resultante.

Además, es importante guardar las contramuestras de 250g del grano. Las muestras deben ir rotuladas con la información del punto de muestreo.

Métodos directos de determinación de Cd

Existen algunas técnicas relacionadas con determinaciones de Cd, que se desarrollaron durante las últimas décadas para analizar su contenido en diferentes productos agrícolas (suelo, tejido, grano, etcétera). Estos métodos incluyen medidas de susceptibilidad magnética (Hanesch & Scholger, 2002), técnicas que emplean gradientes en películas delgadas analizadas por espectrometría de emisión atómica de plasma acoplado (DGT/ICP-AES, por sus siglas en inglés) (Gramlich et al., 2018) y mediciones de fluorescencia de difracción por radiografía portátil (Adler et al., 2020).

Últimamente, la espectroscopia de emisión óptica o masa con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES, ICP-MS, por sus siglas en inglés) es una de las técnicas más usadas a nivel mundial para determinar MP como el Cd, por su alta sensibilidad de detección en una gran variedad de matrices. La ventaja del ICP-MS es que puede detectar niveles de MP por debajo de $1\mu\text{g/L}$ (Smirnova et al., 2021), lo cual no se puede obtener con otros métodos, sobre todo cuando se trata de matrices complejas con altos niveles de sal. Hoy en día, es una técnica sólida y muy usada en muchos laboratorios para realizar análisis rutinarios (Jiménez Heinert et al., 2020). Algunas de las áreas que emplean esta técnica son: agricultura y alimentos, geología y aguas. Para asegurar la adecuada determinación de metales por ICP-OES, las matrices analizadas deben digerirse previamente; por lo tanto, es necesario un método de digestión que produzca una mineralización completa de la muestra con la menor pérdida (Rodushkin et al., 1999). Durante el proceso de determinación de MP (figura 7) y con el fin de seleccionar el mejor método de análisis, se debe considerar una pregunta muy importante: ¿cuál es el propósito del estudio?



Conocer el tipo de información requerida ayuda en el momento de elegir los métodos analíticos que son aptos para el propósito. Es posible que se necesite considerar muchos otros factores al planificar un análisis, como los que se mencionan a continuación, aunque no necesariamente se limita a estos:

- Logística de muestreo (por ejemplo, acceso al sitio, régimen de muestreo, seguridad).
- Conservación, almacenamiento y preparación de muestras.
- Número de muestras por medir.
- Concentraciones de muestras por medir.
- Precisión y exactitud requeridas.
- Disponibilidad de aparatos e instrumentación de laboratorio.
- Costo de análisis.

Preparación de las muestras para análisis de cadmio en matrices de suelo, tejido y grano de arroz

Mineralización de muestras por digestión ácida

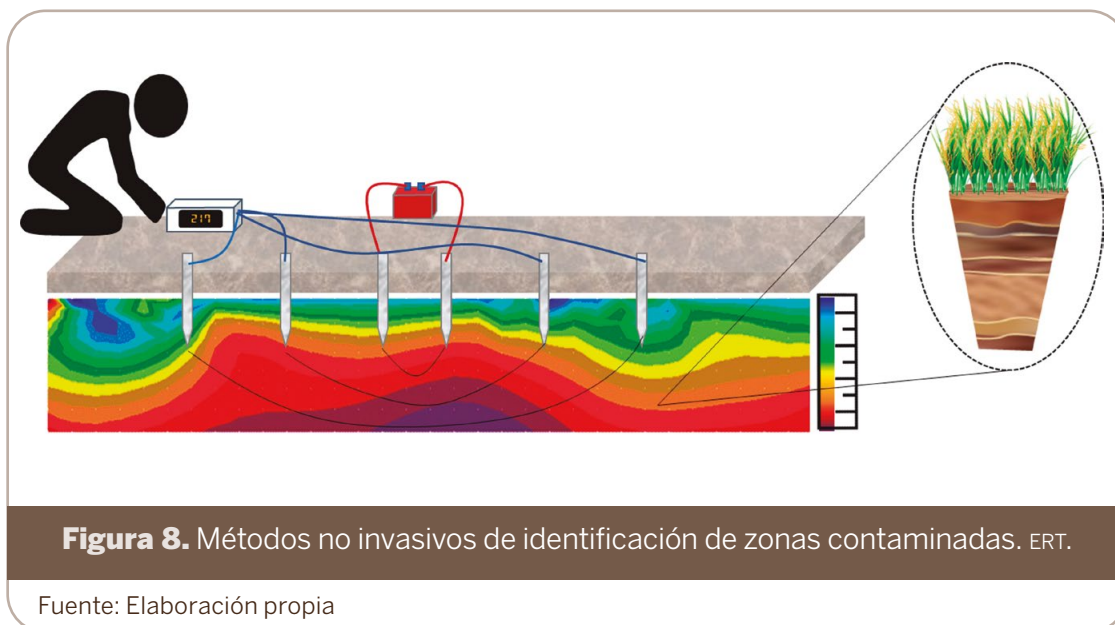
La mineralización o digestión de la muestra se basa en la metodología propuesta por Verola Mataveli et al. (2016). La cantidad de muestra para la mineralización se ajusta de acuerdo con la concentración del elemento y con el tipo de matriz (suelo, raíz, tejido vegetal, grano, frutos, entre otros). La digestión ácida se realiza a través de una mezcla de ácido nítrico (HNO_3) concentrado, peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 30 % y se continua con la digestión en plancha de calentamiento.

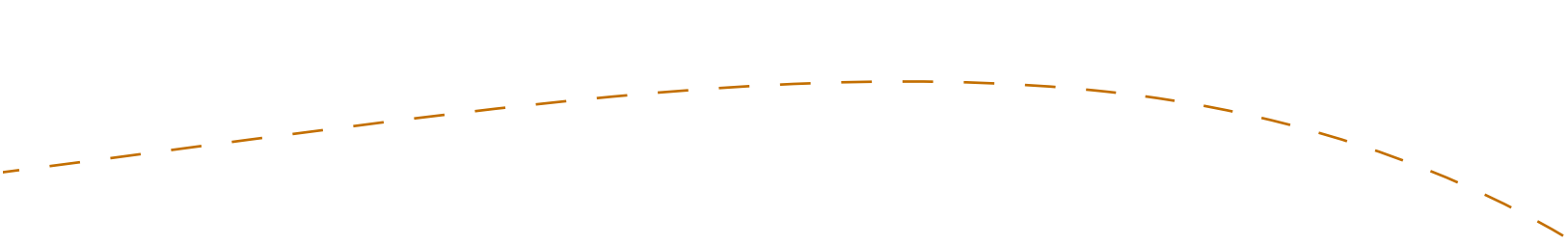
Métodos indirectos

Un monitoreo rápido y periódico de los MP en áreas vulnerables (aquellas que presentan un riesgo de contaminación por MP debido a que están cerca del tráfico automovilístico, zonas de explotaciones mineras, cerca de zonas industriales, entre otros) es importante para mantener un medio ambiente sano y seguro (Wu et al., 2005). Los métodos convencionales para monitorear y estimar la concentración de los MP en el suelo y en los cultivos resultan ser a veces complicados, lentos y caros, sobre todo cuando se trata de áreas grandes; esto requiere un gran número de muestras y análisis. Una limitación adicional es el número de pasos que se siguen en el proceso, incluido el muestreo sistemático, el preprocesamiento de muestras *in situ* y en laboratorio, el análisis químico y la interpretación de los datos (Reeves et al., 2001; Kemper & Sommer, 2002). Asimismo, algunas investigaciones reportaron que los métodos eléctricos, combinados con las técnicas de tomografía (*Electrical resistivity tomography* [ERT, por sus siglas en inglés]), los cuales se basan en medidas de resistividad eléctrica, han sido un área atractiva de investigación durante los últimos años, y se consideran un *proxy* para la determinación de la variabilidad espacial y temporal de varias propiedades físicas e hidrofísicas del suelo (estructura, contenido de agua, composición de fluidos) y químicas.

En efecto, los diferentes materiales, entre ellos el suelo, exhiben propiedades eléctricas dependiendo de sus características físicas y químicas, lo cual se refleja en su resistividad eléctrica. Es factible utilizar la técnica de ERT porque ha mostrado varias ventajas durante las aplicaciones a escala de campo; por ejemplo, abarcar grandes volúmenes de medición, lo que a su vez reduce la influencia de la variabilidad a escala local. Un estudio reciente realizado por Chu et al. (2017), para estimar las características mecánicas de los suelos contaminados por MP mediante el uso del ERT, ha demostrado que los resultados de la tecnología han sido de alta utilidad, dada la fuerte relación entre las medidas de resistividad eléctrica y las concentraciones de los MP estudiados (figura 8).

En zonas productoras de arroz en Colombia, se ha reportado una alta correlación ($R=0,99$) entre las medidas de resistividad eléctrica obtenidas a partir del uso de ERT y el contenido de Cd en diferentes tipos de suelos evaluados (Chaali et al., 2022).





Capítulo 3. ¿Qué hacer si hay cadmio en suelos y en plantas?

Métodos para mitigar la contaminación

En las últimas décadas, varios enfoques de remediación se han introducido para tratar la contaminación por Cd en arrozales (Sebastian et al., 2018; Booboori & Zhang, 2022). Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) (1983), y el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (Ideam, 2004), la degradación del suelo se puede definir como todo proceso que rebaja la capacidad actual y el potencial del suelo para producir, cuantitativa y cualitativamente, bienes y servicios o funciones ecosistémicas y ambientales, como consecuencia, entre otras, de procesos de contaminación con sustancias tóxicas que superan la capacidad de amortiguación del suelo.

Reducir la concentración y la biodisponibilidad de Cd en el cultivo de arroz es una de las estrategias clave para la agricultura sostenible. Esto se hace mediante mecanismos de inmovilización a nivel de suelo o de las raíces y órganos de la planta, con el fin de evitar el ingreso del metal al grano (Volque Sepúlveda et al., 2005). Dependiendo de los resultados de la concentración de los MP, en el suelo y en plantas (raíz, tejido), se toma la decisión de proponer las alternativas de manejo para la remediación. Varios trabajos de investigación recomiendan implementar técnicas que han demostrado su capacidad para el saneamiento de cultivos y la recuperación de suelos contaminados.

Las metodologías para mitigar el efecto de MP en los suelos y recuperarlos de la contaminación dependen de las características del suelo, del contaminante, de la eficacia esperada con cada tratamiento, su viabilidad económica y el tiempo estimado para su desarrollo (Booboori & Zhang, 2022). Existen metodologías *in situ* cuando se aplican en el lugar de la contaminación y *ex situ* cuando se requiere remoción del suelo para su posterior tratamiento.

En efecto, las características del suelo, químicas, físicas y biológicas, determinan en cierta medida su capacidad amortiguadora y de depuración de elementos contaminantes de diferentes orígenes, a través de reacciones de acomplejamiento, adsorción y desorción, precipitación y disolución, oxidorreducción ácido-base y aquellas derivadas de procesos metabólicos. Estas reacciones están relacionadas con propiedades como textura, estructura, porosidad, capacidad de intercambio catiónico, pH y actividad microbiológica (Khalid et al., 2017).

A continuación, se describen algunos métodos de manejo para eliminar la contaminación de Cd en suelos arroceros; son métodos de remediación típicos que se basaron en estudios recientes (Li et al., 2021; Sebastian et al., 2018).

Métodos de manejo agronómico

Existen estrategias que se basan en la reducción de la presencia de MP en los suelos empleando métodos de remoción, mediante el uso de sustancias químicas y la adición de materiales no tóxicos que permitan la estabilización del suelo (Liu, Tie et al., 2018; Chang, Diao et al., 2018). Algunos de los materiales empleados para mejorar las características químicas y físicas de los suelos son escorias, zeolitas, calizas y ceniza volcánica (Basta & McGowen, 2004). Sin embargo, no siempre están disponibles estos materiales, son costosos o no permiten el uso del suelo en agricultura inmediatamente después del tratamiento (Khan & Doty, 2011).

Por lo anterior, en los últimos años se ha trabajado con mayor énfasis en el uso de materiales a base de carbono, como el biocarbón, que es el resultado de la carbonización de biomasa vegetal y animal a temperaturas entre 300°C y 600°C bajo condiciones anaeróbicas (Qian et al., 2016) y que puede mejorar las características fisicoquímicas del suelo.

El uso de materiales minerales puede mejorar el pH del suelo, y de esta manera reducir la disponibilidad y solubilidad de los MP. En cuanto a los materiales orgánicos, estos incrementan el carbono orgánico total del suelo, lo cual mejora su condición fisicoquímica y microbiológica, y esto permite el establecimiento de vegetación capaz de trabajar como fitoremediador por su capacidad de retener cationes, hecho que reduce la toxicidad de Cd (Huaraca-Fernández et al., 2020). El manejo de nutrientes es una de las estrategias empleadas para mitigar el efecto de Cd en diferentes cultivos (Nazar et al., 2012), especialmente de nutrientes como P, K, S, Fe y Zn, con los que se ha observado un beneficio en mitigación de Cd. La aplicación adecuada de P favorece no solo el crecimiento y el desarrollo de las plantas, sino que además aumenta la actividad de enzimas antioxidantes, lo cual se refleja en una disminución de Cd y H₂O₂ (Arshad et al., 2016).

Los niveles de K en el suelo se han estudiado como posible fuente de reducción de la absorción y traslocación de Cd en plantas de girasol y como inhibidor de la permeabilidad de las membranas provocada por el estrés (Samet et al., 2017), así como su participación en la formación de pigmentos fotosintéticos y prevención de la descomposición de clorofilas (Cakmak, 2005). Todo lo anterior está relacionado con la mitigación del efecto del Cd.

En el estudio de Kao (2014), se determinó que los cultivos de arroz en suelos con altos niveles de Cd incrementaron su crecimiento y desarrollo al aplicarles KCl y se observó una disminución de la actividad de la enzima NADPH oxidasa. Sin embargo, para otros cultivos, la deficiencia de K mostró una acción de protección del estrés oxidativo provocado por el Cd, debido principalmente al

aumento de la actividad de enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa, ascorbato peroxidasa, glutatión reductasa y catalasa).

El azufre (S), por su parte, tiene mecanismos muy diferentes a los otros nutrientes, pues se considera que está involucrado en la biosíntesis de agentes detoxificantes de MP (Anjum et al., 2008). El S redujo la afectación en el contenido de clorofila y aumentó la actividad de las enzimas antioxidantes, ascorbato-peroxidasa, glutatión reductasa y catalasa (Bashir et al., 2015).

Una nutrición adecuada con Fe puede mitigar el efecto tóxico del Cd. Así, en plantas de arroz se ha encontrado que la aplicación de este micronutriente reduce la concentración de Cd (Kao, 2014). En maíz, la aplicación de diversas fuentes y concentraciones de Fe (entre 53 y 80 mg/kg) redujo la disponibilidad de Cd en suelo entre 4,59 y 5,19 mg/kg, con incrementos en producción de cerca del 30 % y reducciones de Cd en grano entre 35 % y 48 % (Zhang et al., 2021). Lo anterior se debe al aumento de la fotosíntesis, al rendimiento del grano, a las actividades enzimáticas y a la reducción del estrés oxidativo y el contenido de Cd en los diferentes órganos de la planta (Rizwan et al., 2017).

Otros elementos no esenciales como el Se y silicio (Si) han mostrado efectos favorables en la mitigación del estrés por Cd; por ejemplo, reducción de su concentración en hojas, tallo, raíces y frutos, y disminución de los daños ocasionados en el crecimiento y rendimiento en cultivos de tomate (Nogueirol, 2016). El Se, por su parte, indujo la biosíntesis de la melatonina, lo cual aumentó la tolerancia al Cd, con reducciones en la disminución del crecimiento, la fotoinhibición y la pérdida de electrolitos (Li et al., 2016; Hernández-Baranda et al., 2019). El Si es un elemento benéfico para mantener el crecimiento en ambientes de estrés. Frente a la toxicidad por Cd, también ha aumentado la resistencia de diversos cultivos, y de esta manera se ha logrado reducir el transporte de Cd de la raíz a las hojas y disminuir la absorción de Cd por las raíces (Wu et al., 2015; Shi et al., 2010).

Uso de enmiendas

Los suelos contaminados por MP también pueden recuperarse *in situ* añadiéndoles sustancias orgánicas e inorgánicas y mezclándolas para transformar los contaminantes. Asimismo, se ha llevado a cabo la adición de carbonatos, zeolitas, fosfatos, minerales de Fe, bentonitas, hidróxido cálcico, compost o levaduras en el momento de inmovilizar y reducir la biodisponibilidad de metales tóxicos como Pb, uranio (U), As, Zn, Ni, estroncio (Sr), Cu y Cd (Hartley et al., 2004; Castaldi et al., 2005; Raicevic et al., 2006; Chen et al., 2006). Sin embargo, los mecanismos de secuestro de metales en suelos por estas enmiendas no se conocen por completo y aunque en campo se ven los efectos benéficos, aún no se conoce el tiempo de duración de la recuperación o si se vuelven reversibles con el tiempo (Hamon et al., 2002). Por ejemplo, si el efecto se debe a cambios de pH, es fácilmente reversible con un cambio en el pH, pero si las enmiendas promueven el secuestro de metales en formas no lábiles en suelo, y estos quedan atrapados en las estructuras de las arcillas o acomplexados por enlaces covalentes, entonces la inmovilización de los metales puede ser mucho más duradera (Adriano et al., 2001).

Fitorremediación

Otra de las estrategias empleadas es la fitorremediación, que consiste en emplear plantas con alta capacidad de absorber e inmovilizar los MP y así removerlos del suelo (Dos Santos et al., 2016). Es una práctica económica, efectiva, con bajo impacto en el ambiente y permite prevenir contaminación de suelos y fuentes de agua (Ali et al., 2013). Con esta estrategia los microorganismos del suelo pueden resultar muy útiles para incrementar la capacidad de las plantas de absorber estos metales. Así, se requiere el uso de plantas tolerantes/resistentes a los MP, lo cual generalmente está asociado con la capacidad de secreción de agentes quelantes, el aumento de producción de prolina y de enzimas antioxidantes o la alta capacidad de almacenamiento de MP en las raíces (Pedroso et al., 2018).

Las leguminosas y algunas especies arbóreas son importantes por su alta capacidad de acumulación de MP (Vymazal et al., 2009). Estas plantas permiten recuperar y mantener comunidades microbianas en el suelo que pueden participar en el crecimiento y desarrollo de la planta o en la inmovilización o degradación de los MP (Quintella et al., 2019).

La fitoextracción es un método eficaz para disminuir la contaminación por Cd en el cultivo de arroz, y además aporta ventajas reconocidas a los ecosistemas (Li et al., 2021; Antoniadis et al., 2017). La fitorremediación es un método adecuado para casos de baja o moderada contaminación de Cd en cultivos de arroz; en efecto, según el Codex Alimentarius (2015), los niveles permitidos son de 0,02 y 0,04 ppm para el As y Cd, respectivamente. El estándar europeo para arroz pulido es de 200 µg/kg para Cd. La selección de las plantas acumuladoras eficientes para la fitoextracción de Cd debe diseñarse y desarrollarse más con la ayuda de biotecnologías moleculares.

Biorremediación

Los resultados de una serie de avances tecnológicos para sanear ambientes contaminados con MP han llevado al desarrollo de alternativas como la biorremediación, la cual consiste en utilizar plantas, bacterias, hongos y algas, o enzimas derivadas de estos últimos, para recuperar un ambiente contaminado por medio de mecanismos de ruptura, cambio, remoción, inmovilización y detoxificación de diferentes contaminantes y, especialmente, por su capacidad de acumular o metabolizar los MP (Enerijiof, 2021). La biorremediación ha avanzado en términos de eficiencia, costos y aceptación social (Khalid et al., 2021), y es una práctica que día a día se emplea cada vez más para solucionar problemas de contaminación de suelos y aguas (Bala et al., 2022).

Existen microorganismos del suelo que son tolerantes a la toxicidad del Cd y pueden cambiar sus formas disponibles a formas menos tóxicas (Li et al., 2021). Estudios recientes han demostrado que las bacterias resistentes a los metales disminuyen la fitodisponibilidad de Cd en suelos y su acumulación en plantas (Liu, Li et al., 2018). Además, se han identificado hongos tolerantes a Cd, especialmente del género *Fusarium*, en suelos de minas en Perú (Muñoz-Silva et al., 2019) y hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA), por su capacidad de fitoextracción y de inmovilización de Cd (Alvarado et al., 2011).

La remediación microbiana de MP consiste en biosorción, bioacumulación, biomineralización y biotransformación (Ayangbenro & Babalola, 2017; Li et al., 2021). La ingeniería microbiana es fundamental y se espera que este método sea eficiente y seguro para la recuperación de suelos contaminados con Cd. Según Siripornadulsil y Siripornadulsil (2013), dependiendo del aislamiento bacteriano, los contenidos de Cd en plantas de arroz pueden disminuir en un rango de 6 % a 61 %.

Como estrategia para abordar mecanismos que permitan reducir la incidencia de MP sobre el arroz a nivel de vivero, la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA) ha evaluado la capacidad biorremediadora de microorganismos como los HFMA para suelos y plantas contaminados con MP. En la literatura, los HFMA se han propuesto como una alternativa biológica que ha mostrado reducir la acumulación de ciertos MP como el Cd en especies vegetales, en las cuales las plantas inoculadas translocaron menos MP y fueron más tolerantes a altas concentraciones en el suelo, comparadas con las no inoculadas (Ramtahal et al., 2012; Zhang, Mallik et al., 2019; Cui et al., 2019; Li et al., 2022).





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).

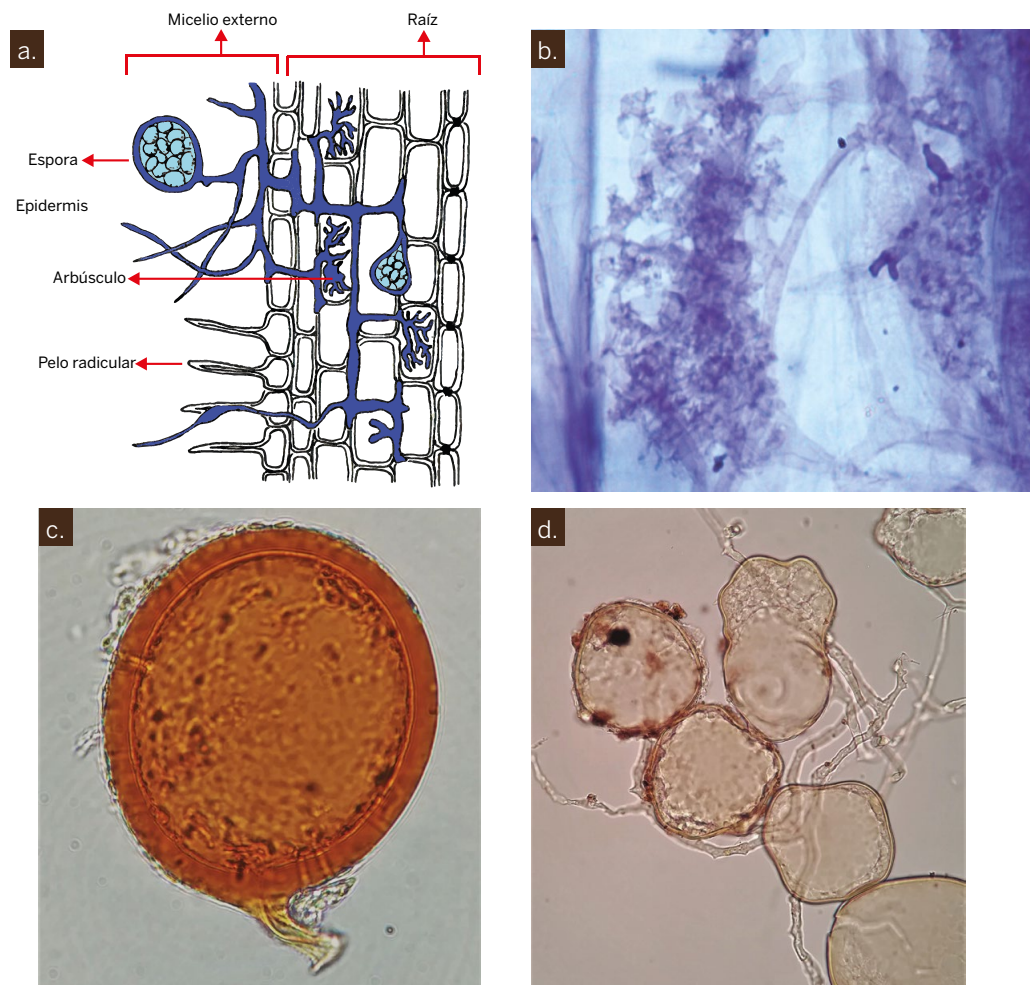


Figura 9. Proceso de simbiosis y estructuras del hongo.
a. Raíz micorrizada; b. Arbúsculo; c. y d. Esporas.

Fuente: Hause & Schaarsmidt (2009)
Fotos: Urley Adrián Pérez, María Margarita Ramírez Gómez

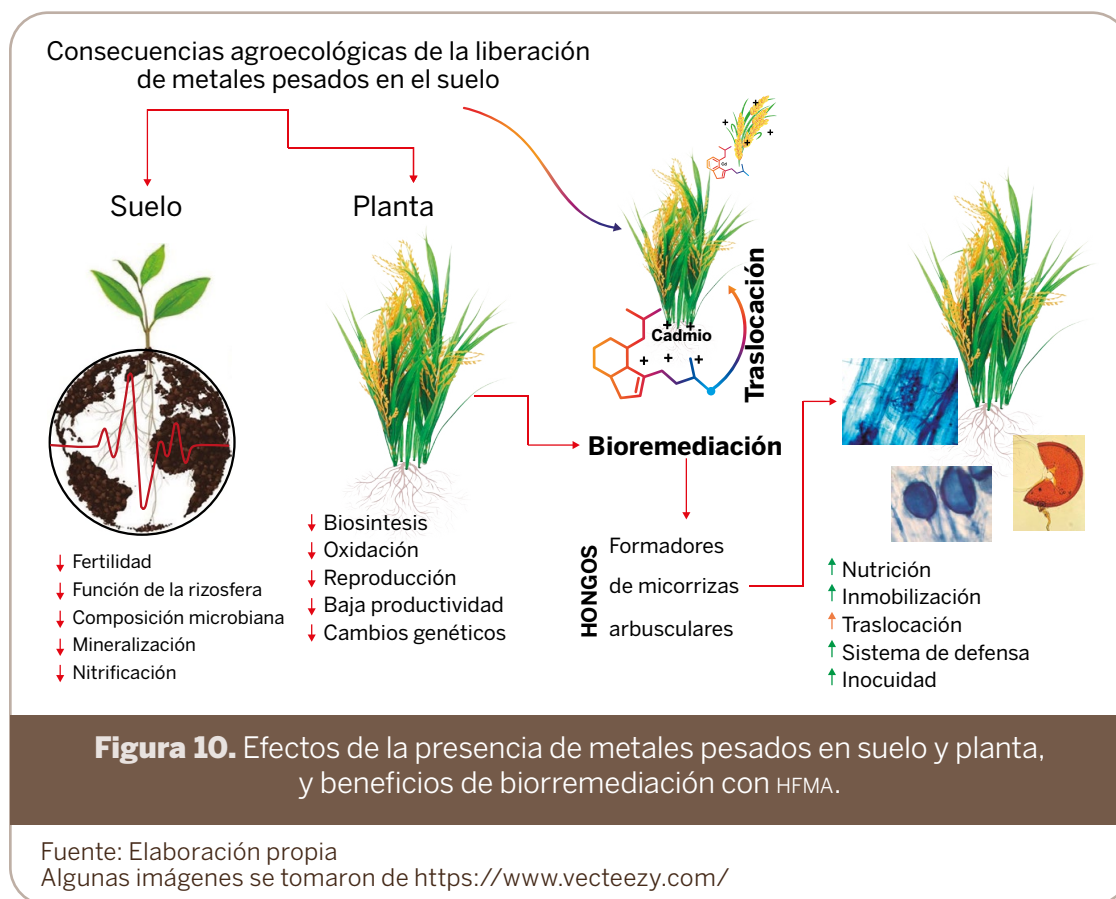
En esta asociación, la planta recibe nutrientes del hongo y agua que toma desde zonas lejanas de la raíz o de poros en los que la raíz no puede entrar por su tamaño; por su parte, el hongo recibe carbohidratos para la formación de sus estructuras (hifas, esporas), que le permiten crecer y multiplicarse. Este intercambio bidireccional de nutrientes se realiza en el arbúsculo, 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-Cardeza 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 (Godlbald & 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.

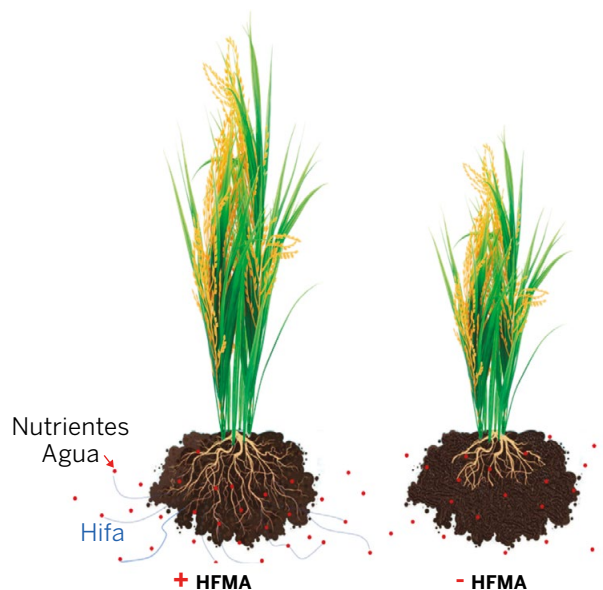


Figura 11. Distribución de las raíces y de las hifas del hongo en el suelo.

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

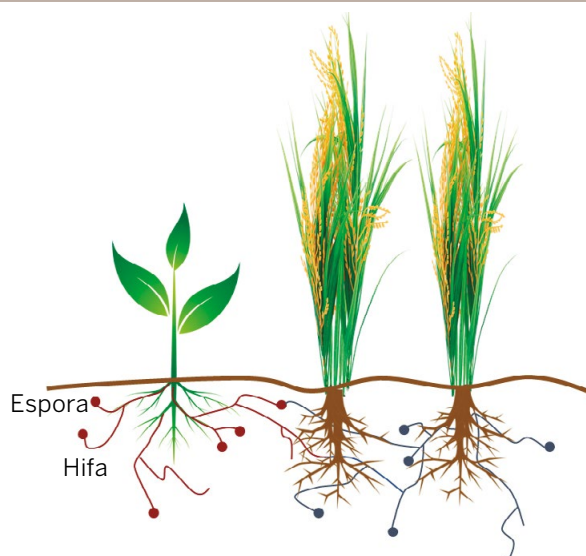


Figura 12. Asociaciones simbióticas planta-HFMA.

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; Souri 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 hospedadoras, 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

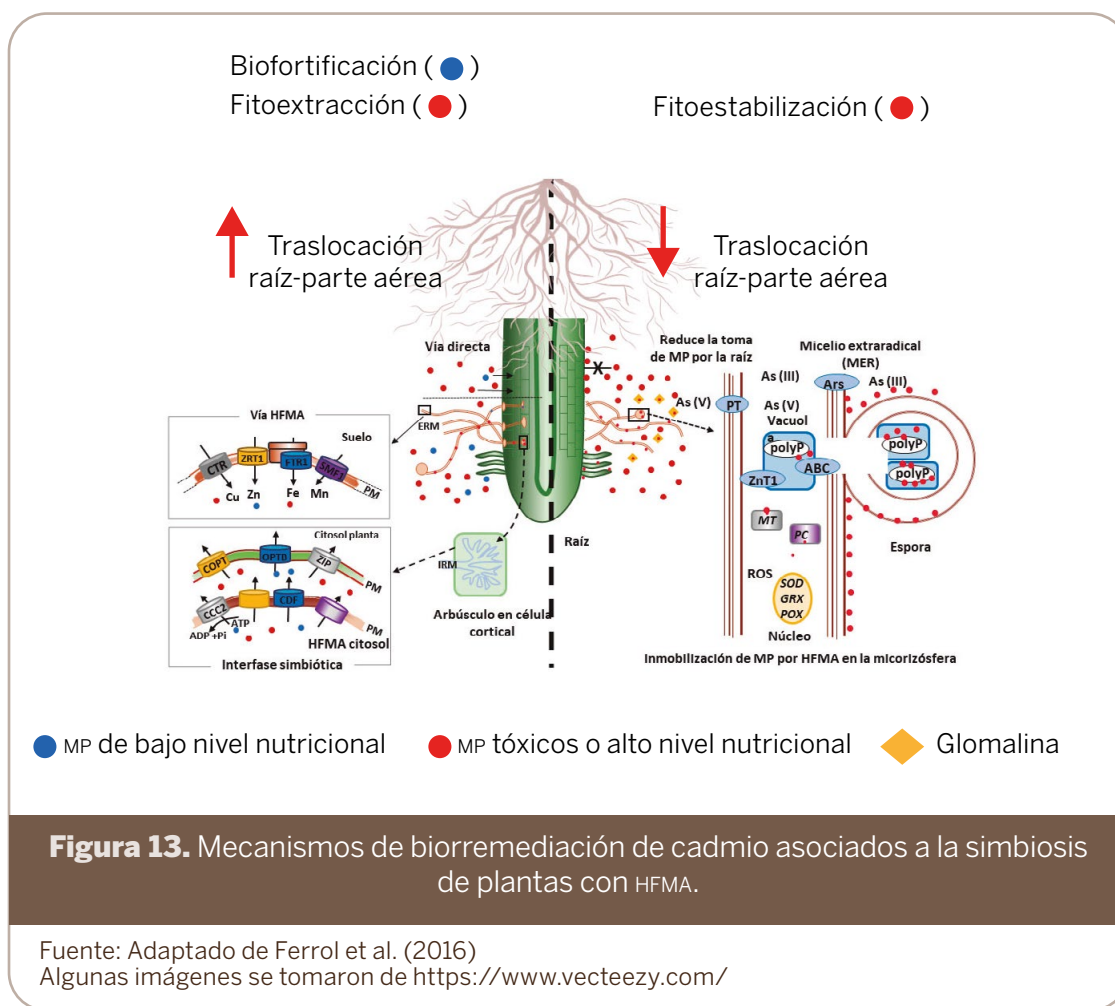
Goa (India) bajo diversos métodos de siembra mostraron la presencia de diferentes géneros y especies. Así, se encontraron 6 géneros y 17 especies de HFMA: *Acaulospora* (9), *Rhizoglosum* (1), *Entrophospora* (1), *Claroideoglosum* (2), *Funneliformis* (1) y *Gigaspora* (3); se observó una mayor presencia 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 metalotioneína, 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 fosfatasas, ATPasas 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).



Capítulo 5. Establecimiento de ensayos en vivero para evaluación de cadmio

Contaminación de sustratos con metales pesados

Metodología para la preparación de soluciones con concentraciones conocidas

Para poder evaluar el comportamiento de los MP en suelo y en plantas, es necesario hacer experimentos de simulación de las condiciones del suelo y de las plantas en ambientes que presenten MP. Para esto, se necesitan de dos a tres personas que realicen la contaminación de suelos con concentraciones conocidas de MP, buscando contaminar la menor cantidad de suelo, bajo condiciones confinadas para no ocasionar ningún tipo de daño al ambiente y las medidas necesarias de protección para evitar el contacto con el contaminante.

Los materiales e instrumentos que se utilizan para la preparación de las soluciones se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Instrumentos y materiales requeridos para la preparación de las soluciones de cadmio

Reactivos	Instrumentos	Materiales y vidriería	Elementos de protección
Solución de cloruro de Cd (CdCl_2).	- Balanza analítica. - Cabina de extracción de gases.	- Balones aforados. - Pipetas y micropipetas. - Espátulas. - Probetas. - Hojas y lápiz para anotar la información. - Frasco lavador.	- Batas. - Gafas. - Caretas. - Tapabocas.

Fuente: Elaboración propia

Las personas que manipulen las soluciones concentradas de MP deben conocer claramente los riesgos a los cuales se exponen y, por lo tanto, tienen que usar los elementos de protección mencionados en la tabla 1, con el fin de evitar riesgos en el momento de manejar estas sustancias tóxicas. Preferiblemente se deben trabajar en cámara de extracción de gases y seguir las normas de seguridad del laboratorio relacionadas con el manejo de este tipo de sustancias.

Existen diferentes metodologías para la preparación de soluciones, que son utilizadas como patrón en la contaminación de sustratos con MP y las cuales difieren de acuerdo con el propósito de la investigación y el tipo de experimentación por desarrollar. También inciden la especie vegetal objeto de estudio, el tiempo de la investigación y el tipo de sustrato que se va a emplear.

Para el caso de las investigaciones llevadas a cabo en el cultivo de arroz, se han usado soluciones a partir de nitrato de Cd ($\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$), sulfato de Cd (Cd SO_4) y cloruro de Cd (CdCl_2) (tabla 2); este último es el compuesto de mayor utilización en la investigación relacionada con el cultivo de arroz, por ser una sal higroscópica de alta solubilidad y gran capacidad de intercambio iónico.

El CdCl_2 se ha empleado en estudios de la dinámica de absorción, translocación y almacenamiento del Cd en grano bajo la interacción de diferentes factores; por ejemplo, regulación del pH, uso de reguladores de crecimiento, enmiendas, microorganismos, como es el caso del uso de los HFMA para la mitigación del estrés por Cd y la reducción del contenido de Cd en grano, que se resaltan en el presente manual, entre otros.

Tabla 2. Ficha técnica del cloruro de cadmio empleado en evaluaciones de MP

Ficha técnica de Thermo Scientific™	
Nombre comercial:	Cloruro de cadmio anhidro (ACS)
Formula molecular:	CdCl_2
Peso atómico de la fórmula:	183,32
Concentración comercial:	99,00 %

Fuente: Elaboración propia

Metodología para el proceso de contaminación de suelo con cadmio

Los siguientes son los pasos que se deben tener en cuenta para realizar el proceso de contaminación de suelo con Cd:

1. Llenado y pesado de materas.
2. Determinación del volumen de saturación de cada materia para definir el volumen necesario para una contaminación homogénea (V_1).
 - a. Curva de saturación: agregar agua de forma escalonada hasta obtener el punto de saturación, para el volumen de suelo o el peso de suelo en el cual se vaya a trabajar. Esta información es importante para aplicar las soluciones en un volumen de agua que no produzca lixiviados que contaminen el vivero con MP.

- 3.** Cálculo de soluciones. En este punto, es importante tener en cuenta el nivel del MP con el que se hará la contaminación, el diseño experimental y el contenido inicial del Cd de suelo. El agua empleada debe ser destilada; si no es posible, hay que tener un análisis químico de esta, especialmente de MP.
- a.** Para contaminar un suelo con contenido inicial de Cd de X ppm con 10 ppm (mg/kg) de CdCl_2 :
- $$10 \text{ ppm} - X \text{ ppm} = Y_R \text{ ppm (requerido)}$$
- b.** $Y_R \times V_1 = Y_{Rm}$ (requerido por materia)
- c.** $Y_{Rm} \times \text{materas (\#)} \times \text{repetición (\#)} = Y_T$ (cantidad de Cd requerida para la contaminación del experimento)
- d.** $\text{Cd(\%)} = \frac{\text{Peso atómico Cd}}{\text{Peso atómico (CdCl}_2\text{)}} \times 100 = \text{CdCl}_2 \text{ (\%)}$

$$\text{ClCd}_2 = \frac{(Y_T \times 99\% \text{ (pureza)})}{\text{CdCl}_2 \text{ (\%)}} \text{ CdCl}_2$$

Donde: X es el contenido inicial de Cd en el suelo y Y es la cantidad de Cd que se debe aplicar para tener una concentración conocida de Cd (en el ejemplo se considera 10ppm).

Proceso de contaminación de suelos

La cantidad de ClCd_2 (calculada en el paso anterior), se diluye en un volumen de agua necesario para contaminar todo el suelo del experimento o al menos un bloque experimental. En ese sentido, se calcula el volumen de agua por materia, que puede variar desde los 1500 cm^3 hasta los 3000 cm^3 , dependiendo de la textura del suelo. Cabe resaltar que los suelos de textura franco-arenosa requieren un volumen de agua que puede estar entre 1000 y 1800 cm^3 , y los suelos de textura más pesada como los franco-arcillosos pueden necesitar un volumen de 2500 a 3000 cm^3 ; esto cuando se habla de una masa de suelo seco de 7 kg por materia (diámetro superior: 28 cm, diámetro inferior: 17,5 cm y altura: 21 cm). Una vez

cuantificado el volumen de agua, se procede a multiplicar el valor por el número de materas de cada unidad experimental del bloque o repetición.

Posteriormente, se homogeniza la solución con una barra de aluminio. El proceso debe realizarse lentamente para asegurar una contaminación homogénea del sustrato. Luego, se satura la matera con el volumen indicado, se espera un tiempo adecuado hasta que se infiltre el agua y se recoge en una bandeja (esta última con las siguientes medidas: largo: 34,2 cm, ancho: 27,2 cm y alto: 12,5 cm). Este proceso se repite de manera cíclica hasta alcanzar el secado del suelo y asegurar que el volumen total de agua se evapore.

Por último, se deja en reposo el sustrato durante 30 días en condiciones de casa de malla hasta que se hace la siembra del material vegetal.

Multiplicación e inoculación con HFMA

Multiplicación y escalamiento

La multiplicación de HFMA se inicia a partir de esporas, hifas o raíces colonizadas de arroz que estén presentes en muestras de suelo. Es necesario emplear plantas trampa, ya que los HFMA son simbiontes obligados y no pueden terminar su ciclo de vida sin la presencia de una planta. Para el escalamiento y la obtención de un inóculo de HFMA, a partir de una mezcla esterilizada o solarizada (v:v:v) de suelo, arena de río o cuarcítica y turba, se inicia la inoculación, que consiste en aplicar de 60-70 esporas de HFMA por planta, independientemente de si es un inóculo comercial o de laboratorio, en bandejas de germinación. Una vez se completa el ciclo se hace un trasplante a bolsas o materos, y a medida que las plantas completan su ciclo vegetativo se someten a un periodo de estrés hídrico, con el fin de promover la esporulación del hongo. Se cosechan raíces y sustrato y se escala a un contenedor de mayor capacidad (figura 14).

Después de que termine cada ciclo se realiza un control de calidad mediante la cuantificación de esporas, suelo¹ y porcentaje de colonización de raíces, de acuerdo con las metodologías de Gendemann y Nicolson (1963), y Phillips y Hayman (1970).

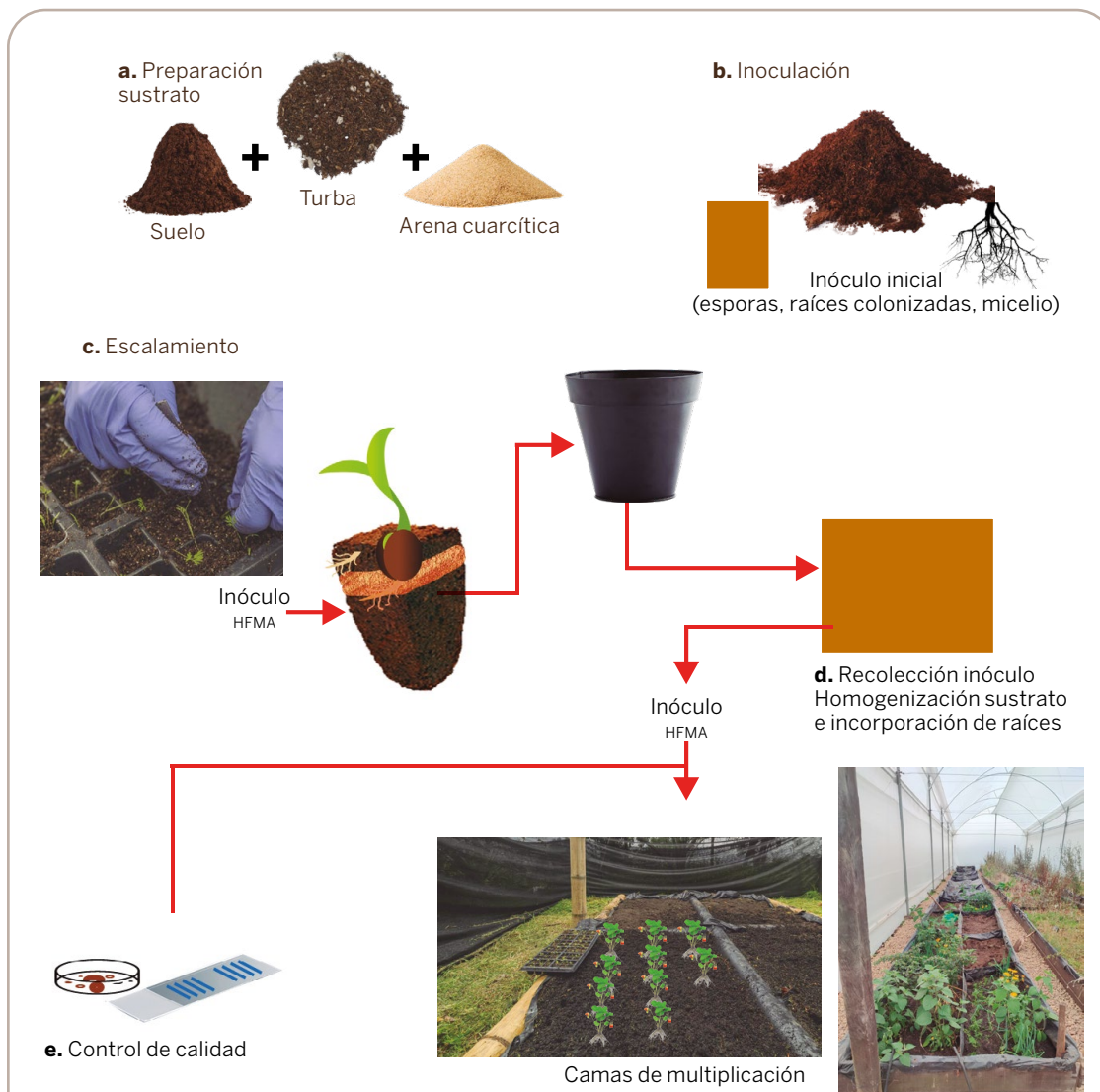


Figura 14. Proceso de escalamiento de HFMA. a. Mezcla y esterilización de sustrato; b. Inoculación de plantas trampa con esporas de HFMA; c. Escalamiento; d. Recolección de inóculo; e. Control de calidad de inóculo producido.

Fuente: Elaboración propia

Control de calidad de inóculos de HFMA

Cuantificación de esporas

La metodología empleada corresponde a la publicada por Gerderman y Nicolson (1963),

Reactivos (1 litro)

1. Peróxido de hidrógeno (H_2O_2)	H_2O_2	50 ml
	Agua destilada	950 ml
	Tween 80	20 ml
2. Solución sacarosa + Tween 80		
	Azúcar comercial	720 g
	Aforar con agua destilada	

Materiales

- Balón aforado 1000 ml
- Frasco lavador
- Tubos falcon de 50 ml
- Tamices de 500 μ , 250 μ y 38 μ
- Centrífuga
- Jeringa
- Caja petri
- Micropipeta
- Estereoscopio
- Microscopio

Procedimiento para la extracción y cuantificación de esporas de HFMA

A continuación, se describen los pasos necesarios para la extracción de esporas, y en la figura 15 se puede observar el procedimiento de forma detallada:

1. Tomar 10 g de suelo seco.
2. Tamizar con abundante agua empleando tres tamices de 500 μ , 250 μ y 38 μ .
3. Transferir, con ayuda de un frasco lavador y agua, el sedimento del tamiz de 38 μ (en algunas ocasiones se puede transferir también por separado el de 250 μ) a un tubo Falcon que pueda ser utilizado en la centrifuga.
4. Agregar 15 ml de la solución de sacarosa + tween 80.
5. Centrifugar a 2.000 rpm durante 5 minutos. Observar la formación de una interfase aproximadamente en la zona media del tubo; en esta interfase, se encuentra el mayor porcentaje de esporas.
6. Retirar con la ayuda de una jeringa la interfase sin remover el pelet formado.
7. Lavar con abundante agua en el tamiz de 38 μ y recoger las esporas en una caja petri con agua. Con la ayuda de un estereoscopio separar por características morfológicas y cuantificar las esporas viables presentes en la muestra.
8. Para la identificación taxonómica, se toman esporas individuales separadas por morfotipo y se llevan a láminas, inicialmente sin ningún reactivo; luego se tapan con una laminilla y con una ligera presión se rompe la espora para poder observarla de manera más detallada en el microscopio. Para un análisis más minucioso, se puede aplicar una solución de PVLG (100 ml de agua destilada +100 ml de ácido láctico + 10 ml de glicerol + 16,6 g de alcohol polivinílico); luego, si el estudio lo requiere, se debe iniciar un proceso de clasificación por morfología o por métodos moleculares. Para algunos géneros y algunas especies, se pueden aplicar ciertos reactivos que permiten ver reacciones específicas de estos géneros y especies (reactivo de Meltzer).

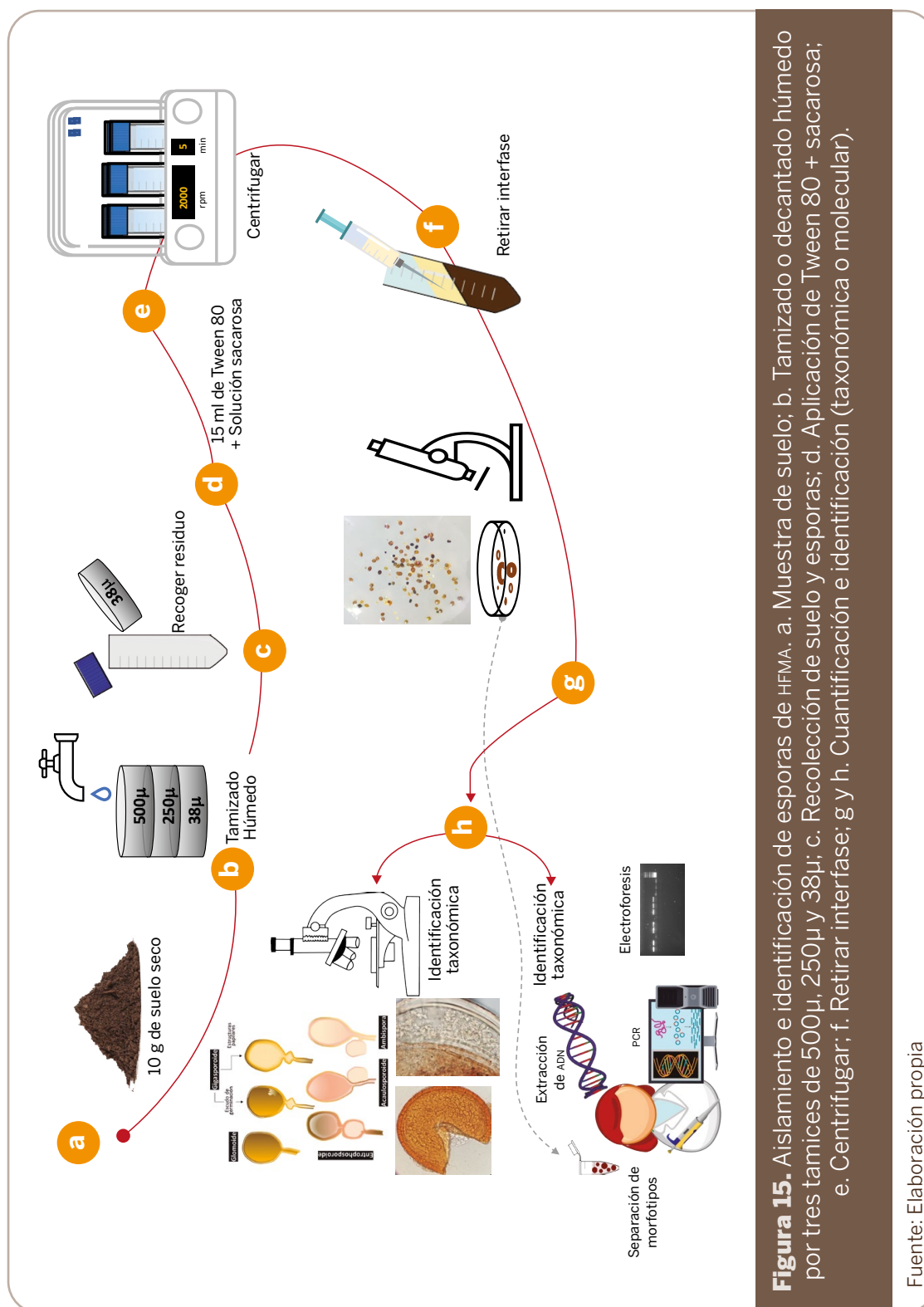


Figura 15. Aislamiento e identificación de esporas de HFMA. a. Muestra de suelo; b. Tamizado o decantado húmedo por tres tamices de 500µ, 250µ y 38µ; c. Recolección de suelo y esporas; d. Aplicación de Tween 80 + sacarosa; e. Centrifugar; f. Retirar interfase; g y h. Cuantificación e identificación (taxonómica o molecular).

Fuente: Elaboración propia

Porcentaje de colonización de raíces

La metodología empleada corresponde a la que proponen Phillips y Hayman (1970).

Reactivos (1 litro):

- | | | |
|--|---|----------|
| 1. Hidróxido de potasio al 10 % (KOH) | KOH al 85 % | 117,6 g |
| | Llevar a volumen con agua destilada | |
| 2. Peróxido de hidrógeno al 10 % (H ₂ O ₂) | H ₂ O ₂ al 85 % | 333,3 ml |
| | Llevar a volumen con agua destilada | |
| 3. Ácido clorhídrico 1N (HCl) | HCl al 30 % | 83,9 ml |
| | Llevar a volumen con agua destilada | |
| | Ácido láctico (C ₃ H ₆ O ₃) | 25 ml |
| 4. Azul de tripán + lacto glicerol (0,5 litros) | Agua destilada | 225 ml |
| | Glicerina (C ₃ H ₈ O ₃) | 250 ml |
| | Azul de tripán | 0,5 g |

Materiales:

- Balón aforado 1.000 ml
- Probetas de 100 y 1.000 ml
- Tubos para plántulas (boca ancha, sin tapa)
- Gradillas para tubos plántulas
- Cajas de petri
- Láminas portaobjetos
- Láminas cubreobjetos
- Pinzas finas
- Cuchilla/bisturí
- Balanza
- Microscopio
- Baño María

Procedimiento para determinar el porcentaje de colonización de raíces

En la figura 16, se puede observar el procedimiento para la tinción diferencial de las estructuras del HFMA dentro de la raíz de la planta, siguiendo los pasos que se describen a continuación.

- 1.** Seleccionar una cantidad abundante de raíces secundarias y raicillas de la muestra, y lavar con abundante agua para retirar residuos de suelo de la muestra.
- 2.** Clareo: agregar KOH hasta cubrir por completo la muestra de raíces. Llevar al baño María precalentado a 80 °C por 15 minutos. Para verificar que la muestra está lista, las raíces deben tener un color café oscuro o rojizo fuerte; en ese momento, se retira el reactivo.
- 3.** Blanqueo: agregar una mezcla 1:1 de KOH y H₂O₂ hasta cubrir la muestra y dejar actuar a temperatura ambiente por 10 minutos. Lavar con abundante agua para retirar los reactivos.
- 4.** Acidificación: agregar HCl (1N) hasta cubrir la muestra, dejar actuar por 5-7 minutos y retirar la solución sin agua.
- 5.** Tinción: agregar azul de tripán hasta tapar completamente la muestra y dejar por 24 horas a temperatura ambiente o por 20-30 minutos al baño María (80 °C).
- 6.** Retirar el colorante y cubrir la muestra con agua destilada, luego guardar en nevera (aproximadamente a 4 °C) hasta el momento del análisis.
- 7.** Análisis: cortar fragmentos de raíz de aproximadamente 1 cm de longitud y montarlos en una lámina portaobjetos en dos grupos de cinco fragmentos cada uno. Aplicar glicerina sobre los fragmentos de raíz y tapar con un cubreobjetos.
- 8.** Se lleva la lámina al microscopio para hacer la lectura y cuantificación del porcentaje de raíz colonizada, para lo cual se hace un barrido por 100 campos a 40X; se considera un campo positivo donde se observe alguna estructura del hongo (hifa,

espora, vesícula o arbusculo). Una vez terminada la lectura de la lámina, se suman los campos positivos y el resultado es el porcentaje de colonización de la muestra.

Es importante tener en cuenta para realizar este procedimiento la selección de raíces secundarias, frescas y lavadas. Los tiempos de exposición de las raíces a cada uno de los reactivos dependen de la cantidad de taninos y del grosor. Este protocolo muestra tiempos promedio que deben ser aumentados en caso de raíces muy gruesas y con taninos, y disminuidos en casos de raíces muy delgadas y blancas. Si se llega a tener raíces muy frágiles se puede omitir el blanqueo.

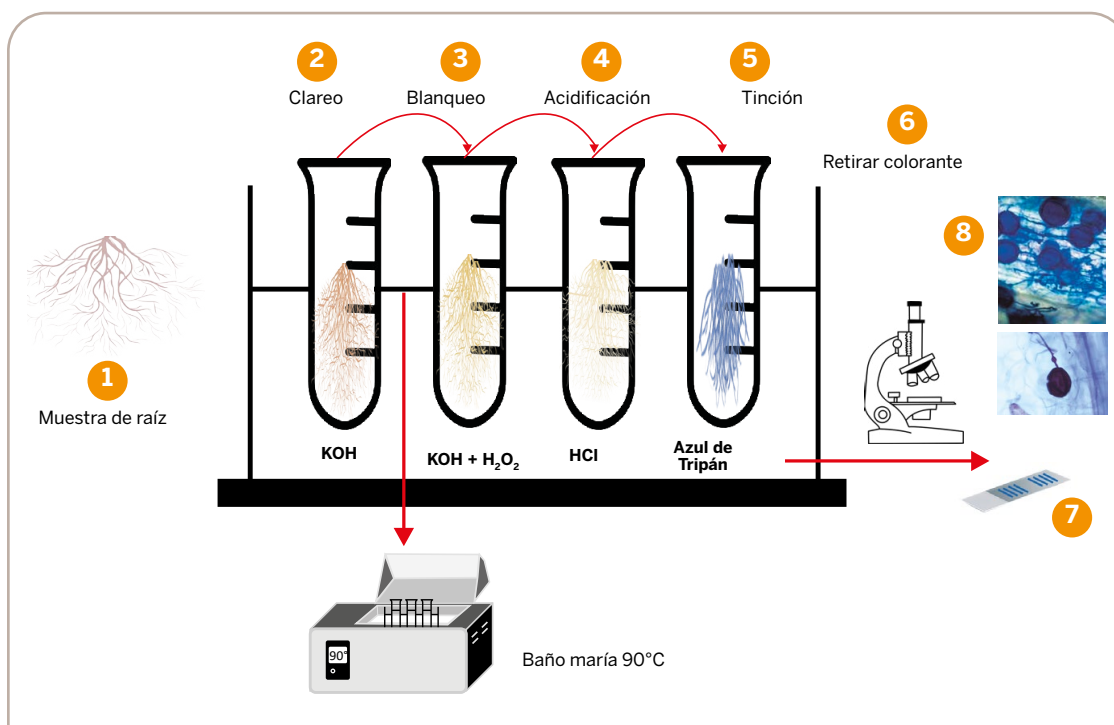


Figura 16. Proceso para la tinción diferencial con azul de tripán para cuantificación del porcentaje de micorrización.

Fuente: Elaboración propia

Inoculación con HFMA

La inoculación con HFMA es muy sencilla: se debe contar con un inóculo que tenga una concentración conocida de esporas por gramo de sustrato. Se debe realizar en el momento de la siembra, con una dosis de 70 esporas/gramo (Ramírez Gómez & Rodríguez, 2012). En el caso de ensayos de invernadero, hay que aplicar 70 esporas por plantas/semilla. Es importante garantizar que cuando la semilla germine la raíz pase por el área donde se aplicó el inoculante. En materas con suelo de experimentos con MP, primero se aplica la solución con el metal, se homogeniza bien y después se aplica la micorriza en el momento de la siembra.

Mediciones agronómicas y de simbiosis para evaluar respuesta de las plantas al cadmio y alternativa de biorremediación

Evaluación agronómica y simbiótica

Se consideraron para esta evaluación dos muestreos agronómicos y simbióticos cuando más del 50 % de los individuos que conforman la unidad experimental se encuentran en el estado fenológico indicado. El primero en el momento de la floración (figura 17) y el segundo, de la madurez fisiológica (figura 18), cuando la humedad del grano se encuentra por debajo de 24 %. Según la escala BBCH arroz (Lancashire et al., 1991).

Floración

Longitud de planta (cm):

Medición desde la base del tallo hasta la punta de la panícula.

Peso fresco de planta (g):

Biomasa total de una planta en fresco.

Peso fresco de planta (g):

Biomasa seca a partir de la extracción de todo el contenido de agua de la planta por sometimiento a secado.



Número de macollas por planta (#):

Cantidad de tallos (hijuelos) que emite la planta.

Contenido relativo de clorofila (SPAD):

Método no destructivo que permite cuantificar el contenido de clorofila de acuerdo con el verdor de la hoja.

Figura 17. Variables durante el periodo de floración en plantas de arroz bajo condiciones de estrés por presencia de cadmio.

Fuente: Elaboración propia

Madurez fisiológica

Peso grano lleno (g):

Peso de grano por planta que permite calcular el rendimiento del cultivo en kilogramos por hectárea.

Peso biomasa aérea (g):

Biomasa seca a partir de la extracción del contenido de agua de la planta por sometimiento a secado, excluyendo la raíz.



Porcentaje grano lleno (%):

Número de granos llenos por panícula que permiten determinar el vaneamiento.

Índice de cosecha:

Relación entre la biomasa de los órganos cosechables (grano) y la biomasa total (rendimiento biológico).

Figura 18. Variables durante el periodo de madurez fisiológica en plantas de arroz bajo condiciones de estrés por presencia de cadmio.

Fuente: Elaboración propia

Medición de la translocación de cadmio en la planta

La distribución del Cd en la parte aérea y en la parte subterránea de la planta está afectada por procesos de absorción, transporte, quelación y compartimentalización del Cd (Wei et al., 2012).

El conocimiento del tipo de planta con la cual se trabaja es fundamental para poder plantear la estrategia para la remediación o biorremediación del problema. Para ello, se puede calcular el factor de bioacumulación o bioconcentración (BCFs/BAFs), que también se conoce como factor de enriquecimiento (EF). Lo que se mide con este factor es la relación de los niveles del MP en la planta, considerando los niveles que existen en el suelo. Más específicamente, es la capacidad que tiene la planta de tomar el MP del suelo y asimilarlo en sus diversos órganos. Para calcularlo, se debe dividir la concentración del MP en el órgano de la planta (raíz, parte aérea, fruto, grano) con su concentración en el suelo.

El factor de translocación (FT), el cual permite conocer la capacidad de la planta para movilizar a través de sus órganos el MP, consiste en dividir la concentración del MP presente en la raíz, con la concentración encontrada en la o las partes de la planta de interés (hojas, grano, fruto, ramas) (Kumar et al., 1995). Las plantas con $BCF > 1$ y $FT > 1$ se consideran acumuladoras o hiperacumuladoras (si las concentraciones exceden el 0,1 %), las que presentan valores entre 0,1 y 1, respectivamente, se estiman como tolerantes y las que presentan valores $< 0,1$, como exclusoras (Mendieta & Tasigüe, 2014).

Los factores de enriquecimiento (EF) (Chen, Liu et al., 2004; Zhi et al., 2014) se calculan a partir de la fórmula que permite evaluar la habilidad de las plantas de tomar MP del suelo.

$$EF = \frac{Cd_{\text{parte aérea}}}{Cd_{\text{suelo}}}$$

Donde $Cd_{\text{parte aérea}}$ es el promedio de la concentración de Cd de la planta (peso seco) y C_{suelo} es la concentración total de Cd en el suelo.

El factor de translocación (TF) es la relación entre la concentración del metal en la parte aérea (peso seco) y la concentración en la raíz (Bose & Bhattacharyya, 2008). Para calcular este valor, según Zhi et al. (2014), se evalúa el potencial de Cd transferido de la raíz a la parte aérea, de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$FT = Cd_{\text{parte aérea}} / Cd_{\text{raíz}}$$

Donde $[Cd_{\text{parte aérea}}]$ es la concentración promedia de Cd en la planta (peso seco) y $[Cd_{\text{raíz}}]$ es la concentración promedia de Cd en la raíz (peso seco) para cada planta.

Zhi et al. (2014), con base en múltiples estudios, consideran cuatro criterios que pueden ser aplicados para evaluar plantas medicinales con baja acumulación de Cd, de acuerdo con la *Green Standards of Medicinal Plants and Preparations for Foreign Trade and Economy* (WM/T2-2004):

1. La concentración de Cd debe ser $<0,3$ mg/kg del peso seco.
2. $EF < 1,0$.
3. $TF < 1,0$.
4. TF Cd tolerancia, medida por la biomasa de la parte aérea y la altura de la planta cuando crece en un suelo contaminado.

Disposición de residuos contaminados y reducción de riesgos en el manejo de metales pesados

Disposición de residuos contaminados con metales pesados

La disposición de los residuos contaminados con MP se basa en la gestión para minimizar su disponibilidad, su adecuado aprovechamiento, separación y disposición final, acorde con políticas ambientales y sanitarias; esto con el fin de que se reduzcan los costos en el tratamiento de los residuos peligrosos.

Los MP son considerados residuos contaminados químicos y peligrosos, por ser objetos, elementos o restos que contienen MP como: plomo, cromo, cadmio, antimonio, bario, níquel, estaño, vanadio, zinc y mercurio, y se deben disponer en recipientes rojos y rotular “metales pesados” (Mora Valencia & Berbeo Rodríguez, 2010) hasta el momento de su disposición final, que está a cargo de la entidad recolectora de desechos pertinente (figura 19).



Metal pesado
Riesgo químico



Rotular con:
Metales pesados
(nombre del metal)
Riesgo químico

Figura 19. Disposición de metales pesados.

Fuente: Elaboración propia

Manejo de soluciones acuosas con presencia de metales pesados

Una de las estrategias es precipitar el MP presente en sales o lodos y disminuir el volumen de residuos que se deben tratar en recipientes adecuados para este proceso, tanto por su capacidad de manejo, como por la capacidad de almacenamiento, hasta que termine su proceso de manejo (Mora Valencia & Berbeo Rodríguez, 2010).

Manejo de suelos con presencia de metales pesados en experimentos de laboratorio e invernadero

A continuación, se nombran algunas estrategias utilizadas como manejo para la disminución de MP tóxicos, como Cd y cromo:

1. Incorporación de materia orgánica, por su capacidad para formar quelatos estables.
2. Incrementar el pH mediante calces, óxidos e hidróxido de calcio, hasta pH de 6-7, con el fin de que los MP estén insolubles y las plantas pierdan la capacidad de absorberlos.
3. Incorporación de fosfatos, debido a la formación de sales insolubles con los MP.
4. Incorporación de materiales silicatados, tanto por la formación de complejos como por el efecto indirecto sobre el pH, puesto que el anión SiO_3^- en disociación en el agua del suelo funciona como una base Bronsted-Lowry, capturantes de iones H^+ .



Conclusiones

El Cd es un metal pesado altamente tóxico para las plantas y para el ser humano, razón por la cual se deben tener precauciones en su manejo, tanto en el establecimiento de los ensayos, como en la evaluación de las variables agronómicas y de cosecha. Este manual contiene no solo unas bases teóricas relacionadas con el sistema de producción, el Cd y los hongos formadores de micorrizas, sino además las principales metodologías y precauciones para el manejo adecuado de este elemento tóxico.





Referencias

- Abdelhameed, R. E., & Metwally, R. A. (2019). Alleviation of cadmium stress by arbuscular mycorrhizal symbiosis. *International Journal of Phytoremediation*, 21(7), 663-671. <https://doi.org/10.1080/15226514.2019.1631111>
- Adler, K. P., Söderström, M., Eriksson, J., & Alshihabi, O. (2020). Predictions of Cu, Zn, and Cd concentrations in soil using portable X-ray fluorescence measurements. *Sensors*, 20(2), 1-15. <https://doi.org/10.3390/s20020474>
- Adriano, D. C. (2001). *Trace Elements in Terrestrial Environments. Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals* (2.^a ed.). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-21510-5>
- Aibibu, N., Liu, Y., Zeng, G., Wang, X., Chen, B., Song, H., & Xu, L. (2010). Cadmium accumulation in *Vetiveria zizanioides* and its effects on growth, physiological and biochemical parameters. *Bioresource Technology*, 101(16), 6297-6303. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.03.028>
- Ali, H., Khan, E., & Sajad, M. A. (2013). Phytoremediation of heavy metals—Concepts and applications. *Chemosphere*, 91(7), 869-881. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.075>
- Alvarado, C., Dasgupta-Schubert, N., Ambriz, E., Sánchez-Yañez, J., & Villegas, J. (2011). Hongos micorrízicos arbusculares y la fitorremediación de plomo. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 27(4), 357-364.
- Anjum, N. A., Umar, S., Ahmad, A., Iqbal, M., & Khan, N. A. (2008). Sulphur protects mustard *Brassica campestris* L. from cadmium toxicity by improving leaf ascorbate and glutathione. *Plant Growth Regulation*, 54(3), 271-279. <https://doi.org/10.1007/s10725-007-9251-6>

- Antoniadis, V., Levizou, E., Shaheen, S. M., Ok, Y. S., Sebastian, A., Baum, C., Prasad, M. N. V., Wenzel, W. W., & Rinklebe, J. (2017). Trace elements in the soil-plant interface: phytoavailability, translocation, and phytoremediation—A review. *Earth-Science Reviews*, 171, 621-645. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2017.06.005>
- Arriagada, C., Pereira, G., García-Romera, I., & Ocampo, J. A. (2010). Improved zinc tolerance in *Eucalyptus globulus* inoculated with *Glomus deserticola* and *Trametes versicolor* or *Coriolopsis rigida*. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(1), 118-124. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.10.011>
- Arshad, M., Ali, S., Noman, A., Ali, Q., Rizwan, M., Farid, M., e Irshad, M. K. (2016). Phosphorus amendment decreased cadmium (Cd) uptake and ameliorates chlorophyll contents, gas exchange attributes, antioxidants, and mineral nutrients in wheat *Triticum aestivum* L. under Cd stress. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 62(4), 533-46. <https://doi.org/10.1080/03650340.2015.1064903>
- Ayangbenro, A. S., & Babalola, O. O. (2017). A new strategy for heavy metal polluted environments: a review of microbial biosorbents. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(1), 94. <https://doi.org/10.3390/ijerph14010094>
- Azcón, R., Peralvarez, M. del C., Biro, B., Roldán, A., & Ruiz-Lozano, J. M. (2009). Antioxidant activities and metal acquisition in mycorrhizal plants growing in a heavy-metal multicontaminated soil amended with treated lignocellulosic agrowaste. *Applied Soil Ecology*, 41(2), 168-177. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2008.10.008>
- Bala, S., Garg, D., Thirumalesh, B. V., Sharma, M., Sridhar, K., Inbaraj, B. S., & Tripathi, M. (2022). Recent Strategies for Bioremediation of Emerging Pollutants: A Review for a Green and Sustainable Environment. *Toxics*, 10(8), 484. <https://doi.org/10.3390/toxics10080484>
- Balestrasse, K. B., Benavides, M. P., Gallego, S. M., & Tomaro, M. L. (2003). Effect of cadmium stress on nitrogen metabolism in nodules and roots of soybean plants. *Functional Plant Biology*, 30(1), 57-64. <https://doi.org/10.1071/FP02074>

- Barea, J. M. (1991). Vesicular-arbuscular mycorrhizae as modifiers of soil fertility. En B. S. Stewart (Ed.), *Advances in soil science* (pp. 1-40). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-3030-4_1
- Bashir, H., Ibrahim, M. M., Bagheri, R., Ahmad, J., Arif, I. A., Baig, M. A., & Qureshi, I. (2015). Influence of sulfur and cadmium on antioxidants, phytochelatins and growth in Indian mustard. *AoB Plants*, 7. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plv001>
- Basta, N., & McGowen, S. (2004). Evaluation of chemical immobilization treatments for reducing heavy metal transport in a smelter contaminated soil. *Environmental Pollution*, 127(1), 73-82. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(03\)00250-1](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(03)00250-1)
- Becerra, I., Castro, L., Cortés, C., Del Valle, C., Díaz, A., Flórez, A., Fonseca, M., Garcés Aponte, E., García Márquez, E., Giraldo, J. A., Gómez Mojica, J., González, A. C., Gutiérrez Melo, E., Maluendas, A., Méndez Plazas, D., Quintero, L. E., Reina Burgos, D. M., Ríos Ortégón, M., Rodríguez Vásquez, A. F., Sandoval Sáenz, L. F., Samacá, H. A., ... Viveros, J. (2020). Plan de Ordenamiento Productivo para el desarrollo, estabilidad y especialización de la cadena arrocería colombiana 2020-2038. Unidad de Planificación Rural Agropecuaria (UPRA). <https://www.minagricultura.gov.co/Normatividad/Resoluciones/RESOLUCION%20C3%93N%20NO.%20000077%20DE%202021.pdf>
- Bissonnette, L., St-Arnaud, M., & Labrecque, M. (2010). Phytoextraction of heavy metals by two *Salicaceae* clones in symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi during the second year of a field trial. *Plant and Soil*, 332, 55-67. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0273-x>
- Bonfante, P., & Genre, A. (2008). Plants and arbuscular mycorrhizal fungi: an evolutionary developmental perspective. *Trends in Plant Science*, 13(9), 492-498. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.07.001>
- Booboori, M. R., & Zhang, H. Y. (2022). Arbuscular mycorrhizal fungi are an influential factor in improving the phytoremediation of Arsenic, Cadmium, lead, and Chromium. *Journal of Fungi*, 8(2), 176. <https://doi.org/10.3390/jof8020176>
- Bose, S., & Bhattacharyya, A. K. (2008). Heavy metal accumulation in wheat plant grown in soil amended with industrial sludge. *Chemosphere*, 70(1), 1264-1272. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.07.062>

- Cakmak, I. (2005). The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168(4), 521-30. <https://doi.org/10.1002/jpln.200420485>
- Castaldi, P., Santona, L., & Melis, P. (2005). Heavy metal immobilization by chemical amendments in a polluted soil and influence on white lupin growth. *Chemosphere*, 60(3), 365-371. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.11.098>
- Chaali, N., Bravo, D., Ouazaa, S., Jaramillo-Barrios, C. I., Beltrán-Medina, J. I., Serralde-Ordoñez, D. P., & Benavides-Erazo, J. (2022). New insights into arsenic and cadmium distribution and origin in paddy soils using electrical resistivity tomography. *Journal of Applied Geophysics*, 202, 104638. <https://doi.org/10.1016/j.jappgeo.2022.104638>
- Chang, Q., Diao, F.-W., Wang, Q.-F., Pan, L., Dang, Z.-H., & Guo, W. (2018). Effects of arbuscular mycorrhizal symbiosis on growth, nutrient and metal uptake by maize seedlings (*Zea mays* L.) grown in soils spiked with Lanthanum and Cadmium. *Environmental Pollution*, 241, 607-615. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.06.003>
- Chang, W., Sui, X., Fan, X. X., Jia, T. T., & Song, F. Q. (2018). Arbuscular mycorrhizal symbiosis modulates antioxidant response and ion distribution in salt-stressed *Elaeagnus angustifolia* seedlings. *Frontiers in Microbiology*, 9, 652. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00652>
- Chen, B. D., Liu, Y., Shen, H., Li, X. L., & Christie, P. (2004). Uptake of cadmium from an experimentally contaminated calcareous soil by arbuscular mycorrhizal maize (*Zea mays* L.). *Mycorrhiza*, 14, 347-354. <https://doi.org/10.1007/s00572-003-0281-2>
- Chen, B., Nayuki, K., Kuga, Y., Zhang, X., Wu, S., & Ohtomo, R. (2018). Uptake and intraradical immobilization of cadmium by arbuscular mycorrhizal fungi as revealed by a stable isotope tracer and synchrotron radiation μ X-ray fluorescence analysis. *Microbes and Environments*, 33(3), 257-263. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME18010>
- Chen Y., Shen Z., & Li X. (2004). The use of vetiver grass (*Vetiveria zizanioides*) in the phytoremediation of soils contaminated with heavy metals. *Applied Geochemistry*, 19(10), 1553-1565. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2004.02.003>

- Chen, Y. X., Wang, Y. P., Wu, W. X., Lin, Q., & Xue, S. G. (2006). Impacts of chelate-assisted phytoremediation on microbial community composition in the rhizosphere of a copper accumulator and non-accumulator. *Science of The Total Environment*, 356(1-3), 247-255. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.04.028>
- Chu, Y., Liu, S., Wang, F., Cai, G., & Bian, H. (2017). Estimation of heavy metal-contaminated soils' mechanical characteristics using electrical resistivity. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(15), 13561-13575. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8718-x>
- Clemens, S., Palmgren, M. G., & Krämer, U. (2002). A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends in Plant Science*, 7(7), 309-315. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02295-1](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02295-1)
- Codex Alimentarius. (2015). *Norma general para los contaminantes y las toxinas presentes en alimentos y piensos*. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandard%252FCXS%2B193-1995%252FCXS_193s.pdf
- Colangelo, E. P., & Guerinot, M. L. (2006). Put the metal to the petal: metal uptake and transport throughout plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 9(3), 322-330. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.03.015>
- Coudert, Y., Périn, C., Courtois, B., Khong, N. G., & Ganet, P. (2010). Genetic control of root development in rice, the model cereal. *Trends in Plant Science*, 15(4), 219-226. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.01.008>
- Cui, G., Ai, S., Chen, K., & Wang, X. (2019). Arbuscular mycorrhiza augments cadmium tolerance in soybean by altering accumulation and partitioning of nutrient elements, and related gene expression. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 171, 231-239. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.12.093>
- Cui, S., Zhou, Q.-x., Wei, S.-h., Zhang, W., Cao, L., & Ren, L.-p. (2007). Effects of exogenous chelators on phytoavailability and toxicity of Pb in *Zinnia elegans* Jacq. *Journal of Hazardous Materials*. 146: 341-346. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.12.028>

- Degiovanni Beltramo, V. M., Berrío Orozco, L. E., & Charry Mercado, R. E. (2010). Origen, taxonomía, anatomía y morfología de la planta de arroz (*Oryza sativa* L.). En V. M. Degiovanni Beltramo, C. P. Martínez Racines, & F. Motta O. (Eds.), *Producción eco-eficiente del arroz en América Latina* (pp. 35-59). Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).
- Departamento Administrativo Nacional de Estadística [DANE]. (2021a). *Encuesta Nacional de Arroz Mecanizado (ENAM). I Semestre 2021*. https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/boletines/aquierletin_ENAM_Isem21.pdf
- Departamento Administrativo Nacional de Estadística [DANE]. (2021b). *Encuesta Nacional de Arroz Mecanizado. II Semestre 2021*. https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/boletines/arroz/boletin_ENAM_Isem21.pdf
- Devi, R., Munjral, N., Gupta, A. K., & Kaur, N. (2007). Cadmium induced changes in carbohydrate status and enzymes of carbohydrate metabolism, glycolysis and pentose phosphate pathway in pea. *Environmental and Experimental Botany*, 61(2), 167-174. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.05.006>
- Dos Santos, J. V., Varón-López, M., Sousa Soares, C. R. F., López Leal, P., Iquieraueira, J. O., & De Souza Moreira, F. M. (2016). Biological attributes of rehabilitated soils contaminated with heavy metals. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 6735-6748. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5904-6>
- Drzewiecka, K., Mleczek, M., Gąsecka, M., Magdziak, Z., & Goliński, P. (2012). Changes in *Salix viminalis* L. cv. 'Cannabina' morphology and physiology in response to nickel ions – Hydroponic investigations. *Journal of Hazardous Materials*, 217-218, 429-438. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.03.056>
- Embrapa Arroz e Feijão. (2022). *Dados conjunturais da produção de arroz (Oryza sativa L.) no Brasil (1986 a 2021): área, produção e rendimento*. <http://www.cnpaf.embrapa.br/socioeconomia/index.htm>
- Enerijiofi, K. E. (2021). Bioremediation of environmental contaminants: A sustainable alternative to environmental management. En G. Saxena, V. Kumar, & M. P. Shah (Eds.), *Bioremediation for Environmental Sustainability. Toxicity, Mechanisms of Contaminants Degradation, Detoxification, and Challenges* (pp. 461-480). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820524-2.00019-5>

Facts on Health and the Environment [GreenFacts]. (2023). *Bioacumulación*. <https://www.greenfacts.org/es/glosario/abc/bioacumulacion-bioacumular.htm#:~:text=Definici%C3%B3n%3A,suelo%2C%20aire%20y%20agua>.

Federación Nacional de Arroceros [Fedearroz]. (2011). El sector arrocero de los llanos. En *Dinámica el sector arrocero de los llanos orientales de Colombia* (pp. 33-64). Produmedios. https://fedearroz.s3.amazonaws.com/media/documents/Dinamica_del_sector_arrocero_en_los_Llanos_orientales.pdf

Federación Nacional de Arroceros [Fedearroz]. (2021). *Área sembrada de arroz mecanizado (hectáreas) según zona arrocera, total año*. <https://fedearroz.com.co/es/fondo-nacional-del-arroz/investigaciones-economicas/estadisticas-arroceras/area-produccion-y-rendimiento/>

Federación Nacional de Arroceros [Fedearroz]. (2022). *Consumo*. <https://fedearroz.com.co/es/fondo-nacional-del-arroz/investigaciones-economicas/estadisticas-arroceras/consumo/>

Federación Nacional de Cafeteros [FNC]. (2022). *Estadísticas cafeteras*. <https://federaciondecafeteros.org/wp/estadisticas-cafeteras/>

Federación Nacional de Cultivadores de Cereales, Leguminosas y Soya [Fenalce]. (2022). *Estadísticas*. <https://fenalce.co/estadisticas/#boletin>

Ferrol, N., Tamayo, E., & Vargas, P. (2016). The heavy metal paradox in arbuscular mycorrhizas: from mechanisms to biotechnological applications, *Journal of Experimental Botany*, 67(22), 6253-6265 403. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw403>

Gai, J., Fan, J., Zhang, S., Mi, N., Christie, P., Li, X., & Feng, G. (2018). Direct effects of soil cadmium on the growth and activity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Rhizosphere*, 7, 43-48. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2018.07.002>

Gandia, A. (2013). *Decoding the mycorrhizal symbiosis: why plants like fungi so much*. <https://fungicultura.wordpress.com/2013/01/08/decoding-the-mycorrhizal-symbiosis-why-plants-like-fungi-so-much/#:~:text=Mycorrhizal%20fungi%20help%20plants%20acquire,where%20more%20nutrients%20are%20available>

- Garg, N., & Chandel, S. (2012). Role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi on growth, cadmium uptake, osmolyte, and phytochelatin synthesis in *Cajanus cajan* (L.) Millsp. under NaCl and Cd stresses. *Journal of Plant Growth Regulation*, 31, 292-308. <https://doi.org/10.1007/s00344-011-9239-3>
- Gerdemann, J. W., & Nicolson, T. H. (1963). Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, 46(2), 235-244. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(63\)80079-0](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(63)80079-0)
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2011). Cadmium stress tolerance in crop plants: probing the role of sulfur. *Plant Signaling & Behavior*, 6(2), 215-222. <https://doi.org/10.4161/psb.6.2.14880>
- Gil-Cardesa, M. L., Ferri, A., Cornejo, P., & Gómez, E. (2014). Distribution of chromium species in a Cr-polluted soil: presence of Cr (III) in glomalin related protein fraction. *Science of The Total Environment*, 493, 828-833. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.06.080>
- Gillespie, A. W., Farrell, R. E., Walley, F. L., Ross, A. R., Leinweber, P., Eckhardt, K. U., Regier, T., & Blyth, R. I. (2011). Glomalin-related soil protein contains non-mycorrhizal-related heat-stable proteins, lipids and humic materials. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(4), 766-777. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.12.010>
- Godbold, D. L., & Sharrock, L. (2003). Mycorrhizas. En G. Schroth, & F. L. Sinclair (Ed.), *Trees, Crops and Soil Fertility. Concepts and Research Methods* (pp. 271-287). CABI Publishing. <https://doi.org/10.1079/9780851995939.0271>
- González-Chávez, C., D'Haen, J., Vangronsveld, J., & Dodd, J. C. (2002). Copper sorption and accumulation by the extraradical mycelium of different *Glomus* spp. (arbuscular mycorrhizal fungi) isolated from the same polluted soil. *Plant and Soil*, 240, 287-297. <https://doi.org/10.1023/A:1015794622592>
- González-Chávez, M. C. A., Gutiérrez-Castorena, M. C., & Wright, S. (2004). Hongos micorrízicos arbusculares en la agregación del suelo y su estabilidad. *Terra Latinoamericana*, 22(4), 507-514.

- González-Chávez, M. D. C. A., del Pilar Ortega-Larrocea, M., Carrillo-González, R., López-Meyer, M., Xoconostle-Cázares, B., Gómez, S. K., Harrison, M. J., Figueroa-López, A. M., & Maldonado-Mendoza, I. E. (2011). Arsenate induces the expression of fungal genes involved in As transport in arbuscular mycorrhiza. *Fungal Biology*, 115(12), 1197-1209. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2011.08.005>
- González Guerrero, M. (2005). *Estudio de los mecanismos implicados en la homeostasis de metales pesados en el hongo formador de micorrizas arbusculares Glomus intraradices* [Tesis de doctorado, Universidad de Granada]. <https://digibug.ugr.es/handle/10481/626>
- González-Guerrero, M., Melville, L. H., Ferrol, N., Lott, J. N. A., Azcón-Aguilar, C., & Peterson, R. L. (2008). Ultrastructural localization of heavy metals in the extraradical mycelium and spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Canadian Journal of Microbiology*, 54(2), 103-110. <https://doi.org/10.1139/W07-119>
- Gramlich, A., Tandy, S., Gauggel, C., López, M., Perla, D., González, V., & Schulin, R. (2018). Soil cadmium uptake by cocoa in Honduras. *Science of The Total Environment*, 612, 370-378. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.145>
- Guerrero Forero, E., & Azcon, C. (1996). *Micorrizas: recurso biológico del suelo*. Fondo FEN.
- Hamel, C., & Plenchette, C (Eds.). (2007). *Mycorrhizae in crop production*. Haworth Press. <https://doi.org/10.1201/9781482277845>
- Hamon, R. E., McLaughlin, J. M., & Cozens, G. (2002). Mechanisms of attenuation of metal availability in in situ remediation treatments. *Environmental, Science & Technology*, 36(18), 3991-3996. <https://doi.org/10.1021/es025558g>
- Hanesch, M., & Scholger, R. (2002). Mapping of heavy metal loadings in soils by means of magnetic susceptibility measurements. *Environmental Geology*, 42, 857-870. <https://doi.org/10.1007/s00254-002-0604-1>
- Hartley, W., Edwards, R., & Lepp, N. W. (2004). Arsenic and heavy metal mobility in iron oxide-amended contaminated soils as evaluated by short-and long-term leaching tests. *Environmental Pollution*, 131(3), 495-504. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.02.017>

- Hause, B., & Schaarschmidt, S. (2009). The role of jasmonates in mutualistic symbioses between plants and soil-born microorganisms. *Phytochemistry*, 70(13-14), 1589-1599. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.07.003>
- Hernández-Baranda, Y., Rodríguez-Hernández, P., Peña-Icart, M., Meriño-Hernández, Y., & Cartya-Rubio, O. (2019). Toxicity of Cadmium in plants and strategies to reduce its effects. Case study: The tomato. *Cultivos Tropicales*, 40(3), e10.
- Hildebrandt, U., Regvar, M., & Bothe, H. (2007). Arbuscular mycorrhiza and heavy metal tolerance. *Phytochem*, 68(1), 139-146. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.09.023>
- Hu, Z.-H., Zhuo, F., Jing, S.-H., Li, X., Yan, T. X., Lei, L. L., Lu, R. R., Zhang, X. F., & Jing, Y. X. (2019). Combined application of arbuscular mycorrhizal fungi and steel slag improves plant growth and reduces Cd, Pb accumulation in *Zea mays*. *International Journal of Phytoremediation*, 21(9), 857-865. <https://doi.org/10.1080/15226514.2019.1577355>
- Huang, Q., Yu, Y., Wan, Y., Wang, Q., Luo, Z., Qiao, Y., Su, D., & Li, H. (2018). Effects of continuous fertilization on bioavailability and fractionation of cadmium in soil and its uptake by rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Environmental Management*, 215, 13-21. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.03.036>
- Huaraca-Fernández, J. N., Pérez-Sosa, L., Bustinza-Cabala, L. S., & Pampa-Quispe, N. B. (2020). Enmiendas orgánicas en la inmovilización de cadmio en suelos agrícolas contaminados: una revisión. *Información Tecnológica*, 31(4), 139-152. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642020000400139>
- Huybrechts, M., Hendrix, S., Bertels, J., Beemster, G. T., Vandamme, D., & Cuypers, A. (2020). Spatial analysis of the rice leaf growth zone under controlled and cadmium-exposed conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 177, 104120. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104120>
- Ilag, L. L., Rosales, A. M., Elaegvi, F. V., & Mew, T. W. (1987). Changes in the population of infective endomycorrhizal fungi in a rice-based cropping system. *Plant and Soil*, 103, 67-73. <https://doi.org/10.1007/BF02370669>
- International Rice Research institute. (1983). *Annual Report for 1983* https://pdf.usaid.gov/pdf_docs/PNAAS325.pdf

- Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales [Ideam]. (2004). *Informe anual sobre el estado del medio ambiente y los recursos naturales renovables en Colombia*.
- Janoušková, M., & Pavlíková, D. (2010). Cadmium immobilization in the rhizosphere of arbuscular mycorrhizal plants by the fungal extraradical mycelium. *Plant and Soil*, 332, 511-520. <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0317-2>
- Jiang, Q. Y., Tan, S. Y., Zhuo, F., Yang, D. J., Ye, Z. H., & Jing, Y. X. (2016). Effect of *Funneliformis mosseae* on the growth, cadmium accumulation and antioxidant activities of *Solanum nigrum*. *Applied Soil Ecology*, 98, 112-120. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.10.003>
- Jiang, Q. Y., Zhuo, F., Long, S. H., Zhao, H. D., Yang, D. J., Ye, Z. H., Li, S. S., & Jing, Y. X. (2016). Can arbuscular mycorrhizal fungi reduce Cd uptake and alleviate Cd toxicity of *Lonicera japonica* grown in Cd-added soils? *Science Reports*, 6, 21805. <https://doi.org/10.1038/srep21805>
- Jiménez Heinert, M. E., Grijalva Endara, A. de las M., & Ponce Solórzano, H. X. (2020). Plasma acoplado inductivamente en espectroscopia de emisión óptica (ICP-OES). *Recimundo*, 4(4), 4-12. [https://doi.org/10.26820/recimundo/4.\(4\).octubre.2020.4-12](https://doi.org/10.26820/recimundo/4.(4).octubre.2020.4-12)
- Joos, L., & De Tender, C. (2022). Soil under stress: The importance of soil life and how it is influenced by (micro) plastic pollution. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 20, 1554-1566. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.03.041>
- Jung, M. C. (2008). Heavy metal concentrations in soils and factors affecting metal uptake by plants in the vicinity of a Korean Cu–W mine. *Sensors*, 8(4), 2413-2423. <https://doi.org/10.3390/s8042413>
- Kao, C. H. (2014). Cadmium stress in rice plants: influence of essential elements. *Crop, Environment & Bioinformatics*, 11, 113-118.
- Khalid, S., Shahid, M., Niazi, N. K., Murtaza, B., Bibi, I., & Dumat, C. (2017). A comparison of technologies for remediation of heavy metal contaminated soils. *Journal of Geochemical Exploration*, 182, 247-268. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2016.11.021>

- Khalid, F., Hashmi, M. Z., Jamil, N., Qadir, A., & Ali, M. I. (2021). Microbial and enzymatic degradation of PCBs from e-waste-contaminated sites: A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 10474-10487. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11996-2>
- Khan, Z., & Doty, S. (2011). Endophyte-assisted phytoremediation. *Plant Biology*, 12, 97-105.
- Kemper, T., & Sommer, S. (2002). Estimate of heavy metal contamination in soils after a mining accident using reflectance spectroscopy. *Environmental Science & Technology*, 36(12), 2742-2747. <https://doi.org/10.1021/es015747j>
- Kernaghan, G. (2005). Mycorrhizal diversity: Cause and effect? *Pedobiologia*, 49(6), 511-520. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2005.05.007>
- Kullu, B., Patra, D. K., Acharya, S., Pradhan, C., & Patra, H. K. (2020). AM fungi mediated bioaccumulation of hexavalent chromium in *Brachiaria mutica*-a mycorrhizal phytoremediation approach. *Chemosphere*, 258, 127337. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127337>
- Kumar, N., Scheer, K., & Steenkamp, J. B. (1995). The Effects of Perceived Interdependence on Dealer Attitudes. *Journal of Public Policy & Marketing*, 32(3), 348-356. <https://doi.org/10.1177/002224379503200309>
- Khush, G. S. (2000). Taxonomy and origin of rice. En R. K. Singh, U. S. Singh, & G. S. Khush (Eds.), *Aromatic rices* (pp. 5-13). Oxford & IBH Publishing
- Lakaew, K., Akeprathumchai, S., & Thiravetyan, P. (2021). Effect of calcium acetate and calcium chloride on grain morphology and antioxidant regulation in rice under ozone stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1-15. <https://doi.org/10.1007/s00344-021-10501-4>
- Lancashire, P. D., Bleiholder, H., Van den Boom, T., Langelüddeke, P., Stauss, R., Weber, E., & Witzemberger, A. (1991). A uniform decimal code for growth stages of crops and weeds. *Annals of Applied Bioogy*, 119(3), 561-601. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1991.tb04895.x>
- Lanfranco, L., Bolchi, A., Ros, E. C., Ottonello, S., & Bonfante, P. (2002). Differential expression of a metallothionein gene during the presymbiotic versus the symbiotic phase of an arbuscular mycorrhizal fungus. *Plant Physiology*, 130(1), 58-67. <https://doi.org/10.1104/pp.003525>

- Li, H., Gao, M. Mo, C., Wong, M., Chen, X., & Wang, J. (2022). Potential use of arbuscular mycorrhizal fungi for simultaneous mitigation of arsenic and cadmium accumulation in rice. *Journal of Experimental Botany*, 73(15), 50-67. <https://doi.org/10.1093/jxb/erab444>
- Li, M. Q., Hasan, M. K., Li, C-X., Ahammed, G. J., Xia, X-J., Shi, K., Zhou, Y.-H., Reiter, R. J., Yu, J.-Q., Xu, M.-X, & Zhou, J. (2016). Melatonin mediates selenium-induced tolerance to cadmium stress in tomato plants. *Journal of Pineal Research*, 61(3), 291-302. <https://doi.org/10.1111/jpi.12346>
- Li, Z., Liang, Y., Hu, H., Shaheen, S. M., Zhong, H., Tack, F. M. G., Wu, M., Li, Y.-F., Gao, Y., Rinklebe, J., & Zhao, J. (2021). Speciation, transportation, and pathways of cadmium in soil-rice systems: a review on the environmental implications and remediation approaches for food safety. *Environment International*, 156, 106749. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106749>
- Liang, J., Feng, C., Zeng, G., Zhong, M., Gao, X., Li, X., He, X., Li, X., Fang, Y., & Mo, D. (2017). Atmospheric deposition of mercury and cadmium impacts on topsoil in a typical coal mine city, Lianyuan, China. *Chemosphere*, 189, 198-205. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.09.046>
- Liu, H., Zhang, J., Christie, P., & Zhang, F. (2008). Influence of iron plaque on uptake and accumulation of Cd by rice (*Oryza sativa* L.) seedling grown in soil. *Science of The Total Environment*, 394(2-3), 361-368. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.02.004>
- Liu, L., Li, W., Song, W., & Guo, M. (2018). Remediation techniques for heavy metal-contaminated soils: Principles and applicability. *Science of The Total Environment*, 633, 206-219. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.161>
- Liu, N., Jiang, Z., Li, X., Liu, H., Li, N., & Wei, S. (2020). Mitigation of rice cadmium (Cd) accumulation by joint application of organic amendments and selenium (Se) in high-Cd-contaminated soils. *Chemosphere*, 241, 125106. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125106>
- Liu, Y., Tie, B., Li, Y., Lei, M., Wei, X., Liu, X., & Du, H., (2018). Inoculation of soil with cadmium-resistant bacterium *Delftia* sp. B9 reduces cadmium accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) grains. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 163, 223-229. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.07.081>

- Luo, Q., Bai, B., Xie, Y., Yao, D., Zhang, D., Chen, Z., Zhuang, W., Deng, Q., Xiao, Y., & Wu, J. (2022). Effects of Cd uptake, translocation and redistribution in different hybrid rice varieties on grain Cd concentration. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 240, 113683. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113683>
- Lux, A., Martinka, M., Vaculík, M., & White, P. J. (2010). Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review. *Journal of Experimental Botany*, 62(1), 21-37. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq281>
- Mahecha Pulido, J. D., Trujillo González, J. M., & Torres Mora, M. A. (2017). Análisis de estudios en metales pesados en zonas agrícolas de Colombia. *Orinoquia*, 21(1), 83-93. <https://doi.org/10.22579/20112629.434>
- Magneschi, L., & Perata, P. (2009). Rice germination and seedling growth in the absence of oxygen. *Annals of Botany*, 103(2), 181-196. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn121>
- Malekzadeh, E., Alikhani, A. H., Savaghebi-Fioozabadi, R. G., & Zarei, M. (2011). Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and an improving growth bacterium on Cd uptake and maize growth in Cd-polluted soils. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 9(4), 1213-1223. <https://doi.org/10.5424/sjar/20110904-069-11>
- Meharg, A. A., & Cairney, J. W. G. (2000). Co-evolution of mycorrhizal symbionts and their hosts to metal-contaminated environments. *Advances in Ecological Research*, 30, 69-112. [https://doi.org/10.1016/S0065-2504\(08\)60017-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2504(08)60017-3)
- Mejía Sandoval, G. (2006). Aproximación teórica a la biosorción de metales pesados por medio de microorganismos. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 1(1), 77-99.
- Mendieta Webster, C., & Taisigüe López, K. (2014). *Acumulación y traslocación de metales, metaloides y no metales en plantas nativas de la zona minera de Chontales: implicaciones para el potencial de fito-remediación*. https://biorem.univie.ac.at/fileadmin/user_upload/p_biorem/education/research/methods/Accumulation-and-Translocation-metals-in-native-plants_Extended-abstract.pdf

- Miransari, M. (2017). Arbuscular mycorrhizal fungi and heavy metal tolerance in plants. En Q.-S. Wu (Ed.), *Arbuscular Mycorrhizas and Stress Tolerance of Plants* (pp.147-161). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-10-4115-0_7
- Mora Valencia, C. A., & Berbeo Rodríguez, M. L. (2010). *Manual de gestión integral de residuos*. Subdirección Red Nacional de Laboratorios.
- Mosquera González, S. D. (2020). *Metodología para el análisis de riesgo por exposición a arsénico, cadmio y plomo por consumo de arroz en Colombia* [Tesis de maestría, Universidad de los Andes]. Repositorio Uniandes <https://repositorio.uniandes.edu.co/handle/1992/48675?locale-attribute=en>
- Muñoz-Silva, L., Olivera-Gonzales, P. Santillán-Torres, M., & Tamariz-Angeles, C. (2019). Microorganismos tolerantes a metales pesados del pasivo minero Santa Rosa, Jangas (Perú). *Revista Peruana de Biología*, 26(1), 109-118. <https://doi.org/10.15381/rpb.v26i1.15914>
- Nayuki, K., Chen, B., Ohtomo, R., & Kuga, Y. (2014). Cellular imaging of cadmium in resin sections of arbuscular mycorrhizas using synchrotron micro X-ray fluorescence. *Microbes and Environments*, 29(1), 60-66. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME13093>
- Nawaz, A., Rehman, A. U., Rehman, A., Ahmad, S., Siddique, K. M., & Farooq, M. (2022). Increasing sustainability for rice production systems. *Journal of Cereal Science*, 103, 103400. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2021.103400>
- Nazar, R., Iqbal, N., Masood, A., Khan, M. I. R., Syeed, S., & Khan, N. A. (2012). Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation. *American Journal of Plant Sciences*, 3(10), 1476. <https://doi.org/10.4236/ajps.2012.310178>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]. (2021). Database of Food and Agricultural Organization. El Espinal, Tolima. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]. (2022). *Nota Informativa de la FAO sobre la Oferta y la demanda de Cereales*. [fao.org/worldfoodsituation/csdb/es/](https://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/es/)

- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], & Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente [PNUMA]. (1983). *Directrices para el control de la degradación de suelos*.
- Pál, M., Csávás, G., Szalai, G., Oláh, T., Khalil, R., Yordanova, R., Gell, G., Birinyi, Z., Németh, E., & Janda, T. (2017). Polyamines may influence phytochelatin synthesis during Cd stress in rice. *Journal of Hazardous Materials*, 340, 272-280. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.07.016>
- Parvin, S., Van Geel, M., Yeasmin, T., Lievens, B., & Honnay, O. (2019). Variation in arbuscular mycorrhizal fungal communities associated with lowland rice (*Oryza sativa*) along a gradient of soil salinity and arsenic contamination in Bangladesh. *Science of The Total Environment*, 686, 546-554. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.450>
- Pedroso, D. de F., Barbosa, M. V., Dos Santos, J. V., Araújo Pinto, F., Siquiera, J. O., & Carbone Carneiro, M. A. (2018). Arbuscular mycorrhizal fungi favor the initial growth of *Acacia mangium*, *Sorghum bicolor*, and *Urochloa brizantha* in soil contaminated with Zn, Cu, Pb, and Cd. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 101, 386-391. <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2405-6>
- Phillips, J. M., & Hayman, D. S. (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(1), 158-160.
- Puig, S., & Peñarrubia, L. (2009). Placing metal micronutrients in context: transport and distribution in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 12(3), 299-306. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.04.008>
- Qian, L., Zhang, W., Yan, J., Han, L., Gao, W., Liu, R., & Chen, M. (2016). Effective removal of heavy metal by biochar colloids under different pyrolysis temperatures. *Bioresource Technology*, 206, 217-224. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.01.065>
- Quintella, C. M., Mata, A. M., & Lima, L. C. P. (2019). Overview of bioremediation with technology assessment and emphasis on fungal bioremediation of oil contaminated soils. *Journal of Environmental Management*, 241, 156-166. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.04.019>

- Rahman, S. U., Xuebin, Q., Kamran, M., Yasin, G., Cheng, H., Rehim, A., Riaz, L., Rizwan, M., Ali, S., Abdullah A. A., & Alyemeni, M. N. (2021). The interactive effect of pH variation and cadmium stress on wheat (*Triticum aestivum* L.) growth, physiological and biochemical parameters. *Plos one*, 16(7), e0253798. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.05.038>
- Raicevic, S., Wright, J. V., Veljkovic, V., & Conca, J. L. (2006). Theoretical stability assessment of uranyl phosphates and apatites: Selection of amendments for in situ remediation of uranium. *Science of The Total Environment*, 355(1-3), 13-24. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.03.006>
- Ramírez, M. M. (2003). Biofertilizantes y nutrición de plantas. En M. P. Triana, R. Lora, L. Gómez, & G. Peñalosa (Eds.), *Manejo integral de la fertilidad del suelo* (pp. 153-163). Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo.
- Ramírez Gómez, M., & Rodríguez, A. (2012). Mecanismos de defensa y respuestas de las plantas en la interacción micorrícica: una revisión. *Revista Colombiana de Biotecnología*, XIV(1), 271-284.
- Ramtahal, G., Chang Yen, I., Seegobin, D., Bekele, I., Bekele, F., Wilson, L., & Harrynanan, L. (2012). Investigation of the effects of mycorrhizal fungi on cadmium accumulation in cacao. En *Proceedings of the Caribbean Food Crops Society. 48th Annual Meeting* (pp. 147-152). Caribbean Food Crops Society.
- Raven Willwater, K. P. (2018). Efecto del Cadmio sobre crecimiento y composición elemental de la alfalfa en cultivos de arena. *Anales Científicos*, 79(2), 406-414. <https://doi.org/10.21704/ac.v79i2.912>
- Ravichanthiran, K., Ma, Z. F., Zhang, H., Cao, Y., Wang, C. W., Iammad, S., Aglago, E. K., Zhang, Y., Jin, Y., & Pan, B. (2018). Phytochemical profile of brown rice and its nutrigenomic implications. *Antioxidants*, 7(6), 71. <https://doi.org/10.3390/antiox7060071>
- Redecker, D. (2008). Glomeromycota. Arbuscular mycorrhizal fungi and their relative(s). [http://tolweb.org/Glomeromyco\[1\]ta/28715/2008.01.14](http://tolweb.org/Glomeromyco[1]ta/28715/2008.01.14)
- Remy, W., Taylor, T. N., Hass, H., & Kerp, H. (1994). Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(25), 11841-11843. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.25.11841>

- Reeves, J. B., McCarty, G. W., & Reeves, V. B. (2001). Mid-infrared diffuse reflectance spectroscopy for the quantitative analysis of agricultural soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(2), 766-772. <https://doi.org/10.1021/jf0011283>
- Rizwan, M., Ali, S., Hussain, A., Ali, Q., Shakoob, M. B., Zia-ur-Rehman, M., Farid, M., & Asma, M. (2017). Effect of zinc-lysine on growth, yield and cadmium uptake in wheat (*Triticum aestivum* L.) and health risk assessment. *Chemosphere*, 187, 35-42. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.08.071>
- Rizvi, A., Zaidi, A., Ameen, F., Ahmed, B., AlKahtani, M. D., & Khan, M. S. (2020). Heavy metal induced stress on wheat: phytotoxicity and microbiological management. *RSC Advances*, 10(63), 38379-38403. <https://doi.org/10.1039/D0RA05610C>
- Rodríguez-Serrano, M., Martínez de la Casa, N. Romero-Puertas, M. C., Del Río, L. A., & Sandalio, L. M. (2008). Toxicidad del Cadmio en Plantas. *Ecosistemas*, 17(3), 139-146.
- Rodushkin, I., Ruthb, T., & Huhtasaari, A. (1999). Comparison of two digestion methods for elemental determinations in plant material by ICP techniques. *Analytica Chimica Acta*, 378(1-3), 191-200. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(98\)00635-7](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(98)00635-7)
- Römheld, V. (1991). The role of phytosiderophores in acquisition of iron and other micronutrients in graminaceous species: an ecological approach. *Plant and Soil*, 130, 127-134. <https://doi.org/10.1007/BF00011867>
- Ronzan, M., Piacentini, D., Fattorini, L., Della Rovere, F., Eiche, I Riemann, M., Altamura, M. M., & Falasca, G. (2018). Cadmium and arsenic affect root development in *Oryza sativa* L. negatively interacting with auxin. *Environmental and Experimental Botany*, 151, 64-75. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.04.008>
- Roveda, G., Ramírez, M., Peñaranda, A., & Cabra, L. (2009). Biofertilización en el cultivo de la mora (*Rubus glaucus* Benth). En L. S. Barrero Meneses (Ed.), *Caracterización, evaluación y producción de material limpio de mora con alto valor agregado* (pp. 43-56). Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

- Roveda, G., Ramírez, M., & Peñaranda, A. (2009). *The effect of symbiotic association between arbuscular mycorrhizal fungi and Physalis peruviana in crop nutrition* [Conferencia]. 6th International Conference on Mycorrhiza "Beyond the Roots". Belo Horizonte, Brasil.
- Samet, H., Çikili, Y., & Atikmen, N.Ç. (2017). Role of Potassium in Alleviation of Cadmium Toxicity in Sunflower *Helianthus annuus* L. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpasa University*, 34(1), 179-88.
- Sanders, I. R., & Croll, D. (2010). Arbuscular mycorrhiza: the challenge to understand the genetics of the fungal partner. *Annual Review of Genetics*, 44(44), 271-292. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-102108-134239>
- Sebastian, A., & Vara Prasad, M. N. (2014). Cadmium minimization in rice. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 34(1), 155-173. <https://doi.org/10.1007/s13593-013-0152-y>
- Sebastian, A., Nangia, A., & Van Prasad, M. N. (2018). A green synthetic route to phenolics fabricated magnetite nanoparticles from coconut husk extract: implications to treat metal contaminated water and heavy metal stress in *Oryza sativa* L. *Journal of Cleaner Production*, 174, 355-366. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.10.343>
- Seguel, A., Rubio, R., Carrillo, R., Espinosa, A., & Borie, F. (2008). Niveles de glomalina y su relación con características químicas y biológicas del suelo (andisol) en un relicto de bosque nativo del sur de Chile. *Bosque (Valdivia)*, 29(1), 11-22. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002008000100002>
- Sharma, S., Pant, D., Singh, S., Sinha, R., & Adholeya, A. (2007). Chapter 7: Mycorrhizae in Indian Agriculture. Effect of pollution and metal toxicity on Mycorrhizal colonization and plant growth. En C. Hamel, & C. Plenchette (Eds.), *Mycorrhizae in crop production* (pp. 239-291). Haworth Press.
- Sharpley, A. N., Weld, J. L., Beegle, D. B., Kleinman, P.J., Gburek, W., Moore, P., & Mullins, G. (2003). Development of phosphorus indices for nutrient management planning strategies in the United States. *Journal of Soil and Water Conservation*, 58(3), 137-152.

- Shi, G., Cai, Q., Liu, C., & Wu, L. (2010). Silicon alleviates cadmium toxicity in peanut plants in relation to cadmium distribution and stimulation of antioxidative enzymes. *Plant Growth Regulation*, 61, 45-52. <https://doi.org/10.1007/s10725-010-9447-z>
- Shi, Z., Carey, M., Meharg, C., Williams, P. N., Signes-Pastor, A. J., Triwardhani, E. A., Pandiagan, F. I., Campbell, K., Elliott, C., Marwa, E., Jiujin, X., Gomes Farias, J., Texeira Nicoloso, F., De Silva, P. M., Lu, Y., Norton, G., Adomako, E., Green, A., Moreno-Jiménez, E., ... & Meharg, A. A. (2020). Rice grain cadmium concentrations in the global supply-chain. *Exposure and Health*, 12(4), 869-876. <https://doi.org/10.1007/s12403-020-00349-6>
- Shi, T., Ma, J., Wu, F., Ju, T., Gong, Y., Zhang, Y., Wu, X., Hou, H., Shao, L., & Shi, H. (2019). Mass balance-based inventory of heavy metals inputs to and outputs from agricultural soils in Zhejiang Province, China. *Science of the Total Environment*, 649, 1269-1280. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.414>
- Shi, T., Zhang, J., Shen, W., Wang, J., & Li, X. (2022). Machine learning can identify the sources of heavy metals in agricultural soil: A case study in northern Guangdong Province, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 245, 114107. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.114107>
- Siripornadulsil, S., & Siripornadulsil, W. (2013). Cadmium-tolerant bacteria reduce the uptake of cadmium in rice: potential for microbial bioremediation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 94, 94-103. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.05.002>
- Smirnova, S. V., Ilin, D. V., & Pletnev, I. V. (2021). Extraction and ICP-OES determination of heavy metals using tetrabutylammonium bromide aqueous biphasic system and oleophilic collector. *Talanta*, 221, 121485.
- Smith, S., & Read, D. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis* (3.^a ed.). Academic Press.
- So, H. B., & Ringrose-Voase, A. J. (2000). Management of clay soils for rainfed lowland rice-based cropping systems: an overview. *Soil and Tillage Research*, 56(2), 3-14. [https://doi.org/10.1016/S0167-1987\(00\)00119-7](https://doi.org/10.1016/S0167-1987(00)00119-7)

- Sohag, A. A. M., Tahjib-Ul-Arif, M., Polash, M. A. S., Belal Chowdhury, M., Afrin, S., Burritt, D. J., Murata, Y., Hossain, M. A., & Hossain, M. (2020). Exogenous glutathione-mediated drought stress tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) is associated with lower oxidative damage and favorable ionic homeostasis. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, 44, 955-971. <https://doi.org/10.1007/s40995-020-00917-0>
- Souri, Z., Karimi, N., & Sandalio, L. M. (2017). Arsenic hyperaccumulation strategies: An overview. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 5, 67. <https://doi.org/10.3389/fcell.2017.00067>
- Spagnoletti, F. N., Lavado, R. S., & Giacometti, R. (2018). Interaction of plants and arbuscular mycorrhizal fungi in responses to arsenic stress: A collaborative tale useful to manage contaminated soils. En M. Hasanuzzaman, K. Nahar, & M. Fujita (Eds.), *Mechanisms of Arsenic Toxicity and Tolerance in Plants* (pp. 239-255). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-13-1292-2_10
- Sylvia, D. M., Fuhrmann, J. J., Hartel, P. G., & Zuberer, D. A. (2005). *Principles and applications of soil microbiology*. Pearson; Prentice Hall.
- Tamayo, E., Gómez-Gallego, T., Azcón-Aguilar, C., & Ferrol, N. (2014). Genome-wide analysis of copper, iron and zinc transporters in the arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis*. *Plant Membrane Traffic and Transport*, 5, 547. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00547>
- The Observatory of Economic Complexity [OEC]. (2022). *Arroz en Colombia*. <https://oec.world/es/profile/bilateral-product/rice/reporter/col#:~:text=Importaciones%3A%20En%202020%2C%20Colombia%20import%C3%B3%20m%C3%A1s%20importado%20en%20Colombia>
- Tisserant, E., Malbreil, M., Kuo, A., Kohler, A., Symeonidi, A., Balestrini, R., Charron, P., Duensing, N., dit Frey, N. F., Gianinazzi-Pearson, V., Gilbert, L. B., Handa, Y., Herr, J., Hijri, M., Koul, R., Kawaguchi, M., Krajinski, F., Lammers, P., Masclaux, F., Murat, C., Morin, E.,... Martin, F. (2013). Genome of an arbuscular mycorrhizal fungus provides insight into the oldest plant symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(50), 20117-20122. <https://doi.org/10.1073/pnas.1313452110>

- Toppo, N. N., Maiti, D., & Srivastava, A. K. (2012). Native arbuscular mycorrhizal fungal diversity in rice- based cropping system under rainfed ecosystem. *Columban Journal Of Life Sciences*, 13, 79-85.
- Torrente Trujillo, A., Calderón Manchola, L. V., & Joven Santofimio, E. M. (2020). Metales en suelos productores de arroz del distrito Juncal, Huila - Colombia. *Suelos Ecuatoriales*, 50(1 y 2), 1-12. [https://doi.org/10.47864/SE\(50\)2020p1-12_121](https://doi.org/10.47864/SE(50)2020p1-12_121)
- Unz, R. F., & Shuttleworth, K. L. (1996). Microbial mobilization and immobilization of heavy metals. *Current Opinion in Biotechnology*, 7(3), 307-310. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(96\)80035-8](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(96)80035-8)
- Uraguchi, S., Mori, S., Kurumata, M., Kawasaki, A., Arao, T., e Ishikawa, S. (2009). Root-to-shoot Cd translocation via the xylem is the major process determining shoot and grain cadmium accumulation in rice. *Journal of Experimental Botany*, 60(9), 2677-2688. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp119>
- Urango Baquero, M. del P., & Marrugo Negrete, J. L. (2017). Estrategias para disminuir la absorción de mercurio en arroz (*Oryza sativa*) cultivado en suelos contaminados. http://cici.unillanos.edu.co/media2016/memorias/CICI_2016_paper_93.pdf
- Verola Mataveli, R. L., Buzzo, M. L., Juncioni de Arauz, L., Henriques Carvalho, M. de F., Kumagai Arakaki, E. E., Matsuzaki, R., & Tinglea, P. (2016). Total Arsenic, Cadmium, and Lead Determination in Brazilian Rice Samples Using ICP-MS. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/3968786>
- Volque Sepúlveda, T., Velasco Trejo, J. A., & De la Rosa, D. A. (2005). *Suelos contaminados por metales y metaloides: muestreo y alternativas para su remediación*. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales; Instituto de Ecología
- Vodnik, D., Grčman, H., Maček, I., Van Elteren, J. T., & Kovačević, M. (2008). The contribution of glomalin-related soil protein to Pb and Zn sequestration in polluted soil. *Science of The Total Environment*, 392(1), 130-136. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.11.016>

- Vymazal, J., Kröpfelová, L., Švehla, J., Chrastný, V., & Štíhová, J. (2009). Trace elements in *Phragmites australis* growing in constructed wetlands for treatment of municipal wastewater. *Ecological Engineering*, 35(2), 303-309. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2008.04.007>
- Wang, J., & Chen, C. (2009). Biosorbents for heavy metals removal and their future. *Biotechnology Advances*, 27(2), 195-226. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.11.002>
- Wang, M. Y., Chen, A. K., Wong, M. H., Qiu, R. L., Cheng, H., & Ye, Z. H. (2011). Cadmium accumulation in and tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) varieties with different rates of radial oxygen loss. *Environmental Pollution*, 159(6), 1730-1736. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.02.025>
- Wang, E., Schornack, S., Marsh, J. F., Gobbato, E., Schwessinger, B., Eastmond, P., & Oldroyd, G. E. (2012). A common signaling process that promotes mycorrhizal and oomycete colonization of plants. *Current Biology*, 22(23), 2242-2246. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.09.043>
- Wang, B., Wang, Q., Liu, W., Liu, X., Hou, J., Teng, Y., Luo, Y., & Christie, P. (2017). Biosurfactant-producing microorganism *Pseudomonas* sp. SB assists the phytoremediation of DDT-contaminated soil by two grass species. *Chemosphere*, 182, 137-142. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.04.123>
- Wei, J.-L., Lai, H.-Y., & Chen, Z.-S. (2012). Chelator effects on bioconcentration and translocation of cadmium by hyperaccumulators, *Tagetes patula* and *Impatiens walleriana*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 84, 173-178. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.07.004>
- Wu, Y. Z., Chen, J., Ji, J. F., Tian, Q. J., & Wu, X. M. (2005). Feasibility of reflectance spectroscopy for the assessment of soil mercury contamination. *Environmental Science & Technology*, 39(3), 873-878. <https://doi.org/10.1021/es0492642>
- Wu, J., Guo, J., Hu, Y., & Gong, H. (2015). Distinct physiological responses of tomato and cucumber plants in silicon-mediated alleviation of cadmium stress. *Frontiers in Plant Science*, 6, 453. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00453>

- Wu, S., Zhang, X., Huang, L., & Chen, B. (2019). Arbuscular mycorrhiza and plant chromium tolerance. *Soil Ecology Letters*, 1, 94-104. <https://doi.org/10.1007/s42832-019-0015-9>
- Xavier M., & Rodrigues B. F. (2020). Identification of Dominant Arbuscular Mycorrhizal Fungi in different Rice Ecosystems. *Agricultural Research*, 9(1), 46-55. <https://doi.org/10.1007/s40003-019-00404-y>
- Xin, J., Huang, B. Yang, Z. Yuan, J. Dai , H., & Qiu, Q. (2010). Responses of different water spinach cultivars and their hybrid to Cd, Pb and Cd-Pb exposures. *Journal of Hazardous Materials*, 175(1-3), 468-476. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.029>
- Yadav, S. K. (2010). Heavy metals toxicity in plants: An overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. *South African Journal of Botany*, 76(2), 167-179. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2009.10.007>
- Yang, Y., Chen, J., Huang, Q., Tang, S., Wang, J., Hu, P., & Shao, G., (2018). Can liming reduce cadmium (Cd) accumulation in rice (*Oryza sativa*) in slightly acidic soils? A contradictory dynamic equilibrium between Cd uptake capacity of roots and Cd immobilization in soils. *Chemosphere*, 193, 547-556. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.061>
- Zhang, J., Zhu, Y., Yu, L., Yang, M., Zou, X., Yin, C., & Lin, Y. (2022). Research Advances in Cadmium Uptake, Transport and Resistance in Rice (*Oryza sativa* L.). *Cells*, 11(3), 569. <https://doi.org/10.3390/cells11030569>
- Zhang, Q., Chen, H., Xu, C., Zhu, H., & Zhu, Q. (2019). Heavy metal uptake in rice is regulated by pH-dependent iron plaque formation and the expression of the metal transporter genes. *Environmental and Experimental Botany*, 162, 392-398. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.03.004>
- Zhang, X., Zhang, P., Hu, Y., Liu, Y., Feng, S., Guo, D., & Dang, X. (2021). Immobilization of cadmium in soil and improved iron concentration and grain yields of maize (*Zea mays* L.) by chelated iron amendments. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(38), 53161-53170. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14523-z>

- Zhang, Z., Mallik, A., Zhang, J., Huang, Y., & Zhou, L. (2019). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on inoculated seedling growth and rhizosphere soil aggregates. *Soil and Tillage Research*, 194, 104340. <https://doi.org/10.1016/j.still.2019.104340>
- Zhi, Y., Sun, T., & Zhou, Q. X. (2014). Assessment of lead tolerance in 23 Chinese soybean cultivars and the effect of lead on their mineral ion complement. *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 12909-12921. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3181-4>
- Zhu, R., Zheng, Z., Li, T., He, S., Zhang, X., Wang, Y., & Liu, T. (2019). Effect of tea plantation age on the distribution of glomalin-related soil protein in soil water-stable aggregates in southwestern China. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 1973-1982. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3782-4>









Terminó de diseñarse
en junio de 2023.
Bogotá, D. C., Colombia

El presente manual está constituido por cinco capítulos que tienen el propósito de orientar a los investigadores, al gremio arrocero y demás interesados en las metodologías para el diagnóstico y la remediación de suelos arroceros contaminados con cadmio (Cd) y la evaluación del efecto en la inmovilización de este metal pesado en plantas de arroz, mediante el uso de hongos formadores de micorrizas arbusculares. En el primer capítulo, se presentan las generalidades del cultivo de arroz y de la presencia de Cd en suelos arroceros, que incluyen la descripción botánica y taxonómica, y origen del arroz, las posibles fuentes, la dinámica y los efectos de la contaminación por Cd en el sistema productivo (suelo-planta), además de mecanismos de toxicidad y tolerancia al estrés generado por la absorción de Cd. En el segundo capítulo, se presenta una orientación sobre las metodologías para la toma de muestras de suelo, tejidos vegetales y granos de arroz para análisis de contenidos de Cd en laboratorio. En el tercer capítulo, se muestran algunas de las diferentes alternativas propuestas para la mitigación de la presencia de Cd en planta y suelo. En el cuarto capítulo, se aborda detalladamente el uso de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) como inmovilizadores de metales pesados en el cultivo del arroz. El quinto capítulo evidencia los pasos para el establecimiento y el manejo de experimentos y evaluación de efectos del Cd.



BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

CORREO: **bac@agrosavia.co**

TELÉFONO: **(57 1) 422 73 00 EXT. 1257 o 1274**

SKYPE: **[biblioteca.agropecuaria](https://www.skype.com/name/identifiers/alias/biblioteca.agropecuaria)**

www.agrosavia.co

**Distribución gratuita
Prohibida su venta**