

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**“FITOEXTRACCIÓN DE CADMIO EN SUELOS CONTAMINADOS  
Y FERTILIZADOS CON FÓSFORO USANDO *Helianthus annuus*  
ASOCIADO CON EL HONGO MICORRÍTICO *Glomus intraradices*”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE**

**INGENIERA AGRÓNOMA**

**EMILEE NAHOMI CALERO RIOS**

**LIMA-PERÚ**

**2024**

---

La UNALM es la titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación  
(Art. 24. Reglamento de Propiedad Intelectual)

# Tesis Emilee Calero

## INFORME DE ORIGINALIDAD

12%

INDICE DE SIMILITUD

11%

FUENTES DE INTERNET

2%

PUBLICACIONES

3%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1

[repositorio.lamolina.edu.pe](https://repositorio.lamolina.edu.pe)

Fuente de Internet

2%

2

[hdl.handle.net](https://hdl.handle.net)

Fuente de Internet

2%

3

[www.researchgate.net](https://www.researchgate.net)

Fuente de Internet

1%

4

[presidencia.gva.es](https://presidencia.gva.es)

Fuente de Internet

1%

5

[scielo.sld.cu](https://scielo.sld.cu)

Fuente de Internet

1%

6

[avepagro.org.ve](https://avepagro.org.ve)

Fuente de Internet

1%

7

[www.scielo.cl](https://www.scielo.cl)

Fuente de Internet

<1%

8

[es.scribd.com](https://es.scribd.com)

Fuente de Internet

<1%

9

[repositorio.unas.edu.pe](https://repositorio.unas.edu.pe)

Fuente de Internet

<1%

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**“FITOEXTRACCIÓN DE CADMIO EN SUELOS CONTAMINADOS  
Y FERTILIZADOS CON FÓSFORO USANDO *Helianthus annuus*  
ASOCIADO CON EL HONGO MICORRÍTICO *Glomus intraradices*”**

**EMILEE NAHOMI CALERO RIOS**

Tesis para optar el Título de:

**INGENIERA AGRÓNOMA**

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

---

Dr. Federico Alexis Dueñas Dávila  
**PRESIDENTE**

---

Ing. Mg. Sc. Pedro Pablo Gutiérrez Vílchez  
**ASESOR**

---

Dr. Oscar Oswaldo Loli Figueroa  
**MIEMBRO**

---

Dr. Sady Javier García Bendezú  
**MIEMBRO**

**LIMA – PERÚ**

**2024**

## **DEDICATORIA**

A mi familia, quienes me impulsan a ser mejor  
cada día.

A siete músicos por ser mi fuente de felicidad

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres Gregorio y Dilma por su amor y apoyo incondicional.

A mis hermanos Nicolás, Tony y Naty por confiar en mí siempre.

A mi asesor, el Ing. Pedro Pablo Gutiérrez por ser guía de esta investigación e impulsarme a ser una mejor profesional.

Al Lic. Omar Benites, por sus consejos y su valioso tiempo brindado para el análisis estadístico.

A Jhack Baltazar por brindarme las facilidades de trabajo en el Laboratorio de Fertilidad de Suelos “Sven Villagarcía Hermoza”.

A todas las personas que me ayudaron en la fase de campo del experimento.

A todos mis amigos que me dedicaron palabras de aliento para finalizar este trabajo.

Al Vicerrectorado de Investigación de la UNALM por la subvención brindada para hacer realidad esta investigación.

A mi alma mater la Universidad Nacional Agraria La Molina, especialmente a la Facultad de Agronomía, por formarme como una persona y como profesional de las ciencias agrarias.

# ÍNDICE GENERAL

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>II.</b>	<b>REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>2</b>
2.1	MARCO TEÓRICO .....	2
2.1.1	Contaminación de suelos .....	2
2.1.2	Contaminación por metales pesados.....	3
2.1.3	Cadmio.....	4
2.1.4	Fitorremediación de suelos .....	8
2.1.5	<i>Helianthus annuus</i> .....	10
2.1.6	Hongos Micorríticos Arbusculares .....	11
2.2	ANTECEDENTES .....	12
<b>III.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>15</b>
3.1	UBICACIÓN DEL CAMPO EXPERIMENTAL .....	15
3.2	SUELO .....	15
3.3	AGUA.....	16
3.4	MATERIALES Y EQUIPOS .....	16
3.4.1	Semillas.....	16
3.4.2	Micorrizas .....	16
3.4.3	Fertilizantes.....	16
3.4.4	Fuente de cadmio .....	16
3.4.5	Ensayo experimental.....	16
3.5	TRATAMIENTOS .....	17
3.6	METODOLOGÍA.....	18
3.6.1	Instalación de macetas .....	18
3.6.2	Contaminación .....	19
3.6.3	Fertilización con fósforo.....	19

3.6.4	Inoculación de HMA .....	19
3.6.5	Siembra .....	20
3.6.6	Riegos .....	20
3.6.7	Fertilización .....	20
3.6.8	Evaluación de variables biométricas.....	20
3.6.9	Medición de altura .....	20
3.6.10	Medición del índice de estabilidad de la membrana (MSI) .....	21
3.6.11	Cosecha.....	21
3.6.12	Digestión ácida .....	21
3.6.13	Diseño y tratamiento experimental .....	22
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>23</b>
4.1	PESO SECO TOTAL .....	24
4.2	CONCENTRACIÓN DE CADMIO EN LA INFLORESCENCIA.....	25
4.3	CONCENTRACIÓN DE CADMIO EN EL TALLO .....	27
4.4	CONCENTRACIÓN DE CADMIO EN LA RAÍZ .....	29
4.5	EXTRACCIÓN TOTAL DE CADMIO.....	32
4.6	FACTOR DE TRANSLOCACIÓN (FT).....	36
4.7	ÍNDICE DE ESTABILIDAD DE LA MEMBRANA.....	38
<b>V.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>43</b>
<b>VI.</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>44</b>
<b>VII.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>45</b>
<b>VIII.</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>55</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Análisis de agua usado en el experimento .....	16
Tabla 2: Dosis de los tratamientos.....	18
Tabla 3: Contenido de cadmio en el fertilizante superfosfato triple.....	19
Tabla 4: Análisis de varianza de los factores de estudio micorrizas, cadmio y fósforo para las variables concentración de cadmio en la inflorescencia, tallo y raíz; factor de translocación; índice de estabilidad de la membrana, extracción total de cadmio y altura. ....	23
GL: Grados de Libertad, *, significativo para el nivel del 5%; **, significativo para el nivel de 1%; ***, significativo para el nivel de 0.5. ....	23



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Prueba de efectos principales para el peso seco total del girasol bajo efecto de presencia y ausencia del HMA .....	24
Figura 2. Prueba de efectos principales para el peso seco total del girasol bajo efecto de dos dosis de fósforo .....	24
Figura 3. Prueba de efectos principales para el contenido de cadmio en la inflorescencia del girasol bajo efecto de tres dosis de cadmio .....	25
Figura 4. Prueba de efectos principales para el contenido de cadmio en la inflorescencia del girasol bajo efecto de dos dosis de fósforo .....	25
Figura 5. Efecto de las diferentes dosis de cadmio en la concentración de cadmio en la inflorescencia del girasol bajo efecto de ausencia y presencia del HMA .....	26
Figura 7. Prueba de efectos principales para el contenido de cadmio en el tallo del girasol bajo efecto de dos dosis de fósforo.....	27
Figura 8. Efecto de las diferentes dosis de cadmio en la concentración de cadmio en el tallo del girasol bajo efecto de ausencia y presencia del HMA.....	28
Figura 9. Prueba de efectos principales para el contenido de cadmio en la raíz del girasol bajo efecto de ausencia y presencia del HMA.....	29
Figura 10. Prueba de efectos principales para el contenido de cadmio en la raíz del girasol bajo efecto de tres dosis de cadmio .....	29
Figura 11. Efecto de las diferentes dosis de cadmio en la concentración de cadmio en la raíz del girasol bajo efecto de ausencia y presencia del HMA .....	30
Figura 12. Prueba de efectos principales para la extracción total de cadmio del girasol bajo efecto de ausencia y presencia del HMA.....	33
Figura 13. Prueba de efectos principales para la extracción total de cadmio del girasol bajo efecto de tres dosis de cadmio .....	33
Figura 14. Prueba de efectos principales para la extracción total de cadmio del girasol bajo efecto de dos dosis de fósforo.....	34

Figura 15. Efecto de las diferentes dosis de fósforo en la extracción total de cadmio del girasol bajo efecto de ausencia y presencia HMA.....	34
Figura 16. Efecto de las diferentes dosis de cadmio en la extracción total de cadmio en del girasol bajo efecto de ausencia y presencia del HMA .....	35
Figura 17. Prueba de efectos principales para el factor de translocación bajo el efecto de tres dosis de cadmio.....	37
Figura 18. Prueba de efectos principales para el índice de estabilidad de la membrana de la hoja del girasol bajo efecto de ausencia y presencia del HMA .....	39
Figura 19. Prueba de efectos principales para el índice de estabilidad de la membrana de la hoja del girasol bajo efecto de dos dosis de fósforo .....	39
Figura 20. Prueba de efectos principales para el índice de estabilidad de la membrana de la hoja bajo el efecto de tres dosis de cadmio.....	40
Figura 21. Efecto de las diferentes dosis de fósforo en el índice de estabilidad de la membrana de la hoja bajo efecto de ausencia y presencia del HMA .....	40
Figura 22. Efecto de las diferentes dosis de cadmio en el índice de estabilidad de la membrana de la hoja bajo efecto de ausencia y presencia del HMA .....	41

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Análisis de caracterización del suelo experimental .....	55
Anexo 2. Análisis de concentración de cadmio en el suelo .....	55
Anexo 3. Análisis de varianza para el peso seco total del girasol.....	56
Anexo 4. Análisis de varianza para el contenido de cadmio en la inflorescencia.....	56
Anexo 5. Análisis de varianza para el contenido de cadmio en el tallo .....	57
Anexo 6. Análisis de varianza para el contenido de cadmio en la raíz .....	57
Anexo 7. Análisis de varianza para la extracción total de cadmio por la planta.....	58
Anexo 8. Análisis de varianza para el factor de translocación .....	58
Anexo 9 Análisis de varianza para el índice de estabilidad de la membrana de la hoja .....	59
Anexo 10. Porcentaje de colonización micorrízica en raíces de girasol inoculados con <i>Glomus intraradices</i> con concentraciones distintas de Cd y P en el suelo.....	59
Anexo 11. Secado de suelo tamizado al aire libre .....	60
Anexo 12. Llenado de macetas con suelo.....	60
Anexo 13. Contaminación de suelo con cadmio en sus diferentes dosis .....	61
Anexo 14. Siembra de girasol en las macetas .....	61
Anexo 15. Fertilización con superfostato triple en los tratamientos necesarios.....	62
Anexo 16. Vista de los cotiledones del girasol a los 10 días después de la siembra.....	62
Anexo 17. Riego diario de las macetas.....	63
Anexo 18. Etiquetado de macetas con códigos QR.....	63
Anexo 19. Plantas de girasoles a los 49 después de la siembra.....	64
Anexo 20. Planta de girasol a los 60 días después de la siembra .....	64
Anexo 21. Plantas de girasol a los 78 días después de la siembra .....	65
Anexo 22. Cosecha del girasol .....	65
Anexo 23. Pesado de discos foliares para la evaluación de Índice de la estabilidad de la membrana .....	66
Anexo 24. Pesado del girasol en fresco .....	66
Anexo 25. Lavado de raíces de girasol.....	67
Anexo 26. Secado de raíces al aire libre.....	67
Anexo 27. Pesado de raíces en seco .....	68
Anexo 28. Triturado de materia seca.....	68
Anexo 29. Pesado de muestra molida para la digestión ácida.....	69

Anexo 30. Proceso de agregación de ácido nítrico perclórico a las muestras molidas .....	69
Anexo 31. Cristalización de las muestras molidas de girasol después de la digestión ácida .....	70
Anexo 32. Filtrado de las muestras cristalizadas.....	70

## RESUMEN

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio e Invernadero de Fertilidad del Suelo “Sven Villagarcía Hermoza” de la Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú. Se utilizaron macetas de 4 kg con suelo franco arenoso esterilizado. Las macetas se contaminaron con tres niveles de cadmio (0, 15, 30 mg Cd kg<sup>-1</sup>) y se fertilizaron con dos niveles de fósforo (0, 200 mg fósforo kg<sup>-1</sup>). Se sembró girasol, inoculando un grupo con el hongo micorrícico *Glomus intraradices* y dejando otro sin inoculación. Se aplicó un diseño experimental 2x2x3 con cinco repeticiones. Se evaluaron la altura de la planta, la concentración de cadmio en raíz, tallo e inflorescencia, la extracción total de cadmio, el factor de translocación y el índice de estabilidad de la membrana (MSI) a los 78 días de la siembra. Los resultados obtenidos revelaron que no se encontraron diferencias significativas en la interacción entre los tres factores de estudio. Se pudo observar que las dosis de cadmio no afectaron negativamente al desarrollo vegetativo del girasol siendo la altura indiferente a los tratamientos establecidos. En líneas generales, se observó un incremento en la concentración de cadmio en la planta a medida que se aumentaba la dosis de este metal, especialmente en la raíz. En la extracción total de Cd por el girasol, las plantas inoculadas con micorrizas registraron un valor de 86.40 µg Cd/maceta, en comparación con las no inoculadas con 51 µg Cd/maceta. El factor de translocación resultó menor que 1 y MSI no mostró diferencias significativas. En conclusión, se puede afirmar que el girasol exhibe una alta resistencia al cadmio, desempeñando un papel de fitoestabilizador al acumular la mayor parte del contaminante en la raíz además su capacidad de extracción de este metal es mejorada cuando se establece una simbiosis con micorrizas.

**Palabras clave:** cadmio, girasol, micorrizas, fósforo, fitoextracción.

## **ABSTRACT**

The study was conducted at the Soil Fertility Laboratory and Greenhouse "Sven Villagarcía Hermoza" of the National Agrarian University La Molina, Lima, Peru. 4 kg pots with sterilized sandy loam soil were used. The pots were contaminated with three levels of cadmium (0, 15, 30 mg Cd kg<sup>-1</sup>) and fertilized with two levels of phosphorus (0, 200 mg phosphorus kg<sup>-1</sup>). Sunflower was planted, inoculating one group with the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and leaving another group uninoculated. A 2x2x3 factorial experimental design with five replicates was applied. Plant height, cadmium concentration in root, stem, and inflorescence, total cadmium extraction, translocation factor, and membrane stability index (MSI) were evaluated at 78 days after planting. The results revealed no significant differences in the interaction among the three study factors. It was observed that cadmium doses did not negatively affect sunflower's vegetative development, with height being unaffected by the established treatments. Overall, there was an increase in cadmium concentration in the plant as the metal dose increased, especially in the root. In total Cd extraction by sunflower, plants inoculated with mycorrhizae recorded a value of 86.40 µg Cd/pot compared to uninoculated ones with 51 µg Cd/pot. The translocation factor was less than 1, and MSI showed no significant differences. In conclusion, it can be stated that sunflower exhibits high resistance to cadmium, playing a phytostabilizing role by accumulating most of the contaminant in the root, and its metal extraction capacity is enhanced when establishing a symbiosis with mycorrhizae.

**Keywords:** cadmium, sunflower, mycorrhizas, phosphorus, phytoextraction.

## I. INTRODUCCIÓN

La contaminación de suelos con metales pesados representa un desafío ambiental de gran magnitud en todo el mundo. En los últimos años, se ha reportado un incremento en los niveles de cadmio en los suelos agrícolas peruanos como resultado de una prolongada fertilización fosfatada. Entre los metales pesados, el cadmio (Cd) se destaca por su toxicidad, persistencia en el ambiente, movilidad y la capacidad de ser rápidamente absorbido por las raíces de las plantas, transportándose a la parte aérea acumulándose en el producto comercial, lo que plantea serios riesgos para la salud humana. La exposición crónica al cadmio puede provocar una serie de problemas de salud, incluyendo daños renales, óseos y pulmonares, así como la posibilidad de desarrollar cáncer.

En este contexto, la fitorremediación se ha posicionado como una estrategia efectiva y sostenible para mitigar la contaminación por cadmio en el suelo. La fitorremediación se basa en la utilización de plantas para eliminar o reducir la concentración de contaminantes en suelos. Entre las plantas utilizadas con éxito en procesos de biorremediación, el girasol (*Helianthus annuus*) ha demostrado una notable capacidad para acumular metales pesados en sus tejidos, incluyendo el cadmio. Esto sumado a la presencia de simbiosis generada entre los hongos micorrícicos y las raíces, puede potenciar la capacidad de las plantas para absorber y acumular metales pesados.

El objetivo general de esta tesis es explorar el potencial de la fitorremediación de suelos contaminados con cadmio y fertilizados con fósforo a través del uso del girasol (*Helianthus annuus*) en asociación con el hongo micorrícico *Glomus intraradices* y como objetivos específicos:

- Evaluar la tolerancia del girasol ante dosis crecientes de cadmio.
- Determinar la concentración de cadmio en la raíz, tallo e inflorescencia del girasol.
- Determinar la capacidad de translocación de cadmio del girasol de la raíz a órganos aéreos a través del factor de translocación.
- Determinar la influencia de la asociación de la inoculación con el hongo micorrícico *Glomus intraradices* sobre la capacidad de extracción de cadmio por el girasol.
- Evaluar el efecto de la fertilización fosfatada sobre la concentración de cadmio disponible en la planta del girasol.

## **II. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1 MARCO TEÓRICO**

#### **2.1.1 Contaminación de suelos**

El suelo es un componente del ambiente muy importante en el cual se desarrolla la vida, es vulnerable, difícil y larga recuperación por lo que se considera un recurso no renovable (FAO, 2019). Provee esenciales funciones ambientales como el sustento de alimento para las plantas, ser el hábitat de diversos organismos que transforman la materia orgánica y otros factores que lo hacen ser esencial en el desarrollo de ecosistemas de los cuales forma parte (Silva y Correa, 2009).

La agricultura hace un uso intensivo del suelo, empleando insumos como plaguicidas y fertilizantes con el objetivo de obtener alimento y materia prima, situación, que conduce a una degradación creciente por motivos de contaminación la cual puede llevar a una pérdida irrecuperable del mismo (Silva y Correa, 2009).

La contaminación en los suelos se refiere a la presencia de químicos o sustancias presentes en una concentración más alta de lo normal y que conllevan a afectos adversos sobre los organismos al que no está destinado (FAO y GTIS, 2015). La mayoría de los contaminantes tienen origen antropogénico, algunos componentes minerales pueden aparecer naturalmente en concentraciones altas (FAO, 2019) y su presencia puede producir desequilibrios en los ciclos de los nutrientes y acidificación del suelo (FAO y GTIS, 2015). Este proceso de degradación afecta a numerosos territorios, a escala mundial identificándola como la tercera amenaza más importante a las funciones del suelo, de ahí el interés suscitado en las últimas décadas, en conocer los tipos y fuentes de contaminación de suelos, así como procesos o posibles soluciones que se pueden adoptar para prevenir, mitigar o remediar estos procesos de contaminación (Jiménez, 2017).



### **2.1.2 Contaminación por metales pesados**

El término “metales pesados” se refiere al grupo de metales y metaloides de masa relativamente alta ( $> 4,5 \text{ g cm}^{-3}$ ) como Pb, Cd, Cu, Hg, Sn y Zn, que pueden causar problemas de toxicidad (FAO, 2019). Están presentes en el suelo como componentes naturales, en la corteza terrestre, en forma de minerales, sales u otros compuestos. o como consecuencia de actividades antropogénicas como la minería industrial, la eliminación de desechos con alto contenido metálico; la aplicación de fertilizantes, estiércol, los lodos de depuradora, los plaguicidas, la irrigación con aguas residuales, los residuos de combustión de carbón; los derrames de petroquímicos y la deposición atmosférica de diferentes fuentes (Prieto et al., 2009; Alloway, 2013).

Los metales pesados son el tipo de contaminantes más persistentes y complejos para remediar en la naturaleza (Prieto et al., 2009). No pueden ser degradados o destruidos fácilmente de forma natural o biológica ya que no tienen funciones metabólicas específicas para los seres vivos (FAO, 2019).

Entre los metales pesados, Zn, Ni, Co y Cu son relativamente más tóxicos para las plantas, causando efectos inmediatos como inhibición en el crecimiento y desarrollo de las plantas, así como una disminución de la población microbiana del suelo cuando alcanzan niveles altos no permitidos debido a su característica de bioacumulación (Martín, 2000).

El As, Cd, Pb, Cr y Hg son relativamente más tóxicos para los animales superiores y los elementos más importantes atendiendo a la contaminación de la cadena alimentaria son As, Cd, Hg, Pb y Se debido a que amenazan la salud y el bienestar de los seres humanos (FAO, 2019).

Los metales pesados que se han incorporado al suelo pueden seguir cuatro vías: i) Quedar retenido en el suelo en fase acuosa u ocupando sitios de intercambio; ii) Ser adsorbido por constituyentes inorgánicos del suelo; iii) Quedar asociado con la materia orgánica; iv) Ser precipitado como sólido puro o mixto. Sin embargo, también pueden ser absorbidos por las plantas, incorporándose así a las cadenas tróficas (Prieto et al., 2009).

### **2.1.3 Cadmio**

#### **a. Características generales**

El cadmio es un elemento del Grupo II-B de la Tabla Periódica, situado entre el Zn y el Hg, por lo tanto, posee características similares a éstos. Este metal es liberado al medio ambiente en un 10 % bajo actividades naturales como la emisión de cadmio de las rocas madre, las erupciones volcánicas, los incendios forestales, el polvo transportado por el viento y la neblina marina. Las fuentes antropogénicas liberan al más del 90 % bajo el uso de fertilizantes fosfatados, detergentes, combustión de combustibles fósiles, trabajos metalúrgicos, desechos de la industria del cemento, lodos de depuración, desechos municipales e industriales, minería, fundición y procesamiento de minerales (Cloquet et al., 2006). Se calcula que cada año se liberan entre 25000 y 30000 toneladas de cadmio, de las cuales, alrededor de la mitad proviene de las rocas y unas 4000 y 13000 toneladas como consecuencia de actividades humanas como la minería y combustibles fósiles (Serrano et al., 2008).

Por lo general, no encontramos al cadmio en el ambiente como un metal puro, es más abundante en forma de óxidos complejos, sulfuros y carbonatos en el zinc, plomo y menas de cobre (Pérez, 2012). Su compuesto natural más común es el CdS, es por eso, que se dice que tiene una gran afinidad por el azufre. Adicionalmente lo podemos encontrar formando compuestos como: CdO, CdCl<sub>2</sub>, Cd (OH)<sub>2</sub> (Herrera, 2011).

Lamentablemente el Cd no se descompone en el medio ambiente. Se puede encontrar en pequeñas partículas o adherido a ellas y por tal razón pueden viajar grandes distancias para depositarse en el suelo y puede persistir por varios años debido a su poca degradación microbiana y química. Esta propiedad unida a su alta movilidad, poder acumulativo y toxicidad en niveles bajos hace considerarlo como una gran problemática (Hernández-Baranda, 2019; Huaraca-Fernández, 2020). Por ello está clasificado en la séptima posición entre 20 toxinas, debido a su alta solubilidad y naturaleza tóxica (Gramlich et al., 2018).

#### **b. Cadmio en el suelo**

El cadmio se presenta naturalmente en los suelos de forma divalente (Cd<sup>2+</sup>). Se encuentra disponible en el agua intersticial y en las partículas de suelo que están fácilmente accesible para los organismos receptores (Ferreira y Barbosa, 2019; Khan et al., 2017).

La biodisponibilidad del Cd en el suelo va a depender del pH, la cantidad de materia orgánica y la CIC. Estos tres factores afectan la solubilidad de los compuestos y por ende la liberación de Cd en la solución suelo, además interfieren en la captación del Cd por las plantas (Sarwar et al., 2010).

El pH se relaciona de una manera lineal indirecta, a medida que disminuye pH quiere decir, el suelo se vuelve ácido, aumenta la absorción de Cd por las plantas. En el caso contrario, al incrementar el pH es adsorbido por los coloides del suelo y de esa manera siendo menos disponible para la planta (Hernández-Baranda, 2020).

La materia orgánica del suelo es capaz de retener metales pesados por su alto contenido de capacidad de intercambio catiónico, adicionalmente las enmiendas orgánicas en dosis altas son capaces de aumentar el pH del suelo y en consecuencia disminuir la biodisponibilidad de Cd del suelo (Shen et al., 2019).

Según He et al. (2015), señalan que la capacidad de intercambio catiónico representa un factor significativo que afecta la movilidad del Cd en el suelo. Este elemento tiende a estar firmemente ligado a las superficies de minerales de arcilla, óxidos de hierro, aluminio y materia orgánica, lo que resulta en una reducción significativa de su capacidad de movimiento en suelos ricos en materia orgánica y con una abundante presencia de partículas de arcilla donde los metales pesados tienden a inmovilizarse, ya que quedan retenidos debido a su adsorción al complejo coloidal del suelo.

El cadmio es un metal cuyos iones son absorbidos más fácilmente por las raíces de las plantas, además de esta biodisponibilidad también presenta dos procesos: la actividad de absorción y la capacidad de translocación, lo que lo hace mucho más preocupante (Clemens, 2006). Usualmente, las concentraciones de cadmio en el suelo están en un rango de 0.1 a 2.0 mg Cd kg<sup>-1</sup> en suelos no contaminados y en su mayoría por debajo de 1 mg kg<sup>-1</sup>; sin embargo, las actividades humanas como la minería, fertilización fosfatada, lodo de depuradoras, etc. contribuyen a un significativo incremento de Cd en los suelos (Del Ducca et al., 2015).

Su presencia en el suelo puede alterar el consumo de otros minerales por la planta a través de su comportamiento o por la reducción de la población de microbios del suelo (Benavides et al., 2005).

### **c. Cadmio en la planta**

El cadmio es un elemento no esencial que afecta negativamente el crecimiento y desarrollo de plantas (Benavides et al., 2005). Es uno de los más peligrosos metales debido a su alta movilidad y los efectos que comienzan a aparecer en las plantas con solo pequeñas concentraciones (Barceló et al., 1986).

El ingreso del cadmio a la planta es en forma de  $Cd^{+2}$ , la capa de células epidérmicas especialmente los pelos radiculares, son las primeras y más activas en la absorción de  $Cd^{+2}$  (Nigam et al., 2001; Seregin e Ivanov, 1997). A continuación, se proponen tres vías de entrada del cadmio en la raíz (Song et al., 2017):

Primera ruta: En la membrana plasmática de las células epidérmicas de la raíz, el dióxido de carbono ( $CO_2$ ) se disocia en iones de hidrógeno ( $H^+$ ) y bicarbonato ( $HCO_3^-$ ) como parte del proceso de respiración de la planta. Los iones de hidrógeno ( $H^+$ ) intercambian su lugar con los iones de cadmio ( $Cd^{+2}$ ) presentes en el suelo, lo que resulta en la adsorción del metal en la superficie de las células epidérmicas de la raíz. Este proceso de adsorción es rápido y no requiere de energía, y precede a la posterior absorción de  $Cd^{2+}$  en la epidermis a través de la vía del apoplasto.

Segunda ruta: Dado que el cadmio es considerado un elemento no esencial, se asume que las plantas no tienen mecanismos específicos de entrada para él. El Cd ingresa a las células vegetales a través de la vía simplasto con las proteínas transportadoras que normalmente se utilizan para metales esenciales como el hierro ( $Fe^{+2}$ ), el zinc ( $Zn^{+2}$ ) y el calcio ( $Ca^{+2}$ ).

Tercera ruta: Para aumentar la disponibilidad de iones en el suelo de la rizosfera las raíces secretan compuestos de baja masa molecular, como los ácidos mugineicos (MA), que forman complejos con los iones de  $Cd^{2+}$ . De esta manera, el  $Cd^{2+}$  ingresa a la capa de la epidermis de la raíz en forma de quelatos mediante proteínas.

Una vez dentro su concentración no es la misma en las diferentes partes de la planta. Generalmente la secuencia es: raíces > tallos > hojas > frutas > semillas (Herrera, 2011).

La presencia de cadmio en la planta produce síntomas visibles como la clorosis debido a la disminución del contenido de clorofila A, clorofila B y carotenoides (De Andrade et al., 2008). Según Van Assche y Clijsters (1990), dos posibles mecanismos pueden ser los responsables de la disminución del pigmento de clorofila: La inhibición de la protoclorofilida reductasa y de la enzima que divide el agua ubicada en el sitio oxidativo del fotosistema II

dentro de la cadena transportadora de electrones. Entre otros daños acentuados tenemos la reducción del crecimiento, desbalance nutricional y estrés oxidativo por la poca actividad de la ATPasa de la fracción de la membrana plasmática. Se puede deducir que la disminución de la actividad de esta enzima es causada por la alteración de la fluidez de la membrana y la composición de lípidos, o por la unión de Cd a grupos SH de las proteínas (Fodor et al., 1995). Por otro lado, el Cd induce a la formación químicas de especies reactivas de oxígeno como el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), iones peróxido ( $O^{2-}$ ) e hidróxido ( $OH^-$ ) y radicales libres que produce daño celular en los tejidos (Lagriffoul et al., 1998).

El cadmio (Cd) también provoca la inhibición de las metaloenzimas al reemplazar metales con cargas o tamaños similares, como el zinc ( $Zn^{+2}$ ) y el magnesio ( $Mg^{+2}$ ). El Mg, que se encuentra en la enzima RuBisCo, puede ser sustituido por Cd, lo que conduce a la descomposición de la enzima en sus subunidades (Myśliwa-Kurdziel et al., 2004).

Entre los cultivos más tolerantes tenemos al: girasol (*Helianthus annuus*), pak choi (*Brassica chinensis L.*), Mostaza de la India (*Brassica juncea*), Noccaea caerulescens (*Thlaspi caerulescnes*), *Arabidopsis thaliana*, *Arabis paniculata*, *Arabis gemmifera*, *N. goesingensis* (*T. goesingense*) y *N. praecox* (*T. praecox*) (Hernandez-Fernandez, 2020).

De Andrade et al. (2008), mostraron los efectos destructivos de los metales pesados en la biomasa de *Helianthus annuus*. Además, reportaron que la toxicidad del Cd disminuía el peso seco de la parte aérea del girasol en un 22%, mientras que la asociación de *Helianthus* con micorrizas aliviaba el efecto toxico mostrando un incremento de 10% de peso fresco en comparación con plantas no asociadas con hongos micorrícicos.

#### **d. Cadmio en fertilizantes fosfatados**

Una de las vías de incorporación del cadmio a los suelos agrícolas es la fertilización fosfatada. La roca fosfórica, es la materia prima de todos los fertilizantes fosfáticos, constituida principalmente por apatita, que, además de P, contiene Cd en cantidades que varían entre 8 y 500 mg  $kg^{-1}$  (Mar y Okazaki, 2012). Entonces se puede decir que el Cd permanece en una proporción importante en los fertilizantes industriales y posteriormente son aplicados al suelo junto con el fósforo (Herrera, 2011).

Gonçalves et al. (2008), en su investigación cuantificaron que el contenido de cadmio en los fertilizantes fosfatados oscilaba entre el rango de 0.67 y 42.93 mg  $kg^{-1}$  siendo el fosfato natural con el contenido más alto de Cd. En su investigación sobre biodisponibilidad de

cadmio en fertilizantes fosfatados encontró que el superfosfato triple contenía 25.92 mg Cd kg<sup>-1</sup>. Adicionalmente, sin embargo, en la investigación de Campos (2005) encontró 50 mg Cd kg<sup>-1</sup> con el método 3051A y 80 mg Cd kg<sup>-1</sup> con el método USEPA 3050B en el mismo fertilizante.

Entre estos factores decisivos que determinan si una mayor disponibilidad y acumulación de Cd en el suelo por plantas ocurrirá o no con el tiempo son la entrada neta de Cd y el cambio en la solubilidad o disponibilidad del Cd agregado de los fertilizantes a lo largo del tiempo (Lambert et al., 2007).

Mortvedt (1987), encontró niveles de Cd en cultivos entre 0.04 y 0.09 mg kg<sup>-1</sup>, después de un largo período de fertilización fosfatada con superfosfato triple. Los contenidos de Cd encontrados en la parte aérea y raíces de la avena negra fueron similares. Sin embargo, también registró que la aplicación con fertilizante fosfatados con menos de 10 mg Cd kg<sup>-1</sup>, no registran aumentos significativos en las concentraciones de cadmio a largo plazo.

A pesar de las evaluaciones que se ha tenido de la disponibilidad de cadmio en los fertilizantes fosfatados, pocos exámenes han demostrado la transferencia eficaz del cadmio proveniente del fertilizante a la planta, especialmente bajo condiciones de campo. En la literatura no hay un consenso sobre como las aplicaciones continuas de fertilizantes fosfatados podría afectar la fitodisponibilidad del cadmio en los suelos. Sin embargo, investigaciones en Australia y el Reino Unido afirman que las aplicaciones continuas a largo plazo, podrían aumentar la concentración de cadmio en la superficie de los suelos (Lambert et al., 2007).

Actualmente la estrategia está orientada al uso de los fertilizantes fosfatados con bajas concentraciones de este metal. Por esta razón, en lugares como Japón, Australia y algunos países de Europa se han propuesto límites de tolerancia en la concentración de Cd de los fertilizantes fosfatados que se comercializan. En Japón se acepta un máximo de 8 mg de Cd para fertilizantes fosfatados, en Australia el valor es de 300 mg kg<sup>-1</sup>.

#### **2.1.4 Fitorremediación de suelos**

Debido al aumento significativo de contaminación por metales pesados en suelos agrícolas se han propuesto varias metodologías para su remediación, dentro de estas se encuentra la fitorremediación, definido como el uso de plantas verdes para la eliminación de contaminantes del medio ambiente o para hacerlos menos ofensivos (Salt et al., 1998). Esta alternativa ha sido desarrollada como un costo efectivo y un método de remediación, que es

ecoamigable con el medioambiente (Do Nascimento y Xing, 2006). La fitorremediación de suelos está dividida en las siguientes áreas: fitodegradación, rizofiltración, fitoestabilización, fitovolatilización y fitoextracción; siendo esta última el área más estudiada científica y tecnológicamente en el paso de los años (Salt et al., 1998).

La fitoextracción se basa en el uso de las plantas para la extracción y translocación de los metales a sus órganos cosechables. El objetivo es reducir la concentración de metales en los suelos. Este proceso de extracción depende de la habilidad de selección de plantas para el crecimiento y acumulación bajo condiciones climáticas específicas y características del suelo del sitio que será estudiado además de la solubilidad del metal (Do Nascimento y Xing, 2006; Sheoran et al., 2016).

Los compuestos químicos que se pueden presentar en la rizósfera están claramente asociados con el aumento de la absorción de metales del suelo y su translocación a los brotes. Los ácidos orgánicos de bajo peso molecular son probablemente los exudados más importantes en sistemas de fitoextracción. Es el principal factor relacionado con la movilización de metales en el suelo y su acumulación en las plantas (Do Nascimento y Xing, 2006).

El éxito de la fitoextracción depende de la interacción entre el suelo, metales y plantas. La concentración del contaminante en el suelo y la disponibilidad del metal para que sea tomado por la raíz son muy importantes. Este último está influenciado por factores, como pH, potencial redox, capacidad de intercambiocatiónico, tipo de suelo y textura del suelo. Sin embargo, la baja biodisponibilidad de los metales pesados, baja biomasa de los acumuladores naturales y la limitada translocación de los metales a las raíces limitan la eficiencia de la fitoextracción (Sheoran et al., 2016).

#### **a. Plantas fitoextractoras**

Las características deseables para las especies de plantas exitosas para la fitoextracción son:

- i) Rápido crecimiento y alta biomasa
- ii) Sistema radicular extendido para abarcar largos volúmenes de suelo
- iii) Buena tolerancia a altas concentraciones de metales en los tejidos
- iv) Alto factor de translocación
- i) Adaptabilidad a diferentes ambientes
- ii) Fácil manejo agronómico (Song et al., 2017).

Las raíces de las plantas fitoextractoras cumplen un papel importante pues la cantidad potencial de metal que ingresará a la planta va a depender de la profundidad que alcanza la raíz y con esta también varía la densidad. La mayoría de las raíces están cerca de la superficie del suelo. Mientras la profundidad aumenta la densidad de las raíces disminuye (Robinson et al., 2003).

Generalmente es aceptado que la concentración de cadmio en las plantas sea entre 0.2 a 0.8 mg kg<sup>-1</sup> y concentraciones tóxicas están definidas desde 5-30 mg kg<sup>-1</sup> (Mirecki et al., 2015).

### **2.1.5 *Helianthus annuus***

#### **a. Capacidad fitorremediadora**

El girasol (*Helianthus annuus* L.) es un fitoextractor potencial de cadmio, níquel, cobre, zinc, cromo, plomo y radioisótopos. Es considerada una de las mejores opciones al momento de realizar una remediación de suelo por su rápido crecimiento, producción de alta biomasa, rápido crecimiento y a su capacidad de resistir altas concentraciones de metales pesados e hidrocarburos que se acumulan en sus brotes y de esta manera logran desintoxicar el suelo hasta cierto punto (Chauhan y Mathur, 2018; Shakoor, 2017).

Esta especie es usada en procesos de remediación debido a su facilidad de estabilizar los metales pesados almacenándolos en sus raíces y tejidos foliares como hojas, tallos, flores y semillas. Este proceso de acumulación se da por la presencia de grupos funcionales en los exudados de la planta (Gómez, 2019).

Estudios realizados por Peña y Beltrán en el 2017, afirman que *Helianthus annuus* es una planta hiperacumuladora de Cd y Zn con un coeficiente de fitoextracción y factor de translocación mayor a 1. Las plantas hiperacumuladoras son aquellas que tienen la capacidad de acumular metales y oligoelementos metaloides en una concentración que es 100 veces mayor que las plantas “normales” que crecen en el mismo medio (van der Ent et al., 2013).

Es importante mantener a la planta del girasol en un buen desarrollo y crecimiento, para que pueda acumular la mayor cantidad de metales pesados en su biomasa mostrando una alta tolerancia en suelos con altos niveles, para ellos se le debe brindar los nutrientes necesarios, así como los riegos pertinentes (Rostami y Azhdarpoor, 2019).



### **2.1.6 Hongos Micorrízicos Arbusculares**

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) juegan un rol importante en el crecimiento y desarrollo de la planta favoreciendo la absorción de agua y nutrientes, además del desempeño de importantes funciones en el suelo y protección de la planta bajo condiciones adversas de estrés bióticos o abiótico como la presencia de metales pesados en el suelo (Ferreira y Barbosa, 2019).

Los HMA pueden tolerar altas concentraciones de metal en el suelo, por eso son importantes en la biorremediación de áreas contaminadas. Su utilización para la acumulación de metales pesados en la planta hospedante genera una protección contra el estrés por metales pesados ya sea a través de la absorción limitada o la producción mejorada de biomoléculas (Amna et al., 2015). Las plantas micorríticas confieren mayor tolerancia en estos ambientes contaminados a través de mecanismos como la inmovilización y quelación de metales pesados en las hifas (Brunetti et al., 2018).

#### **a. *Glomus intraradices***

Uno de los géneros de hongos micorrízicos arbusculares más importantes es *Glomus* sp, el cual es capaz de colonizar una gran variedad de especies hospedantes, incluyendo el girasol (Herzig et al., 2014). Frecuentemente, especies que pertenecen a este género se encuentran conectados simbióticamente con las raíces de las plantas que crecen en áreas metalíferas debido a sus altas cantidades de esporulación que favorece su supervivencia en ambientes perturbados (Kaur y Garg, 2018; Wei et al., 2015).

Se ha reportado que el uso de la especie *Glomus intraradices* ayuda al incremento del contenido de clorofila de la planta asociada, esto debido al aumento del consumo de nutrientes (Amna et al., 2015). Andrade et al. (2008) reportaron que plantas sin asociación de micorrizas exhibían una disminución de 26 % en su contenido de clorofila mientras que plantas con micorriza solo un decline de 12 %.

La presencia de metales pesados puede traer efectos negativos en la micorrización causando inhibición de procesos como la germinación de esporas, esporulación, colonización de raíces, ramificación de hifas y arbusculas (Wang, 2017).

Según Chen et al. (2016), la colonización de *Glomus intraradices* en machos de *Populus deltoides* se desarrolló satisfactoriamente en suelos con una cantidad de cadmio de 10 mg

kg<sup>-1</sup>. Mientras que Aghababaei et al. (2014), trabajaron con cantidades de cadmio en el suelo de 20 mg kg<sup>-1</sup> donde registró una disminución marcada del carbono de la biomasa microbiana en la colonización de *Glomus intraradices* en *Zea mays*.

De acuerdo con Davies et al. (2001), la asociación de girasol con HMA mejora la acumulación y la tolerancia de la planta a metales pesados, así como su vigor lo que condujo a una mayor biomasa y mejor extracción de los metales. Llegando a la conclusión que la asociación *Glomus*-girasol podría ser un excelente candidato para la extracción cuando se trasplanta a campo.

De esta manera, el uso de microorganismos tiene la ventaja de tener un costo relativamente bajo, representa una técnica efectiva de biorremediación comparado con otro método. Se trata de un procedimiento natural y usualmente sin la presencia de productos tóxicos (Manjhi et al., 2016).

## 2.2 ANTECEDENTES

Bonomelli et al. (2003) evaluaron órdenes de suelo como Inceptisols, Alfisols, Ultisols y Andisols a los cuales se le agregó 30 mg P kg<sup>-1</sup> empleando, superfosfato triple (SFT), que tenía una concentración de 53.2 mg Cd por kg de fertilizante. Se mantuvo el suelo por 90 días a 25 °C y humedad de capacidad de campo. Se midió la concentración de Cd disponible a los 1, 2, 7, 14, 21, 36, 49, 63, 77 y 90 días después de la incubación y se concluyó que la aplicación de SFT en una dosis agronómica si afecta significativamente en la concentración de Cd disponible en los suelos.

Dada (2019), inoculó dos especies de HMA: *Glomus intraradices* y *Glomus mosseae* en semillas de malezas y encontró que el *Amaranthus spinosus* es capaz de translocar el cadmio a la parte aérea de la planta mientras que las otras especies actúan como fitoestabilizadoras en ausencia de micorrizas. En general, las plantas bajo inoculación de hongos se mostraron como fitoextractoras de cadmio, resaltando el *Amaranthus spinosus* que bajo la influencia de *Glomus intraradices* presentó el índice de movilidad de cadmio más alto.

Ordoñez et al. (2021), evaluaron el efecto de la inoculación con *Rhizophagus irregularis* y la fertilización fosfatada en la comunidad local de HMA en yuca, y aplicaron tres niveles de fertilización (0, 100.5, 201 kg ha<sup>-1</sup> de fosfato diamónico) para suelos inoculados y para los

no inoculados, para un total de seis tratamientos. Los resultados muestran que las comunidades de HFMA asociadas a plantas de yuca tienen en su mayoría especies del género *Claroideoglossum*, *Glomus*, *Rhizophagus*, *Acaulospora* y *Diversispora*. Se detectaron que los géneros *Glomus* y *Acaulospora* fueron los más afectados en la inoculación de *Rhizophagus irregularis* y por la fertilización fosfatada disminuyendo así su porcentaje de abundancia relativa del hongo.

Muñoz (2022) evaluó los niveles de cadmio en suelos los cuales han sido fertilizados con fertilizantes fosfatados por muchos años en parcelas de mandarina, maracuyá, caña de azúcar, palta y maíz. Se muestreó el suelo de dos profundidades (0-20 cm y 20-60 cm) en los cinco cultivos para la caracterización y determinación de contenido de cadmio. Los resultados mostraron que los suelos tienden a tener un pH básico el cual no es favorable para una alta disponibilidad de cadmio el cual abunda más en suelos ácidos. Del mismo modo, los suelos resultaron con un bajo contenido de materia orgánica por lo tanto la fijación temporal del cadmio en el suelo era baja. Hubo una ligera superioridad de cantidad de cadmio en la capa superficial de 0-20 cm. Los niveles más altos de cadmio en el suelo se hallaron en las parcelas de mandarina y maíz, sobrepasando el límite máximo permisible según el plan de estándares de calidad ambiental de Ministerio del Ambiente ( $1.4 \text{ mg kg}^{-1}$ ) debido a que estos suelos fueron los que recibieron una mayor fertilización fosfatada durante varios años lo que concluye que al aumentarse el nivel de fertilización fosfatada en forma continua podría aumentar ligeramente los niveles de cadmio.

Según la investigación de Suaña (2018), el cual tenía como objetivo determinar la capacidad de absorción del girasol en suelos contaminados con cadmio al interior de un invernadero. Se analizaron las hojas, tallos, raíces del girasol y también el suelo después del proceso de fitorremediación. El suelo presentó un valor entre 21.76 a 24.36  $\text{mg Cd kg}^{-1}$ . Se encontró que la cantidad de cadmio fue mayor en la raíz con un  $1.80 \text{ mg Cd kg}^{-1}$  mientras que en el tallo se obtuvo  $0.27 \text{ mg kg}^{-1}$  y en la hoja  $0.29 \text{ mg kg}^{-1}$ . Se concluye que la mayor absorción de cadmio se produce a nivel radicular con una media de absorción de 5.72 %.

Lama (2018) llevó a cabo el experimento en el laboratorio de fertilidad de suelos en la Universidad Nacional Agraria La Molina. La recolección de suelo fue de tres distritos de Lima: El Olivar en San Isidro, Campo de Marte en Jesús María y Colmenares en Pueblo Libre. Se colocaron en macetas y se realizó la siembra de los girasoles. El riego fue con dos calidades de agua, una con 0 y otro con  $250 \text{ mg Pb kg}^{-1}$ , además se inocularon con hongos

micorrízicos arbusculares (HMA). Se cosechó en tres fechas diferentes (49, 71, 101 días después de la siembra) y se evaluó la extracción de plomo en cada cosecha. Se concluyó que la mejor eficiencia del girasol para la extracción de plomo es hasta los 71 con la inoculación de HMA. Por lo tanto, se puede decir que el uso del girasol inoculado con HMA es una opción fitorremediadora a largo plazo en los parques de Lima.

Clemente et al. (2021) probaron concentraciones de 0, 10, 15, 20, 25 mg Cd kg<sup>-1</sup> de suelo y evaluaron altura, producción de materia seca y concentración de Cd en raíz, tallo, hoja e inflorescencia resultando que la concentración de cadmio en cualquier concentración no afecta el crecimiento del girasol siendo el índice de tolerancia 1 lo que demostró que esta planta es tolerante al Cd. Además, se encontró que mientras la dosis de Cd sea más alta, la concentración del mismo aumenta en la planta. Se concluyó que el girasol se comporta como un fitoestabilizador debido a que la raíz concentró más cadmio que la parte aérea lo que da un factor de translocación menor a 1.

### **III. MATERIALES Y METODOS**

#### **3.1 UBICACIÓN DEL CAMPO EXPERIMENTAL**

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio e Invernadero de Fertilidad del Suelo “Sven Villagarcía Hermoza” de la Universidad Nacional Agraria La Molina ubicada en el departamento de Lima, provincia de Lima, distrito de La Molina:

- Latitud Sur: 12° 4’
- Longitud Oeste: 76° 56’’
- Altitud: 243 m.s.n.m
- Departamento: Lima
- Provincia: Lima
- Distrito: La Molina

#### **3.2 SUELO**

Se utilizó aproximadamente 240 kg de suelo extraídos de la capa arable (20 cm de profundidad) de campos agrícolas de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Para identificar el suelo, se realizó un análisis de caracterización y contenido de cadmio preliminar (Anexo 1) en el Laboratorio de Suelos, Aguas, Plantas y Fertilizantes (LASPAF) de la UNALM. Posteriormente se tamizó el suelo recolectado y esterilizó en autoclave a 200 °C para eliminar microorganismos del suelo que puedan afectar el desarrollo de las micorrizas.

El análisis de caracterización efectuado en el LASPAF de la UNALM, el suelo muestra una textura Franco Arcillo Arenoso; muy ligeramente salino ( $CE (1:1) = 1.80 \text{ dS m}^{-1}$ ), reacción alcalina ( $pH_{(1:1)} = 7.73$ ), presencia de carbonatos de 6.26 %, con un alto contenido de P ( $35.8 \text{ mg kg}^{-1}$ ) y un contenido medio de K ( $356 \text{ mg kg}^{-1}$ ). La CIC fue baja ( $9.92 \text{ meq } 100\text{g}^{-1} \text{ suelo}$ ) y un bajo porcentaje de materia orgánica de 1.89 (Anexo 1). Como información adicional se resalta que el suelo superficial de la zona, presenta una concentración total de Cd de  $2.37 \text{ mg kg}^{-1}$  (Anexo 2).

### 3.3 AGUA

Durante el experimento, se utilizó agua proveniente de Huachipa, la cual presentaba un pH ligeramente alcalino y no mostraba problemas de salinidad. Los resultados del análisis no indicaron alguna restricción para utilizarla como agua de riego (Tabla 3).

**Tabla 1: Análisis de agua usado en el experimento**

Muestra	pH	C.E	Cd total (mg L <sup>-1</sup> )
Agua de Huachipa	7.14	0.87	0.006

### 3.4 MATERIALES Y EQUIPOS

#### 3.4.1 Semillas

La variedad ornamental de semillas de *Helianthus annuus* usada fue Sunrich Golden

#### 3.4.2 Micorrizas

Se usó el producto comercial Mycosym Triton®, con contenido activo de 200 IMP/mg (IMP = esporas + hifas + fragmentos de raíces micorrizadas) el cual tiene como hongo micorrícico a la especie *Glomus intraradices*.

#### 3.4.3 Fertilizantes

Las fuentes inorgánicas empleadas en el experimento fueron las siguientes:

- Nitrato de amonio: 33 % N, 3 % P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>
- Superfosfato triple de calcio: 46 % P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>
- Sulfato de potasio: 50 % K<sub>2</sub>O, 18 % S

#### 3.4.4 Fuente de cadmio

La fuente usada fue nitrato de cadmio tetrahidratado Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> • 4 H<sub>2</sub>O al 99 % de pureza

#### 3.4.5 Ensayo experimental

Los materiales usados en la etapa experimental de campo fueron los siguientes:

- 60 macetas de 4 kg de capacidad
- Semillas de girasol
- Nitrato de cadmio
- 1 bolsa de hongos micorrízicos
- Guantes de látex
- Mesas de invernadero
- Wincha
- Mascarillas
- Estufa
- Baño María
- Conductivímetro
- Jarras de 1 L
- Balanza de precisión
- Bolsas de papel
- Bolsas de plástico con cierre hermético
- Rejas de protección
- Fertilizantes
- Sacabocado
- Tijera de podar
- Suelo
- Autoclave

Los materiales usados en la etapa de laboratorio fueron los siguientes:

- Matraces
- Ácido nítrico perclórico
- Agua desionizada
- Campana extractora
- Lentes de protección
- Máscara antigás

### **3.5 TRATAMIENTOS**

Se contaron con doce tratamientos utilizando dos condiciones (suelo inoculado con HMA y suelo no inoculado con HMA), dos dosis de fósforo (0, 200 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg<sup>-1</sup>) y tres dosis de

cadmio (0, 15, 30 mg kg<sup>-1</sup>). Para cada tratamiento hubo cinco repeticiones lo que hace un total de sesenta macetas que contenían 2 plantas de girasol, tomado uno una unidad experimental.

**Tabla 2: Dosis de los tratamientos**

HMA	Fósforo (mg P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> kg <sup>-1</sup> )	Cadmio (mg Cd kg <sup>-1</sup> )	Tratamientos
<b>Presencia</b>	0	0	T1
		15	T2
		30	T3
	200	0	T4
		15	T5
		30	T6
<b>Ausencia</b>	0	0	T7
		15	T8
		30	T9
	200	0	T10
		15	T11
		30	T12

### 3.6 METODOLOGÍA

#### 3.6.1 Instalación de macetas

Luego de realizar la esterilización del suelo, se procedió a extenderlo en costales limpios con el fin de permitir un secado uniforme al aire libre. Las macetas fueron lavadas y debidamente etiquetadas.

Se taparon los orificios de la base con cinta masking tape para evitar una pérdida excesiva de agua. Una vez que el suelo secó, se añadieron 4 kg a cada maceta, los cuales se pesaron con precisión utilizando una balanza. Posteriormente, las macetas se colocaron en las mesas de ensayo.



### 3.6.2 Contaminación

Para el proceso de contaminación del suelo se adicionó al tratamiento de 15 mg Cd kg<sup>-1</sup> y 30 mg Cd kg<sup>-1</sup> (166.3 mg y 332.7 mg de Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, respectivamente). Estas cantidades se disolvieron en 250 ml de agua destilada y se agregaron a cada maceta correspondiente de manera uniforme. Se permitió que el compuesto se estabilizara durante un período de 10 días antes de proceder a la siembra.

En cuanto a las macetas restantes a las cuales le corresponde 0 mg kg<sup>-1</sup> de cadmio, no se realizó ninguna contaminación. Se le agregó la misma cantidad de agua inicial que en los otros tratamientos.

### 3.6.3 Fertilización con fósforo

Se agregó al suelo una cantidad de 1.47 g de superfosfato triple por cada maceta a la cual le corresponde el tratamiento con 200 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg<sup>-1</sup>. Previamente se le realizó un análisis de metales pesados para saber el contenido de cadmio que presentaba. La cantidad de Cd encontrado en el superfosfato triple usado para la fertilización de las plantas de girasol fue leída por espectrofotometría de absorción atómica se muestra en la Tabla 3.

**Tabla 3: Contenido de cadmio en el fertilizante superfosfato triple**

Muestra	Cd total mg kg <sup>-1</sup>
Superfosfato triple	23.40

### 3.6.4 Inoculación de HMA

Para llevar a cabo la inoculación de HMA, se utilizó el producto comercial Mycosym Triton®. La cantidad recomendada para agregar a cada maceta fue de 350 g, los cuales se distribuyeron en la profundidad media de la maceta.

Para conocer el porcentaje de colonización de los hongos en las raíces de la planta de girasol se realizó el método estándar usando azul de tripano en el Laboratorio de Microbiología de Suelos de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Los resultados se muestran en el Anexo 9.

### **3.6.5 Siembra**

La siembra del girasol se realizó diez días después de la contaminación de suelo. Cuatro semillas fueron colocadas en cada maceta distribuidas uniformemente de manera superficial, y fueron cubiertas con una capa fina de suelo para luego ser regadas cuidadosamente con 250 ml de agua para evitar que las semillas se hundan. El desahije se llevó a cabo dos semanas después de la siembra, quedando dos plantas por maceta.

### **3.6.6 Riegos**

Durante las primeras semanas posteriores a la siembra, las macetas recibieron un riego diario de 250 ml de agua. Sin embargo, después de un mes, la cantidad de riego se incrementó a 500 ml por maceta. A medida que las plantas comenzaron a florecer, se aumentó la cantidad de riego a 1 L de agua diariamente.

### **3.6.7 Fertilización**

La primera fertilización con N y K<sub>2</sub>O se realizó a los 20 días después de siembra con 50 mg kg<sup>-1</sup> de cada elemento para cada maceta, la segunda fertilización fue 20 días después de la primera con 50 mg kg<sup>-1</sup> de para cada uno. A los 50 días después de la siembra se procedió a fertilizar con nitrato de calcio con 40 mg kg<sup>-1</sup> por maceta y la última fertilización fue con nitrato de magnesio con 50 mg kg<sup>-1</sup> a los 70 días después de la siembra.

### **3.6.8 Evaluación de variables biométricas**

Para la recopilación de datos, se empleó un sistema de códigos QR vinculado a la aplicación Fieldbook. Este sistema permitió la identificación individual de cada planta en su respectivo tratamiento. Los códigos QR se escanearon de manera periódica, cada vez que era necesario registrar información relacionada con las diversas variables biométricas

### **3.6.9 Medición de altura**

En el proceso de registro de la altura de las plantas, se empleó una cinta métrica para llevar a cabo las mediciones. En total, se realizaron tres mediciones. Las dos primeras consistieron en medir la distancia desde el cuello de la planta hasta el brote apical, mientras que en la tercera se registró la distancia desde el cuello de la planta hasta el extremo de la inflorescencia. Estas mediciones se llevaron a cabo en los días 21, 35 y 77 después de la siembra, respectivamente.

### **3.6.10 Medición del índice de estabilidad de la membrana (MSI)**

Para este procedimiento se realizó según Das et al., (2018); se retiraron dos muestras de 1 g de materia fresca de una hoja de la planta del girasol con un sacabocado para todos los tratamientos para luego poner cada muestra en fiolas de 25 ml y agregarle 10 ml de agua desionizada. Para las primeras muestras se procedió a introducir las fiolas en un equipo a baño maría por 30 minutos a una temperatura de 40 °C (C1) y para las segundas muestras se colocó a 10 min con una temperatura de 100 °C (C2), se dejó enfriar para luego medir la conductividad eléctrica de todas las muestras con el potenciómetro. Una vez con estos datos podemos hallar el índice de estabilidad de la membrana con la siguiente fórmula:

$$MSI = [1 - (C1/C2)] \times 100$$

### **3.6.11 Cosecha**

A los 78 después de la siembra se procedió a cortar el girasol en el cuello de planta separando así la parte aérea de la raíz. Se dividió en tallo, hojas, inflorescencia y raíz (previamente lavadas) y se pesó cada una de estas.

Después del pesado en fresco, todas las muestras fueron lavadas con agua desionizada y se llevaron a estufa por 72 horas a 75 °C para el pesado de materia seca. Una vez que todas las muestras estaban completamente secas se pasó a la molienda, esta acción se hizo con una trituradora a motor la cual se limpiaba cada vez que se cambiaba de muestra para evitar la contaminación con otras, la molienda extraída fue depositado en bolsas ziploc etiquetadas.

### **3.6.12 Digestión ácida**

Se pesó 1 g de muestra molida tanto de tallo, raíz e inflorescencia y se colocaron en matraces con sus respectivas etiquetas. Luego se agregó a cada matraz 15 ml de mezcla de ácidos nítrico y perclórico, esta acción se llevó a cabo en la campana extractora de gases y con el equipo de protección personal. Los matraces fueron colocados en la plancha térmica a 175 °C por 8 horas hasta que el ácido se evaporó y la muestra cristalizó.

Después de que los matraces se hayan enfriado se agregó 25 ml de agua desionizada caliente para disolver los cristales y se procedió a filtrar para que la alícuota no contenga impurezas, el líquido fue recibido en tubos Corning para ser llevadas al laboratorio a ser analizadas por el para determinar el contenido de cadmio y fósforo.

### 3.6.13 Diseño y tratamiento experimental

Los tratamientos se distribuyeron bajo un diseño experimental completamente al azar con un arreglo factorial de 2\*2\*3 con cinco repeticiones dando un total de 60 unidades experimentales. Se realizó el análisis de varianza de las variables estudiadas. Posteriormente, se usó la prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0.05 de probabilidad para los efectos principales y de interacción. El análisis estadístico se realizó con el programa de software R versión 4.3.0 (R Core Team, 2023)

#### Modelo aditivo lineal

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + \epsilon_{ijk}$$

Para:

$$i = 1, 2$$

$$j = 1, 2$$

$$k = 1, 2, 3$$

Donde:

$Y_{ijk}(l)$  = Variable respuesta al usar la  $i$ -ésima condición de micorrizas, la  $j$ -ésima dosis de fósforo y la  $k$ -ésima dosis de cadmio.

$\mu$  = Es el efecto de la media general.

$\alpha_i$  = Es el efecto de la  $i$ -ésima condición de micorrizas

$\beta_j$  = Es el efecto de la  $j$ -ésima dosis de fósforo

$\gamma_k$  = Es el efecto de la  $k$ -ésima dosis de cadmio.

$(\alpha\beta)_{ij}$  = Es el efecto de la interacción de la  $i$ -ésima condición de micorrizas y la  $j$ -ésima dosis de fósforo.

$(\alpha\gamma)_{ik}$  = Es el efecto de la interacción de la  $i$ -ésima condición de micorrizas y la  $k$ -ésima dosis de cadmio.

$(\beta\gamma)_{jk}$  = Es el efecto de la interacción de la  $j$ -ésima dosis de fósforo y la  $k$ -ésima dosis de cadmio.

$(\alpha\beta\gamma)_{ijk}$  = Es el efecto de la interacción de la  $i$ -ésima condición de micorrizas, la  $j$ -ésima dosis de fósforo y la  $k$ -ésima dosis de cadmio.

$\epsilon_{ijk}$  = Efecto del error experimental.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La aplicación de los tres factores de estudio (HMA, cadmio, fósforo) al cultivo de girasol para el objetivo de remediación de suelos contaminados dio como resultado la siguiente significancia para las variables estudiadas (Tabla 4). A continuación, se detalla los resultados:

**Tabla 4: Análisis de varianza de los factores de estudio micorrizas, cadmio y fósforo para las variables concentración de cadmio en la inflorescencia, tallo y raíz; factor de translocación; índice de estabilidad de la membrana, extracción total de cadmio y altura.**

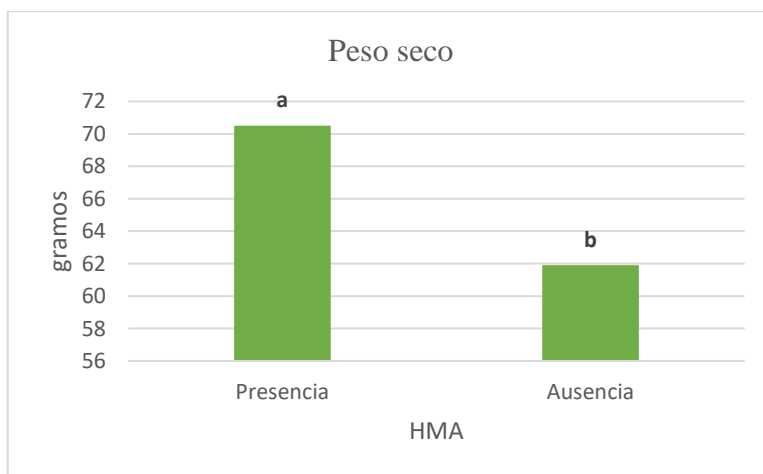
F.V	GL	Inflorescencia [Cd]	Tallo [Cd]	Raíz [Cd]	Factor de translocación	Índice de estabilidad de la membrana	Extracción total de Cd	Peso seco (g)	Altura (cm)
HMA	1	N.S	N.S	***	N.S	***	***	***	N.S
Cadmio	2	***	***	***	***	**	***	N.S	N.S
Fósforo	1	**	**	N.S	N.S	***	***	***	N.S
HMAxCadmio	2	*	***	***	N.S	***	***	N.S	N.S
HMAxfósforo	1	N.S	N.S	N.S	N.S	**	**	N.S	N.S
Cadmioxfósforo	2	N.S	N.S	N.S	N.S	*	*	N.S	N.S
HMAxCadmioxfósforo	2	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S

GL: Grados de Libertad, \*, significativo para el nivel del 5%; \*\*, significativo para el nivel de 1%; \*\*\*, significativo para el nivel de 0.5.

#### 4.1 PESO SECO TOTAL

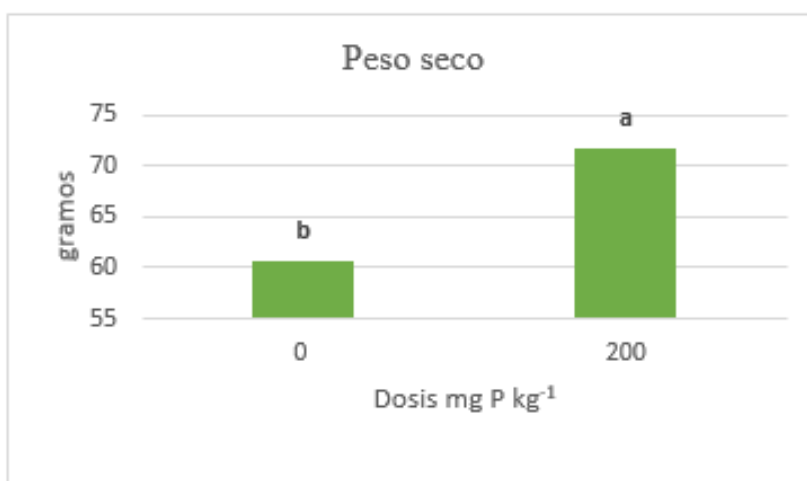
En el ANVA de la variable peso seco total se halló que los factores HMA y fósforo son significativos (Tabla 4).

Para el factor micorriza se realizó una comparación de medias obteniendo 70.5 g para el tratamiento inoculado con hongos micorrícicos, mientras que el no inoculado 61.9 g (Figura 1).



**Figura 1. Prueba de efectos principales para el peso seco total del girasol bajo efecto de presencia y ausencia del HMA**

Para el factor fósforo se halló 60.7 g para el tratamiento sin fertilización y 71.7 g con fertilización (Figura 2)

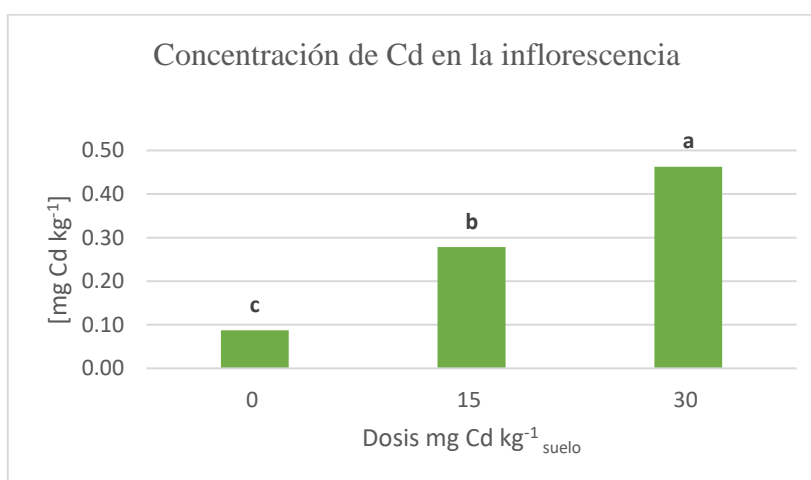


**Figura 2. Prueba de efectos principales para el peso seco total del girasol bajo efecto de dos dosis de fósforo**

## 4.2 CONCENTRACIÓN DE CADMIO EN LA INFLORESCENCIA

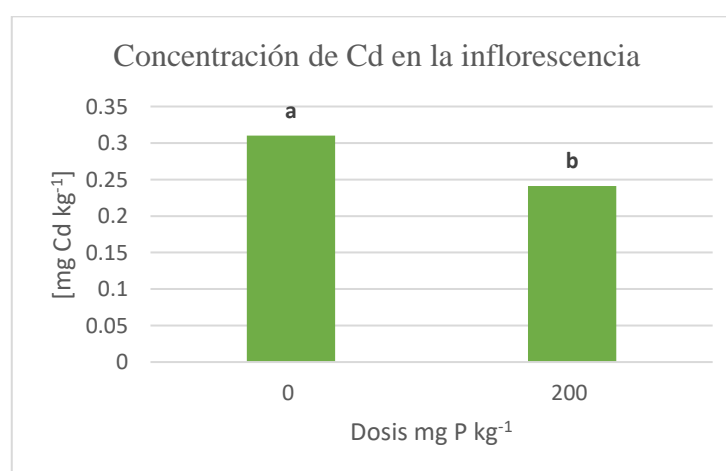
En el ANVA de la variable concentración de cadmio en la inflorescencia se halló que los factores cadmio y fósforo son significativos al igual que el factor cadmio x HMA (Tabla 4).

Para el factor cadmio se realizó una comparación de medias para las tres dosis aplicadas al suelo, para el tratamiento que no fue contaminado con Cd se obtuvo  $0.09 \text{ mg kg}^{-1}$  siendo el valor más bajo. Para los suelos con 15 y  $30 \text{ mg Cd kg}^{-1}$  se obtuvo la concentración de 0.28 y  $0.46 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ , respectivamente en la inflorescencia siendo este último la mayor cantidad de cadmio (Figura 3).



**Figura 3. Prueba de efectos principales para el contenido de cadmio en la inflorescencia del girasol bajo efecto de tres dosis de cadmio**

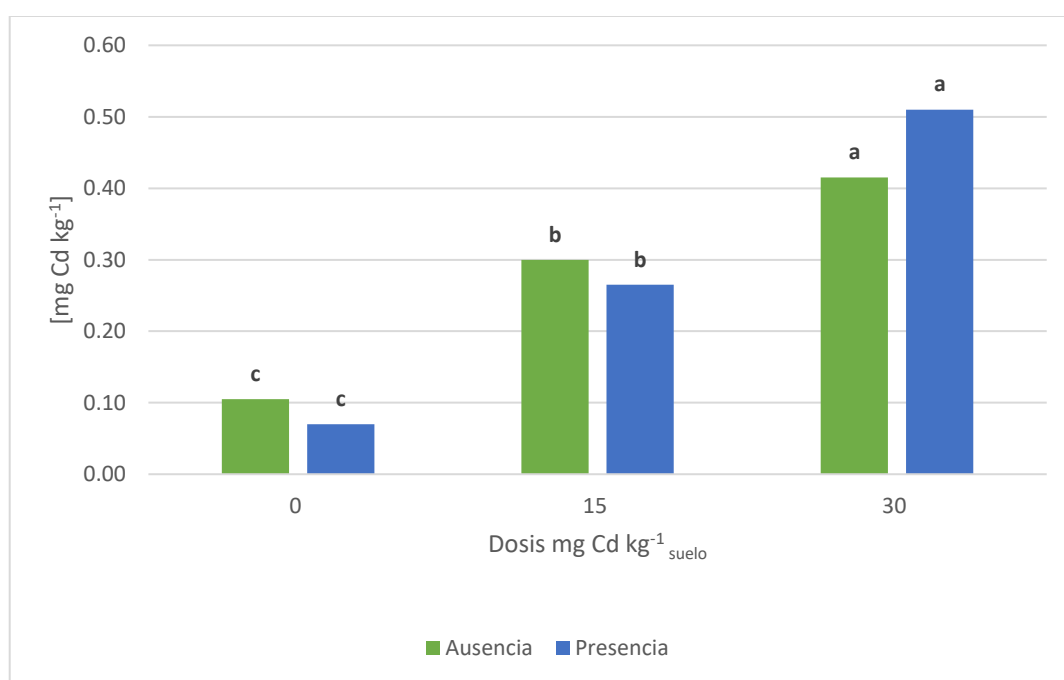
Para la comparación de promedios del factor fósforo se observó que con el tratamiento  $200 \text{ mg kg}^{-1}$  se extrajo una concentración de  $0.24 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ , mientras que con el tratamiento que no fue fertilizado con fósforo se halló  $0.31 \text{ mg Cd kg}^{-1}$  (Figura 4).



**Figura 4. Prueba de efectos principales para el contenido de cadmio en la inflorescencia del girasol bajo efecto de dos dosis de fósforo**

Al hacer la comparación de promedios para ver el efecto que tiene interacción HMA x cadmio se observa que, si existen diferencias significativas entre los tratamientos con diferentes dosis de Cd tanto para las dos condiciones de inoculación. La menor concentración se obtuvo cuando el girasol estuvo en suelos sin contaminar con los valores de 0.11 y 0.07 mg Cd kg<sup>-1</sup> para suelos con ausencia de micorrizas y con presencia de hongos, respectivamente. En el caso de 15 mg Cd kg<sup>-1</sup> agregados al suelo se encontró valores de 0.30 y 0.27 mg Cd kg<sup>-1</sup> en el capítulo del girasol, siendo valores más altos significativamente que en el tratamiento anterior. Para la dosis más alta de Cd con la cual se contaminó el suelo, se observa que el promedio para la planta que no estuvo expuesta a las micorrizas es de 0.42 mg Cd kg<sup>-1</sup> siendo significativamente igual al promedio de aquella planta que si tuvo presencia de micorrizas con 0.51 mg Cd kg<sup>-1</sup> en la inflorescencia.

Con estos resultados se puede notar que la concentración de Cd en la inflorescencia va a depender de la cantidad de cadmio que se encuentra en el suelo, al tener disponible mayor cantidad de Cd, la planta extraerá mayor cantidad acumulándola en su inflorescencia, caso contrario, si el suelo donde se está desarrollando no tiene una cantidad significativa del metal pesado, no se encontrará mucho en los tejidos de la planta (Figura 5).



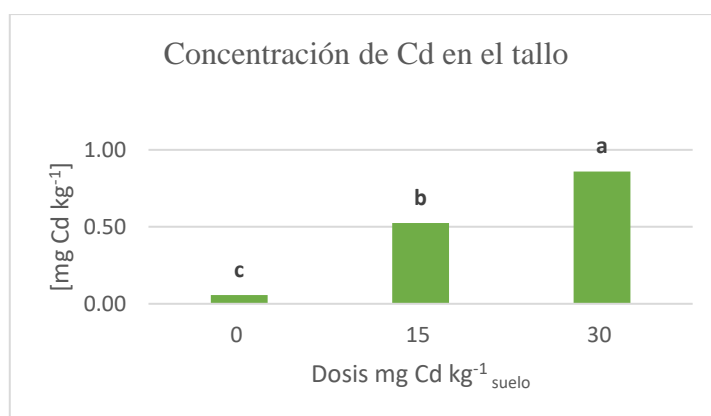
**Figura 5. Efecto de las diferentes dosis de cadmio en la concentración de cadmio en la inflorescencia del girasol bajo efecto de ausencia y presencia del HMA**



### 4.3 CONCENTRACIÓN DE CADMIO EN EL TALLO

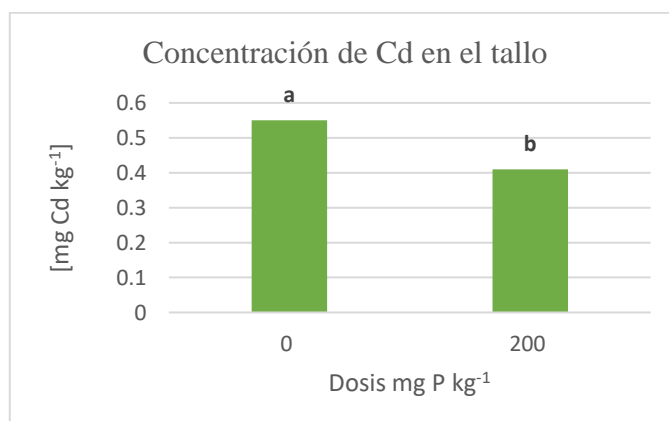
Los resultados del análisis de varianza muestran que los factores cadmio y fósforo son significativas al igual que la interacción cadmio x HMA y en menor intensidad la interacción cadmio x fósforo (Tabla 4).

Para el análisis de promedios del factor cadmio se pudo observar que la concentración más baja fue de  $0.06 \text{ mg Cd kg}^{-1}$  y se encontró en los tallos de los girasoles que crecieron en suelos que no fueron contaminados con el metal, en el tratamiento de  $15 \text{ mg Cd kg}^{-1}$  en el suelo, se reportó una concentración de  $0.53 \text{ mg Cd kg}^{-1}$  del metal en el tallo y el valor más alto de Cd encontrado fue de  $0.86 \text{ mg Cd kg}^{-1}$  para los tallos de los girasoles que estuvieron en aquellos suelos que fueron contaminados con  $30 \text{ mg Cd kg}^{-1}$  (Figura 6).



**Figura 6. Prueba de efectos principales para el contenido de cadmio en el tallo del girasol bajo efecto de dos dosis de cadmio**

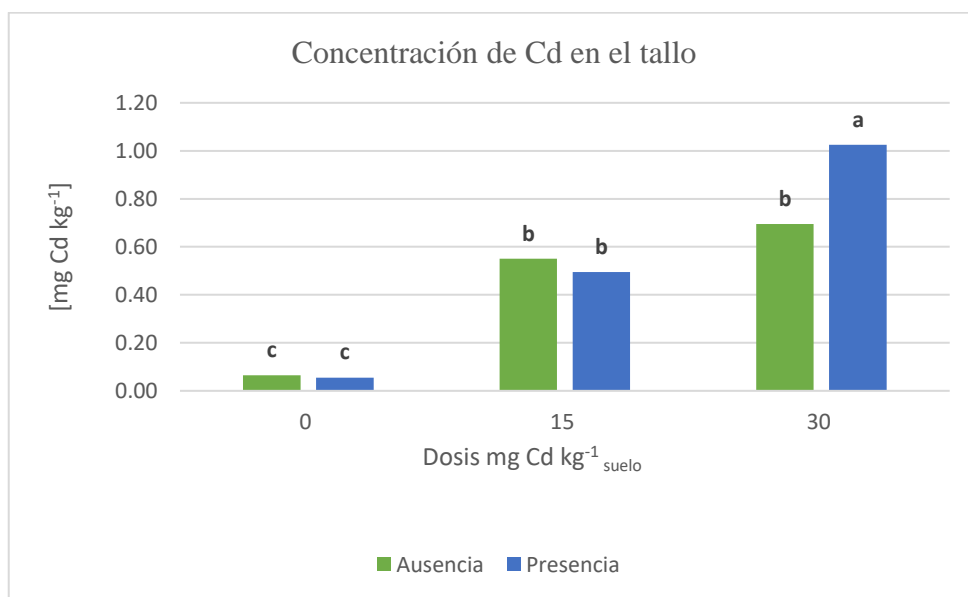
Para la comparación de promedios del factor fósforo se observó que con el tratamiento  $200 \text{ mg kg}^{-1}$  una concentración de  $0.41 \text{ mg Cd kg}^{-1}$  en el tallo mientras que con el tratamiento que no fue fertilizado con fósforo se halló  $0.55 \text{ mg Cd kg}^{-1}$  (Figura 7).



**Figura 7. Prueba de efectos principales para el contenido de cadmio en el tallo del girasol bajo efecto de dos dosis de fósforo**

Con respecto a la prueba Tukey entre las dosis de cadmio bajo efectos de ausencia y presencia del HMA se puede observar que si existe diferencias significativas. Los menores promedios de cadmio en el tallo fueron 0.07 y 0.06 mg kg<sup>-1</sup> y lo obtuvieron los tratamientos con 0 mg Cd kg<sup>-1</sup> en ausencia y presencia de micorrizas respectivamente. Para el caso de 15 mg Cd kg<sup>-1</sup> en el suelo se halló 0.55 y 0.50 mg Cd kg<sup>-1</sup> en el tallo de las plantas de girasol sin micorrizas y con micorrizas, respectivamente. La mayor concentración de cadmio se obtuvo en los tallos de las plantas que estuvieron bajo el efecto de 30 mg kg<sup>-1</sup> de cadmio en el suelo, quiere decir la mayor concentración dentro de los tratamientos aplicados, se obtuvo una cantidad de 0.70 y 1.03 mg Cd kg<sup>-1</sup> en el tallo para plantas que no fueron inoculadas y que si tuvieron presencia de micorrizas, respectivamente, en este caso no se encontraron diferencia significativas para estos dos escenarios, sin embargo aquellas plantas que tenían una simbiosis con el hongo *Glomus intraradices* tuvieron un promedio ligeramente mayor que aquella que no fue inoculado.

Al igual que la concentración de cadmio en la inflorescencia, el comportamiento de la cantidad del metal pesado en el tallo también es escalonado y va a depender de la cantidad de Cd se encuentra en el suelo, mientras mayor sea la dosis de cadmio mayor será extracción por la planta, acumulándose en el tallo. Sin embargo, se puede notar que la cantidad encontrada en el tallo es bastante reducida con la cantidad de Cd que se encontraba en el suelo (Figura 8).

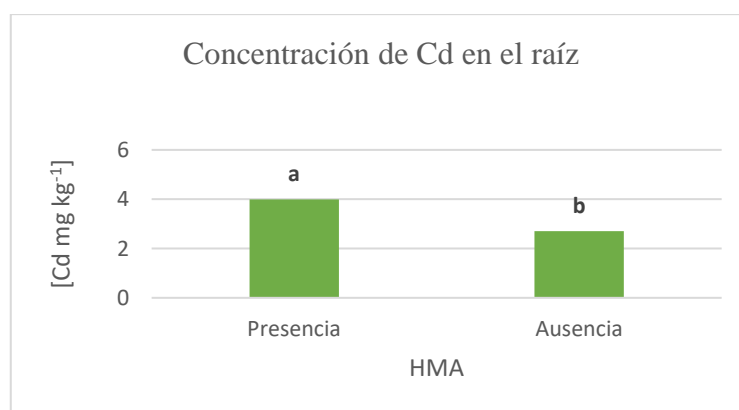


**Figura 8. Efecto de las diferentes dosis de cadmio en la concentración de cadmio en el tallo del girasol bajo efecto de ausencia y presencia del HMA**

#### 4.4 CONCENTRACIÓN DE CADMIO EN LA RAÍZ

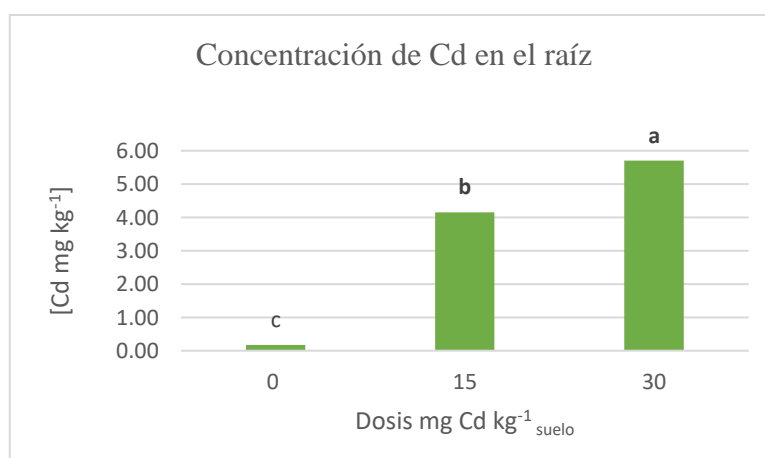
A partir de análisis de varianza para la variable concentración de cadmio en la raíz se muestra que resultaron significativos los factores micorrizas y cadmio y la interacción de las micorrizas x cadmio (Tabla 4).

Para el factor HMA en sus dos condiciones se pudo notar que ante una presencia de micorrizas en las raíces del girasol la concentración de cadmio es mayor es de 3.99 mg kg<sup>-1</sup>, mayor que en aquellas plantas que no contaron con la simbiosis las cuales presentaron 2.7 mg Cd kg<sup>-1</sup> (Figura 9).



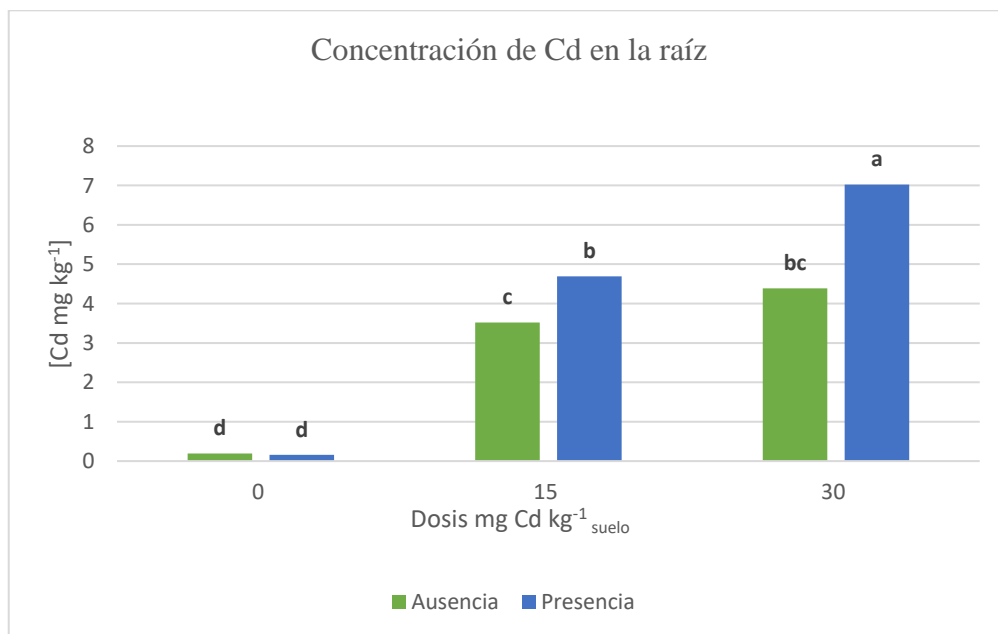
**Figura 9. Prueba de efectos principales para el contenido de cadmio en la raíz del girasol bajo efecto de ausencia y presencia del HMA**

Para el factor cadmio en sus tres diferentes dosis se encontraron que la mayor cantidad de concentración del metal lo tuvieron las raíces que estuvieron bajo 30 mg Cd kg<sup>-1</sup> en el suelo con un valor de 5.7 mg kg<sup>-1</sup>, seguido del tratamiento con 15 mg Cd kg<sup>-1</sup> con una concentración de 4.15 mg Cd kg<sup>-1</sup> y el valor más bajo, 0.18 mg Cd kg<sup>-1</sup>, se halló cuando el suelo no contenía Cd (Figura 10).



**Figura 10. Prueba de efectos principales para el contenido de cadmio en la raíz del girasol bajo efecto de tres dosis de cadmio**

Para la interacción HMA x cadmio se realizó la prueba Tukey con un intervalo de confianza del 95 %, se muestra que si existen diferencias significativas entre los tratamientos aplicados. Los valores más bajos de contenido de Cd en la raíz fueron de 0.19 mg kg<sup>-1</sup> y 0.16 mg kg<sup>-1</sup> en ausencia y presencia de micorrizas respectivamente en suelos sin Cd. Bajo los tratamientos que contenían 15 mg Cd kg<sup>-1</sup> en el suelo se halló que con ausencia de micorrizas la raíz de girasol contenía 3.52 mg Cd kg<sup>-1</sup> y con presencia, 4.69 mg Cd kg<sup>-1</sup>, siendo mayor significativamente. El mayor contenido de Cd, 7.02 mg Cd kg<sup>-1</sup>, se encontró en las raíces que crecieron en el tratamiento con 30 mg Cd kg<sup>-1</sup> bajo presencia de micorrizas. Los resultados muestran que a medida que la cantidad de cadmio en el suelo es mayor, la concentración en la raíz va aumentando, tanto para las raíces que presentaron micorrizas como las que no. Pero claramente se observa que la mayor concentración del metal pesado se encuentra en las raíces que sí estuvieron bajo el efecto de la simbiosis del hongo micorrícico (Figura 11).



**Figura 11. Efecto de las diferentes dosis de cadmio en la concentración de cadmio en la raíz del girasol bajo efecto de ausencia y presencia del HMA**

Los resultados en conjunto de las concentraciones de cadmio en las tres partes de la planta estudiadas tienen relación con lo hallado por Clemente et al. (2021), quienes hallaron que al incrementar las dosis de Cd en suelo aumenta la concentración de Cd en el girasol especialmente en la raíz, concentrando un 62.6% del total, siendo un porcentaje menor a lo hallado en este estudio donde se muestra que la raíz concentró un 79.8% para aquellas plantas que no estuvieron bajo la presencia de micorrizas y 87.1% para las inoculadas.

Según Lux et al. (2011) y Wang et al. (2015), el almacenamiento del Cd en la raíz, el cual genera en la planta un comportamiento de fitoestabilizadora se puede explicar por tres mecanismos:

- La quelación del cadmio en las vacuolas por fitoquelatinas y otros tioles en células radiculares.
- Impregnación de la suberina en la pared celular en el desarrollo de la exodermis y endodermis que causa una restricción del paso de cadmio a la estela.
- Inmovilización en la pared celular de las raíces a través de enlaces con exudados extracelulares como los ácidos poligalacturónicos.

El movimiento de la Cd de la raíz a la parte aérea de la planta se controla a través de tres procesos (Mendoza et al., 2011):

- Secuestro de metales en la raíz
- Transporte hacia la estela
- Liberación a la xilema

De acuerdo con De María et al. (2013), se plantea la idea de que el girasol cuenta con un mecanismo que limita la transferencia de cadmio desde sus raíces hacia la parte aérea de la planta. Esta restricción en la translocación de Cd tiene como resultado la prevención de la toxicidad en los tejidos más activos desde un punto de vista fisiológico, lo que, a su vez, explica por qué las concentraciones de Cd en las inflorescencias son significativamente más bajas en comparación con otros órganos de la planta.

Además, Cornu et al. (2020) argumentan que las variedades de girasol que son capaces de mantener una concentración más alta de Cd en sus raíces o incluso en sus tallos, en lugar de en sus hojas e inflorescencias, tienen una mayor capacidad para evitar la toxicidad debido a que este proceso no afecta negativamente al metabolismo de los carbohidratos.

Según el ANVA para la variable concentración de cadmio en la raíz no se encontraron diferencias significativas en el factor fósforo y sus interacciones siendo un factor que no afectó la cantidad de cadmio que se podía encontrar en este órgano de la planta (Tabla 4).

Esto se puede explicar con el estudio de Gonçalves (2008) en el cual encontró que el superfosfato triple (SFT) presenta una baja biodisponibilidad de cadmio para las plantas de *Avena strigosa*, a pesar de tener un alto contenido de Cd ( $25.92 \text{ mg kg}^{-1}$ ) valor que se asemeja

a lo hallado en el fertilizante usado (Tabla 3). Los resultados del estudio indicaron que la solubilidad del Cd en el SFT no fue suficiente para que este elemento estuviera disponible para las plantas a diferencia de otros fertilizantes fosfatados con mayores contenidos de Cd, como el fosfato natural que varía entre 30.91 a 42.60 mg Cd kg<sup>-1</sup> y si aumenta la cantidad de Cd acumulado en las plantas.

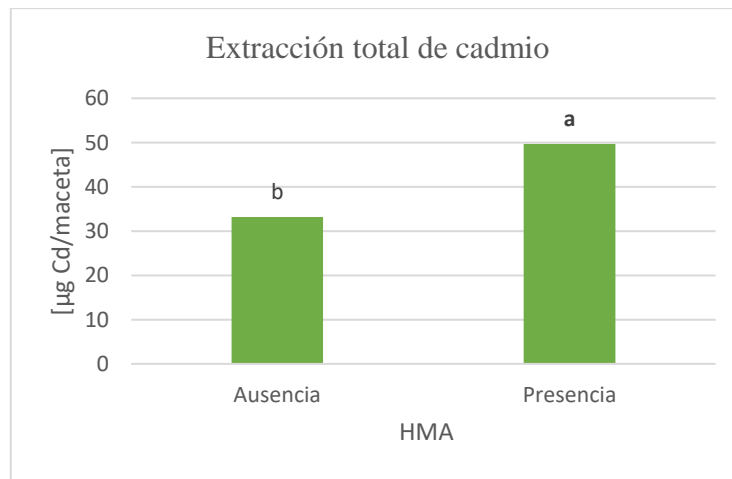
Otra investigación similar por Huang et al. (2004), examinaron el efecto de diferentes fuentes de Cd, incluyendo superfosfato triple (SFT), roca fosfórica (RP) y CdCl<sub>2</sub>, en la acumulación de Cd en la lechuga en una agricultura intensiva de 2 años consecutivos. Los resultados mostraron que hubo un efecto en el primer año en la disponibilidad de Cd en el suelo para el SFT, RP y CdCl<sub>2</sub>. Además, la respuesta de la lechuga al SFT fue mayor en al segundo año. Sin embargo, no tuvo un efecto significativo en la acumulación de Cd en la lechuga, mientras que la aplicación de CdCl<sub>2</sub> obtuvo la mayor acumulación en el área foliar y en el suelo en el periodo de dos años pasando de 0 a 1440 g ha<sup>-1</sup>.

Estos resultados nos indican que el contenido total de Cd en el fertilizante y su grado de solubilidad en agua no son las únicas características determinantes de la biodisponibilidad del Cd para las plantas que crecen en suelos fertilizados con estos materiales.

#### **4.5 EXTRACCIÓN TOTAL DE CADMIO**

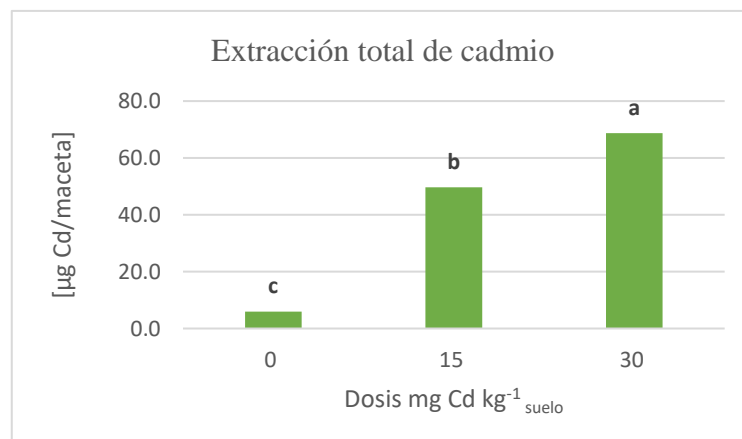
Los resultados del análisis de varianza para la variable extracción total de cadmio por la planta de girasol mostró diferencias significativas en los factores HMA, cadmio, fósforo, las interacciones de HMA x cadmio y HMA x fósforo (Anexo 6).

Para el factor HMA se realizó una prueba de efectos principales por lo que se puede observar que el mayor promedio de concentración de cadmio en la planta de girasol lo tuvo aquellas que estuvieron en simbiosis con el hongo *Glomus intraradices* con 49.7 µg Cd/maceta de Cd por maceta a diferencia de aquellas que no fueron inoculadas con las micorrizas con 33.2 µg. Estos resultados tienen relación con la concentración de cadmio hallado en las diferentes partes de la planta y el peso seco total del girasol, en las cuales los mayores valores se hallaron en los tratamientos con presencia de micorrizas (Figura 12).



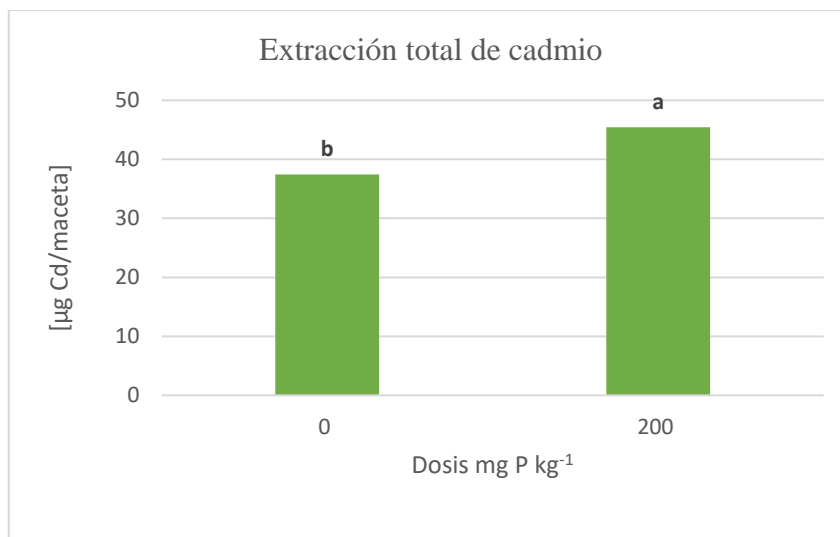
**Figura 12. Prueba de efectos principales para la extracción total de cadmio del girasol bajo efecto de ausencia y presencia del HMA**

Para el factor cadmio se realizó la misma prueba donde se encontró que para el tratamiento no contaminado, la extracción total de la planta hallada fue de 6 µg Cd/maceta. En el caso del tratamiento con 15 y 30 mg Cd kg<sup>-1</sup> fue de 49.7 y 68.7 µg Cd/maceta respectivamente (Figura 13). Estos resultados van de la mano con lo hallado en la concentración de Cd en la raíz, tallo e inflorescencia del girasol en la cual en todas las partes mostraron la mayor cantidad de cadmio en las aquellas plantas que se desarrollaron en el suelo contaminado con mayor cantidad de cadmio.



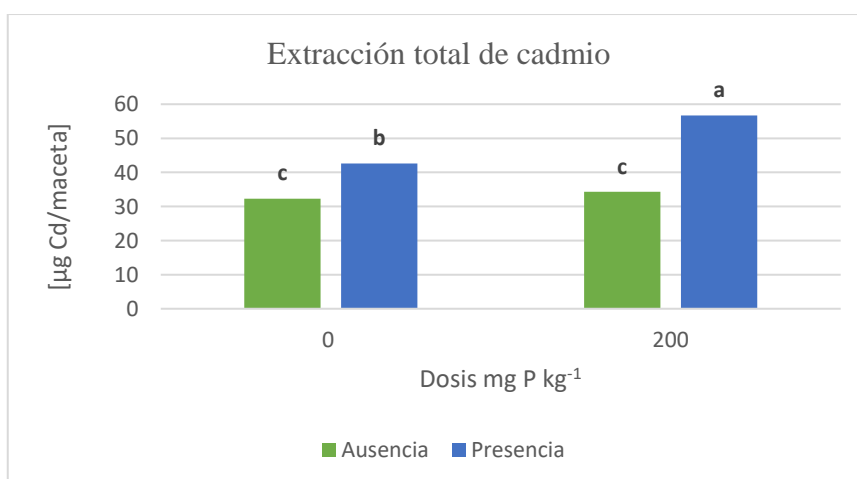
**Figura 13. Prueba de efectos principales para la extracción total de cadmio del girasol bajo efecto de tres dosis de cadmio**

Para factor fósforo se realizó la comparación de medias obteniendo que sin fertilización de fósforo se extrajo 37.45 µg Cd/maceta mientras que con fertilización la extracción fue de 45.45 µg Cd/maceta (Figura 14). Este resultado guarda relación con lo hallado en el peso seco del girasol, siendo mayor en suelos fertilizados por lo tanto a mayor biomasa mayor cantidad de extracción total.



**Figura 14. Prueba de efectos principales para la extracción total de cadmio del girasol bajo efecto de dos dosis de fósforo**

Para la interacción de los factores HMA x fósforo se obtuvo un comportamiento similar a lo hallado en sus factores individuales, los tratamientos que estuvieron inoculados con micorrizas mostraron los valores más altos de extracción de cadmio en el girasol siendo 42.6 g y 56.7 µg Cd/maceta sin y con fertilización, respectivamente. Los valores hallados para los tratamientos con ausencia de micorrizas fueron 32.3 y 34.3 µg Cd/maceta para suelos con 0 y 200 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg<sup>-1</sup>, respectivamente (Figura 15).

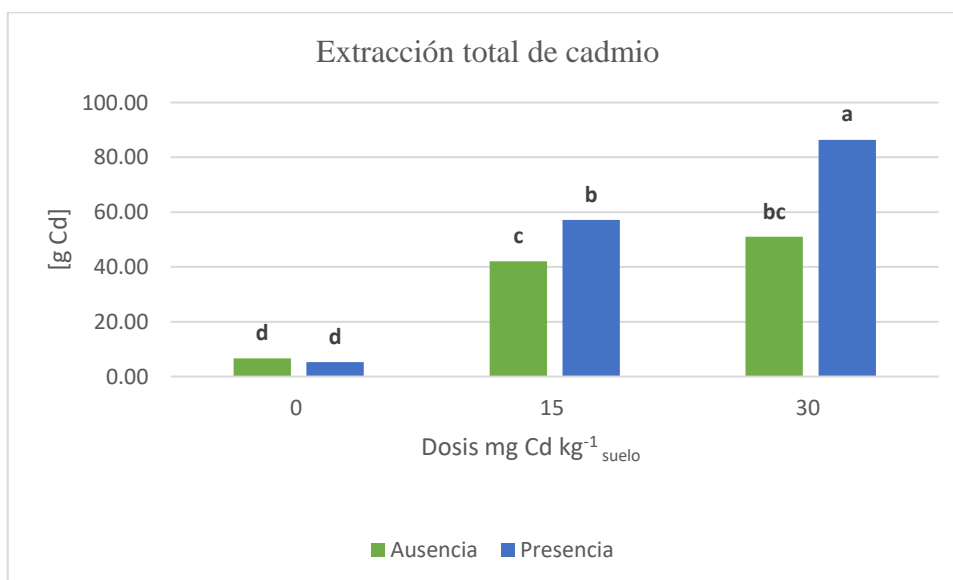


**Figura 15. Efecto de las diferentes dosis de fósforo en la extracción total de cadmio del girasol bajo efecto de ausencia y presencia HMA**

Para el análisis Tukey de medias de la interacción HMA x cadmio se encontró que los valores más bajos de extracción fueron de 5.30 y 6.60 µg Cd/maceta tanto para el tratamiento con y sin micorrizas en suelos no contaminados respectivamente. Para el nivel de 15 mg Cd kg<sup>-1</sup> se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos con ausencia y presencia de



micorrizas con valores de 42.10 y 57.20  $\mu\text{g Cd/maceta}$ , respectivamente, mientras que para el nivel de 30  $\text{mg Cd kg}^{-1}$  se registraron diferencias significativas entre los valores 86.4 y 51  $\mu\text{g Cd/maceta}$  para aquellos que estuvieron en simbiosis con el hongo micorrícico y los que no respectivamente (Figura 16).



**Figura 16. Efecto de las diferentes dosis de cadmio en la extracción total de cadmio en del girasol bajo efecto de ausencia y presencia del HMA**

Estos resultados concuerdan con Chen et al. (2018), en su estudio se obtuvo que la colonización de micorrizas mejoraba notablemente la inmovilización de Cd en las raíces de *Lotus japonicus*. Se indica que el Cd absorbido por las hifas extrarradicales se translocaron a las estructuras fúngicas intrarradicales por lo que los arbusculos acumularon grandes cantidades de Cd, concentrando la mayor parte de este metal en la raíz a diferencias de las células vegetales sin estructuras fúngicas de la planta.

Adicionalmente, Rask et al. (2019), determinaron que en niveles de Cd moderados se estimula la colonización micorrícica, esto debido a que existe un efecto protector de los hongos contra el metal, sin embargo, es importante resaltar que la combinación de la especie de la planta y la colonización de la micorriza es la que determina la eficiencia de absorción de Cd.

Esto resultado puede ser explicado a la interacción que ocurre entre la planta y el hongo micorrícico *Glomus intraradices*. Según Aguirre et al. (2011), la parte más significativa de las estructuras micorrícicas arbusculares que desempeña un papel importante en la simbiosis, extracción y tolerancia a metales pesados con los arbusculos, vesículas e hifas.

Los arbusculos se generan a partir de la ramificación dicotómica repetida de una hifa en el interior de una célula vegetal, lo que facilita el intercambio de nutrientes. El hongo comienza creciendo en el espacio intercelular de las células corticales, pero luego penetra en la pared celular de la célula hospedera, desarrollándose de manera conjunta con ella. Conforme ocurre este crecimiento, la membrana de la célula hospedera se pliega y rodea al hongo formando un compartimiento apoplástico. Este pliegue impide el contacto directo entre el citoplasma y la célula fúngica y el de la planta, lo que permite una zona de intercambio de nutrientes altamente eficiente entre ambos organismos (Aguirre et al., 2011).

Las vesículas son el ensanchamiento terminal de las hifas, tienen forma ovoide y se encuentran dentro o fuera de la raíz, y tienen como función principal el almacenamiento de reservas de carbono y metales pesados (Aguirre et al., 2011).

Las hifas, son las estructuras colonizadoras, infectivas y las de absorción de nutrientes, van ejerciendo de la raíz y se extienden en el suelo generan un micelio que expande el área radicular mejorando la absorción de nutrientes y agua. Dentro de las hifas se van a producir la glicoproteína, glomalina, que tiene la capacidad de establecer enlaces con moléculas tóxicas como el cadmio, lo que permite que los metales se acumulen en la masa micelial sin que ingrese a las células vegetales (Aguirre et al., 2011).

Por tal razón, se dice que las micorrizas son capaces de concentrar metales tanto de manera activa como pasiva, superando niveles de concentración del entorno que los rodea. Esta inmovilización es como bioacumulación e incluye quelación, intercambio iónico y encapsulamiento (Aguirre et al., 2011).

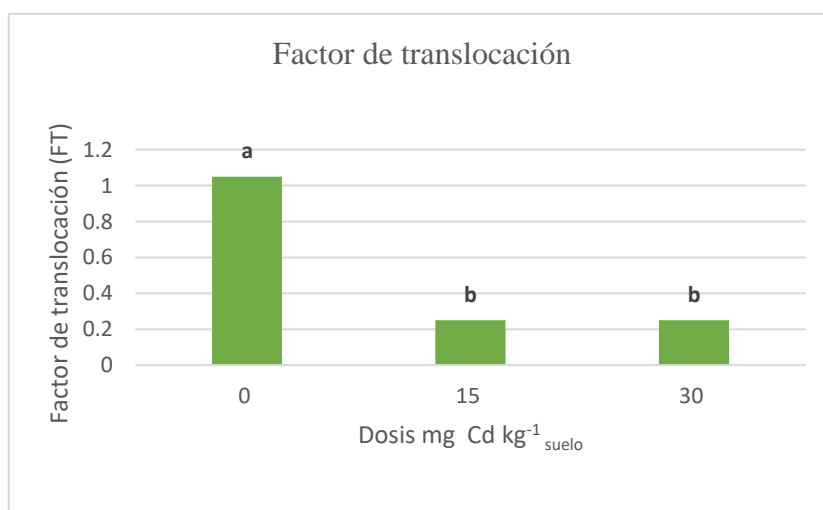
Además, Amna et al. (2015), resaltan otras alternativas aparte de la presencia de micorrizas, esto con la finalidad de incrementar la eficiencia de la fitorremediación como el uso de agentes quelatantes, aplicación de biochar.

#### **4.6 FACTOR DE TRANSLOCACIÓN (FT)**

Respecto al factor de translocación el cual es definido como la relación entre la concentración del contaminante en la parte aérea de la planta dividida por la concentración en las raíces. Se realizó el ANVA encontrando diferencias significativas solo para el factor cadmio (Tabla 4), para el cual se realizó una comparación de medias el cual nos muestra que para los suelos que no estuvieron contaminados con Cd el factor de translocación es 1.05 lo

cual podría indicar que en presencia de una concentración baja o inexistente de cadmio se promueve el transporte de cadmio hacia la parte superior de la planta y cuando ya existe presencia del metal en el suelo el FT pasa a ser 0.25 tanto para suelos con 15 y 30 mg Cd kg<sup>-1</sup> (Figura 17).

Según Sidhu et al. (2018) cuando una especie de planta tiene un FT menor a 1 tiende a acumular la mayor concentración del metal en la raíz lo cual tiene concordancia con lo hallado en las variables estudiadas anteriormente donde la mayor cantidad de cadmio se encontró en la raíz para las dosis más altas de Cd en el suelo.



**Figura 17. Prueba de efectos principales para el factor de translocación bajo el efecto de tres dosis de cadmio**

Estos resultados coinciden con lo hallado por Munive et al. (2020) y Clemente et al. (2021) donde el factor de translocación para el girasol fue de 0.75 y 0.62 respectivamente. Sin embargo, difieren de lo hallado por Peña y Beltrán (2017), quienes etiquetaron al girasol como una hiperacumuladora al presentar un FT mayor que 1.

Debido a lo hallado en esta investigación podemos clasificar a la especie *Helianthus annuus* como una planta fitoestabilizadora en concentraciones altas de Cd, siendo el factor de translocación un indicador crítico para evaluar la capacidad de las plantas para la acumulación de metales pesados (Yazdanbakhsh et al., 2020).

Por lo tanto, la fitoestabilización es una técnica de fitorremediación que se utiliza para reducir la biodisponibilidad de los metales en el suelo, no es una tecnología de limpieza, sino una forma de estabilizar los metales en el suelo para evitar su propagación y transferencia a la cadena alimentaria (Nascimento et al., 2021).

#### 4.7 ÍNDICE DE ESTABILIDAD DE LA MEMBRANA

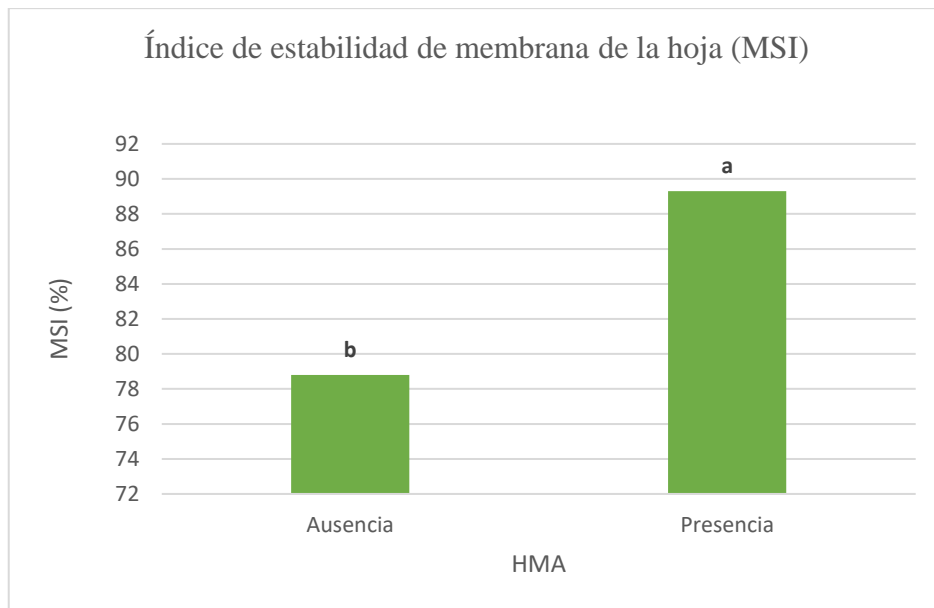
La evaluación de la estabilidad de la membrana celular constituye un método eficiente y sencillo para analizar la capacidad de tolerancia de diversos cultivos en situaciones de estrés (Chaves y Gutiérrez, 2016). Cuando la planta se encuentra bajo condiciones de estrés se produce un déficit hídrico y un desequilibrio iónico en las células vegetales afectando la estructura y su funcionalidad de la membrana (Hernández et al., 2015). El incremento en la pérdida de solutos genera que el valor del porcentaje del índice de la estabilidad de la membrana sea menor por lo que es usado como un indicador de la estabilidad y como una medida indirecta de la tolerancia a los metales pesados. Sin embargo, la relación de la estabilidad de la membrana y el desarrollo vegetativo, así como el rendimiento varía entre las especies (Chaves y Gutiérrez, 2016).

Los resultados del ANVA para la variable índice de estabilidad de membrana de la hoja del girasol muestran significancia para los factores HMA, cadmio, fósforo, la interacción HMA x cadmio y HMA x fósforo (Tabla 4).

Para el factor HMA se observa que aquellos girasoles que estuvieron inoculados mostraron una mayor tolerancia al ambiente donde crecían por tal razón el MSI % es mayor (89.3 %) que aquellos que tenían ausencia de micorrizas (78.8 %) (Figura 18).

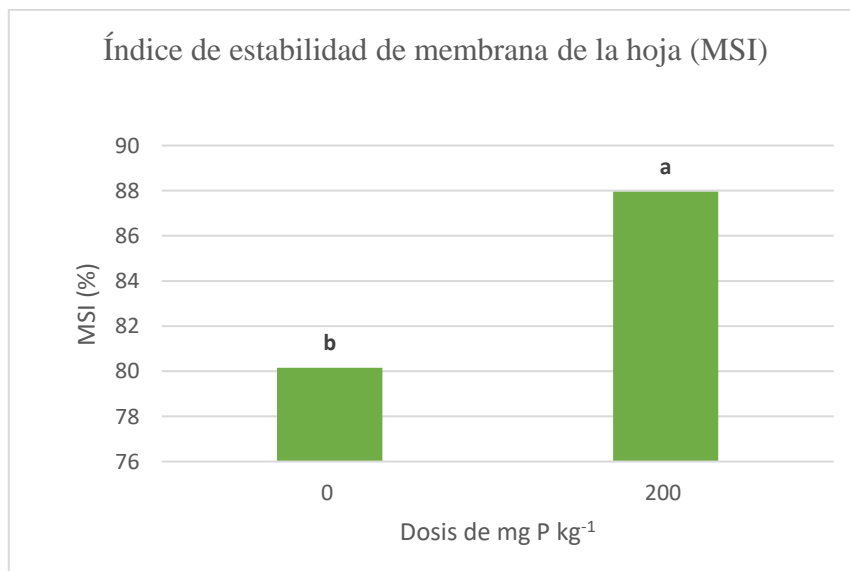
El efecto de tolerancia de las plantas puede ser potenciado con el uso de microorganismos del suelo, en este caso las micorrizas que se relacionan directamente con las raíces de las plantas se destacan por su capacidad para reducir el estrés causado por la contaminación de metales pesados en el suelo (Aguirre et al., 2011). El mecanismo de tolerancia a metales se sustenta en la expresión génica de proteínas vinculadas a diversos procesos de transporte celular, mostrando respuestas específicas a cada metal tanto en el micelio dentro como fuera de las raíces; esta expresión génica se manifiesta como una reacción inicial al daño ocasionado por especies reactivas de oxígeno (ROS), las cuales se generan en presencia de metales pesados en la planta, esta defensa representa la primera contribución en la simbiosis planta-hongo (Arriagada et al., 2010).

El girasol tiene una alta capacidad micotrófica con el género *Glomus* spp, por lo que se puede explicar la simbiosis y el porcentaje de MSI mayor cuando se encuentra asociado (Castañón-Silva, 2013).



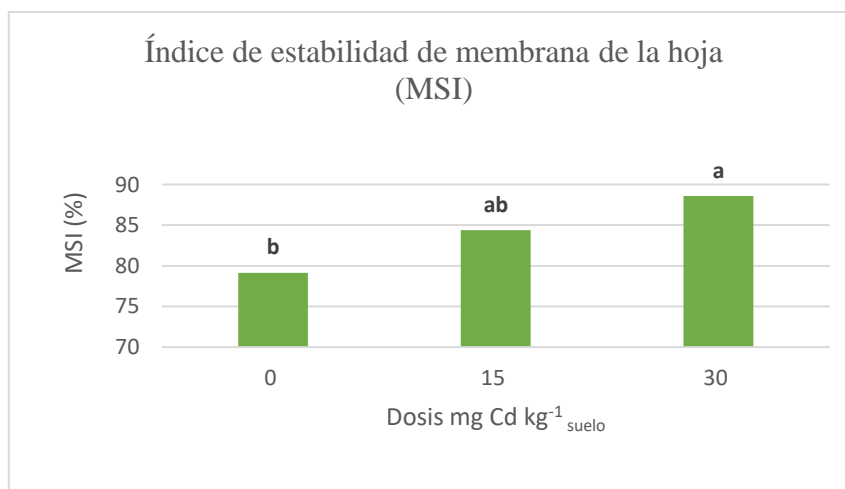
**Figura 18. Prueba de efectos principales para el índice de estabilidad de la membrana de la hoja del girasol bajo efecto de ausencia y presencia del HMA**

Para el factor fósforo, los resultados muestran para el tratamiento con 200 mg kg<sup>-1</sup> de fertilizante el MSI es de 87.95 % siendo mayor que el tratamiento sin fertilización el cual mostró un valor de 80.15 % (Figura 19).



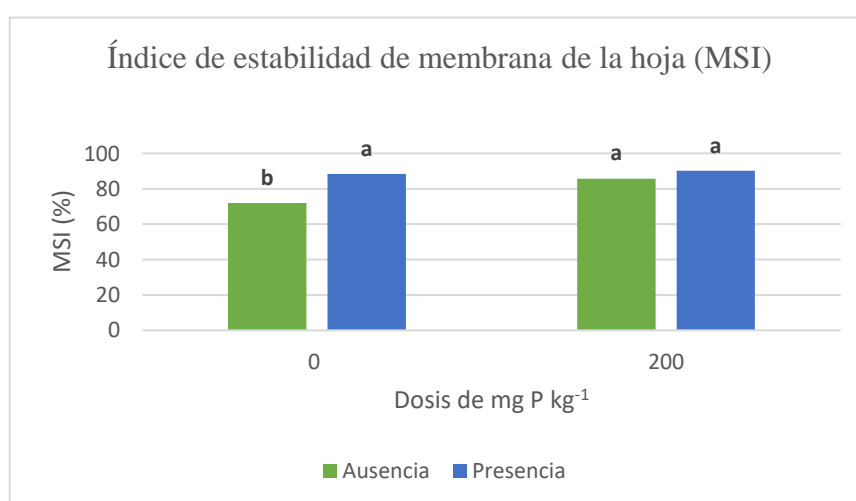
**Figura 19. Prueba de efectos principales para el índice de estabilidad de la membrana de la hoja del girasol bajo efecto de dos dosis de fósforo**

Para el factor cadmio, se observó que con 0, 15 y 30 mg kg<sup>-1</sup> de Cd en el suelo se mostró con 79.15 %, 84.4 % y 88.6 % de MSI, respectivamente (Figura 20).



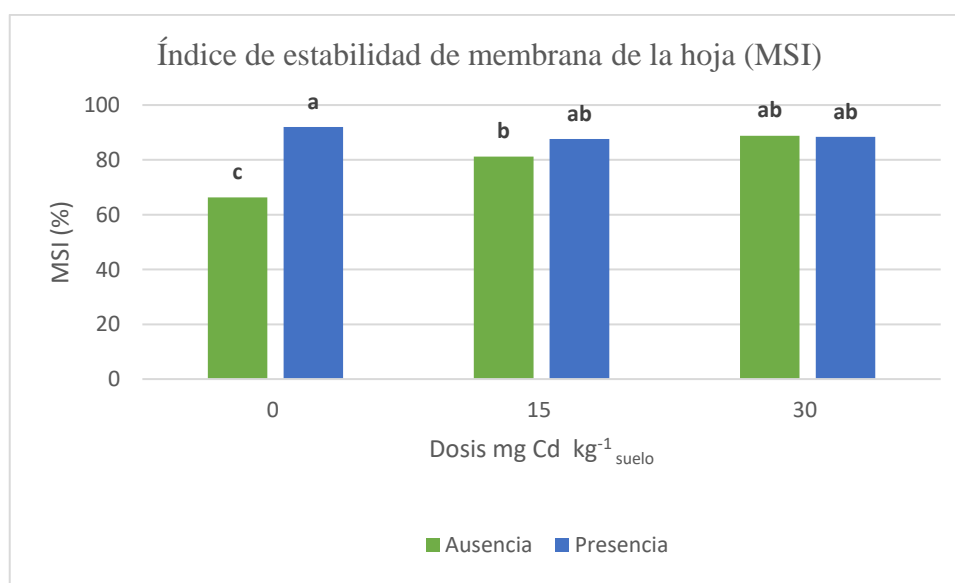
**Figura 20. Prueba de efectos principales para el índice de estabilidad de la membrana de la hoja bajo el efecto de tres dosis de cadmio**

Para la interacción HMA x fósforo, el valor más alto de obtuvo en el tratamiento fertilizado e inoculado con micorrizas con 90.2 %, seguido del tratamiento sin P, pero con presencia de micorrizas con 88.4 %. Los valores más bajos se obtuvieron en aquellas hojas de plantas que no estuvieron en simbiosis con el hongo, siendo 71.9 % para suelos no fertilizados y 85.7 % para suelos fertilizados. Este resultado se puede explicar gracias a la simbiosis benéfica del hongo con el girasol, el cual coloniza la corteza de la raíz ayudando a la planta a tomar el fósforo que fue agregado en la fertilización, de esta manera se obtiene un doble beneficio, gracias al efecto de tolerancia que genera la simbiosis con *Glomus intraradices* más una planta sin deficiencia de P (Valencia y Zúñiga, 2015) (Figura 21).



**Figura 21. Efecto de las diferentes dosis de fósforo en el índice de estabilidad de la membrana de la hoja bajo efecto de ausencia y presencia del HMA**

En el análisis de Tukey de la interacción HMA x cadmio no se observan diferencias significativas para aquellos girasoles que fueron inoculados con micorrizas respecto a las 3 diferentes dosis de cadmio (0, 15, 30 mg kg<sup>-1</sup>). En el caso de los girasoles que no contaban con simbiosis de micorrizas, se obtuvieron los porcentajes más bajos significativamente para suelos no contaminados, sin embargo, para el que estuvo expuesto a 15 y 30 mg Cd kg<sup>-1</sup>, no se encontraron diferencias significativas con respecto al tratamiento con micorrizas (Figura 22). Estos resultados nos muestran el MSI para las plantas que estuvieron bajo condiciones de suelo contaminado con metales pesados en dosis más altas no difieren de aquellas que estaban expuesta a dosis menores o nulas, eso quiere decir que bajo la influencia del cadmio en el suelo se pierde la capacidad de las micorrizas en generar mayor tolerancia en la estabilidad de la membrana.



**Figura 22. Efecto de las diferentes dosis de cadmio en el índice de estabilidad de la membrana de la hoja bajo efecto de ausencia y presencia del HMA**

Normalmente cuando la membrana plasmática se encuentra afectada por los metales pesados se producen daños mediante varios mecanismos como:

- Oxidación y entrecruzamiento de proteínas (conteniendo grupos tiol).
- Inhibición de proteínas de membrana que son esenciales (como por ejemplo la H<sup>+</sup>-ATPasa).
- Cambios en composición y fluidez de los lípidos de membrana, y cambios en la permeabilidad. Por ejemplo, se sabe que el Cu y el Cd alteran la composición de los lípidos de membrana y provocan la fuga de solutos de la célula (Navarro et al., 2007).

En este caso no se presentaron estos problemas debido a que el girasol es una especie tolerante a la presencia de metales pesados. Entre los mecanismos de tolerancia que involucra la membrana plasmática tenemos:

- Reducción de la captación o estimulación de las bombas de flujo de metales que promueve la entrada al citosol.
- Reparación de la integridad de la membrana plasmática.
- Protección con proteínas de choque térmico, metalotioneinas, etc.
- Homeostasis de metal (Navarro et al., 2007).

A estas características son potenciadas por la inoculación de hongos micorrícicos en condiciones de estrés, esto es debido a que la colonización produce cambios físicos, bioquímicos y fisiológicos en las raíces lo que genera un mejor estado en la planta generando una mejora nutricional además de incrementar de la disponibilidad de nutrientes como el fósforo, zinc, cobre; mayor absorción de agua, favorece la adaptación del balance osmótico e incrementan la conductividad hidráulica de las raíces (Porrás-Soriano, 2009; Medina-García, 2016).



## V. CONCLUSIONES

- El girasol exhibe una alta tolerancia al cadmio para las dosis de 15 y 30 mg kg<sup>-1</sup>, al no verse afectado en su desarrollo vegetativo ni en la estabilidad de la membrana plasmática de las células que conforman la hoja.
- La raíz concentró el cadmio en un 79.8 y 87.1 %, el tallo 12.7 y 12 % y la inflorescencia 7.55 y 5.9 % del total de la planta para los tratamientos con sin y con micorrizas, respectivamente.
- El factor de translocación del girasol es menor que 1 clasificándola como una planta fitoestabilizadora al acumular la mayor cantidad de Cd en sus raíces que en la parte aérea en suelos contaminados.
- La inoculación con el hongo micorrícico arbuscular *Glomus intraradices* mejoró la tolerancia de la planta y la extracción de Cd en suelos contaminados con cadmio.
- La aplicación del fósforo no afectó la capacidad de extracción de cadmio del girasol ni su distribución en sus órganos.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Se recomienda realizar un estudio con cantidades mayores de  $30 \text{ mg kg}^{-1}$  de cadmio para determinar el límite máximo de tolerancia del girasol ante el metal pesado.
- Se recomienda realizar un estudio centrándose en la influencia de la aplicación de fósforo con la dinámica del cadmio en suelo y planta.
- Se aconseja tener cuidado con el muestreo de las raíces del girasol especialmente cuando presentan la simbiosis micorrícica, debido a que, al ser muy delgadas se puede perder biomasa cuando se retira de la maceta.
- Este estudio debe complementarse con el análisis de concentración de cadmio en el suelo de cada tratamiento y hallar el factor de bioacumulación.
- Evaluar las características del suelo en la disponibilidad del Cd para la planta.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

- Aghababaei, F., Raiesi, F., y Hosseinpour, A. (2014). The combined effects of earthworms and arbuscular mycorrhizal fungi on microbial biomass and enzyme activities in a calcareous soil spiked with cadmium. *Applied Soil Ecology*, 75, 33-42. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.10.006>
- Aguirre, W., Fischer, G., & Miranda, D. (2012). Tolerancia a metales pesados a través del uso de micorrizas arbusculares en plantas cultivadas. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 5(1), 141–154. <https://doi.org/10.17584/rcch.2011v5i1.1260>.
- Alloway, B. (2013). Heavy metals in soils: trace metals and metalloids in soils and their bioavailability. Tercera edición. Environmental Pollution. Springer Netherlands.
- Amna, Masood, S., Syed, J. H., Munis, M. F. H., y Chaudhary, H. J. (2015). Phyto-extraction of nickel by *Linum usitatissimum* in association with *Glomus intraradices*. *International Journal of Phytoremediation*, 17(10), 981-987. <https://doi.org/10.1080/15226514.2014.989311>
- 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 & Biochemistry*, 42(1), 118–124. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.10.011>.
- Barceló, J., Poschenrieder, C., Andreu, I., y Gunsé, B. (1986). Cadmium-induced decrease of water stress resistance in bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Contender) I. Effects of Cd on water potential, relative water content, and cell wall elasticity. *Journal of Plant Physiology*, 125(1-2), 17-25. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(86\)80239-5](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(86)80239-5).

- Benavides, M. P., Gallego, S. M., y Tomaro, M. L. (2005). Cadmium toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1), 131-136. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202005000100003>.
- Brunetti, G., Ruta, C., Traversa, A., D'Ambruso, G., Tarraf, W., De Mastro, F., De Mastro, G., y Cocozza, C. (2018). Remediation of a heavy metals contaminated soil using mycorrhized and non-mycorrhized *Helichrysum italicum* (Roth) Don. *Land Degradation and Development*, 29(1), 91-104. <https://doi.org/10.1002/ldr.2842>
- Campos, M. L., Silva, F. N. da, Furtini Neto, A. E., Guilherme, L. R. G., Marques, J. J., & Antunes, A. S. (2005). Determinação de cádmio, cobre, cromo, níquel, chumbo e zinco em fosfatos de rocha. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 40(4), 361-367. <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2005000400007>
- Castañón-Silva, P. A., Venegas-Urrutia, M. A., Lobos-Valenzuela, M. G., y Gaete-Olivares, H. J. (2013). Influencia de micorrizas arbusculares *Glomus* spp. en el crecimiento y acumulación de cobre en girasol *Helianthus annuus* L. *Agrociencia*, 47(4), 309-317.
- Chauhan, P., y Mathur, J. (2018). Potential of *Helianthus annuus* for phytoremediation of multiple pollutants in the environment: A Review. *Journal of Biological Sciences and Medicine*, 4(3), 5-16.
- Chaves-Barrantes, N. F., & Gutiérrez-Soto, M. V. (2016). Respuestas al estrés por calor en los cultivos. I. Aspectos moleculares, bioquímicos y fisiológicos. *Agronomía Mesoamericana: órgano divulgativo del PCCMCA, Programa Cooperativo Centroamericano de Mejoramiento de Cultivos y Animales*, 28(1), 237. <https://doi.org/10.15517/am.v28i1.21903>.
- 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  $\mu$ X-ray fluorescence analysis. *Microbes and Environments*, 33(3), 257-263. <https://doi.org/10.1264/jsme2.me18010>
- Clemente Huachen, J. P., Medina Contreras, J., Laura Pfuño, J. D., Pariona Aguilar, L. Á., & Gutierrez Vilchez, P. P. (2021). Fitorremediación en suelos contaminados con Cd

usando girasol (*Helianthus annuus* L. var. Sunbright). *Acta Agronomica*, 70(2).  
<https://doi.org/10.15446/acag.v70n2.94208>.

Clemens, S. (2006). Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie*, 88(11), 1707–1719.  
<https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.07.00>.

Cloquet, C., Carignan, J., Libourel, G., Sterckeman, T., & Perdrix, E. (2006). Tracing source pollution in soils using cadmium and lead isotopes. *Environmental Science & Technology*, 40(8), 2525–2530. <https://doi.org/10.1021/es052232+>

Cornu, J. Y., Bussière, S., Coriou, C., Robert, T., Maucourt, M., Deborde, C., Moing, A., & Nguyen, C. (2020). Changes in plant growth, Cd partitioning and xylem sap composition in two sunflower cultivars exposed to low Cd concentrations in hydroponics. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 205(111145), 111145.  
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111145>

Correa, F. y Silva, S. (2009). Análisis de la contaminación del suelo: revisión de la normativa y posibilidades de regulación económica. *Semestre Económico*, 12(63), 13- 34.

Das, A., Rangappa, K., Basavaraj, S., Dey, U., Haloi, M., Layek, J., Idapuganti, R. G., Lal, R., Deshmukh, N. A., Yadav, G. S., Babu, S., & Ngachan, S. (2021). Conservation tillage and nutrient management practices in summer rice (*Oryza sativa* L.) favoured root growth and phenotypic plasticity of succeeding winter pea (*Pisum sativum* L.) under eastern Himalayas, India. *Heliyon*, 7(5), e07078.  
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07078>

Davies, F. T., Puryear, J. D., Newton, R. J., Egilla, J. N., y Saraiva Grossi, J. A. (2001). Mycorrhizal fungi enhance accumulation and tolerance of chromium in sunflower (*Helianthus annuus*). *Journal of Plant Physiology*, 158(6), 777-786.  
<https://doi.org/10.1078/0176-1617-00311>

De Andrade, S. A. L., Da Silveira, A. P. D., Jorge, R. A., y De Abreu, M. F. (2008). Cadmium accumulation in sunflower plants influenced by arbuscular mycorrhiza. *International Journal of Phytoremediation*, 10(1), 1-13.

- De Maria, S., Puschenreiter, M., & Rivelli, A. R. (2013). Cadmium accumulation and physiological response of sunflower plants to Cd during the vegetative growing cycle. *Plant, soil and environment*, 59(6), 254–261. <https://doi.org/10.17221/788/2012-pse>
- Del Duca, A. P., Melloni, E. G. P., Melloni, R., y Martins, F. B. (2015). Crescimento de milho transgênico (Bt) e não transgênico inoculados com fungos micorrízicos arbusculares em solo contaminado por cádmio. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo*, 39(5), 1275-1281. <https://doi.org/10.1590/01000683rbc20150046>
- Do Nascimento, C. W. A., y Xing, B. (2006). Phytoextraction: A review on enhanced metal availability and plant accumulation. *Scientia Agricola*, 63(3), 299-311. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162006000300014>.
- FAO. (2015). Statistical pocketbook: World food and agriculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome
- FAO; Rodríguez, E., McLaughlin, M. y Pennock, D. (2019.) La contaminación del suelo: una realidad oculta. Roma.
- Ferreira Vilela, L. A., & Barbosa, M. V. (2019). Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in promoting cadmium tolerance in plants. En: Cadmium Tolerance in Plants. *Elsevier* (pp. 553–586). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815794-7.00021-7>
- Fodor, E., Szabó-Nagy, A., y Erdei, L. (1995). The Effects of cadmium on the fluidity and H<sup>+</sup>-ATPase activity of plasma membrane from sunflower and wheat roots. *Journal of Plant Physiology*, 147(1), 87-92. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81418-5](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81418-5).
- Gómez, L., Contreras, A., Bolonio, D., Quintana, J., Oñate-Sánchez, L., & Merino, I. (2019). Phytoremediation with trees. *Advances in Botanical Research* (pp. 281–321). Elsevier.
- Gonçalves, V. C., Meurer, E. J., Tatsch, F. R. P., Carvalho, S. A., & Santos Neto, O. A. dos. (2008b). Biodisponibilidade de cádmio em fertilizantes fosfatados. *Revista*

*Brasileira de Ciencia do Solo*, 32, 2871–2875. <https://doi.org/10.1590/s0100-06832008000700034>

Gramlich, A., Tandy, S., Gauggel, C., López, M., Perla, D., Gonzalez, V., & Schulin, R. (2018). Soil cadmium uptake by cocoa in Honduras. *The Science of the Total Environment*, 612, 370–378. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.145>.

He, S., He, Z., Yang, X., Stoffella, P. J., & Baligar, V. C. (2015). Soil biogeochemistry, plant physiology, and phytoremediation of cadmium-contaminated soils. *Advances in Agronomy* (pp. 135–225).

Hernández Avera, Y.; Soto Pérez, N.; Florido Bacallao, M.; Delgado Abad, C.; Ortiz Pérez, R. y Enríquez Obregón, G. (2015). Evaluación de la tolerancia a la salinidad bajo condiciones controladas de nueve cultivares cubanos de soya (*Glycine max* (L.) Merrill). [en línea]. *Cultivos Tropicales*, 36(4), pp. 120-125.

Hernández-Baranda, Yenisei, Rodríguez-Hernández, Pedro, Peña-Icart, Mirella, Meriño-Hernández, Yanitza, & Cartaya-Rubio, Omar. (2019). Toxicidad del cadmio en las plantas y estrategias para disminuir sus efectos. Estudio de caso: El tomate. *Cultivos Tropicales*, 40(3), 10.

Herrera Marcano, T. (2011). La contaminación con cadmio en suelos agrícolas. *Venezuelos*, 8(1 y 2), 42-47.

Herzig, R., Nehnevajova, E., Pfister, C., Schwitzguebel, J. P., Ricci, A., y Keller, C. (2014). Feasibility of labile Zn phytoextraction using enhanced tobacco and sunflower: results of five- and one-year field-scale experiments in Switzerland. *International Journal of Phytoremediation*, 16(7-8), 735-754.

Huang, B., Kuo, S., & Bembenek, R. (2004). Availability of cadmium in some phosphorus fertilizers to field-grown lettuce. *Water, air, and soil pollution*, 158(1), 37–51. <https://doi.org/10.1023/b:wate.0000044832.04770.41>

Huang B, Xin J, Dai H, Liu A, Zhou W, Yi Y, et al. (2015). Root morphological responses of three hot pepper cultivars to Cd exposure and their correlations with Cd accumulation. *Environmental Science and Pollution Research* 22(2), 1–9.

- Huaraca-Fernandez, 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. *CIT Información Tecnológica*, 31(4), 139–152. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642020000400139>
- Jiménez, R. (2017). Introducción a la contaminación de suelos. Mundi-Prensa Libros.
- Kaur, H., y Garg, N. (2018). Recent perspectives on cross talk between cadmium, zinc, and arbuscular mycorrhizal fungi in plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 37(2), 680-693. <https://doi.org/10.1007/s00344-017-9750-2>.
- Khan, M. A., Khan, S., Khan, A., & Alam, M. (2017). Soil contamination with cadmium, consequences and remediation using organic amendments. *Science of the Total Environment*, 601–602. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.030>
- Lambert, R., Grant, C., y Sauvé, S. (2007). Cadmium and zinc in soil solution extracts following the application of phosphate fertilizers. *Science of the Total Environment*, 378(3), 293-305. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.02.008>.
- Lagriffoul, A., Mocquot, B., Mench, M., y Vangronsveld, J. (1998). Cadmium toxicity effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and activities of stress related enzymes in young maize plants (*Zea mays* L.). *Plant and Soil*, 200(2), 241- 250.
- Lux, A., Martinka, M., Vaculík, M., & White, P. J. (2011). Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review. *Journal of Experimental Botany*, 62(1), 21–37. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq281>
- Medina-García, Laura R. (2016). The agriculture, salinity and arbuscular mycorrhizal fungi: a need, a problem and an alternative. *Cultivos Tropicales*, 37(3), 42-49.
- Manjhi, B. K., Pal, S., Meena, S. K., Yadav, R. S., Farooqui, A., Singh, H. B., y Rakshit, A. (2016). Mycorrhizoremediation of nickel and cadmium: A promising technology. *Nature Environment and Pollution Technology*, 15(2), 647-652.
- Mar, S., Okazaki, M., y Motobayashi, T. (2012). The influence of phosphate fertilizer application levels and cultivars on cadmium uptake by komatsuna (*Brassica rapa* L.



- var. *Perviridis*). *Soil Science and Plant Nutrition*, 58(4), 492-502.
- Martin, C. (2000). Heavy metals trends in floodplain sediments and valley fill. *Catena* 39, 53-68.
- Mendoza-Cózatl, D. G., Jobe, T. O., Hauser, F., & Schroeder, J. I. (2011). Long-distance transport, vacuolar sequestration, tolerance, and transcriptional responses induced by cadmium and arsenic. *Current Opinion in Plant Biology*, 14(5), 554–562. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2011.07.004>
- Mirecki, N., Agič, R., Šunić, L., Milenković, L., y Ilić, Z. S. (2015). Transfer Factor As Indicator. *Fresenius Environmental Bulletin*, 24(11),12-42.
- Mortvedt, J. J. (1987). Cadmium levels in soils and plants from some long-term soil fertility experiments in the United States of America. *Journal of Environmental Quality*, 16(2), 137–142. <https://doi.org/10.2134/jeq1987.00472425001600020008x>
- Munive, R., Gamarra, G., Munive, Y., Puertas, F., Valdiviezo, L., & Cabello, R. (2020). Lead and cadmium uptake by sunflower from contaminated soil and remediated with organic amendments in the form of compost and vermicompost. *Scientia Agropecuaria*, 11(2), 177–186. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.02.04>
- Myśliwa-Kurdziel, B., Prasad, M. N. V., & Strzałka, K. (2004). Photosynthesis in heavy metal stressed plants. *Heavy Metal Stress in Plants* (pp. 146–181).
- Nascimento, C. W. A. do, Biondi, C. M., Silva, F. B. V. da, & Lima, L. H. V. (2021). Using plants to remediate or manage metal-polluted soils: an overview on the current state of phytotechnologies. *Acta Scientiarum Agronomy*, 43. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v43i1.58283>.
- Navarro Aviñó, J., Aguilar Alonso, I., & López-Moya, J. (2007). Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas*, 16(2), 1-17.

- Nigam, R., Prakash, S., Srivastava, S., y Srivastava, M. (2001). Cadmium mobilisation and plant availability-The impact of organic acids commonly exuded from roots. *Plant and Soil*, 230, 107-113. <https://doi.org/10.1023/A>.
- Peña River, F. D. M., & Beltrán Lázaro, E. (2017). Aplicación de la fitorremediación en suelos contaminados por metales pesados utilizando *Helianthus annuus* L. en la Estación Experimental El Mantaro. *Prospectiva universitaria*, 9(1), 31. <https://doi.org/10.26490/uncp.1990-7044.2012.1.291>
- Pérez García, Perla Esmeralda, y Azcona Cruz, María Isabel (2012). Los efectos del cadmio en la salud. *Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas*, 17(3),199-205.
- Porrás-Soriano, A., Soriano-Martín, M. L., Porrás-Piedra, A., y Azcón, R. (2009). Arbuscular mycorrhizal fungi increased growth, nutrient uptake and tolerance to salinity in olive trees under nursery conditions. *Journal of Plant Physiology*, 166(13), 1350–1359. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.02.010>.
- Prieto, J., González, C., Román, A., Prieto, F. (2009). Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 10(1), 29-44.
- Rask, K. A., Johansen, J. L., Kjølner, R., & Ekelund, F. (2019). Differences in arbuscular mycorrhizal colonisation influence cadmium uptake in plants. *Environmental and Experimental Botany*, 162, 223–229. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.02.022>
- Robinson, B., Fernández, J. E., Madejón, P., Marañón, T., Murillo, J. M., Green, S., y Clothier, B. (2003). Phytoextraction: An assessment of biogeochemical and economic viability. *Plant and Soil*, 249(1), 117-125.
- Rostami, S., & Azhdarpoor, A. (2019). The application of plant growth regulators to improve phytoremediation of contaminated soils: A review. *Chemosphere*, 220, 818–827. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.12.203>

- Salt, D. E., Smith, R. D., & Raskin, I. (1998). Phytoremediation. Annual review of plant physiology. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49(1), 643-668. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.49.1.643do>
- Sarwar, N., Saifullah, Malhi, S. S., Zia, M. H., Naeem, A., Bibi, S., & Farid, G. (2010). Role of mineral nutrition in minimizing cadmium accumulation by plants: Mineral nutrition for minimizing cadmium accumulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(6), 925–937. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3916>
- Seregin I. V., Ivanov V. B. (1997). Is the endodermal barrier the only factor preventing the inhibition of root branching by heavy metal salts? *Russian Journal of Plant Physiology*, 44(6), 797–800.
- Serrano, M., Martínez de la Casa, N., Romero, M., Del Río, L., y Sandalio, L. (2008). Toxicidad del cadmio en plantas. *Ecosistemas*, 17(3).
- Shakoor, A., Abdullah, M., Sarfraz, R., Altaf, M. A. y Batool, S. (2017). A comprehensive review on phytoremediation of cadmium (Cd) by mustard (*Brassica juncea* L.) and sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES)*, 10(3), 88-98.
- Shen, B., Wang, X., Zhang, Y., Zhang, M., Wang, K., Xie, P., & Ji, H. (2020). The optimum pH and Eh for simultaneously minimizing bioavailable cadmium and arsenic contents in soils under the organic fertilizer application. *The Science of the Total Environment*, 711(135229), 135229. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135229>
- Sheoran, V., Sheoran, A. S., y Poonia, P. (2016). Factors affecting phytoextraction: A review. *Pedosphere*, 26(2), 148-166. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(15\)60032-7](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(15)60032-7).
- Sidhu, G. P. S., Bali, A. S., Singh, H. P., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (2018). Phytoremediation of lead by a wild, non-edible Pb accumulator *Coronopus didymus* (L.) Brassicaceae. *International Journal of Phytoremediation*, 20(5), 483–489. <https://doi.org/10.1080/15226514.2017.1374331>.

- Song, Y., Jin, L., & Wang, X. (2017). Cadmium absorption and transportation pathways in plants. *International Journal of Phytoremediation*, 19(2), 133–141. <https://doi.org/10.1080/15226514.2016.1207598>
- Valencia, C., y Zúñiga, D. (2015). Análisis de la presencia natural de micorrizas en cultivos de algodón (*Gossypium barbadense* L.) inoculados con *Bacillus megaterium* y/o *Bradyrhizobium yuanningense*. *Ecología aplicada*, 14(1), 65-69.
- Van Assche, F., y Clijsters, H. (1990). Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant, Cell & Environment*, 13(3), 195-206. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1990.tb01304.x>.
- Van der Ent, A., Baker, A. J. M., Reeves, R. D., Pollard, A. J., y Schat, H. (2013). Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: Facts and fiction. *Plant and Soil*, 362(1-2), 319-334. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1287-3>.
- Wang, P., Deng, X., Huang, Y., Fang, X., Zhang, J., Wan, H., & Yang, C. (2015). Comparison of subcellular distribution and chemical forms of cadmium among four soybean cultivars at young seedlings. *Environmental Science and Pollution Research International*, 22(24), 19584–19595. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5126-y>
- Wei, Y., Chen, Z. P., Wu, F. C., Li, J. N., Shang Guan, Y. X., Li, F. S., Zeng, Q. R., y Hou, H. (2015). Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with a Sb accumulator plant, ramie (*Boehmeria nivea*), in an active Sb mining. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(8), 1205-1215.
- Yazdanbakhsh, A., Alavi, S. N., Valadabadi, S. A., Karimi, F., & Karimi, Z. (2020). Heavy metals uptake of salty soils by ornamental sunflower, using cow manure and biosolids: A case study in Alborz city, Iran. *Air Soil and Water Research*, 13. <https://doi.org/10.1177/1178622119898460>.

## VIII. ANEXOS

### Anexo 1. Análisis de caracterización del suelo experimental

Muestra	pH (1:1)	C.E. (1:1) dS/m	CaCO <sub>3</sub> %	M.O. %	P ppm	K ppm	ANÁLISIS MECÁNICO			Clase Textural	CIC	CATIONES CAMBIABLES					Suma de cationes	Suma de bases
							Arena	Limo	Arcilla			Ca <sup>+2</sup>	Mg <sup>+2</sup>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Al <sup>+3</sup> + H <sup>+</sup>		
							%	%	%			meq/100g						
Universidad Nacional Agraria La Molina	7.73	1.80	6.26	1.89	35.8	356	54	26	20	Fr.Ar.A.	9.92	5.81	2.49	1.05	0.57	0.00	9.92	9.92

### Anexo 2. Análisis de concentración de cadmio en el suelo

Muestra	Cd total mg kg <sup>-1</sup>
Universidad Nacional Agraria La Molina	2.37

Anexo 3. Análisis de varianza para el peso seco total del girasol

<b>F.V</b>	<b>Grados de Libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>P(&gt;F)</b>	<b>Sig.</b>
Micorrizas	1	1,097.39	1,097.39	1,097.39	1,097.39	(***)
Cadmio	2	1,097.39	1,097.39	1,097.39	1,097.39	
Fósforo	1	20.24	20.24	20.24	20.24	(***)
MicorrizasxCadmio	2	0.00004	0.00004	0.00004	0.00004	
Micorrizasxfósforo	1	258.86	258.86	258.86	258.86	
Cadmioxfósforo	2	129.43	129.43	129.43	129.43	
MicorrizasxCadmio xfósforo	2	2.39	2.39	2.39	2.39	
Residuals	48	0.10266	0.10266	0.10266	0.10266	

Anexo 4. Análisis de varianza para el contenido de cadmio en la inflorescencia

<b>F.V</b>	<b>Grados de Libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>P(&gt;F)</b>	<b>Sig.</b>
Micorrizas	1	0.00	0.00	0.13	0.71561	
Cadmio	2	1.42	0.71	99.45	0.00000	(***)
Fósforo	1	0.07	0.07	10.28	0.00239	(**)
MicorrizasxCadmio	2	0.06	0.03	4.07	0.02338	(*)
Micorrizasxfósforo	1	0.01	0.01	1.97	0.16650	
Cadmioxfósforo	2	0.02	0.01	1.15	0.32432	
MicorrizasxCadmio xfósforo	2	0.01	0.00	0.56	0.57301	
Residuals	48	0.34	0.01			

Anexo 5. Análisis de varianza para el contenido de cadmio en el tallo

<b>F.V</b>	<b>Grados de Libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Media cuadratica</b>	<b>F</b>	<b>P(&gt;F)</b>	<b>Sig.</b>
Micorrizas	1	25.10	25.10	2.98	0.00000	
Cadmio	2	324.65	162.33	86.58	0.00000	(***)
fósforo	1	0.53	0.53	7.96	0.40991	(**)
MicorrizasxCadmio	2	17.77	8.89	5.76	0.00008	(***)
Micorrizasxfósforo	1	1.76	1.76	1.15	0.13733	
Cadmioxfósforo	2	0.08	0.04	4.33	0.94856	
MicorrizasxCadmio xfósforo	2	2.44	1.22	0.52	0.21614	
Residuals	48	1.80	0.04			

Anexo 6. Análisis de varianza para el contenido de cadmio en la raíz

<b>F.V</b>	<b>Grados de Libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Media cuadratica</b>	<b>F</b>	<b>P(&gt;F)</b>	<b>Sig.</b>
Micorrizas	1	25.10	25.10	32.61	0.00000	(***)
Cadmio	2	324.65	162.33	210.85	0.00000	(***)
Fósforo	1	0.53	0.53	0.69	0.40991	
MicorrizasxCadmio	2	17.77	8.89	11.54	0.00008	(***)
Micorrizasxfósforo	1	1.76	1.76	2.28	0.13733	
Cadmioxfósforo	2	0.08	0.04	0.05	0.94856	
MicorrizasxCadmio xfósforo	2	2.44	1.22	1.58	0.21614	
Residuals	48	36.95	0.77			

Anexo 7. Análisis de varianza para la extracción total de cadmio por la planta

<b>F.V</b>	<b>Grados de Libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Media cuadratica</b>	<b>F</b>	<b>P(&gt;F)</b>	<b>Sig.</b>
Micorrizas	1	4,044.25	4,044.25	52.15	0.00000	(***)
Cadmio	2	41,377.00	20,688.50	266.78	0.00000	(***)
Fósforo	1	958.40	958.40	12.36	0.00097	(***)
MicorrizasxCadmio	2	3,379.13	1,689.57	21.79	0.00000	(***)
Micorrizasxfósforo	1	566.72	566.72	7.31	0.00947	(**)
Cadmioxfósforo	2	546.14	273.07	3.52	0.03742	(*)
MicorrizasxCadmio xfósforo	2	187.92	93.96	1.21	0.30666	
Residuals	48	3,722.41	77.55			

Anexo 8. Análisis de varianza para el factor de translocación

<b>F.V</b>	<b>Grados de Libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Media cuadratica</b>	<b>F</b>	<b>P(&gt;F)</b>	<b>Sig.</b>
Micorrizas	1	0.77	0.77	3.14	0.08288	
Cadmio	2	10.16	5.08	20.67	0.00000	(***)
Pósforo	1	0.82	0.82	3.32	0.07449	
MicorrizasxCadmio	2	0.89	0.45	1.81	0.17431	
Micorrizasxfósforo	1	0.56	0.56	2.28	0.13742	
Cadmioxfósforo	2	0.85	0.43	1.73	0.18804	
MicorrizasxCadmio xfósforo	2	1.43	0.72	2.92	0.06385	
Residuals	48	11.79	0.25			



Anexo 9 Análisis de varianza para el índice de estabilidad de la membrana de la hoja

F.V	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	P(>F)	Sig.
Micorrizas	1	1,672.70	1,672.70	27.50	0.00000	(***)
Cadmio	2	899.57	449.79	7.39	0.00159	(**)
Fósforo	1	915.72	915.72	15.05	0.00032	(***)
MicorrizasxCadmio	2	1,851.70	925.85	15.22	0.00001	(***)
Micorrizasxfósforo	1	536.41	536.41	8.82	0.00465	(**)
Cadmioxfósforo	2	607.72	303.86	4.99	0.01070	(*)
MicorrizasxCadmio xfósforo	2	170.45	85.22	1.40	0.25626	
Residuals	48	2,920.03	60.83			

Anexo 10. Porcentaje de colonización micorrízica en raíces de girasol inoculados con *Glomus intraradices* con concentraciones distintas de Cd y P en el suelo.

Suelo	[Cd] mg kg <sup>-1</sup>	[P] mg kg <sup>-1</sup>	Colonización de raíces por hongos micorrízicos %
Inoculado	0	0	3.10
		200	4.20
	15	0	4.70
		200	5.10
	30	0	5.10
		200	4.90
No inoculado	Control		0.30

Anexo 11. Secado de suelo tamizado al aire libre



Anexo 12. Llenado de macetas con suelo

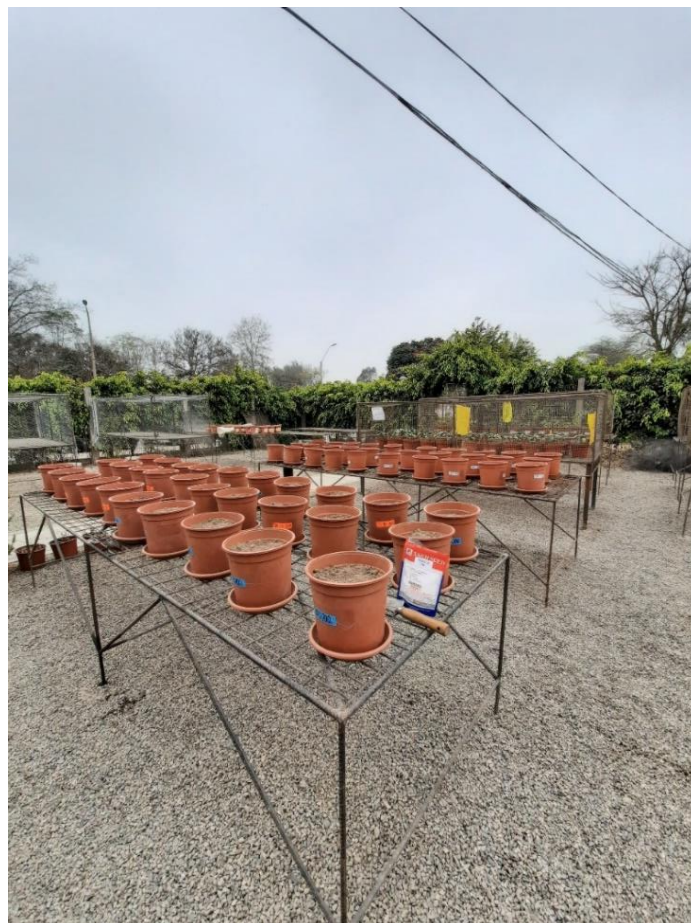




Anexo 13. Contaminación de suelo con cadmio en sus diferentes dosis



Anexo 14. Siembra de girasol en las macetas



Anexo 15. Fertilización con superfostato triple en los tratamientos necesarios



Anexo 16. Vista de los cotiledones del girasol a los 10 días después de la siembra





### Anexo 17. Riego diario de las macetas



### Anexo 18. Etiquetado de macetas con códigos QR



Anexo 19. Plantas de girasoles a los 49 después de la siembra



Anexo 20. Planta de girasol a los 60 días después de la siembra





Anexo 21. Plantas de girasol a los 78 días después de la siembra



Anexo 22. Cosecha del girasol





Anexo 23. Pesado de discos foliares para la evaluación de Índice de la estabilidad de la membrana



Anexo 24. Pesado del girasol en fresco





Anexo 25. Lavado de raíces de girasol



Anexo 26. Secado de raíces al aire libre



Anexo 27. Pesado de raíces en seco



Anexo 28. Triturado de materia seca





Anexo 29. Pesado de muestra molida para la digestión ácida



Anexo 30. Proceso de agregación de ácido nítrico perclórico a las muestras molidas



Anexo 31. Cristalización de las muestras molidas de girasol después de la digestión ácida



Anexo 32. Filtrado de las muestras cristalizadas

