

# Role of mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria in plant uptake of essential and metal elements in heavy metal-contaminated soil

## Función de los hongos micorrícicos y las bacterias solubilizadoras de fosfatos en la absorción de elementos esenciales y metálicos en las plantas en suelos contaminado con metales pesados

Yuni Sri Rahayu<sup>1\*</sup>; Yuliani<sup>1</sup>; Husam Al-Najar<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universitas Negeri Surabaya. Surabaya, East Java, 60231, INDONESIA.

<sup>2</sup>The Islamic University of Gaza. P.O. Box 108, Gaza Strip, PALESTINE.

\*Corresponding author: yunirahayu@unesa.ac.id

### Abstract

The objective of this study was to compare the effect of different types of inoculants (control, vesicular arbuscular mycorrhizae fungi [VAMF], phosphate-solubilizing bacteria [PSB], and co-inoculant [VAMF-PSB]) on root colonization, plant growth, macronutrient (P and N) uptake, and metal element uptake under heavy metal-contaminated soil conditions. Three species of vegetable plants, namely tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv. Ratna), red chili (*Capsicum annuum* L. cv. Gada), and hot chili (*Capsicum frutescens* L. cv. Pusaka Brengolo), were grown in heavy metal (Zn, Ca, Ni and Cd) –contaminated soil for eight weeks. Plants co-inoculated with VAMF-PSB showed significantly higher root colonization by VAMF as well as P and N concentrations in shoot and root than plants inoculated with only VAMF or PSB; consequently, the plant biomass also increased. In heavy metal-contaminated soil, VAMF colonization and PSB application could significantly improve the essential metal concentration (Cu and Zn) in the shoot, although there were no significant effects on the roots. On the contrary, co-inoculation with VAMF-PSB could significantly decrease Cd and Ni concentrations in the shoot, although Cd and Ni concentrations did not show a significant difference in the root. The concentrations of Cu, Zn, Cd, and Ni were higher in the roots than in the shoots of the three plant species tested. The type of inoculant used in this study selectively discriminated between plant essential (Cu, Zn) and non-essential elements (Cd, Ni).

**Keywords:** VAMF, PSB, vegetable plants, nutrient uptake.

### Resumen

El objetivo de este estudio fue comparar el efecto de diferentes inóculos (testigo, hongos micorrícicos vesiculares arbusculares [HMVA], bacterias solubilizadoras de fosfatos [BSF] y co-inoculación [HMVA-BSF]) sobre la colonización de raíces, crecimiento vegetal, absorción de macronutrientes (P y N) y absorción de elementos metálicos en suelo contaminado con metales pesados. Durante ocho semanas se cultivaron tres especies de plantas hortícolas: tomate (*Solanum lycopersicum* L. cv. Ratna), chile rojo (*Capsicum annuum* L. cv. Gada) y chile piquín (*Capsicum frutescens* L. cv. Pusaka Brengolo), en suelo contaminado con Zn, Ca, Ni y Cd. Las plantas co-inoculadas con HMVA-BSF mostraron una colonización de raíces por HMVA significativamente más elevada, así como una mayor concentración de P y N en brotes y raíces que las plantas inoculadas solamente con HMVA o BSF; en consecuencia, incrementó la biomasa vegetal. El suelo contaminado con metales pesados, la colonización con HMVA y la aplicación de BSF incrementaron significativamente la concentración de metales esenciales (Cu y Zn) en los brotes, aunque sin efectos significativos en las raíces. Por el contrario, la co-inoculación con HMVA-BSF disminuyó las concentraciones de Cd y Ni en los brotes, pero sin diferencia significativa en las raíces. Las concentraciones de Cu, Zn, Cd y Ni fueron más elevadas en las raíces que en los brotes en las tres especies vegetales evaluadas. El tipo de inoculación discriminó selectivamente entre los elementos esenciales (Cu, Zn) y no esenciales (Cd, Ni).

### Palabras clave:

HMVA, BSF, plantas hortícolas, absorción de nutrientes.

Please cite this article as follows (APA 7): Sri Rahayu, Y., Yuliani, & Al-Najar, H. (2024). Role of mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria in plant uptake of essential and metal elements in heavy metal-contaminated soil. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 30(2) 27-42. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2024.02.001>



Revista Chapingo  
Serie Horticultura

## Introduction

Plants require both macronutrients and micronutrients, with the former being very important in determining the quality of plant growth and development. In general, adding macronutrients to plants can increase crop yields and the overall quality of plant production (Monib et al., 2023). Unlike macronutrients, plants require only a small amount of micronutrients, but these nutrients are essential for vital cell function (Denton-Thompson & Sayer, 2022). The low availability of essential plant nutrients and the toxicity of nutrients in the soil can hurt plant production (Hashimi et al., 2023). The yield and quality of horticultural plant species can also be limited by excess uptake of potentially toxic metal cations in soil, such as when plants are grown in polluted substrates.

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) form symbiotic relationships with the roots of nearly all land-dwelling plants, increasing growth and productivity, especially during abiotic stress. AMF improve plant development by improving nutrient acquisition and mineral uptake. AMF improve plant tolerance and resilience to abiotic stressors such as drought, salt, and heavy metal toxicity (Wahab et al., 2023).

Generally, the response in quality of plant growth to AMF colonization differs markedly with host plant species. Some species usually show positive plant growth, while others respond with decreased growth or show no effect. For example, in carrot (*Daucus carota* subsp. *sativus*), a positive effect on the growth of the host was shown due to the inoculation of *Funnelformis mosseae*, *Acaulospora longula*, and *Scutellospora heterogama* (Kim et al., 2017).

AMF have negative and positive impacts on plants depending on environmental conditions. In low water environmental conditions, plant height was surprisingly repressed by AMF inoculation of the nursery shrub species *Artemisia ordosica*. The adverse effects of AMF on plant growth at low water and nutrient levels may indicate that, under these conditions, AMF inoculation does not strongly contribute to nutrient and water acquisition (Wang et al., 2023). A positive response of host plants to mycorrhizal colonization regarding metal uptake has also been previously reported. AMF can form a mutualistic symbiotic relationship with many plants. Application of AMF to plants can increase nutrient uptake for the host plant. In this case, AMF can mobilize insoluble nutrients in the soil, especially phosphorus (Zhang et al., 2022; Lu et al., 2023).

The response of plants to AMF inoculation varies depending on the length of the plant roots and the genes in each plant species and also depends on soil conditions

## Introducción

Las plantas requieren tanto macronutrientes como micronutrientes, y los primeros son de gran importancia en el crecimiento y desarrollo vegetativo. En general, adicionar macronutrientes a las plantas puede incrementar los rendimientos del cultivo y la calidad de la producción vegetal (Monib et al., 2023). A diferencia de los macronutrientes, las plantas requieren sólo una pequeña cantidad de micronutrientes, pero estos son esenciales para la función celular vital (Denton-Thompson & Sayer, 2022). La disponibilidad baja de nutrientes vegetales esenciales y su toxicidad en el suelo pueden mermar la producción vegetal (Hashimi et al., 2023). El rendimiento y la calidad de las especies vegetales hortícolas también pueden estar limitados por la absorción excesiva de cationes metálicos potencialmente tóxicos en el suelo, como cuando las plantas se cultivan en suelos contaminados.

Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) forman relaciones simbióticas con las raíces de casi todas las plantas al incrementar el crecimiento y la productividad, especialmente durante el estrés abiótico. Dichos hongos mejoran el desarrollo vegetal al aumentar el aprovechamiento de nutrientes y la absorción de minerales. Asimismo, los HMA mejoran la tolerancia y la resiliencia vegetal ante el estrés abiótico, como sequía, salinidad y toxicidad por metales pesados (Wahab et al., 2023).

Por lo general, la respuesta del crecimiento vegetativo a la colonización de HMA difiere marcadamente entre las especies vegetales hospederas. Algunas especies muestran crecimiento vegetativo positivo, mientras que otras responden con disminuciones en el crecimiento o no manifiestan efectos. Por ejemplo, en zanahoria (*Daucus carota* subsp. *sativus*) se observó un efecto positivo en el crecimiento debido a la inoculación con *Funnelformis mosseae*, *Acaulospora longula* y *Scutellospora heterogama* (Kim et al., 2017).

Los HMA tienen impactos negativos o positivos sobre las plantas en función de las condiciones ambientales. Con humedad ambiental baja, la altura de planta fue reprimida al inocular con HMA la especie de arbusto de vivero *Artemisia ordosica*. Los efectos adversos de los HMA sobre el crecimiento vegetativo con niveles bajos de agua y nutrientes pueden indicar que, bajo estas condiciones, la inoculación con HMA no contribuye en la absorción de nutrientes y agua (Wang et al., 2023). No obstante, la respuesta positiva de las plantas hospederas a la colonización fúngica respecto de la absorción de metales también ha sido reportada. Los HMA pueden formar una relación simbiótica mutualista con muchas plantas. La aplicación de HMA puede incrementar la absorción de nutrientes en la planta hospedera, al movilizar algunos

such as water stress, the amount of metal in the soil, and other environmental conditions (Yang et al., 2023b). Yang et al. (2023a) reported a significant correlation between mycorrhizal colonization rate and Zn absorption efficiency in winter wheat roots during the post-anthesis period. However, there was no significant correlation during the pre-anthesis period. Additionally, AMF application reduced the adverse effects of salinity stress by increasing the uptake of micronutrients such as Zn, Fe, Cu, and Mn while regulating the uptake of Na (decrease) and K (increase) (Huang et al., 2023). *Glomus fasciculatum*, an AMF, alleviates the adverse effects of Pb, As, and Ni and improves the growth parameters of *Monarda citriodora* Cerv. ex Lag (Luxmi et al., 2023). The presence of fungal symbionts can increase the tolerance of *A. vulneraria* to heavy metal stress and help plants adapt to extreme conditions in calamine tailings (Sujkowska-Rybkowska et al., 2023).

On the other hand, phosphate-solubilizing bacteria (PSB) have been shown to increase the availability of soil P fractions, thereby promoting plant growth (Long & Wasaki, 2023). Phosphate-solubilizing soil microorganisms can make soil-insoluble phosphate bioavailable for plants through solubilization and mineralization (Timofeeva et al., 2022). In addition, applying organic amendments with PSB could further ameliorate soil conditions for sustainable management of immobilized nutrients in calcareous soils (Adnan et al., 2022). PSB can also improve plant growth by supplying P for the plant and improving heavy metal mobility in soils and enhancing phytoextraction. Even PSB, with the peripheral direct oxidation pathway, was likely to have a high Cd-mobilizing ability (Yang et al., 2018).

PSB-assisted phytoextraction can enhance the removal of toxic metals by plants from contaminated soil (Yuan et al., 2022). A recent review stated that a combination of rock phosphate with PSB inoculum might be preferable to minimize the risk of long-term total P soil deficit (Kalayu, 2019).

It is expected that the combination of vesicular arbuscular mycorrhizae fungi (VAMF) and PSB in heavy metal-contaminated soil will increase the survival of plants that grow in such soils. The objective of this study was to compare the response of vegetable host plants (tomato, red chili, and hot chili) to a different type of inoculant (control, VAMF, PSB, and co-inoculation VAMF-PSB) under heavy metal-contaminated soil conditions. Three vegetable plant species were also compared in the uptake of the essential elements (Zn and Cu) and the non-essential elements (Cd and Ni) and the overall effect on plant growth or survival. These findings will be essential to finding alternative solutions to the excessive heavy metal content in the soil problem.

nutrientes insolubles en el suelo, especialmente fósforo (Zhang et al., 2022; Lu et al., 2023).

La respuesta de las plantas a la inoculación con HMA varía dependiendo de la longitud de las raíces de la planta y de los genes en cada especie vegetal, así como de las condiciones del suelo, como el estrés hídrico, la cantidad de metales en el suelo y otras condiciones ambientales (Yang et al., 2023b). Yang et al. (2023a) reportaron una correlación significativa entre la tasa de colonización y la eficiencia de la absorción de Zn en raíces de trigo de invierno durante el periodo posterior a la antesis; sin embargo, no hubo una correlación significativa durante el periodo anterior a la antesis. Adicionalmente, la aplicación de HMA redujo los efectos adversos del estrés por salinidad al incrementar la absorción de micronutrientes como Zn, Fe, Cu y Mn, a la vez de regular la absorción de Na (disminución) y K (incremento) (Huang et al., 2023). El HMA *Glomus fasciculatum* alivia los efectos negativos del Pb, As y Ni, y mejora los parámetros de crecimiento de *Monarda citriodora* Cerv. ex Lag (Luxmi et al., 2023). La presencia de simbiontes fúngicos puede incrementar la tolerancia de *A. vulneraria* al estrés por metales pesados y ayudar a las plantas a adaptarse a condiciones extremas de residuos de calamina (Sujkowska-Rybkowska et al., 2023).

Por otro lado, se ha demostrado que las bacterias solubilizadoras de fosfato (BSF) aumentan la disponibilidad de fracciones de P en el suelo, lo cual promueve el crecimiento de las plantas (Long & Wasaki, 2023). Este tipo de microorganismos pueden hacer que el fosfato insoluble en el suelo esté biodisponible para las plantas a través de la solubilización y mineralización (Timofeeva et al., 2022). Además, la aplicación de enmiendas orgánicas con BSF también podría mejorar el manejo sostenible de nutrientes inmovilizados en suelos calcáreos (Adnan et al., 2022). Las BSF también pueden mejorar el crecimiento vegetativo al suministrar P a la planta, movilizar los metales pesados en los suelos y mejorar la fitoextracción. Incluso las BSF, mediante la oxidación directa periférica, tienen una alta capacidad de movilización de Cd (Yang et al., 2018).

La fitoextracción asistida por BSF puede incrementar la remoción de metales tóxicos por las plantas de suelos contaminados (Yuan et al., 2022). Una revisión reciente afirmó que la combinación de fosfato de roca con inóculo de BSF puede minimizar el riesgo de déficit de largo plazo del P total del suelo (Kalayu, 2019).

Considerando lo anterior, se espera que la combinación de hongos micorrícicos vesiculares arbusculares (HMVA) y BSF en suelo contaminado con metales pesados incremente la supervivencia de las plantas. Por ello, el objetivo de este estudio fue comparar la respuesta de tres plantas hortícolas (tomate, chile rojo y chile piquín) a diferentes inóculos (testigo, HMVA,

## Materials and methods

### Soil treatment

An ultisol soil with low P ( $\text{H}_2\text{O}$ -extractable P =  $1.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) from a garden area in Ketintang, Surabaya, East Java - Indonesia, was pasteurized twice at  $80^\circ\text{C}$  for 1,440 min to eliminate the indigenous mycorrhizal fungi, with cooling at room temperature for one day between the two periods of heating. Two weeks before the experiment, every metal and nutrient was combined with the soil, with its moisture kept at 15 %, then incubated at room temperature until the experiment commenced.

Nutrients were applied in the form and concentration as follows (per 1 kg of soil): 200 mg N ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ), 20 mg P [ $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ ], 100 mg Mg ( $\text{MgSO}_4$ ), 200 mg K ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ), and 10 mg Fe ( $\text{NH}_4\text{-Fe-citrate}$ ). In addition, four different metals were supplied (per 1 kg of soil): 2 mg Zn ( $\text{ZnSO}_4$ ), 2 mg Cu ( $\text{CuSO}_4$ ), 2 mg Ni ( $\text{NiSO}_4$ ), and 0.2 mg Cd ( $\text{CdSO}_4$ ) (Kloke, 1980; Lee, 2005). Tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv. Ratna), red chili (*Capsicum annuum* L. cv. Gada), and hot chili (*Capsicum frutescens* L. cv. Pusaka Brengolo) were used. The VAMF were from *G. mosseae* isolate retrieved from SEAMEO-BIOTROP, Bogor, Indonesia. The fungi were applied in the soil as spores combined with soil. As much as 0.01 kg of soil with 20-25 spores of VAMF were applied to each experiment pot before plant treatment.

### Plant treatment and experimental design

Seeds were sterilized with 10 %  $\text{H}_2\text{O}_2$  for 5 min and then pregerminated for 240 min in saturated  $\text{CaSO}_4$  (Lee, 2005), and then 20 mL of PSB *B. subtilis* (Universitas Negeri Surabaya Laboratory collection), at a concentration of  $10^9 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ , was applied before the seed was sown directly into the pot. The pots had a 5 L volume and were filled with 3 kg of soil. After germination, plants were thinned to two.

The experiment was set up in a one-factor, randomized complete block design. Experimental treatments included the following: 1) control (non-inoculation), 2) inoculated with VAMF, 3) inoculated with PSB, and 4) co-inoculated (VAMF-PSB). Four treatments with four replicates gave 16 pots for each vegetable plant species. Plants were grown in a greenhouse (day min/max temperatures of  $28/32^\circ\text{C}$ ; max light intensity of approximately 34,000 lux).

### Plant analysis

After eight weeks of growth, roots and shoots were harvested to determine the root colonization by mycorrhizae and to analyze the plant dry weight

BSF y co-inoculación HMVA-BSF), así como la absorción de elementos esenciales (Zn y Cu) y no esenciales (Cd y Ni), y el efecto general sobre el crecimiento o la supervivencia de las plantas en suelo contaminado con metales pesados. Estos hallazgos serán esenciales para encontrar soluciones alternativas al contenido excesivo de metales pesados en el suelo.

## Materiales y métodos

### Tratamiento del suelo

El suelo empleado fue ultisol con baja concentración de P (P extraíble con  $\text{H}_2\text{O}$  =  $1.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), proveniente de un jardín de Ketintang, Surabaya, East Java – Indonesia. Para eliminar los hongos micorrícicos originarios, el suelo se pasteurizó dos veces a  $80^\circ\text{C}$  por 1,440 min, con enfriado a temperatura ambiente por un día entre los calentamientos. Dos semanas antes del experimento, cada metal y nutriente se mezclaron con el suelo, y se incubó a temperatura ambiente hasta que inició el experimento. Durante este periodo, la humedad se mantuvo a 15 %.

Los nutrientes se aplicaron de la siguiente manera (por 1 kg de suelo): 200 mg de N ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ), 20 mg de P [ $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ ], 100 mg de Mg ( $\text{MgSO}_4$ ), 200 mg de K ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) y 10 mg de Fe ( $\text{NH}_4\text{-Fe-citrato}$ ). Complementariamente, se suministraron cuatro metales (por 1 kg de suelo): 2 mg de Zn ( $\text{ZnSO}_4$ ), 2 mg de Cu ( $\text{CuSO}_4$ ), 2 mg de Ni ( $\text{NiSO}_4$ ) y 0.2 mg de Cd ( $\text{CdSO}_4$ ) (Kloke, 1980; Lee, 2005). Los cultivos estudiados fueron tomate (*Solanum lycopersicum* L. cv. Ratna), chile rojo (*Capsicum annuum* L. cv. Gada) y chile piquín (*Capsicum frutescens* L. cv. Pusaka Brengolo). Los HMVA se aislaron de *G. mosseae*, obtenidos del SEAMEO-BIOTROP, Bogor, Indonesia, y se aplicaron como esporas combinadas con suelo. Se suministraron hasta 0.01 kg de suelo con 20-25 esporas de HMVA a cada maceta experimental antes de la siembra.

### Tratamiento de las plantas y diseño experimental

Las semillas de cada cultivo se esterilizaron con 10 % de  $\text{H}_2\text{O}_2$  por 5 min y se pre-germinaron por 240 min en  $\text{CaSO}_4$  saturado (Lee, 2005). Antes de la siembra directa en las macetas, se aplicaron 20 mL de BSF *B. subtilis* (colección de un laboratorio de Universitas Negeri Surabaya), a una concentración de  $10^9 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ . Las macetas tenían un volumen de 5 L y se llenaron con 3 kg de suelo preparado. Después de la germinación, las plantas se redujeron a dos.

El experimento se estableció en un diseño de bloques completos al azar de un factor. Los tratamientos experimentales fueron: 1) testigo (sin inoculación), 2) inoculación con HMVA, 3) inoculación con BSF y 4) co-inoculación (HMVA-BSF), lo cual generó cuatro



(Chandrasekaran, 2022) and nutrient (N, P, Zn, Cu, Cd, y Ni) concentrations. The percentage of root length colonized by VAMF was determined on roots stained in trypan blue using the gridline-intersect method (Kumar & Tapwal, 2022). P and N concentrations were determined by UV-Vis spectrophotometry and by the Kjeldahl method, respectively. The metal (Zn, Cu, Ni, and Cd) concentrations were measured using an atomic absorption spectrophotometer (Bhandari, 2018).

### Statistical analysis

Data were shown as the mean  $\pm$  standard deviation of replicates. The data were checked for normality and homogeneity of variance before performing the analysis of variance using SPSS (IBM SPSS Statistics 23). One-way analysis of variance followed by Duncan's multiple-range test ( $P \leq 0.05$ ) was performed to compare the means of root colonization, plant biomass, P and N concentrations, and the metal (Cu, Zn, Cd, and Ni) concentrations for each vegetable plant species.

## Results

### Root colonization

Table 1 shows that co-inoculation (VAMF-PSB) resulted in significantly higher root colonization than the rest of the treatments in all crops.

### Plant biomass

Root colonization by VAMF significantly increased the plant biomass of the three vegetable species compared to control plants (Table 2).

tratamientos con cuatro repeticiones; es decir, 16 macetas para cada especie vegetal. Las plantas se cultivaron en un invernadero con temperaturas mínima y máxima de 28 y 32 °C, respectivamente, e intensidad lumínica máxima de aproximadamente 34,000 luxes.

### Análisis de las plantas

Después de ocho semanas de crecimiento, las raíces y los brotes se cosecharon para determinar la colonización por la micorriza, analizar el peso seco de la planta (Chandrasekaran, 2022) y evaluar las concentraciones de los nutrientes (N, P, Zn, Cu, Cd y Ni). El porcentaje de longitud de raíz colonizado por HMVA se determinó mediante la tinción de las raíces con azul de tripano y el método de intersección de líneas de cuadrícula (Kumar & Tapwal, 2022). Las concentraciones de P y N se obtuvieron por espectrofotometría UV-Vis y por el método de Kjeldahl, respectivamente. Las concentraciones de los metales (Zn, Cu, Ni y Cd) se midieron en un espectrofotómetro de absorción (Bhandari, 2018).

### Análisis estadístico

Los datos se presentaron como la media  $\pm$  la desviación estándar de las repeticiones. Los datos se sometieron a pruebas de normalidad y homogeneidad antes de realizar el análisis de varianza con el programa SPSS (IBM SPSS Statistics, versión 23). Se aplicó un análisis de varianza de una vía, seguido de la prueba de rango múltiple de Duncan ( $P \leq 0.05$ ) para comparar las medias de la colonización de raíz, la biomasa vegetal, las concentraciones de P y N, y las concentraciones de metales (Cu, Zn, Cd y Ni) para cada especie vegetal.

**Table 1. Root colonization in vegetable plants grown in heavy metal-contaminated soil.**

**Cuadro 1. Colonización de raíz en plantas cultivadas en suelo contaminado con metales pesados.**

Treatments / Tratamientos	Root colonization in vegetable plants (%) / Colonización de raíz en plantas hortícolas (%)					
	Tomato / Tomate		Red chili / Chile rojo		Hot chili / Chile piquín	
	Mean $\pm$ SD / Media $\pm$ DE	CV	Mean $\pm$ SD / Media $\pm$ DE	CV	Mean $\pm$ SD / Media $\pm$ DE	CV
Control / Testigo	4.9 $\pm$ 0.52 c <sup>a</sup>	10.5	5.9 $\pm$ 0.28 d	16.9	5.3 $\pm$ 0.36 d	6.9
VAMF / HMVA	31.1 $\pm$ 0.70 b	2.3	43.0 $\pm$ 1.27 c	3.0	41.7 $\pm$ 1.73 b	4.2
PSB / BSF	29.8 $\pm$ 0.99 b	2.6	51.7 $\pm$ 0.56 b	0.7	38.7 $\pm$ 1.56 c	4.0
VAMF-PSB / HMVA-BSF	43.1 $\pm$ 1.41 a	3.3	57.8 $\pm$ 2.05 a	3.6	51.9 $\pm$ 2.01 a	3.9

VAMF = vesicular arbuscular mycorrhizae fungi; PSB = phosphate-solubilizing bacteria; SD = standar deviation; CV = coefficient of variation. <sup>a</sup>Means with the same letters within each column do not differ statistically (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

HMVA = hongos micorrícicos vesiculares arbusculares; BSF = bacterias solubilizadoras de fosfatos; DE = desviación estándar; CV = coeficiente de variación. <sup>a</sup>Medias con letras iguales dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

Table 2. Plant biomass in vegetable plants grown in heavy metal-contaminated soil.  
Cuadro 2. Biomasa vegetal en plantas cultivadas en suelo contaminado por metales pesados.

Treatments/ Tratamientos	Plant biomass in vegetable plant (g)/Biomasa vegetal en plantas hortícolas (g)					
	Tomato/Tomate		Red chili/Chile rojo		Hot chili/Chile piquín	
	Mean ± SD/ Media ± DE	CV	Mean ± SD/ Media ± DE	CV	Mean ± SD/ Media ± DE	CV
Control/Testigo	3.10 ± 0.29 c <sup>z</sup>	9.5	2.92 ± 0.22 c	7.6	2.72 ± 0.25 b	9.2
VAMF/HMVA	4.10 ± 0.18 b	4.5	4.57 ± 0.25 b	5.5	3.90 ± 0.21 a	5.5
PSB/BSF	4.28 ± 0.21 b	5.0	4.80 ± 0.18 b	3.8	3.87 ± 0.18 a	4.9
VAMF-PSB/HMVA-BSF	5.65 ± 0.31 a	5.5	5.87 ± 0.29 a	5.1	4.10 ± 0.36 a	8.9

VAMF = vesicular arbuscular mycorrhizae fungi; PSB = phosphate-solubilizing bacteria; SD = standar deviation; CV = coefficient of variation. <sup>z</sup>Means with the same letters within each column do not differ statistically (Duncan, *P* ≤ 0.05).  
HMVA = hongos micorrícicos vesiculares arbusculares; BSF = bacterias solubilizadoras de fosfatos; DE = desviación estándar; CV = coeficiente de variación.  
<sup>a</sup>Medias con letras iguales dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Duncan, *P* ≤ 0.05).

P and N concentrations

P and N concentrations in VAMF plants, PSB plants, and plants co-inoculated were increased compared to the control (Figures 1 and 2). In all plant species, plant P concentrations in the shoot and root indicated a sufficient supply of P to plants (Figure 1). However, N concentrations in the shoot and root (Figure 2) indicated a deficient status compared to standard values of adequate nutrition (Bergmann, 1992; Balemi & Negisho, 2012; Frydenvang et al., 2015).

Although the N concentration increased for the VAMF, PSB, and VAMF-PSB combination treatments, the N concentration was still relatively low compared to the standard value of N concentration (Figure 2).

Heavy metal concentration

Although the application of VAMF, PSB, or VAMF-PSB could decrease the Cd and Ni concentrations in the shoot of three plant species, the concentrations of Cu, Zn, Cd, and Ni were higher in the root than shoot of three plant species (Figures 3, 4, 5, and 6). Inoculation of VAMF-PSB significantly increased Zn concentration in the root compared to the other treatments (Figure 4a). It led to a significant increase in Zn concentration in the shoot in tomato. VAMF-PSB co-inoculation did not have any effect on Cd content in roots (Figure 5a). However, each co-inoculation treatment decreased the Cd content in the shoots of every plant compared to the control (Figure 5b).

Discussion

Sun et al. (2018) reported that Cd concentrations in roots were higher than those in shoots of all cultivars, regardless of inoculation. However, the AMF function has a different effect on Cd accumulation in upland and lowland cultivation. Zhao et al. (2023)

Resultados

Colonización de la raíz

El Cuadro 1 muestra que con la co-inoculación (HMVA-BSF) la colonización fue significativamente mayor al resto de los tratamientos en todos los cultivos.

Biomasa vegetal

La colonización de las raíces generada por la co-inoculación incrementó significativamente la biomasa vegetal en las tres especies vegetales, en comparación con las plantas testigo (Cuadro 2).

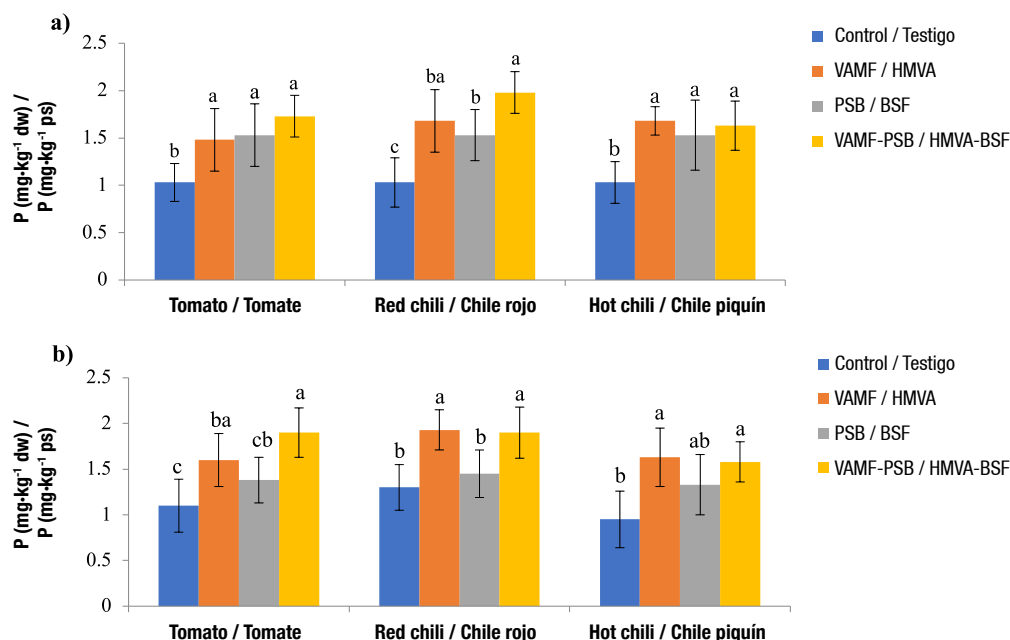
Concentraciones de P y N

Las concentraciones de P y N en las plantas con HMVA, BSF y las co-inoculadas incrementaron significativamente en comparación con el testigo (Figuras 1 y 2). En todas las especies vegetales, las concentraciones de P en los brotes y las raíces indicaron un suministro suficiente de P para las plantas (Figura 1). No obstante, las concentraciones de N en los brotes y las raíces (Figura 2) indicaron una deficiencia en comparación con los valores estándar de una nutrición adecuada (Bergmann, 1992; Balemi & Negisho, 2012; Frydenvang et al., 2015).

Aunque la concentración de N incrementó con los tratamientos HMVA, BSF y HMVA-BSF, esta fue relativamente baja en comparación con el valor estándar de concentración de N (Figura 2).

Concentración de metales pesados

A pesar de que la aplicación de HMVA, BSF o HMVA-BSF pudo disminuir las concentraciones de Cd y Ni en los brotes de las tres especies vegetales, las concentraciones de Cu, Zn, Cd y Ni fueron estadísticamente mayores



**Figure 1.** P concentrations for three vegetable species treated without inoculation (control), inoculated with vesicular arbuscular mycorrhizae fungi (VAMF), inoculated with phosphorus-solubilizing bacteria (PSB) and co-inoculated (VAMF-PSB): a) roots and b) shoots. dw = dry weight; bars represent standard deviation. Columns with the same letters within each vegetable species do not differ statistically (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

**Figura 1.** Concentraciones de P en tres especies vegetales tratadas sin inoculación (testigo), inoculadas con hongos micorrízicos vesiculares arbusculares (HMVA), inoculadas con bacterias solubilizadoras de fósforo (BSF) y co-inoculadas (HMVA-BSF): a) raíces y b) brotes. ps = peso seco; las barras representan la desviación estándar. Las columnas con letras iguales en cada cultivo no difieren estadísticamente (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

reported that inoculation with two AMF species (*G. intraradices* and *G. mosseae*) significantly elevated Cd concentrations in the contaminated land areas due to the collapse of tailings dams. However, they reduced the Cd concentration in the upper layers of the tailings pond, while in the downwind area around the smelter, which was contaminated by serious smoke and dust pollution, inoculation with *G. mosseae* significantly decreased the Cd concentration. AMF promoted plant Cd tolerance and detoxification by enhancing P uptake, Cd passivation, Cd retention in the cell wall, and functional group modulation (You et al., 2022). Gao et al. (2023) evaluated the effect of AMF on cereals established under controlled greenhouse conditions, observing a significant reduction (between 5.14 and 33.6 %) in Cd stress. This was achieved by enhancing osmotic regulators (soluble proteins, sugars and total prolines, from 14.8 to 36.0 %) and by reducing the membrane lipid peroxidation product (MDA, 12.9 %).

Narwal et al. (2018) reported a 32.4 % higher total uptake of Zn in rice plants treated with AMF than in untreated control plants. The colonization of AMF significantly increased Zn uptake. A similar outcome was observed in a study by Zaheer et al. (2019), where applying PSB increased Zn uptake in plants. These findings are consistent with the results of our study,

en las raíces que en los brotes de las tres especies vegetales (Figuras 3, 4, 5 y 6). La co-inoculación (HMVA-BSF) incrementó significativamente la concentración de Zn en las raíces, comparada con los otros tratamientos (Figura 4a). Esto condujo a un aumento significativo en la concentración de Zn en los brotes de tomate. Por su parte, el mismo tratamiento no tuvo un efecto significativo en el contenido de Cd en las raíces (Figura 5a); sin embargo, la co-inoculación disminuyó el contenido de Cd en los brotes de cada planta en comparación con el testigo (Figura 5b).

## Discusión

Sun et al. (2018) reportaron que las concentraciones de Cd en las raíces fueron más altas que las de los brotes en todos los cultivares sin importar la inoculación. Sin embargo, los HMA tienen diferentes efectos sobre la acumulación de Cd en la agricultura de tierras altas y bajas. Zhao et al. (2023) mencionan que la inoculación con dos especies de HMA (*G. intraradices* y *G. mosseae*) elevaron significativamente las concentraciones de Cd en áreas contaminadas debido al colapso de las presas de residuos, pero redujeron la concentración de Cd en las capas superiores del estanque de residuos. En el área a favor del viento alrededor de la fundición, que estaba contaminada por humo y polvo, la inoculación con *G.*

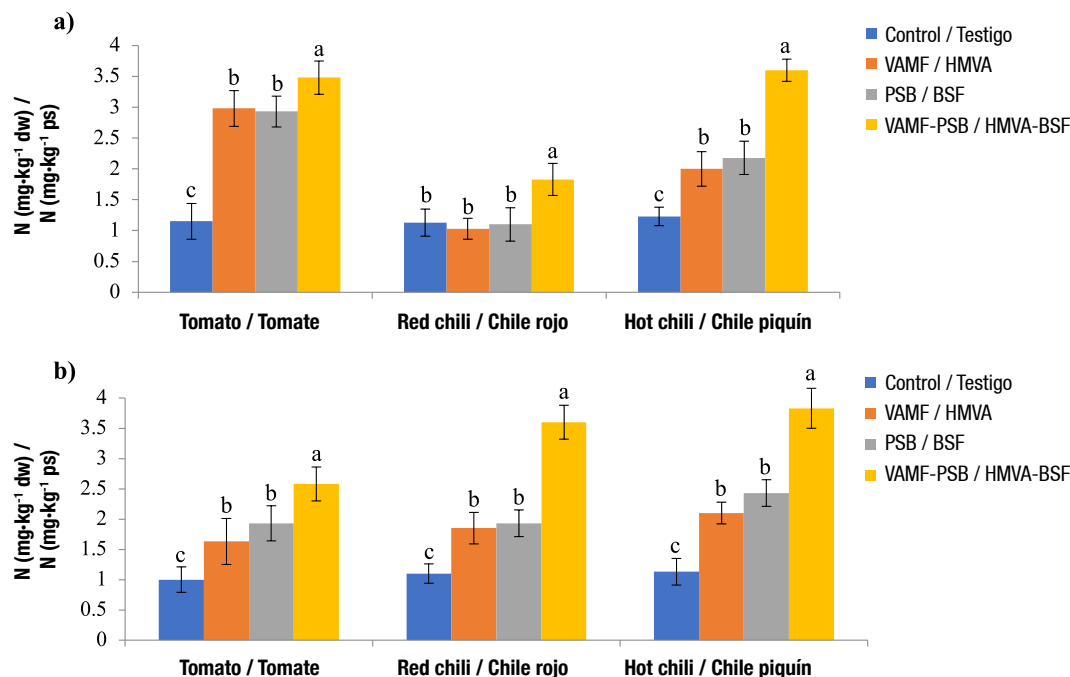


Figure 2. N concentrations for three vegetable species treated without inoculation (control), inoculated with vesicular arbuscular mycorrhizae fungi (VAMF), inoculated with phosphorus-solubilizing bacteria (PSB) and co-inoculated (VAMF-PSB); a) roots and b) shoots. dw = dry weight; bars represent standard deviation. Columns with the same letters within each vegetable species do not differ statistically (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

Figura 2. Concentraciones de N en tres especies vegetales tratadas sin inoculación (testigo), inoculadas con hongos micorrízicos vesiculares arbusculares (HMVA), inoculadas con bacterias solubilizadoras de fósforo (BSF) y co-inoculadas (HMVA-BSF); a) raíces y b) brotes. ps = peso seco; las barras representan la desviación estándar. Las columnas con letras iguales en cada cultivo no difieren estadísticamente (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

as shown in Figure 4a, where the Zn content in roots was elevated with VAMF and PSB inoculation, leading to increased Zn content in tomato shoots.

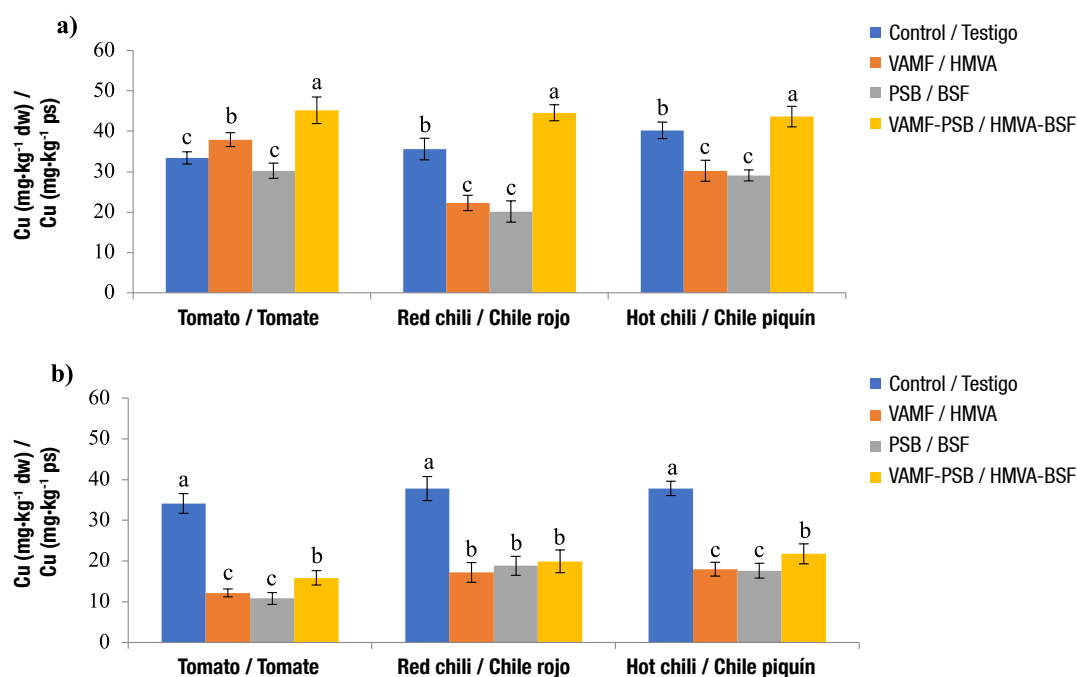
Brunetto et al. (2023) revealed that pre-inoculation with selected AMF (*Rhizophagus clarus* X UFSC 14 and *Rhizophagus intraradices* X UFSC 32) significantly reduced the Cu concentration after a long period of exposure. In addition to AMF, PSB has a similar ability to improve critical metal concentrations, such as the concentration of Cu. Lin et al. (2018) also reported that the removal efficiency of Cu from the soil by *Wedelia trilobata* increased with an increase in the concentration of PSB, and the translocation factors of Cu (i.e., leaf:root and stem:root) were both significantly upregulated by PSB.

In line with these reports, we also found an increased concentration of Zn and Cu due to mycorrhizal colonization and PSB in all plant species tested under heavy metal-contaminated soil compared with inoculation with VAMF or PSB. For Cd, however, many contradictory results have been reported. Some reports found that mycorrhizal infection increases root Cd<sup>2+</sup> uptake (Han et al., 2021). AMF, in turn, increase corn

*mosseae* disminuyó significativamente la concentración de Cd. Asimismo, estos HMA promovieron la tolerancia al Cd en la planta y la desintoxicación al aumentar la absorción de P, la pasivación del Cd, la retención de Cd en la pared celular y la modulación del grupo funcional (You et al., 2022). Gao et al. (2023) evaluaron el efecto de HMA en cereales establecidos en condiciones controladas de invernadero, y observaron una reducción significativa (entre 5.14 y 33.6 %) en el estrés por Cd. Esto se logró al mejorar los reguladores osmóticos (proteínas solubles, azúcares y prolinas totales, de 14.8 a 36.0 %) y al reducir el producto de la peroxidación lipídica de la membrana (MDA, 12.9 %).

Narwal et al. (2018) obtuvieron una absorción total de Zn más alta (32.4 %) en plantas de arroz tratadas con HMA que con las plantas testigo sin tratar; es decir, la colonización con HMA incrementó significativamente la absorción de Zn. Un resultado similar fue observado en un estudio de Zaheer et al. (2019), quienes aplicaron BSF y obtuvieron un incremento en la absorción de Zn en las plantas. Estos hallazgos coinciden con los resultados obtenidos en el presente estudio, ya que el contenido de Zn en las raíces fue estadísticamente





**Figure 3.** Cu concentration for three vegetable species treated without inoculation (control), inoculated with vesicular arbuscular mycorrhizae fungi (VAMF), inoculated with phosphorus-solubilizing bacteria (PSB) and co-inoculated (VAMF-PSB): a) roots and b) shoots. dw = dry weight; bars represent standard deviation. Columns with the same letters within each vegetable species do not differ statistically (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

**Figura 3.** Concentración de Cu para tres especies vegetales tratadas sin inoculación (testigo), inoculadas con hongos micorrícicos vesiculares arbusculares (HMVA), inoculadas con bacterias solubilizadoras de fósforo (BSF) y co-inoculadas (HMVA-BSF): a) raíces y b) brotes. ps = peso seco; las barras representan la desviación estándar. Las columnas con letras iguales en cada cultivo no difieren estadísticamente (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

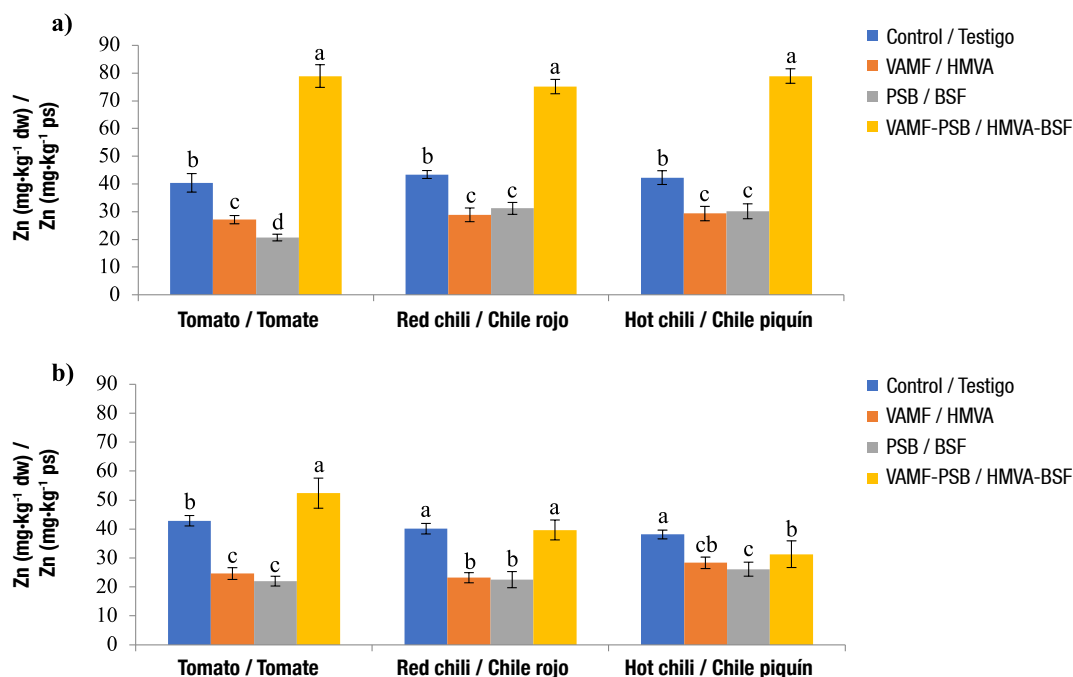
Cd uptake, which is closely related to the influence of AMF on root morphology and LMWOA (low molecular weight organic acid) secretion, with varying effects at different levels of Cd pollution (Chen et al., 2022). Others found that AMF reduces Cd leaching from sand columns by reducing availability and enhancing uptake by maize roots (Yu et al., 2022).

Yang et al. (2018) stated that PSB administered to contaminated soil enhanced Cd uptake by plants. You et al. (2021) reported that AMF alleviate the toxic effects of Cd on *P. australis* by increasing plant biomass and through different regulatory patterns under different toxic trace elements concentrations. As is known, Cd can potentially be a hazardous heavy metal that can be toxic for plants even at deficient levels ( $0.5 \mu\text{g Cd}\cdot\text{g}^{-1}$  soil) (Zhi et al., 2020). The generation of reactive oxygen species (ROS) could be induced by Cd and cause peroxidation of lipids and, consequently, increase the permeability of membranes (Su et al., 2019). Nafady and Elgharably (2018) reported that Cd concentrations in the shoot decreased with inoculation of native AMF *G. aggregatum*; however, the Cd concentration increased with an injection of *G. intraradices*.

mayor con la co-inoculación (HMVA-BSF), lo cual incrementó significativamente la concentración de Zn en los brotes de tomate (Figura 4a).

Brunetto et al. (2023) revelaron que la pre-inoculación con HMA seleccionados (*Rhizophagus clarus* X UFSC 14 y *Rhizophagus intraradices* X UFSC 32) redujo la concentración de Cu después de un largo periodo de exposición. Además de los HMA, las BSF tienen una habilidad similar para incrementar las concentraciones de metales, como el Cu. Lin et al. (2018) mencionan que la eficiencia en la eliminación del Cu del suelo por *Wedelia trilobata* incrementó al aumentar la concentración de BSF, y los factores de translocación del Cu (es decir, hoja:raíz y tallo:raíz) fueron regulados significativamente por BSF.

En concordancia con lo anterior, en el presente trabajo también se obtuvo una concentración elevada de Zn y Cu con la co-inoculación HMVA-BSF en todas las especies vegetales examinadas, en comparación con la inoculación solo con HMVA o BSF. Sin embargo, para Cd se han encontrado muchos resultados contradictorios. Algunos reportes señalan que la infección micorrícica



**Figure 4.** Zn concentrations for three vegetable species treated without inoculation (control), inoculated with vesicular arbuscular mycorrhizae fungi (VAMF), inoculated with phosphorus-solubilizing bacteria (PSB) and co-inoculated (VAMF-PSB): a) roots and b) shoots. dw = dry weight; bars represent standard deviation. Columns with the same letters within each vegetable species do not differ statistically (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

**Figura 4.** Concentraciones de Zn para tres especies vegetales tratadas sin inoculación (testigo), inoculadas con hongos micorrícicos vesiculares arbusculares (HMVA), inoculadas con bacterias solubilizadoras de fósforo (BSF) y co-inoculadas (HMVA-BSF): a) raíces y b) brotes. ps = peso seco; las barras representan la desviación estándar. Las columnas con letras iguales en cada cultivo no difieren estadísticamente (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

The availability of additional P can reduce the Cd concentration in plant shoots due to the interaction between P and Cd in the uptake process by plant roots (Zhao et al., 2020). Figure 1 shows that the P concentration increased significantly due to co-inoculation with VAMF-PSB compared to the other treatments, coinciding with a decreasing Cd concentration in the shoot. From these results, it can be suggested that the increase in P availability due to VAMF-PSB application in heavy metal-contaminated soil could minimize the uptake of heavy metals except in hot pepper, positively affecting plant growth and, as a consequence, plant survival.

In the present study, we found a higher Cd concentration in the control plants than in the inoculated ones. We also found higher Cd and Ni concentrations in the root compared with the concentration of Cd and Ni in the shoot (Figures 5 and 6). Kuang et al. (2023) reported that AMF inoculation significantly increased the root's Cd concentration while significantly reducing the shoot's Cd concentration.

aumenta la absorción del  $\text{Cd}^{2+}$  en las raíces (Han et al., 2021). Asimismo, los HMA incrementan la absorción de Cd en el maíz, lo cual está cercanamente relacionado con la influencia de los HMA sobre la morfología de la raíz y la secreción de ácidos orgánicos de bajo peso molecular (LMWOA, por sus siglas en inglés), aunque con efectos variables a diferentes niveles de contaminación por Cd (Chen et al., 2022). Otros investigadores encontraron que los HMA reducen la lixiviación del Cd en columnas de arena al disminuir su disponibilidad y mejorar su absorción por las raíces del maíz (Yu et al., 2022).

Yang et al. (2018) afirman que las BSF aplicadas a suelos contaminados incrementan la absorción de Cd por parte de las plantas. You et al. (2021) señalan que los HMA alivian los efectos tóxicos del Cd en *P. australis* al incrementar la biomasa vegetal y a través de diferentes patrones regulatorios bajo distintas concentraciones de oligoelementos tóxicos. Como es sabido, el Cd es un metal pesado que puede ser tóxico para plantas incluso a niveles deficientes ( $0.5 \mu\text{g Cd}\cdot\text{g}^{-1}$  suelo) (Zhi et al., 2020). La generación de especies reactivas de oxígeno

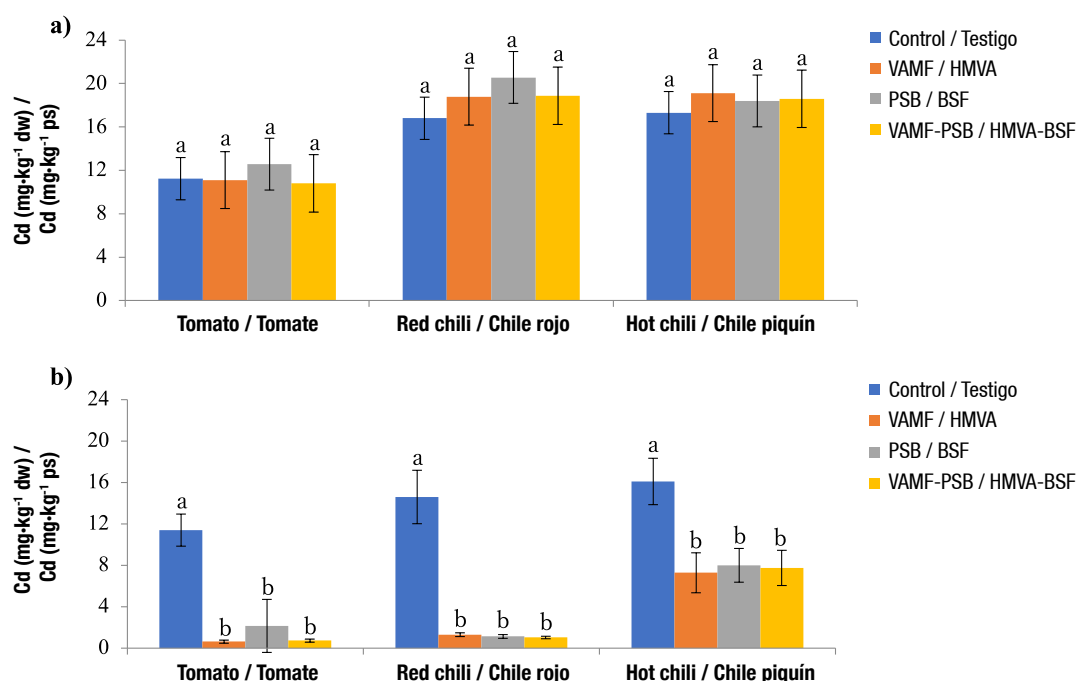


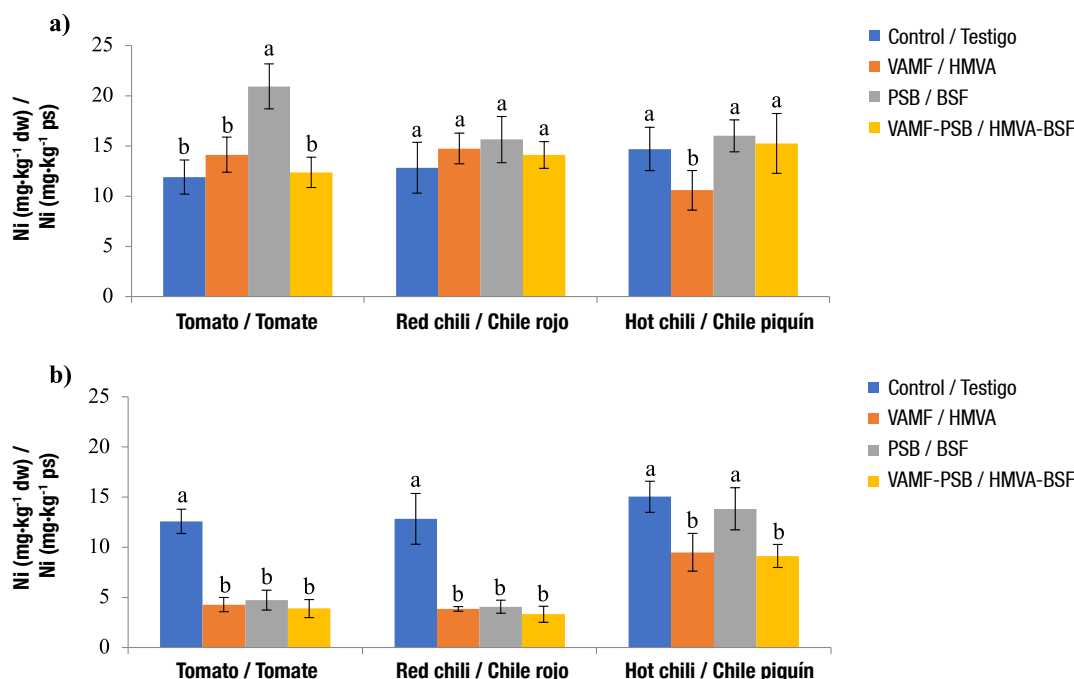
Figure 5. Cd concentrations for three vegetable species treated without inoculation (control), inoculated with vesicular arbuscular mycorrhizae fungi (VAMF), inoculated with phosphorus-solubilizing bacteria (PSB) and co-inoculated (VAMF-PSB): a) roots and b) shoots. dw = dry weight; bars represent standard deviation. Columns with the same letters within each vegetable species do not differ statistically (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

Figura 5. Concentraciones de Cd para tres especies vegetales tratadas sin inoculación (testigo), inoculadas con hongos micorrízicos vesiculares arbusculares (HMVA), inoculadas con bacterias solubilizadoras de fósforo (BSF) y co-inoculadas (HMVA-BSF): a) raíces y b) brotes. ps = peso seco; las barras representan la desviación estándar. Las columnas con letras iguales en cada cultivo no difieren estadísticamente (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

Generally, the inoculant type affects the N concentration in roots and shoots with a similar pattern to the Cd concentration (Figure 5). The VAMF function and PSB regulation were influential because there was a significant increase in root Ni (Figure 6a). On the other hand, Ni cannot be accumulated in the shoot (Figure 6b). The protective effects of VAMF colonization against metal toxicity may be due to heavy metal accumulation in mycorrhizal roots and reduced translocation from root to shoot by immobilizing metals in fungal hyphae in roots. VAMF can enhance the uptake of nutrients effectively since they significantly increase the P concentration (Table 2) in many crops in low-phosphorus soil. The combination of VAMF and PSB can improve P uptake by a plant that grows in heavy metal-contaminated soil (Figure 1). Wu et al. (2019) stated that PSB inoculation treatments could improve leaf N and P content and had positive effects on the available N, P, and K content of rhizosphere soil. Consequently, PSB inoculation could improve the acquisition of essential elements (P, Cu, and Zn) and, at the same time, protect the host plant from Cd and Ni toxicity by reducing shoot or root concentration when these metals exist at a high level in the soil.

(ERO) podría ser inducida por Cd y causar peroxidación de lípidos y, en consecuencia, incrementar la permeabilidad de las membranas celulares (Su et al., 2019). Nafady y Elgharably (2018) reportaron que las concentraciones de Cd en el brote disminuyeron con la inoculación del HMA nativo *G. aggregatum*; sin embargo, dicha concentración incrementó con el uso de *G. intraradices*.

La disponibilidad adicional de P puede reducir la concentración de Cd en los brotes de las plantas debido a la interacción entre P y Cd en el proceso de absorción de las raíces (Zhao et al., 2020). La Figura 1 muestra que la concentración de P aumentó significativamente debido a la co-inoculación con HMVA-BSF, en comparación con los otros tratamientos, lo cual coincide con la disminución de la concentración de Cd en el brote. A partir de estos resultados, se puede decir que el aumento en la disponibilidad de P debido a la aplicación de la co-inoculación HMVA-BSF en suelos contaminados con metales pesados podría minimizar la absorción de metales pesados, excepto en chile piquín, lo cual afecta positivamente el crecimiento vegetativo y, en consecuencia, la supervivencia de las plantas.



**Figure 6.** Ni concentrations for three vegetable species treated without inoculation (control), inoculated with vesicular arbuscular mycorrhizae fungi (VAMF), inoculated with phosphorus-solubilizing bacteria (PSB) and co-inoculated (VAMF-PSB): a) roots and b) shoots. dw = dry weight; bars represent standard deviation. Columns with the same letters within each vegetable species do not differ statistically (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

**Figura 6.** Concentraciones de Ni para tres especies vegetales tratadas sin inoculación (testigo), inoculadas con hongos micorrícicos vesiculares arbusculares (HMVA), inoculadas con bacterias solubilizadoras de fósforo (BSF) y co-inoculadas (HMVA-BSF): a) raíces y b) brotes. ps = peso seco; las barras representan la desviación estándar. Las columnas con letras iguales en cada cultivo no difieren estadísticamente (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

VAMF colonization resulted in preferential uptake and transfer of some metals depending on the essentiality of the element, e.g., improvement of essential metal acquisition and protection of VAMF against toxic metals, suggesting a possible use in the metal-containing substrate. Tan et al. (2023) stated that AMF mycelium plays a vital role as a metal adsorbent, reducing local metal concentrations in the soil and creating a more suitable environment for plants growing in metal-contaminated soil.

The effect of AMF colonization on metal uptake was independent of the growth-promoting influence in the VAMF plant. Growth response to VAMF colonization differed from plant species irrespective of metal concentration in VAMF plants. However, the metal uptake was similar in the species tested. These different growth responses of host plants were also related to the amount of metal supplied. All plant species tested had an effective response to VAMF colonization for the growth response. This difference in the growth response of host plants to VAMF colonization may be due to differences in colonization rate and growth of hyphae of VAMF by interaction with host plant species, consequently related to the ability of P acquisition. A

En el presente estudio, se encontró una concentración más elevada de Cd en las plantas testigo; además, se observaron concentraciones más altas de Cd y Ni en las raíces que en los brotes (Figuras 5 y 6). Kuang et al. (2023) mencionan que la inoculación con HMA incrementó significativamente la cantidad de Cd en la raíz y redujo su concentración en el brote.

Generalmente, el tipo de inoculación afecta la concentración de N en raíces y brotes con un patrón similar al observado con Cd (Figura 5). La función de los HMVA y la regulación de las BSF influyeron en el aumento significativo de Ni en las raíces (Figura 6a), pero sin acumulación en los brotes (Figura 6b). Los efectos protectores de la colonización por HMVA contra la toxicidad de los metales se pueden deber a la acumulación de metales pesados en las raíces y a la translocación reducida desde la raíz hasta el brote mediante la inmovilización de metales en las hifas de los hongos en las raíces. Los HMVA pueden mejorar la absorción de nutrientes de forma eficaz, ya que incrementan significativamente la concentración de P (Cuadro 2) en muchos cultivos establecidos en suelos con baja concentración de P. Asimismo, los HMVA y las BSF pueden mejorar la absorción de P de una planta



better colonization rate and development of hyphae in some VAMF and host plant combinations could improve successful P acquisition from the soil and result in higher biomass in host plants.

Under heavy metal-contaminated soil conditions, VAMF association increased the biomass of all three host plant species tested. VAMF improve plant development by enhancing the acquisition of nutrients, such as P, as well as water and mineral uptake. VAMF improve plant tolerance and resilience to abiotic stressors, such as heavy metal toxicity. These benefits come from the arbuscular mycorrhizal interface, which lets fungal and plant partners exchange nutrients, signaling molecules, and protective chemical compounds (Wahab et al., 2023).

VAMF could enhance plant growth (survival) on severely disturbed sites, including ones with heavy metal contamination. VAMF were reported to play an important role in metal tolerance and accumulation.

## Conclusions

Plants co-inoculated with VAMF-PSB had significantly higher root colonization by VAMF, and greater P and N concentrations in shoot and root than plants inoculated with only VAMF or PSB. Consequently, the plant biomass also increased.

Cu, Zn, Cd, and Ni concentrations were higher in the roots than in the shoots of the three plant species tested. The type of inoculant used in this study selectively discriminated between plant essential (Cu, Zn) and non-essential elements (Cd, Ni). These findings recommend using VAMF and PSB application in horticultural production in heavy metal-contaminated soils to increase plant survival.

## End of English version

## References / Referencias

- Adnan, M., Fahad, S., Saleem, M. H., Ali, B., Mussart, M., Ullah, R., Muhammad, A., Ahmad, M., Shah, W. A., Romman, M., Wahid, F., Wang, D., Saud, S., Liu, K., Harrison, M. T., Wu, C., Danish, S., Datta, R., Muresan, C. C., & Marc, R. A. (2022). Comparative efficacy of phosphorous supplements with phosphate solubilizing bacteria for optimizing wheat yield in calcareous soils. *Scientific Reports*, 12, 11997. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-16035-3>
- Balemi, T., & Negisho, K. (2012). Management of soil phosphorus and plant adaptation mechanisms to phosphorus stress for sustainable crop production: A review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 12(3), 547-561. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162012005000015>
- Bergmann, W. (1992). *Nutritional disorders of plants: Development, visual and analytical diagnosis*. Gustav Fischer.
- que crece en suelos contaminados con metales pesados (Figura 1). Wu et al. (2019) afirman que los tratamientos inoculados con BSF pueden mejorar el contenido foliar de N y P, y tienen efectos positivos sobre el contenido de N, P y K disponibles en la rizosfera del suelo. En consecuencia, la inoculación con BSF podría mejorar la absorción de elementos esenciales (P, Cu y Zn) y, al mismo tiempo, proteger a la planta de la toxicidad del Cd y del Ni al reducir su concentración en los brotes o las raíces cuando estos metales se encuentran en abundancia en el suelo.
- La colonización de HMVA derivó en la absorción y transferencia preferencial de algunos metales en función de la necesidad del elemento; por ejemplo, se mejoró la adquisición de metales esenciales y la protección de los HMVA contra metales tóxicos, lo cual sugiere un posible uso en sustratos que contienen metales. Tan et al. (2023) afirman que el micelio de los HMA desempeña un papel vital como adsorbente de metales, al reducir las concentraciones locales de metales en el suelo y crear un ambiente más adecuado para las plantas que crecen en suelos contaminados con metales.
- El efecto de los HMA en la absorción de metales fue independiente de su influencia promotora de crecimiento en la planta. La respuesta de crecimiento a la colonización por HMVA difirió entre las especies vegetales, independientemente de la concentración de metales en las plantas. Sin embargo, la absorción de metales fue similar en las especies estudiadas. Las respuestas diferentes en el crecimiento de las plantas también estuvieron relacionadas con la cantidad de metal suministrado. Las tres especies examinadas tuvieron una reacción efectiva a la colonización por HMVA para el crecimiento. Las diferencias entre las plantas a la colonización por HMVA se pudieron deber a diferencias en la tasa de colonización y al crecimiento de las hifas generadas por las interacciones con la especie hospedera, lo cual también está relacionado con la habilidad de absorción de P. Una mejor tasa de colonización y desarrollo de las hifas, así como las combinaciones de la planta hospedera, podrían mejorar exitosamente la absorción de P y resultar en una mayor producción de biomasa en las plantas.
- En condiciones de suelos contaminados con metales pesados, la asociación de HMVA incrementó la biomasa de las tres especies vegetales examinadas. Los HMVA mejoran el desarrollo vegetativo mediante la absorción de nutrientes, como el P, así como la absorción de agua y minerales; además, mejoran la tolerancia y la resiliencia al estrés abiótico, como la toxicidad de los metales pesados. Estos beneficios provienen de la interfaz micorrícica arbuscular, lo cual permite a los socios fúngicos y vegetales intercambiar nutrientes, marcadores moleculares y compuestos químicos protectores (Wahab et al., 2023).

- Bhandari, N. (2018). Techniques used in plant tissue analysis for essential elements on horticultural plants and correlate with nutrient requirement. *North American Academic Research*, 1(2), 94-113.
- Brunetto, G., Marques, A. C., Trentin, E., Sete, P. B., Soares, C. R., Ferreira, P. A., de Melo, G. W., Zalamena, J., da Silva, L. O., Marchezan, C., da Silva, I. C., dos Santos, J. P., & Morsch, L. (2023). Arbuscular mycorrhizal fungi inoculation as strategy to mitigate copper toxicity in young field-grown vines. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 38(1), 60-66. <https://doi.org/10.1051/ctv/ctv20233801060>
- Chandrasekaran, M. (2022). Arbuscular mycorrhizal fungi mediated enhanced biomass, root morphological traits and nutrient uptake under drought stress: a meta-analysis. *Journal of Fungi*, 8(7), 660. <https://doi.org/10.3390/jof8070660>
- Chen, J., Guo, J., Li, Z., Liang, X., You, Y., Li, M., He, Y., & Zhan, F. (2022). Effects of an arbuscular mycorrhizal fungus on the growth of and cadmium uptake in maize grown on polluted wasteland, farmland and slopeland soils in a lead-zinc mining area. *Toxics*, 10(7), 359. <https://doi.org/10.3390/toxics10070359>
- Denton-Thompson, S. M., & Sayer, E. J. (2022). Micronutrients in food production: What can we learn from natural ecosystems?. *Soil Systems* 6(1), 8. <https://doi.org/10.3390/soilsystems6010008>
- Frydenvang, J., van Maarschalkerweerd, M., Carstensen, A., Mundus, S., Schmidt, S. B., Pedas, P. R., Laursen, K. H., Schjoerring, J. K., & Husted, S. (2015). Sensitive detection of phosphorus deficiency in plants using chlorophyll a fluorescence. *Plant Physiology*, 169, 353-361. <https://doi.org/10.1104/pp.15.00823>
- Gao, Y., An, T., Kuang, Q., Wu, Y., Liu, S., Liang, L., Yu, M., Macrae, A., & Chen, Y. (2023). The role of arbuscular mycorrhizal fungi in the alleviation of cadmium stress in cereals: A multilevel meta-analysis. *Science of The Total Environment*, 902, 166091. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166091>
- Han, Y., Zveushe, O. K., Dong, F., Ling, Q., Chen, Y., Sajid, S., Zhou, L., & Resco de Dios, V. (2021). Unraveling the effects of arbuscular mycorrhizal fungi on cadmium uptake and detoxification mechanisms in perennial ryegrass (*Lolium perenne*). *Science of the Total Environment*, 798, 149222. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149222>
- Hashimi, M. H., Abad, Q., & Shafiq, S. G. (2023). A review of diagnostic techniques of visual symptoms of nutrients deficiencies in plant. *International Journal of Agriculture and Research*, 6(2), 1-9. <https://www.ijo-journals.com/index.php/ar/article/view/638>
- Huang, S., Gill, S., Ramzan, M., Ahmad, M. Z., Danish, S., Huang, P., Al Obaid, S., & Alharbi, S. A. (2023). Uncovering the impact of AM fungi on wheat nutrient uptake, ion homeostasis, oxidative stress, and antioxidant defense under salinity stress. *Scientific Reports*, 13, 8249. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-35148-x>
- Los HMVA podrían mejorar el crecimiento (supervivencia) de las plantas en sitios gravemente perturbados, incluidos aquellos con contaminación por metales pesados, ya que desempeñan un papel importante en la tolerancia y acumulación de metales.
- ### Conclusiones
- Las plantas co-inoculadas con HMVA-BSF presentaron una colonización por HMVA significativamente más elevada, y mayores concentraciones de P y N en brotes y raíces que las plantas inoculadas solamente con HMVA o BSF. En consecuencia, la biomasa vegetal también incrementó.
- Las concentraciones de Cu, Zn, Cd y Ni fueron más elevadas en las raíces que en los brotes de las tres especies vegetales examinadas. El tipo de inóculo utilizado discriminó selectivamente los elementos esenciales (Cu, Zn) y no esenciales (Cd, Ni) de la planta. A partir de estos hallazgos, se recomienda utilizar HMVA y BSF en la producción hortícola en suelos contaminados con metales pesados para incrementar la supervivencia de las plantas.
- ### Fin de la versión en español
- 
- Kalayu, G. (2019). Phosphate solubilizing microorganisms: Promising approach as biofertilizers. *International Journal of Agronomy*, 2019, 1-7. <https://doi.org/10.1155/2019/4917256>
- Kim, S. J., Eo, J., Lee, E., Park, H., & Eom, A. (2017). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and soil conditions on crop plant growth. *Mycobiology*, 45(1), 20-24. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2017.45.1.20>
- Kloke, A. (1980). Orientierungsdaten für tolerierbare Gesamtgehalte einiger Elemente in Kulturboeden. *Mitt VDLUFA*, 1(3), 9-11. <https://ci.nii.ac.jp/naid/10026500971>
- Kuang, Y., Li, X., Wang, Z., Wang, X., Wei, H., Chen, H., Hu, W., & Tang, M. (2023). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth and root cell ultrastructure of *Eucalyptus grandis* under cadmium stress. *Journal of Fungi*, 9(2), 140. <https://doi.org/10.3390/jof9020140>
- Kumar, A., & Tapwal, A. (2022). Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and root colonization in *Polygonatum verticillatum*. *Nusantara Nioscience*, 14(1), 53-63. <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n140107>
- Lee, Y. J. (2005). Contribution of mycorrhizal hyphae to the uptake of metal cations by cucumber plants at two levels of phosphorus supply. *Plant Soil*, 278, 361-370. <https://doi.org/10.1007/s11104-005-0373-1>
- Lin, M., Jin, M., Xu, K., He, L., & Cheng, D. (2018). Phosphate-solubilizing bacteria improve the phytoremediation efficiency of *Wedelia trilobata* for Cu-contaminated soil.

- International Journal of Phytoremediation*, 20(8), 813-822. <https://doi.org/10.1080/15226514.2018.1438351>
- Long, H., & Wasaki, J. (2023). Effects of phosphate-solubilizing bacteria on soil phosphorus fractions and supply to maize seedlings grown in lateritic red earths and cinnamon soils. *Microbes and Environments*, 38(2), ME22075. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME22075>
- Lu, Y., Yan, Y., Qin, J., Ou, L., Yang, X., Liu, F., & Xu, Y. (2023). Arbuscular mycorrhizal fungi enhance phosphate uptake and alter bacterial communities in maize rhizosphere soil. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1206870. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1206870>
- Luxmi, S., Singh, R., Ahmed, S., Gandhi, S.G., & Bhanwaria, R. (2023). *Glomus fasciculatum* an arbuscular mycorrhizal fungus alleviate the adverse effects of lead, arsenic, nickel, and improves growth parameters of *Monarda citriodora* Cerv.ex Lag (lemon beebalm). *Rhizosphere*, 27, 100753. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2023.100753>
- Monib, A. W., Alimyar, O., Mohammad, M. U., Akhundzada, M. S., & Niazi, P. (2023). Macronutrients for plants growth and humans health. *Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology*, 2(2), 268-279. <https://doi.org/10.55544/jrasb.2.2.38>
- Nafady, N. A., & Elgharably, A. (2018). Mycorrhizal symbiosis and phosphorus fertilization effects on *Zea mays* growth and heavy metals uptake. *International Journal of Phytoremediation*, 20(9), 869-875. <https://doi.org/10.1080/15226514.2018.1438358>
- Narwal, E., Annapurna, K., Choudhary, J., & Sangwan, S. (2018). Effect of arbuscular mycorrhizal fungal colonization on nutrient uptake in rice aerobic conditions. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(4), 1072-1093. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.704.118>
- Su, L. J., Zhang, J. H., Gomez, H., Murugan, R., Hong, X., Xu, D., Jiang, F., & Peng, Z. Y. (2019). Reactive oxygen species-induced lipid peroxidation in apoptosis, autophagy, and ferroptosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 1-13. <https://doi.org/10.1155/2019/5080843>
- Sujkowska-Rybkowska, M., Lisek, A., Sumorok, B., Derkowska, E., Szymańska, M., & Sas-Paszt, L. (2023). Arbuscular mycorrhizal fungi as an important factor enabling the adaptation of *Anthyllis vulneraria* L. to Zn-Pb-polluted tailings. *Plants*, 12(11), 2092. <https://doi.org/10.3390/plants12112092>
- Sun, H., Xie, Y., Zheng, Y., Lin, Y., & Yang, F. (2018). The enhancement by arbuscular mycorrhizal fungi of the Cd remediation ability and bioenergy quality-related factors of five switchgrass cultivars in Cd-contaminated soil. *Peer J*, 6, e4425. <https://doi.org/10.7717/peerj.4425>
- Tan, Q., Guo, Q., Wei, R., Zhu, G., Du, C., & Hu, H. (2023). Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on bioaccumulation and bioavailability of As and Cd: A meta-analysis. *Environmental Pollution*, 31(1), 120619. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120619>
- Timofeeva, A., Galyamova, M., & Sedykh, S. (2022). Prospects for using phosphate-solubilizing microorganisms as natural fertilizers in agriculture. *Plants*, 11(16), 2119. <https://doi.org/10.3390/plants11162119>
- Wahab, A., Muhammad, M., Munir, A., Abdi, G., Zaman, W., Ayaz, A., Khizar, C., & Reddy, S. P. (2023). Role of arbuscular mycorrhizal fungi in regulating growth, enhancing productivity, and potentially influencing ecosystems under abiotic and biotic stresses. *Plants*, 12(17), 3102. <https://doi.org/10.3390/plants12173102>
- Wang, M., Wang, Z., Guo, M., Qu, L., & Biere, A. (2023). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth and herbivore infestation depend on availability of soil water and nutrients. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1101932. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1101932>
- Wu, F., Li, J., Chen, Y., Zhang, L., Zhang, Y., Wang, S., Shi, X., Li, L., & Liang, J. (2019). Effects of phosphate solubilizing bacteria on the growth, photosynthesis, and nutrient uptake of *Camellia oleifera* Abel. *Forests*, 10(4), 348. <https://doi.org/10.3390/f10040348>
- Yang, J., Zang, C., Liu, Y., Ma, Y., Wu, X., Cai, J., & Wu, F. (2023a). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on uptake, translocation and accumulation of Zn in winter wheat during whole plant growth stages. *Pedosphere*, <https://doi.org/10.1016/j.pedsph.2023.07.021>
- Yang, X., Shen, K., Xia, T., He, Y., Guo, Y., Wu, B., Han, X., Yan, J., & Jiao, M. (2023b). Invasive and native plants differentially respond to exogenous phosphorus addition in root growth and nutrition regulated by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plants*, 12(11), 2195. <https://doi.org/10.3390/plants12112195>
- Yang, P., Zhou, X. F., Wang, L., Li, Q., Zhou, T., Chen, Y., Zhao, Z., & He, B. (2018). Effect of phosphate-solubilizing bacteria on the mobility of insoluble cadmium and metabolic analysis. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(7), 1330. <https://doi.org/10.3390/ijerph15071330>
- You, Y., Wang, L., Ju, C., Wang, G., Ma, F., Wang, Y., & Yang, D. (2021). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth and toxic element uptake of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud under zinc/cadmium stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 213, 112023. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112023>
- You, Y., Ju, C., Wang, L., Wang, X., Ma, F., Wang, G., & Wang, Y. (2022). The mechanism of arbuscular mycorrhizal enhancing cadmium uptake in *Phragmites australis* depends on the phosphorus concentration. *Journal of Hazardous Materials*, 440, 129800. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129800>
- Yu, Z., Zhao, X., Liang, X., Li, Z., Wang, L., He, Y., & Zhan, F. (2022). Arbuscular mycorrhizal fungi reduce cadmium leaching from sand columns by reducing availability and enhancing uptake by maize roots. *Journal of Fungi*, 8(8), 866. <https://doi.org/10.3390/jof8080866>

- Yuan, J., Xin, Z., Xinyu, C., Gongting, W., Yali, G., Xiaonan, J., Wei, H., & Min, L. (2022). Effects and mechanisms of phosphate solubilizing bacteria on enhancing phytoextraction of lead from contaminated soil by *Celosia cristata* L. *Journal of Cleaner Production*, 380(1), 135013. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.135013>
- Zaheer, A., Malik, A., Sher, A., Qaisrani, M. M., Mehmood, A., Khan, S. U., Ashraf, M., Mirza, Z., Karim, S., & Rasool, M. (2019). Isolation, characterization, and effect of phosphate-zinc-solubilizing bacterial strains on chickpea (*Cicer arietinum* L.) growth. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(5), 1061-1067. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.04.004>
- Zhang, L., Zhou, J., George, T. S., Limpens, E., & Feng, G. (2022). Arbuscular mycorrhizal fungi conducting the hyphosphere bacterial orchestra. *Trends in Plant Science*, 27(4), 402-411. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.10.008>
- Zhao, L., Yang, T., Zhou, J., & Peng, X. (2023). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on *Robinia pseudoacacia* L. growing on soils contaminated with heavy metals. *Journal of Fungi*, 9(6), 684. <https://doi.org/10.3390/jof9060684>
- Zhao, Y., Zhang, C., Wang, C., Huang, Y., & Liu, Z. (2020). Increasing phosphate inhibits cadmium uptake in plants and promotes synthesis of amino acids in grains of rice. *Environmental Pollution*, 257, 113496. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113496>
- Zhi, Y., Zhou, Q., Leng, X., & Zhao, C. (2020). Mechanism of remediation of cadmium-contaminated soil with low-energy plant snapdragon. *Frontiers in Chemistry*, 8, 222. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00222>