

## Influencia de micorrizas arbusculares en el crecimiento y cambios fisiológicos de la albahaca dulce bajo invernadero\*

### Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth and physiological changes of sweet basil under greenhouse

Ramón Zulueta-Rodríguez<sup>1</sup>, Sergio D. Valerio-Landa<sup>2</sup>, Bernardo Murillo-Amador<sup>2</sup>, Liliana Lara-Capistrán<sup>1</sup>, Juan J. Reyes-Pérez<sup>3</sup> y Luis G. Hernández-Montiel<sup>2</sup>§

<sup>1</sup>Universidad Veracruzana- Campus Xalapa. Circuito Universitario Gonzalo Aguirre Beltrán s/n, Xalapa, Veracruz 91090, México. (rzulueta36@hotmail.com, llaracapistran@gmail.com). <sup>2</sup>Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. Instituto Politécnico Nacional No. 195, Col. Playa Palo de Santa Rita Sur, La Paz, Baja California Sur. C. P. 23096. (sergiodavidvale@gmail.com, bmurillo04@cibnor.mx). <sup>3</sup>Universidad Técnica de Cotopaxi. Av. Simón Rodríguez s/n, Barrio El Ejido Sector San Felipe, La Maná, Ecuador. <sup>4</sup>Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Campus Ingeniero Manuel Agustín Haz Álvarez, Av. Quito km 1 1/2 vía a Santo Domingo de los Tsáchilas, Quevedo. Los Ríos, Ecuador (jjreyesp1981@gmail.com). §Autor para correspondencia: lhernandez@cibnor.mx.

### Resumen

La albahaca es una planta aromática que forma asociaciones simbióticas con hongos micorrícticos arbusculares (AMF). La mayoría de los estudios que evalúan el desarrollo morfométricos y la fisiología de las plantas utilizan una sola especie de especies de AMF o uso de especies de colecciones. Sin embargo, varios estudios han demostrado que los consorcios AMF autóctonos son más eficientes en el cultivo de plantas de AMF no autóctono. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de diferentes consorcios AMF sobre el crecimiento y la fisiología de cv albahaca dulce. Nufar. Las plantas se inocularon con dos consorcio AMF autóctono llamada Orecib01 y Salcib01 y un consorcio comercial llamado Rizofermic. Se les mantuvo durante 120 días y al final del experimento se observó un aumento en el crecimiento de las plantas inoculadas con el consorcio autóctono Orecib01. Las variables de altura de la planta, área foliar, peso seco, peso en seco de la hoja y el peso seco de la raíz mejorado en comparación con los inoculados con el consorcio Rizofermic comercial, que sólo influyó en cierto número limitado de variables fisiológicas (asimilación de CO<sub>2</sub>, conductancia estomática, tasa de transpiración y el índice de verdor).

### Abstract

Sweet basil is an aromatic plant that forms symbiotic associations with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). Most studies evaluating morphometric development and the physiology of plants use a single species of indigenous AMF or use species from collections. However, several studies have shown that indigenous AMF consortiums are more efficient in growing plants than non-indigenous AMF. The objective of this study was to determine the effect of different AMF consortium on the growth and physiology of sweet basil cv. Nufar. The plants were inoculated with two indigenous AMF consortium called Orecib01 and SALCIB01 and a commercial consortium called Rizofermic. They were kept for 120 days and at the end of the experiment an increase was observed in the growth of plants inoculated with indigenous Orecib01 consortium. Variables of plant height, leaf area, stem dry weight, leaf dry weight and root dry weight improved compared to those inoculated with commercial Rizofermic consortium, which only influenced certain limited number of physiological variables (CO<sub>2</sub> assimilation, stomatal conductance, transpiration rate and greenness index).

\* Recibido: marzo de 2016  
Aceptado: junio de 2016

Los resultados muestran un efecto positivo del consorcio AMF autóctono en el crecimiento y los parámetros fisiológicos de albahaca dulce cv. Nufar.

**Palabras clave:** albahaca dulce, consorcio autóctono AMF, cambios fisiológicos, crecimiento de las plantas, hongos micorrícos arbusculares (AMF).

## Introducción

La demanda de plantas aromáticas de todo el mundo es cada vez mayor, ya que son cultivos de alto rendimiento económico y tienen gran importancia en términos de alimentos, cosmética y farmacéutica (Juárez-Rosete *et al.*, 2013). La albahaca (*Ocimum basilicum*) es una planta aromática de la familia Lamiaceae que tiene más de 150 variedades reconocidas en Asia, África y América del Sur (Makri and Kintzios, 2008; Tarchoune *et al.*, 2013). En México, en las regiones áridas y semiáridas se cultivan y se usan para la alimentación, la medicina tradicional, principalmente (Mejía y Rengifo, 2000; Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2014), la fabricación de cosméticos y condimentos (Carvalho-Filho *et al.*, 2006). Muchas especies de la familia Lamiaceae, incluyendo la albahaca dulce establecer hongos micorrícos arbusculares simbiosis (AMF).

El AMF son microorganismos capaces de promover el crecimiento de las plantas de muchos cultivos. Estos hongos pertenecen al orden de Glomeromycota y se clasifican como simbiontes obligados (Redecker *et al.*, 2013). Estos forman junto con las raíces de las plantas una simbiosis llamada micorrizas arbusculares que es uno de los ejemplos de algunos de la endosimbiosis más antigua en el registro (400 millones de años) (Parniske, 2008). Por otra parte, se considera el tipo más importante de la simbiosis debido a su distribución geográfica y variedad filogenético en el reino vegetal (Gutjahr y Parniske, 2013).

El AMF promueve el crecimiento de las plantas en las regiones áridas y semiáridas mediante el aumento de agua y el suministro de nutrientes, especialmente nitrógeno y fósforo del suelo a la planta (Aroca y Ruiz-Lozano, 2009; Baum *et al.*, 2015). El AMF también proporcionan protección a las plantas frente a patógenos (Jung *et al.*, 2012; Olawuyi *et al.*, 2014) y puede inducir cambios en la fisiología de las plantas (Talaat y Shawky, 2012; Armada *et al.*, 2015). Estudios recientes han reportado el efecto

The results show a positive effect of indigenous AMF consortium on growth and physiological parameters of sweet basil cv. Nufar.

**Keywords:** arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), indigenous consortium AMF, plant growth, physiological changes, sweet basil.

## Introduction

The demand for aromatic plants around the world is increasing because they are crops with high economic return and have great importance in terms of food, cosmetics and pharmaceutical industries (Juárez-Rosete *et al.*, 2013). Sweet basil (*Ocimum basilicum*) is an aromatic plant of the Lamiaceae family that has more than 150 recognized varieties in Asia, Africa and South America (Makri and Kintzios, 2008; Tarchoune *et al.*, 2013). In Mexico, in arid and semi-arid regions they are mainly cultivated and used for food, traditional medicine (Mejía and Rengifo, 2000; Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2014), manufacture of cosmetics and condiments (Carvalho-Filho *et al.*, 2006). Many species of the Lamiaceae family, including sweet basil establish arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) symbiosis.

AMF are microorganisms capable of promoting plant growth of many crops. These fungi belong to the order of Glomeromycota and are classified as obligate symbionts (Redecker *et al.*, 2013). They form together with the roots of plants a symbiosis called arbuscular mycorrhizae which is one of the examples of some the older endosymbiosis on record (400 million years) (Parniske, 2008). Furthermore, it is considered the most important type of symbiosis because of their geographical distribution and phylogenetic variety in the plant kingdom (Gutjahr and Parniske, 2013).

AMF promote plant growth in arid and semi-arid regions by increasing water and nutrient supply, particularly nitrogen and phosphorus from the soil to the plant (Aroca and Ruiz-Lozano, 2009; Baum *et al.*, 2015). AMF also provide protection to plant against pathogens (Jung *et al.*, 2012; Olawuyi *et al.*, 2014) and can induce changes in plant physiology (Talaat and Shawky, 2012; Armada *et al.*, 2015). Recent studies have reported the positive effect of AMF on sweet basil plants, particularly in their growth, physiology, content and quality of essential oils and mitigation of environmental stress conditions (Scagel and Lee, 2012; Zolfaghari *et al.*, 2013; Aslani *et al.*, 2014).

positivo de la AMF en las plantas de albahaca dulce, sobre todo en su crecimiento, la fisiología, el contenido y la calidad de los aceites esenciales y la mitigación de las condiciones de estrés ambiental (Scagel y Lee, 2012; Zolfaghari *et al.*, 2013; Aslani *et al.*, 2014).

La mayoría de los estudios evalúan la inoculación de plantas con una sola especie de especies de AMF o uso autóctono de las colecciones. Sin embargo, varios estudios han demostrado que los consorcios AMF autóctonos son más eficientes en el cultivo de plantas de AMF no autóctono (Enkhtuya *et al.*, 2000; Estrada *et al.*, 2012). La aplicación de consorcio AMF autóctonos son beneficiosos porque son especies adaptadas a las condiciones climáticas locales, el suelo y el área de estudio (Rowe *et al.*, 2007; Symanczik *et al.*, 2015).

La selección de la AMF más eficiente es un requisito clave en los programas de fertilización biológica, por lo que es importante conocer las diferencias en los niveles de compatibilidad entre el anfitrión y el consorcio AMF autóctono (Smith and Read, 1997; Engelmoer y Kiers, 2015). Hasta el momento, se sabe poco sobre el papel del consorcio AMF autóctonos aislados en regiones semiáridas con plantas de albahaca dulce. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto de diferentes consorcios AMF sobre el crecimiento y la fisiología de las plantas de albahaca dulce cv. Nufar.

## Materiales y métodos

### Área de estudio

El experimento se realizó en un invernadero del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) ( $24^{\circ}08'32''$  N,  $110^{\circ}18'39''$  O) en La Paz, Baja California Sur, México

### Materiales biológicos

El consorcio AMF autóctono llamada ORECIB01 y SALCIB01 fueron proporcionados por el Laboratorio de Fitopatología del CIBNOR. Ambos consorcios AMF fueron aisladas de plantas aromáticas establecidos en la región semi-árida en BCS, México (Valerio-Landa, 2014). Se utilizó un consorcio AMF Rizofermic como referencia y fue proporcionado por la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Veracruzana, Campus Xalapa. Este AMF comercial consistió en *Acaulospora morrowiae*, *A. scrobiculata*, *A. spinosa*, *Claroideoglomus etunicatum*, *Funneliformis mosseae*, *F. geosporus*, *Gigaspora rosea*, *G. decipiens*, *Glomus aggregatum*, *G. macrocarpum*,

Most studies evaluate the inoculation of plants with a single species of indigenous AMF or use species from collections. However, several studies have shown that indigenous AMF consortiums are more efficient in growing plants than non-indigenous AMF (Enkhtuya *et al.*, 2000; Estrada *et al.*, 2012). The application of indigenous AMF consortium are beneficial because they are species that are adapted to local climatic conditions, soil and the study area (Rowe *et al.*, 2007; Symanczik *et al.*, 2015).

The selection of the most efficient AMF is a key requirement in programs of biological fertilization, so it is important to know the differences in levels of compatibility between host and indigenous AMF consortium (Smith and Read, 1997; Engelmoer and Kiers, 2015). So far, little is known about the role of indigenous AMF consortium isolated in semiarid regions with sweet basil plants. Therefore, the objective of this study was to determine the effect of different AMF consortium on the growth and physiology of sweet basil plants cv. Nufar.

## Materials and methods

### Study area

The experiment was conducted under a greenhouse of the Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) ( $24^{\circ}08'32''$  N,  $110^{\circ}18'39''$  W) in La Paz, Baja California Sur, Mexico.

### Biological materials

Indigenous AMF consortium called ORECIB01 and SALCIB01 were provided by the Laboratorio de Fitopatología of CIBNOR. Both indigenous AMF consortiums were isolated from aromatic plants established on the semi-arid region in Baja California Sur, Mexico (Valerio-Landa, 2014). A commercial AMF consortium called Rizofermic was used as reference and was provided by the Facultad de Ciencias Agrícolas of the Universidad Veracruzana, Xalapa Campus. This commercial AMF consisted of *Acaulospora morrowiae*, *A. scrobiculata*, *A. spinosa*, *Claroideoglomus etunicatum*, *Funneliformis mosseae*, *F. geosporus*, *Gigaspora rosea*, *G. decipiens*, *Glomus aggregatum*, *G. macrocarpum*,

*rosea*, *G. decipiens*, *Glomus aggregatum*, *G. macrocarpum*, *G. intraradices* y *Scutellospora pellucida*. Las semillas de albahaca dulce cv Nufar fueron proporcionadas por el Laboratorio de Fisiología Vegetal del CIBNOR. Cada planta de albahaca dulce se inoculó con 10 g de consorcio AMF que contenía 168 esporas de ORECIB01, 186 esporas de SALCIB01 y 119 esporas de Rizofermic.

### Producción de plántulas

Bandejas con 200 cavidades se llenaron de sustrato Sunshine®, previamente esterilizado en un autoclave (Sanyo, MLS-3751L) durante 15 min a 120 °C (14 a 15 lb/in<sup>2</sup> presión de vapor). En cada cavidad una semilla que fue previamente desinfectada con una solución de 2% NaClO por 5 min. Una vez 20 días se alcanzó después de la siembra, las plántulas presentaron su segundo par de hojas se trasplantaron en macetas de 2 L que contienen 1.8 kg de una mezcla de sustrato de suelo y comercial (Garden's®) en 2:1 (v/v), que fue tratado en autoclave previamente en las condiciones descritas anteriormente. El contenido mineral del sustrato antes del experimento fue de 16.9 mg kg<sup>-1</sup> de nitrógeno (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) y 3.1 mg kg<sup>-1</sup> de fósforo (P).

### Inoculación AMF y condiciones de crecimiento de la planta

En el momento de trasplante de cada plántula albahaca dulce se inoculó con cada consorcio AMF. El tratamiento de control (-) era plántulas sin consorcio AMF. Las plantas de albahaca dulce se regaron con agua destilada esterilizada cada tercer día. Todas las macetas se colocaron al azar en un invernadero a 28 ± 4 °C. A los 120 días, la altura de la planta (cm), área foliar (cm<sup>2</sup>), frescos y de biomasa seca (g), la asimilación de CO<sub>2</sub> (μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), la conductancia estomática (μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), la tasa de transpiración (μmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), el potencial hídrico foliar (-MPA), índice de verdor (SPAD), clorofila a, b (mg cm<sup>-2</sup>) y totales (mg mL<sup>-1</sup>). Cada tratamiento contenía catorce repeticiones y todo el experimento se repitió dos veces.

### Micorrización

Al final del experimento, se evaluó el número de esporas y el porcentaje de colonización de micorrizas en cada planta. Utilizando el método de gradiente de sacarosa propuesto por INVAM (2014) se determinó el número de esporas/g de suelo. Posteriormente, el porcentaje de colonización de micorrizas se determinó siguiendo el método de intersección de la cuadrícula de línea descrita por Giovannetti y Mosse (1980).

*G. intraradices* and *Scutellospora pellucida*. The sweet basil cv. Nufar seeds were provided by the Laboratorio de Fisiología Vegetal of CIBNOR. Each plant of sweet basil was inoculated with 10 g of AMF consortium that contained 168 spores of ORECIB01, 186 spores of SALCIB01 and 119 spores of Rizofermic.

### Seedling production

Strays with 200 cavities were filled with Sunshine® substrate, previously sterilized in an autoclave (Sanyo, MLS-3751L) for 15 min at 120 °C (14 to 15 lb/in<sup>2</sup> steam pressure). In each cavity a seed that was previously disinfected with a solution of 2% NaClO for 5 min was deposited. Once 20 days was reached after planting, seedlings presented their second pair of leaves were transplanted into 2 L pots containing 1.8 kg of a mixture of soil and commercial substrate (Garden's®) in 2:1 (v/v), which was previously autoclaved under the conditions described above. The mineral content of the substrate before the experiment was 16.9 mg kg<sup>-1</sup> of nitrogen (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) and 3.1 mg kg<sup>-1</sup> of phosphorus (P).

### AMF inoculation and plant growth conditions

At the time of transplant each sweet basil seedling was inoculated with each AMF consortium. The treatment control (-) was seedlings without AMF consortium. The sweet basil plants were irrigated with sterilized distilled water every third day. All the pots were randomly placed in a greenhouse at 28 ± 4 °C. At 120 days, the plant height (cm), leaf area (cm<sup>2</sup>), fresh and dry biomass (g), CO<sub>2</sub> assimilation (μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), stomatal conductance (μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), transpiration rate (μmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), leaf water potential (-MPA), greenness index (SPAD), chlorophyll a, b (mg cm<sup>-2</sup>) and total (mg mL<sup>-1</sup>) was evaluated. Each treatment contained fourteen replicates and the entire experiment was repeated twice.

### Mycorrhizal colonization

At the end of the experiment, the number of spore and percentage of mycorrhizal colonization in each sweet basil plant was evaluated. Using the sucrose gradient method proposed by INVAM (2014) was determined the number of spore/g soil. Subsequently, the percentage of mycorrhizal colonization was determined following the grid-line intersection method described by Giovannetti and Mosse (1980).

## Características químicas del sustrato

Para cada tratamiento al final del experimento se determinó el contenido de nitrógeno en forma de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) y fósforo solubles, ambos elementos se expresaron en mg kg (Jackson, 1976). Las muestras se procesaron en el Laboratorio de Edafología del CIBNOR. Se realizó un total de tres repeticiones para cada tratamiento y todo el experimento se repitió dos veces.

## Identificación morfológica de las especies presentes en el consorcio AMF autóctono

Para la identificación de cada tipo morfoAMF de los grupos ORECIB01 y SALCIB01 de esporas fueron separados de acuerdo a sus (características es decir, tamaño, color y la pared de esporas) característicos similares y se observaron bajo un microscopio compuesto e identificados de acuerdo a claves taxonómicas propuestas por Schenck y Pérez (1990) y la base de datos de INVAM (<http://invam.caf.wvu.edu>).

## Identificación molecular de especies de AMF

Para la extracción de ADN, cada uno de esporas de AMF se depositó en un tubo de PCR que contiene Milli-Q H<sub>2</sub>O ultrapura esterilizada, macerar con manos de mortero estériles desechables de pellets y la muestra se almacenó a -20 °C. ensayo de PCR se realizó usando cebadores AML1 (5'-AACTT CGATGGTAGGATAGA-3') y AML2 (5'-CCAAACACTTGGTTCC-3') tal como se propone por Lee *et al.* (2008). Cada reacción de PCR contenía 2.5 μL PCR de buffer, 0.75 μL de cloruro de magnesio, 0.5 μL de BSA (0.2 mg mL<sup>-1</sup>), 0.2 μL Taq P. (1U), 2.5 μL de cada cebador (1 μM) y 5 μL de la muestra de ADN .

Las condiciones del termociclador (Bio-Rad) fueron; una etapa inicial de 3 min a 94 °C, seguido de 30 ciclos de 1 min a 94 °C, 1 min de hibridación a 50 °C y 1 min de extensión a 72 °C, seguido de un período de extensión final de 10 min a 72 °C. Posteriormente, los productos de PCR se depositan sobre un gel de agarosa al 2% y se tiñeron con Gel Red™. Los productos de PCR fueron enviados a la secuenciación de la compañía GENEWIZ (Nueva Jersey, EE.UU.). El estudio *in silico* usando el MEGA (versión 6.06) de software se realizó para determinar las homologías entre las secuencias en una alineación MultAlin. Las secuencias obtenidas se analizaron usando el sistema básico Alignment Herramienta de búsqueda local (BLAST) y se compararon con la base de datos GenBank del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI).

## Chemical characterization of the substrate

For each treatment at the end of the experiment the nitrogen content was determined in the form of ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) and soluble phosphorus, both elements were expressed in mg kg (Jackson, 1976). The samples were processed in the Laboratorio de Edafología of the CIBNOR. A total of three replicates were performed for each treatment and the entire experiment was repeated twice.

## Morphological identification of species present in indigenous AMF consortium

For identification of each AMF morpho-type from ORECIB01 and SALCIB01 groups of spores were separated according to their similar characteristic (i.e., size, color and spore wall characteristics) and they were observed under a compound microscope and identified according at taxonomic keys proposed by Schenck and Pérez (1990) and the database of INVAM (<http://invam.caf.wvu.edu>).

## Molecular identification of AMF species

For DNA extraction, each spore of AMF was deposited into a PCR tube containing Milli-Q ultrapure H<sub>2</sub>O sterilized, macerate with a sterile disposable pellet pestles and the sample was stored at -20 °C. PCR assay was performed using primers AML1 (5'-AACTT CGATGGTAGGATAGA-3') and AML2 (5'-CCA AACACTTGGTTCC-3') as proposed by Lee *et al.* (2008). Each PCR reaction contained 2.5 μLPCR buffer, 0.75 μLmagnesium chloride, 0.5 μLBSA (0.2 mg mL<sup>-1</sup>), 0.2 μL Taq P. (1U), 2.5 μL of each primer (1 μM) and 5 μL of the DNA sample.

Thermocycler conditions (Bio-Rad) were; an initial step of 3 min at 94 °C, followed by 30 cycles of 1 min at 94 °C, 1 min annealing at 50 °C and 1 min extension at 72 °C, followed by a final extension period to 10 min at 72 °C. Subsequently the PCR products were deposited on a 2% agarose gel and stained with Gel Red™. The PCR products were sent for sequencing to the company GENEWIZ (NJ, USA). The *in silico* study using the MEGA (version 6.06) software was performed to determine the homologies between the sequences in an alignment MultAlin. The sequences obtained were analyzed using Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) system and were compared with the GenBank database of the National Center for Biotechnology Information (NCBI).

## Análisis de los datos

Se utilizó Todos los datos se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) y la mínima diferencia significativa de Fisher LSD(0.05) el software Statistica™ (versión 8.0.360.0 StatSoft Inc., Tulsa, EE.UU.) para Windows.

## Resultados

### Efecto del consorcio AMF sobre el crecimiento de la albahaca dulce

La altura, área foliar, biomasa fresca y seca de las plantas se incrementaron en un consorcio AMF. Las plantas con consorcio autóctono ORECIB01 fueron significativamente más alta que la albahaca dulce inoculado con otros consorcios de AMF. En comparación con las plantas inoculadas con el consorcio comercial Rizofermic, altura de la planta, área foliar, peso seco de tallo, de la hoja y de las raíces aumentó en un 26, 32, 13, 28 y 36%, respectivamente, y en comparación con el control de las plantas (-, sin AMF) estas variables aumentó 58, 64, 43, 64 y 132%, respectivamente (Tabla 1).

**Cuadro 1. Efecto de la AMF en el crecimiento de albahaca dulce cv. Nufar.**

**Table 1. Effect of AMF on the growth of sweet basil cv. Nufar.**

Consorcio AMF	Altura de la planta (cm)	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	Peso seco del tallo (g)	Peso seco de la hoja (g)	Peso seco de raíz (g)
ORECIB01	49.7 a	1 752.2 a	5.21 a	5.88 a	3.51 a
SALCIB01	37.4 b	1 429.9 b	4.94 ab	5.72 a	2.54 b
Rizofermic	39.4 b	1 319.1 b	4.58 b	4.56 b	2.58 b
Control (-)	31.4 c	1 064.2 c	3.62 c	3.58 c	1.51 c

Columnas con diferentes letras fueron significativamente diferente por la prueba de rango multiple con LSD ( $p \leq 0.05$ ). Testigo (-)= sin AMF a las plantas.

### Efecto del consorcio AMF sobre la fisiología de la albahaca dulce

La asimilación de CO<sub>2</sub>, conductancia estomática, tasa de transpiración y el índice de verdor de la albahaca dulce se incrementaron en un consorcio AMF. Las plantas inoculadas con el consorcio Rizofermic comercial mostraron valores más altos en comparación tanto con consorcio autóctono AMF y control (-, sin AMF) (Cuadro 2). No hubo diferencias entre los tratamientos con y sin consorcio AMF para el potencial de agua variables de la hoja (-MPa), clorofila a, b (mg cm<sup>-2</sup>) y total (mg mL<sup>-1</sup>).

## Data analysis

All the data were examined by analysis of variance (Anova) test and the least significant difference LSD Fisher (0.05) Statistica™ software (version 8.0.360.0 StatSoft Inc., Tulsa, USA) for Windows was used.

## Results

### Effect of AMF consortium on the growth of sweet basil

Plant height, leaf area and fresh and dry biomass of sweet basil plants were increased by AMF consortium. The plants with indigenous ORECIB01 consortium treatment were significantly higher than that of sweet basil inoculated with others AMF consortium. Compared with plants inoculated with commercial Rizofermic consortium, plant height, leaf area, stem dry weight, leaf dry weight and root dry weight increased by 26, 32, 13, 28 and 36%, respectively, and compared with plants control (-, without AMF) these variables increased 58, 64, 43, 64 and 132%, respectively (Table 1).

**Cuadro 1. Efecto de la AMF en el crecimiento de albahaca dulce cv. Nufar.**

**Table 1. Effect of AMF on the growth of sweet basil cv. Nufar.**

### Effect of AMF consortium on the physiology of sweet basil

CO<sub>2</sub> assimilation, stomatal conductance, transpiration rate and greenness index of sweet basil were increased by AMF consortium. The plants inoculated with commercial Rizofermic consortium showed highest values compared with both indigenous AMF consortium and control (-, without AMF) (Table 2). There were no differences between treatments with and without AMF consortium for the variables leaf water potential (-MPa), chlorophyll a, b (mg cm<sup>-2</sup>) and total (mg mL<sup>-1</sup>).

**Cuadro 2. Efecto de la AMF sobre la fisiología de albahaca dulce cv. Nufar.****Table 2. Effect of AMF on the physiology of sweet basil cv. Nufar.**

Consorcio AMF	Asimilación CO <sub>2</sub>	Conductancia estomática	Tasa de transpiración	Índice verdor
ORECIB01	4.02 ab	0.041 b	2.18 ab	29.68 ab
SALCIB01	4.33 ab	0.058 a	1.94 b	29.28 ab
Rizofermic	4.87 a	0.062 a	2.72 a	31.52 a
Control (-)	2.68 b	0.038 b	1.82 b	28.91 b

Columnas con diferentes letras fueron significativamente diferente por la prueba de rango multiple con LSD ( $p \leq 0.05$ ). Testigo (-)= sin AMF a las plantas; asimilación de CO<sub>2</sub>=  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ; conductancia estomática=  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ; Tasa de transpiración=  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ; índice verdor= unidades SPAD.

**Colonización de micorrizas arbusculares**

Las plantas micorrizadas con los consorcios autóctonos ORECIB01 y SALCIB01 mostraron el mayor número de esporas y el porcentaje de colonización (Tabla 3). Se observaron valores más bajos en las plantas inoculadas con el consorcio Rizofermic comercial y el control (-).

**Cuadro 3. Colonización de micorrizas de albahaca dulce. cv. Nufar.****Table 3. Mycorrhizal colonization of sweet basil cv. Nufar.**

Consorcio AMF	Esporas g <sup>-1</sup> de suelo	Colonización AMF (%)
ORECIB01	47 a	87 a
SALCIB01	63 a	75 a
Rizofermic	22 b	31 b
Control (-)	0.5 c	4 c

Columnas con diferentes letras fueron significativamente diferente por la prueba de rango multiple con LSD ( $p \leq 0.05$ ). ORECIB01 Y SALCIB01 fueron consorcios autoctonos de AMF aislados de plantas aromáticas establecidas en Baja California Sur, México.

**Contenido final de nitrógeno y fósforo en el sustrato**

El contenido de nitrógeno en el sustrato en el final del experimento fue menor en las plantas inoculadas con el consorcio AMF en comparación con el control sin tratamiento (-). En el sustrato donde micorrizas albahaca dulce y el control de las plantas (-) crecieron no hubo diferencia en el contenido de fósforo (Tabla 4).

**Identificación morfológica de las especies de AMF autóctonos**

Sobre la base de la morfología de las diferentes especies de consorcio autóctono ORECIB01 fue identificado como *Glomus* sp., *Claroideoglomus* sp., *Funneliformis* sp. y

**Arbuscular mycorrhizal colonization**

Mycorrhizal plants with indigenous ORECIB01 and SALCIB01 consortium showed the highest number of spores and percentage of colonization (Table 3). Lower values were observed in plants inoculated with commercial Rizofermic consortium and control (-).

**Final content of nitrogen and phosphorus in the substrate**

Nitrogen content in the substrate at the end of the experiment was lower in the plants inoculated with AMF consortium compared with the treatment control (-). In the substrate where mycorrhizal sweet basil and the plants control (-) grew there was no difference in the content of phosphorus (Table 4).

**Cuadro 4. La eliminación de nitrógeno y fósforo del sustrato por plantas inoculadas con el consorcio AMF.****Table 4. Removal of nitrogen and phosphorus from the substrate by plants inoculated with AMF consortium.**

Consorcio AMF	Nitrógeno NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Fósforo soluble
ORECIB01	6.52 b	2.35 a
SALCIB01	7.69 b	2.25 a
Rizofermic	6.48 b	2.33 a
Control (-)	10.78 a	1.96 a

Columnas con diferentes letras fueron significativamente diferente por la prueba de rango multiple con LSD ( $p \leq 0.05$ ). testigo (-): sin AMF a las plantas; nitrógeno NH<sub>4</sub><sup>+</sup>= mg kg<sup>-1</sup>; fósforo soluble= mg kg<sup>-1</sup>.

**Morphological identification of the indigenous AMF species**

Based on the morphology of the different species from indigenous ORECIB01 consortium was identified as *Glomus* sp., *Claroideoglomus* sp., *Funneliformis* sp. and *Gigaspora*

*Gigaspora* sp. Para las especies de consorcio SALCIB01 autóctono fue identificado como *Funneliformis* sp., *Claroideoglomus* sp., *Acaulospora* sp., *Gigaspora* sp. y *Glomus* sp.

### Identificación molecular de especies de AMF autóctonos

De acuerdo con la comparación de las secuencias de nucleótidos con la base de datos GenBank se determinaron las siguientes especies de consorcio autóctono ORECIB01 *Glomus clarum* (accesión GQ205083), *Claroideoglomus etunicatum* (accesión AJ852598.1), *Funneliformis mosseae* (accesión NG\_017178.1) y a nivel de género *Gigaspora* sp. (accesión FM876802.1). Para el consorcio autóctono SALCIB01 se identificaron las siguientes especies *F. mosseae* (accesión NG\_017178.1), *C. etunicatum* (accesión AJ852598.1), *Acaulospora morrowiae* (accesión AJ242500.1) y a nivel de género *Gigaspora* sp. (Accesión FM876802.1) y *Glomus* sp (Tabla 5).

sp. For species from indigenous SALCIB01 consortium was identified as *Funneliformis* sp., *Claroideoglomus* sp., *Acaulospora* sp., *Gigaspora* sp. and *Glomus* sp.

### Molecular identification of the indigenous AMF species

According to the comparison of the nucleotide sequences with the GenBank database the following species from indigenous ORECIB01 consortium were determined *Glomus clarum* (accesión GQ205083), *Claroideoglomus etunicatum* (accesión AJ852598.1), *Funneliformis mosseae* (accesión NG\_017178.1) and at the genus level *Gigaspora* sp. (accesión FM876802.1). For the indigenous SALCIB01 consortium the following species were identified *F. mosseae* (accesión NG\_017178.1), *C. etunicatum* (accesión AJ852598.1), *Acaulospora morrowiae* (accesión AJ242500.1) and at the genus level *Gigaspora* sp. (Accession FM876802.1) and *Glomus* sp. (accesión AF480161.1) (Table 5)

**Cuadro 5. Identificación morfológica y molecular de las especies presentes en el consorcio autóctono ORECIB01 y SALCIB01.**

**Table 5. Morphological and molecular identification of species present in the indigenous ORECIB01 and SALCIB01 consortium.**

Consorcio autóctono AMF	AMF morpho-type	Identificación morfológica	Comparación a GenBak		
			Accesión	Similaridad (%)	Especies
ORECIB01	Morpho-type 1	<i>Glomus</i> sp.	GQ205083	100	<i>Glomus clarum</i>
	Morpho-type 2	<i>Claroideoglomus</i> sp.	AJ852598.1	99	<i>Claroideoglomus etunicatum</i>
	Morpho-type 3	<i>Funneliformis</i> sp.	NG_017178.1	99	<i>Funneliformis mosseae</i>
	Morpho-type 4	<i>Gigaspora</i> sp.	FM876802.1	94	<i>Gigaspora</i> sp.
SALCIB01	Morpho-type 1	<i>Funneliformis</i> sp.	NG_017178.1	99	<i>Funneliformis mosseae</i>
	Morpho-type 2	<i>Claroideoglomus</i> sp.	AJ852598.1	99	<i>Claroideoglomus etunicatum</i>
	Morpho-type 3	<i>Acaulospora</i> sp.	AJ242500.1	100	<i>Acaulospora morrowiae</i>
	Morpho-type 4	<i>Gigaspora</i> sp.	FM876802.1	95	<i>Gigaspora</i> sp.
	Morpho-type 5	<i>Glomus</i> sp.	AF480161.1	94	<i>Glomus</i> sp.

### Discusiones

El AMF son los microorganismos del suelo que se consideran esenciales para la supervivencia y el crecimiento de la mayoría de las plantas. Estudios recientes han informado de efectos positivos en el crecimiento propiedades promotoras de la albahaca dulce inoculadas con AMF, en particular sobre su

### Discussions

AMF are soil microorganisms considered essential for the survival and growth of most plants. Recent studies have reported positive effects on growth promoting properties of sweet basil inoculated with AMF, particularly on their growth, physiology, content and quality of essential oils

crecimiento, la fisiología, el contenido y la calidad de los aceites esenciales (Aslani *et al.*, 2014; Zhou *et al.*, 2015). Aunque la mayoría de los estudios se han centrado en el uso de especies de AMF de colecciones, el consorcio AMF autóctono aislado de suelos contaminados (Enkhtuya *et al.*, 2000) o semiáridas suelos (Caravaca *et al.*, 2003) son más eficientes en estimular el crecimiento de las plantas de especies de AMF no autóctonos (Querejeta *et al.*, 2006; Estrada *et al.*, 2012).

Oliveira *et al.* (2005) reportaron que la AMF especies autóctonas son fisiológicamente y genéticamente mejor adaptadas a las condiciones ambientales en los que se aislaron. Por lo tanto, la AMF autóctonas tienen más probabilidades de sobrevivir y propagarse una vez inoculado en plantas que las especies no autóctonas AMF (Requena *et al.*, 2001; Rowe *et al.*, 2007). Fundamos que la inoculación de ambos consorcio AMF autóctono aislado de la región semiárida fueron más eficientes en el crecimiento de la albahaca dulce que el consorcio Rizofermic comercial. El uso de ecotipos AMF autóctonos puede ser de mayor impacto en el crecimiento y la productividad de los cultivos que AMF no autóctono.

Por otra parte, se incrementaron las variables fisiológicas observadas en albahaca dulce inoculado con el consorcio AMF autóctono. Sheng *et al.* (2008) observó que bajo el estrés de las plantas asociadas a especies de AMF tener o mantener una mayor capacidad de intercambio de gases (tasa de fotosíntesis, conductancia estomática y la tasa de transpiración) en comparación con las plantas sin AMF. Este aumento en el intercambio de gases también puede ser debido a una mayor apertura y la disminución de los estomas, así como el aumento del flujo de transpiración (Zhu *et al.*, 2010).

En cuanto a la conductancia estomática, Ruiz-Lozano y Aroca (2010) mencionan que por lo general en las plantas de orden superior asociados con AMF, debido a un flujo inferior de ácido abscísico (ABA) en la savia del xilema provoca una reducción del flujo de ABA a las hojas de las plantas. También mencionaron que la reestructuración de la raíz en el suelo por el micelio radical extra de la AMF, permite que las plantas tienen mayor acceso a agua disponible. Se ha informado también de que las diferentes especies de AMF modulan diferencialmente la respuesta fisiológica de las plantas hospedantes especialmente bajo condiciones de estrés, se observó variación entre tratamientos para este experimento.

En el índice de verdor, Andrade *et al.* (2015) y Kim *et al.* (2010) indicaron que las plantas asociadas con la AMF generan un número de aumento cuando se mide con un dispositivo de

(Aslani *et al.*, 2014; Zhou *et al.*, 2015). Although the most studies have focused on the use of AMF species from collections, the indigenous AMF consortium isolated from contaminated soils (Enkhtuya *et al.*, 2000) or semiarid soils (Caravaca *et al.*, 2003) are more efficient on stimulating growth in plants than non-indigenous AMF species (Querejeta *et al.*, 2006; Estrada *et al.*, 2012).

Oliveira *et al.* (2005) reported that indigenous AMF species are physiologically and genetically better adapted to the environmental conditions where they were isolated. Thus, indigenous AMF are more likely to survive and spread once inoculated in plants than non-indigenous AMF species (Requena *et al.*, 2001; Rowe *et al.*, 2007). We founded that inoculation of both indigenous AMF consortium isolated from semi-arid region were more efficient in the growth of sweet basil than the commercial RIZOFERMIC consortium. The use of indigenous AMF ecotypes may be of greater impact on growth and productivity of crops than non-indigenous AMF.

On the other hand, the physiological variables observed in sweet basil inoculated with indigenous AMF consortium were increased. Sheng *et al.* (2008) observed that under stress the plants associated with AMF species have or maintain a greater capacity for gas exchange (photosynthetic rate, stomatal conductance and transpiration rate) compared to plants without AMF. This increase in gas exchange can also be due to greater openness and decreased stomata, as well as increased transpiration flow (Zhu *et al.*, 2010).

Regarding stomatal conductance, Ruiz-Lozano and Aroca (2010) mention that usually in higher order plants associated with AMF, due to a lower flow of abscisic acid (ABA) in the xylem sap causes a reduction of ABA flow to the leaves of plants. They also mentioned that restructuring of the root in the ground by the extra radical mycelium of the AMF, allows plants to have increased access to available water. It is also has been reported that different AMF species modulate differentially the physiological response of host plants especially under stress conditions, variation was observed between treatments for this experiment.

In the greenness index, Andrade *et al.* (2015) and Kim *et al.* (2010) stated that plants associated with AMF generate an increase number when measured with a SPAD device

SPAD debido al aumento de la capacidad de absorber los nutrientes del suelo. El resultado de la simbiosis entre la planta-endófito crea un puente entre el suelo y las raíces para añadir a los transportadores de alta afinidad de P y N (se encuentra en el micelio extra-radical), permite que los nutrientes de AMF a las plantas, incluso a bajas concentraciones de estos elementos (Bonfante y Desiro, 2015). Coincidio con nuestros resultados que midieron los índices de los valores de color verde con unidad SPAD donde más significativo en las plantas inoculadas con el consorcio AMF relación con el control (-), donde también al final del experimento los niveles de nitrógeno ( $\text{NH}_4^+$ ) fueron más bajos en sustratos con plantas micorrizadas.

En la colonización de la AMF (%) y el número de esporas, se observaron los valores más altos en la albahaca dulce inoculado con el consorcio AMF autóctono (ORECIB01 y SALCIB01) en comparación con las plantas inoculadas con el consorcio comercial Rizorfermic. Aunque no es un co-evolución entre las plantas y AMF, la respuesta de las plantas a la colonización por AMF puede variar debido a factores ambientales. El autóctono AMF tiene ventajas debido al hecho de que son especies adaptadas al clima, el suelo y las condiciones específicas del área de estudio locales, que les permite ser más probabilidad de sobrevivir y se extendió después de la inoculación de las plantas en relación con los no autóctonos AMF (Rowe *et al.*, 2007; Symanczik *et al.*, 2015).

Los genotipos de especies de AMF es otro factor que afecta a las estrategias de crecimiento y colonización al host, lo que influye en un crecimiento de las plantas rápido o lento (Hart and Reader, 2002). El contenido de fósforo en el suelo también desempeña un papel importante en la simbiosis micorriza (Johnson y Graham, 2013; Harikumar, 2015). Los estudios han demostrado que los suelos con fósforo bajas aumenta la colonización por especies de AMF y se suprime en suelos con fósforo de alta disponibilidad. Gutjahr y Parniske (2013) mencionan que las plantas regulan el grado de colonización con AMF mediante el control de la liberación de fuentes de carbono, que aumenta o disminuye dependiendo de la disponibilidad de nutrientes en el suelo.

## Conclusiones

En este estudio de plantas de albahaca dulce. cv Nufar respondieron morfológicamente y fisiológicamente a los consorcios AMF inoculado. El consorcio autóctono Orecib01 fue mejor en el crecimiento promovido a albahaca.

due to increased capacity to absorb soil nutrients. The result of the symbiosis between plant-endophyte creates a bridge between the soil and roots that add to the high affinity transporters P and N (located in the extra-radical mycelium), allow AMF supply nutrients to plants, even at low concentrations of these elements (Bonfante and Desiro, 2015). This observed coincided with our results were measured indices of green values with SPAD unit where most significant in plants inoculated with AMF consortium relative to control (-), where also when at the end of the experiment the levels of nitrogen ( $\text{NH}_4^+$ ) were lower in substrates with mycorrhizal grown plants.

In the AMF colonization (%) and number of spores, the highest values were observed in sweet basil inoculated with indigenous AMF consortium (ORECIB01 and SALCIB01) compared with the plants inoculated with commercial Rizorfermic consortium. Although there is a co-evolution between plants and AMF, the response of plants to colonization by AMF may vary due to environmental factors. Indigenous AMF have advantages due to the fact they are species that are adapted to the specific climate, soil, and local study area conditions, allowing them to be more likely to survive and spread after inoculation in plants relative to non-indigenous AMF (Rowe *et al.*, 2007; Symanczik *et al.*, 2015).

The genotypes AMF species is other factor that affects growth strategies and colonization to the host, which influences a fast or slow plant growth (Hart and Reader, 2002). The content of phosphorus in the soil also plays an important role in mycorrhizal symbiosis (Johnson and Graham, 2013; Harikumar, 2015). Studies have shown that soils with low phosphorus increases colonization by AMF species and is suppressed in soils with high availability phosphorus. Gutjahr and Parniske (2013) mentioned that the plants regulate the degree of colonization with AMF by controlling the release of carbon sources, which increases or decreases depending on the availability of nutrients in the soil.

## Conclusions

In this study sweet basil cv. Nufar plants responded morphologically and physiologically to AMF inoculated consortiums. The indigenous Orecib01 consortium was better in promoted growth of sweet basil. The plants

Las plantas inoculadas con ambos consorcios AMF autóctonos tenían el mayor número de esporas y el porcentaje de colonización en comparación con el consorcio Rizofermic comercial y el control (-). En conclusión, la inoculación de plantas con el consorcio AMF autóctono es mejor que la AMF de especies no autóctonas que no están adaptadas a los factores ambientales de la zona de estudio local.

## Agradecimiento

Agradecemos a E. Diaz-Rivera por su excelente asistencia técnica y a M. Córdoba por el apoyo editorial en inglés.

## Literatura citada

- Andrade, S. A. L.; Domingues, A. P. J. and Mazzafera, P. 2015. Photosynthesis is induced in rice plants that associate with arbuscular mycorrhizal fungi and are grown under arsenate and arsenite stress. *Chemosphere*. 134:141-149.
- Armada, E.; Azcón, R.; López-Castillo, O. M.; Calvo-Polanco, M. and Ruiz-Lozano, J. M. 2015. Autochthonous arbuscular mycorrhizal fungi and *Bacillus thuringiensis* from a degraded Mediterranean area can be used to improve physiological traits and performance of a plant of agronomic interest under drought conditions. *Plant Physiol. Biochem.* 90:64-74.
- Aroca, R. and Ruiz-Lozano, J. M. 2009. Induction of plant tolerance to semi-arid environments by beneficial soil microorganisms - a review. In: Lichtfouse, E. (Ed.). Climate change, intercropping, pest control and beneficial microorganisms. Sustainable Agriculture Reviews. The Netherlands, Springer. 2:121-135.
- Aslani, Z.; Hassani, A.; Rasouli-sadaghiani, M.; Esmailpour, B. and Rohi, Z. 2014. Effects of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi on essential oil content and nutrients uptake in basil under drought stress. *J. Med. Plants and By-products*. 2:147-153.
- Baum, C.; El-Tohamy, W. and Gruda, N. 2015. Increasing the productivity and product quality of vegetable crops using arbuscular mycorrhizal fungi: a review. *Sci. Hortic.* 187:131-141.
- Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. 2014. Atlas de plantas de la medicina tradicional mexicana/Albacar. Red mundial. <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx>.
- Bonfante, P. and Desirò, A. 2015. Arbuscular mycorrhizas: the lives of beneficial fungi and their plant hosts. In: Lugtenberg, B. (Ed.). Principles of plant-microbe interactions. Switzerland, Springer. 235-245 pp.
- Caravaca, F.; Barea, J. M.; Palenzuela, J.; Figueroa, D.; Alguacil, M. M. and Roldán, A. 2003. Establishment of shrubs species in a degraded semiarid site after inoculation with native or allochthonous arbuscular mycorrhizal fungi. *Appl. Soil Ecol.* 22:103-111.
- Carvalho-Filho, J. L. S.; Blank, A. F.; Alves, P. B.; Ehlert, P. A. D.; Melo, A. S.; Cavalcanti, S. C. H.; Arrigoni-Blank, M. F. and Silva-Mann, R. 2006. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. *Rev. Bras. Farmacogn.* 16:24-30.
- Engelmoer, D. J. P. and Kiers, E. T. 2015. Host diversity affects the abundance of the extraradical arbuscular mycorrhizal network. *New Phytol.* 205:1485-1491.
- Enkhtuya, B.; Rydlova, J. and Vosátka, M. 2000. Effectiveness of indigenous and non-indigenous isolates of arbuscular mycorrhizal fungi in soils from degraded ecosystems and man-made habitats. *Appl. Soil Ecol.* 14:201-211.
- Estrada, B.; Barea, J. M.; Aroca, R. and Ruiz-Lozano, J. M. 2012. A native Glomus intraradices strain from a Mediterranean saline area exhibits salt tolerance and enhanced symbiotic efficiency with maize plants under salt stress conditions. *Plant Soil.* 366:333-349.
- Giovannetti, M. and Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.* 84:489-500.
- Gutjahr, C. and Parniske, M. 2013. Cell and developmental biology of arbuscular mycorrhiza symbiosis. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 29:593-617.
- Harikumar, V. S. 2015. Arbuscular mycorrhizal associations in sesame under low-input cropping systems. *Arch. Agron. Soil Sci.* 61:347-359.
- Hart, M. M. and Reader, R. J. 2002. Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 153:335-344.
- International culture collection of (vesicular) arbuscular mycorrhizal fungi (INVAM). 2014. Extraction of spores. Red Mundial. <http://invam.wvu.edu/methods/spores/spore-extraction>.
- Jackson, M. L. 1976. Análisis químico de los suelos. Ediciones Omega. Barcelona, España.
- Johnson, N. C. and Graham, J. H. 2013. The continuum concept remains a useful framework for studying mycorrhizal functioning. *Plant Soil.* 363:411-419.
- Juárez-Rosete, C.; Aguilar-Castillo, J.; Juárez-Rosete, M.; Bugarín-Montoya, R.; Juárez-López, P. and Cruz-Crespo, E. 2013. Hierbas aromáticas y medicinales en México: tradición e innovación. *Rev. Bio Ciencias.* 2:119-129.
- Jung, S. C.; Martínez-Medina, A.; López-Raez, J. A. and Pozo, M. J. 2012. Mycorrhiza-induced resistance and priming of plant defenses. *J. Chem. Ecol.* 38:651-664.
- Kim, K.; Yim, W.; Trivedi, P.; Madhaiyan, M.; Deka Boruah, H. P.; Islam, M. R.; Lee, G. and Sa, Y. 2010. Synergistic effects of inoculating arbuscular mycorrhizal fungi and *Methylobacterium oryzae* strains on growth and nutrient uptake of red pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Soil.* 327:429-440.

*End of the English version*



- Lee, J.; Lee, S.; Young, J. P. W. 2008. Improved PCR primers for the detection and identification of arbuscular mycorrhizal fungi. *FEMS Microbiol. Ecol.* 65:339-349.
- Makri, O. and Kintzios, S. 2008. *Ocimum* sp. (basil): botany, cultivation, pharmaceutical properties, and biotechnology. *J. Herbs Spices Med. Plants.* 13:123-150.
- Mejia, K. and Rengifo, E. 2000. Plantas medicinales de uso popular en la amazonía peruana. 2a. (Ed.). Agencia española de cooperación internacional. Lima, Perú. 285 p.
- Olawuyi, O. J.; Odebode, A. C.; Olakojo, S. A.; Popoola, O. O.; Akanmu, A. O. and Izeneg, J. O. 2014. Host-pathogen interaction of maize (*Zea mays* L.) and *Aspergillus niger* as influenced by arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus deserticola*). *Arch. Agron. Soil Sci.* 60:1577-1591.
- Oliveira, R. S.; Vosátka, M.; Dodd, J. C. and Castro, P. M. L. 2005. Studies on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and the efficacy of two native isolates in a highly alkaline anthropogenic sediment. *Mycorrhiza.* 16:23-31.
- Parniske, M. 2008. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nat. Rev. Microbiol.* 6:763-775.
- Querejeta, J. I.; Allen, M. F.; Caravaca, F. and Roldán, A. 2006. Differential modulation of host plant  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{18}\text{O}$  by native and nonnative arbuscular mycorrhizal fungi in a semiarid environment. *New Phytol.* 169:379-387.
- Redecker, D.; Schüßler, A.; Stockinger, H.; Stürmer, S. L.; Morton, J. B. and Walker, C. 2013. An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycorrhiza.* 23:515-531.
- Requena, N.; Perez-Solis, E.; Azcon-Aguilar, C.; Jeffries, P. and Barea, J. M. 2001. Management of indigenous plant-microbe symbioses aids restoration of desertified ecosystems. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:495-498.
- Rowe, H. I.; Brown, C. S. and Claassen, V. P. 2007. Comparisons of mycorrhizal responsiveness with field soil and commercial inoculum for six native montane species and *Bromus tectorum*. *Restor. Ecol.* 15:44-52.
- Ruiz-Lozano, J. M. and Aroca, R. 2010. Host response to osmotic stresses: stomatal behaviour and water use efficiency of arbuscular mycorrhizal plants. In: Koltai, H. and Kapulnic, Y. (Eds.). *Arbuscular mycorrhizas: physiology and function*. The Netherlands, Springer. 239-256 pp.
- Scagel, C. F. and Lee, J. 2012. Phenolic composition of basil plants is differentially altered by plant nutrient status and inoculation with mycorrhizal fungi. *HortSci.* 47:660-671.
- Schenck, N. C. and Pérez, Y. 1990. Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi 3rd (Ed.). Gainesville (USA), Synergistic Publications. 286 p.
- Sheng, M.; Tang, M.; Chen, H.; Yang, B.; Zhang, F. and Huang, Y. 2008. Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza.* 18:287-296.
- Smith, S. E. and Read, D. J. 1997. *Mycorrhizal symbiosis*. 2<sup>nd</sup> (Ed.). California (USA), Academic Press. 605 p.
- Symanczik, S.; Courty, P. E.; Boller, T.; Wiemkem, A. and Al-Yahya'ei, M. N. 2015. Impact of water regimes on an experimental community of four desert arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) species, as affected by the introduction of a non-native AMF species. *Mycorrhiza.* 25:639-647.
- Talaata, N. B. and Shawky, B. T. 2012. Influence of arbuscular mycorrhizae on root colonization, growth and productivity of two wheat cultivars under salt stress. *Arch. Agron. Soil Sci.* 58:85-100.
- Tarchoune, I.; Baâtour, O.; Harrathi, J.; Cioni, P. L.; Lachaâl, M. and Flamini, G. 2013. Essential oil and volatile emissions of basil (*Ocimum basilicum*) leaves exposed to NaCl or Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> salinity. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 176:748-755.
- Valerio-Landa, S. 2014. Respuesta morfo-fisiológica de plantas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) inoculadas con hongos micorrízicos arbuseulares. Tesis. Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México. 91 p.
- Zhou, Q.; Ravnskov, S.; Jiang, D. and Wollenweber, B. 2015. Changes in carbon and nitrogen allocation, growth and grain yield induced by arbuscular mycorrhizal fungi in wheat (*Triticum aestivum* L.) subjected to a period of water deficit. *Plant Growth Regul.* 75:751-760.
- Zhu, X. C.; Song, F. B. and Xu, H. W. 2010. Arbuscular mycorrhizae improves low temperature stress in maize via alterations in host water status and photosynthesis. *Plant Soil.* 331:129-137.
- Zolfaghari, M.; Nazeri, V.; Sefidkon, F. and Rejali, F. 2013. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth and essential oil content and composition of *Ocimum basilicum* L. *Ir. J. Plant Physiol.* 3:643-650.