

Revista Electrónica Nova Scientia

Hongos micorrízicos arbusculares como agentes
mitigadores del estrés salino por NaCl en
plántulas de albahaca

Arbuscular mycorrhizal fungi as agents of NaCl
mitigators in basil seedlings

**Y. Milagro Agüero-Fernández¹, L.G. Hernández-Montiel¹,
A. Nieto-Garibay¹, E. Troyo-Diéguez¹, R. Zulueta-
Rodríguez² y B. Murillo-Amador¹**

¹Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C., La Paz, Baja California
Sur.

²Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Veracruzana, Campus Xalapa,
Xalapa, Veracruz.

México

E-mail: bmurillo04@cibnor.mx.

Resumen

En la naturaleza las plantas se encuentran expuestas a diversas condiciones de estrés que retardan su desarrollo y disminuyen su rendimiento. Uno de los problemas agrícolas más extendidos es la acumulación de sales en la superficie del suelo o la salinización del agua para riego. El objetivo del estudio fue evaluar un consorcio de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) de las especies *Funneliformis mosseae* y *Claroideoglossum etunicatum* inoculadas a la cubierta de la semillas como posibles mitigadores del estrés por NaCl en plántulas de variedades de albahaca en la etapa de emergencia. Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial. El factor 1 fueron tres variedades de albahaca (Nuffar, Genovese y Napoletano), el factor 2 fueron tres niveles de estrés salino (0, 50 y 100 mM de NaCl) y el factor 3, los hongos micorrízicos arbusculares (0 -control- y 1 g del inóculo) con cuatro repeticiones de 30 semillas cada una. Se evaluó la composición química del sustrato y del inóculo utilizados, la tasa y porcentaje de emergencia, altura de las plántulas, longitud de raíz, biomasa fresca de parte aérea y de raíz y porcentaje de colonización. Los resultados mostraron que tanto el sustrato como el inóculo utilizados fueron adecuados para el desarrollo de las especies de HMA evaluadas y para la especie vegetal en estudio. Ninguna de las raíces de las plántulas de las variedades en estudio mostró presencia de vesículas, arbusculos y/o hifas cenocíticas. Todas las variables presentaron valores superiores en aquellas plántulas cuyas semillas se inocularon con HMA. Las variedades mostraron diferencias para las variables tasa y porcentaje de emergencia, altura de plántula, longitud de raíz y biomasa fresca de parte aérea, siendo Napoletano superior con respecto a Nufar y Genovese. Las variables tasa y porcentaje de emergencia, altura de plántula, longitud de raíz y biomasa fresca de raíz disminuyeron conforme las concentraciones de NaCl incrementaron.

Palabras clave: Hongos Micorrízicos Arbusculares, cloruro de sodio, emergencia.

Recepción: 24-03-2016

Aceptación: 16-06-2016

Abstract

In nature, plants are exposed to various stress conditions that retard their development and decrease yield. One of the most widespread agricultural problems is the accumulation of salts in the soil surface or salinization of irrigation water. The objective of the study was to evaluate a consortium of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) of the species *Funneliformis mosseae* y *Claroideoglossum etunicatum* inoculated to the seed coat as possible mitigators of NaCl stress on seedling basil varieties in the emergence stage. A completely randomized design with factorial arrangement was used. Factor 1 was three varieties of basil (Nuffar, Genovese and Napoletano), factor 2 was three levels of salt stress (0, 50 and 100 mM NaCl) and factor 3, arbuscular mycorrhizal fungi (0 -control- and 1 g of the inoculum) with four replications of 30 seeds each. The chemical composition of the substrate and inoculum, the rate and emergence percentage, seedling height, root length, fresh biomass of shoot and root and percentage of colonization was assessed. The results showed that both the substrate and the inoculum were suitable for the development of species of AMF and plant species under study. None of the roots of seedlings of the varieties under study showed presence of vesicles, arbuscules and/or hyphae. All variables showed higher values in those seedlings whose seeds were inoculated with AMF. The varieties showed differences for rate and emergence percentage, seedlings height, root length and fresh biomass of shoot, being superior over Napoletano, Nuffar and Genovese. The values of rate and emergence percentage, seedlings height, root length and fresh biomass of root, decreased as NaCl concentrations increased.

Key words: Arbuscular mycorrhizal fungi, sodium chloride, emergence.

Introducción

La salinidad de los suelos es uno de los problemas mayores que enfrenta la agricultura, se estima que más de 800 millones de hectáreas en el mundo están afectadas, lo que representa una pérdida superior a los 12 mil millones de dólares anuales (Khalig *et al.*, 2014, 18). Las plantas cultivadas en suelos salinos disminuyen su capacidad para absorber agua, presentan un desbalance nutricional, toxicidad, cambios fisiológicos y morfométricos, entre otros (Horie *et al.*, 2012, 11). En general, la salinidad inhibe el crecimiento de las plantas y su productividad. El exceso de sales en el suelo o en el agua de riego, induce desequilibrios en las relaciones osmóticas entre el suelo y las plantas y en el metabolismo de estas. Existe un grupo de factores que aumentan la tolerancia de las plantas a la salinidad, la incorporación o aplicación de estos mejoran la productividad de los cultivos en estas condiciones (Ghazi Al-Karaki, 2008, 229). Además de la fertilidad reducida del suelo en zonas áridas, se considera la presencia de otros problemas ambientales como la concentración salina del agua, del suelo y la sequía. El daño en el suelo y en las plantas en zonas áridas y semiáridas no es fácil de reparar debido a la fragilidad que presentan estos ecosistemas (Pascual *et al.*, 2000, 1877). Sin embargo, el impacto ecológico de la simbiosis micorrízica arbuscular (MA) es particularmente relevante para estos ecosistemas donde existe tolerancia alta de las plantas a estrés ambiental, en gran medida aportada por los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) (Allen, 2007, 291). En investigaciones recientes se amplía el contexto en el que se estudia la simbiosis micorrízica, determinando el rol del micelio fúngico en efectos ecosistémicos (Finlay *et al.*, 2008, 201). Los HMA son biomejoradores importantes para suelos salinos ya que la colonización micorrízica arbuscular mejora el crecimiento, nutrición y vigor de la planta, mitiga el daño de las plantas hospederas causada por la salinización del suelo (Evelin *et al.*, 2013, 71). Los HMA pertenecen al *phylum Glomeromycota* que forman asociaciones mutualistas con las raíces de la mayoría de las plantas vasculares (Jeffries *et al.*, 2003, 1). En esta asociación denominada micorriza arbuscular (MA), el hongo coloniza de forma extra e intercelular el cortex de la raíz, desarrolla un micelio externo intrincado que rodea la raíz de las plantas colonizadas. Este micelio forma una conexión continua entre la solución del suelo y la planta, que permite la captación de iones desde el suelo y su transporte a la raíz del hospedero que influye de manera activa en la nutrición mineral. En sentido inverso, el HMA recibe compuestos carbonados provenientes de la fotosíntesis de la planta, necesarios para su

metabolismo por tratarse de un simbiote obligado que requiere de la interacción con la planta para completar su ciclo de vida (Bago y Bécard, 2002, 33). La etapa de emergencia, constituye un indicador importante para el establecimiento y función de las plántulas (Rodríguez y Leihner, 2006, 37).

La albahaca (*Ocimum basilicum* L.) es un cultivo altamente rentable con una demanda alta en la industria farmacéutica, cosmética y perfumería, representa una fuente de ingresos para los productores. Entre las limitantes del cultivo destaca su establecimiento en zonas donde la salinidad de los suelos es alta (Reyes-Pérez *et al.*, 2013a, 101). En el Estado de Baja California Sur, México, la albahaca constituye uno de los principales cultivos de importancia económica dada por la demanda en el mercado nacional e internacional lo cual genera una fuente de ingreso importante para los productores de esta especie aromática; si bien es cierto que su uso proporciona mayores ganancias, también se sabe que algunas de las variedades más demandadas y que se cultivan en la región, son sensibles a la salinidad. No existen antecedentes conocidos de la investigación de los HMA y su interacción con estrés salino en albahaca. El objetivo del estudio fue evaluar un consorcio de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) que contenía las especies *Funneliformis mosseae* y *Claroideoglossum etunicatum* como posibles mitigadores del estrés por cloruro de sodio (NaCl) en plántulas de variedades de albahaca en la etapa de emergencia.

Método

Área de estudio

El experimento se desarrolló del 15 de mayo al 5 de junio de 2015, en una estructura de malla sombra (40% de sombreo, color negro, modelo 20 mesh) en el campo experimental del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR) localizado al noroeste de La Paz, Baja California Sur, México, a los 24°08'10.03 LN y 110°25'35.31 LO, a 7 m.s.n.m. La temperatura media, máxima y mínima dentro de la malla sombra durante el periodo de experimentación fueron, 25.57 ± 5.96 , 41.40 ± 6.06 y 14.40 ± 5.81 °C, respectivamente, con $57.36 \pm 16.98\%$ de humedad relativa. Los datos de las variables climatológicas que se registraron durante el periodo de estudio, se obtuvieron de una estación meteorológica portátil (Vantage Pro2® Davis

Instruments, U.S.A.) que se colocó dentro de la estructura de malla sombra. El sitio experimental tiene un clima del tipo Bw (h') hw (e) considerado como semiárido, con vegetación xerófila (García, 2004, 98).

Material genético

Se utilizaron semillas de albahaca de las variedades Napoletano, Genovese y Nufar (Vis Seed Company[®], Arcadia, Cal., U.S.A.) con respuesta diferencial al estrés por NaCl de acuerdo con Reyes-Pérez *et al.* (2013a, 101; 2013b, 869; 2013c, 257) y Reyes-Pérez *et al.* (2014, 35). Con el objetivo de evaluar la calidad de las semillas de las tres variedades a evaluar, previo al experimento se realizó un ensayo de germinación mediante la metodología propuesta por ISTA (2010, 51).

Diseño experimental

El experimento se estableció en un diseño completamente al azar con arreglo factorial con tres factores en estudio, considerando como factor 1 a las variedades de albahaca con respuesta diferencial al NaCl (Nufar, Genovese y Napoletano), el factor 2 fue el estrés por salinidad (0, 50 y 100 mM de NaCl) y el factor 3 los hongos micorrízicos arbusculares (0 -control- y 1 g del inóculo de HMA) con cuatro repeticiones de 30 semillas cada una.

Desarrollo del experimento

Se utilizó un lote de semillas de las variedades en estudio sin inocular como control y un lote de semillas inoculadas al momento de la siembra utilizando el método de recubrimiento de las semillas propuesto por Fernández *et al.* (1999b). El contenido de esporas del inóculo fue de 50-100 esporas g⁻¹ de sustrato. Las semillas se sembraron en charolas de poliestireno de 200 cavidades las cuales contenían sustrato comercial previamente esterilizado (vermiculita). Para mantener la humedad del sustrato se irrigó todos los días en el horario de la mañana con el tratamiento correspondiente, control (agua destilada) o solución salina correspondiente, el riego fue uniforme utilizando una cantidad de 500 mL para cada charola consiguiendo que la solución aplicada drenará a través de los orificios de las charolas con el fin de evitar la acumulación de sales en el sustrato que pudiera causar un shock osmótico. La aplicación de los tratamientos (0, 50 y 100 mM de NaCl) se realizó desde el momento de la siembra de las semillas en las

charolas. Durante todo el experimento se hicieron análisis cada semana de pH y conductividad eléctrica al agua que drenaba por los orificios de las charolas con el fin de evitar efecto residual de sales en el sustrato. La emergencia se registró diariamente y el porcentaje final se determinó a los catorce días. La tasa de emergencia (M) se calculó utilizando la ecuación de (Maguire, 1962, 176):

$M = n_1/t_1 + n_2/t_2 + \dots n_{30}/t_{14}$; donde: $n_1, n_2, \dots n_{30}$ = número de semillas germinadas en los tiempos $t_1, t_2, \dots t_{14}$ (en días).

Análisis químico del sustrato y del inóculo utilizados

Se tomaron muestras del sustrato y del inóculo utilizados y se tamizó con malla número 10 (2 mm). Se midió el pH y conductividad eléctrica con una relación suelo: solución de 1:5 y se utilizó un potenciómetro (Hanna[®], modelo 211, U.S.A.) (Jackson, 1958, 66). La conductividad eléctrica (C.E., $dS\ m^{-1}$) se midió con conductímetro (Hach[®], Modelo Sension5, Loveland, Colorado, U.S.A.) (Jackson, 1976, 283). El fósforo asimilable (P, $mg\ kg^{-1}$) se midió del extracto acuoso, con una relación suelo: solución 1:5 y se utilizó Multiskan Acent[®] (Modelo Labsystems, No. 354, Finland) (Jackson, 1976, 283). El potasio (K) extractable ($mg\ kg^{-1}$) se determinó por espectrofotómetro de absorción atómica de flama (GBC[®], modelo Avanta, Australia) (Van Loon, 1985, 357). El calcio y magnesio extractable se midieron por complexometría, método volumétrico por titulación (valoración con EDTA 0.01 N), acorde con Cheng y Bray (1951, 449). El contenido de materia orgánica (M.O., %) se determinó por el método de Walkley y Black (NOM-021 SEMARNAT 2000 Método AS-07, 12) utilizando la malla número 35 (0.5 mm). El nitrógeno total (N) se determinó por el método de Dumas (Leco[®], modelo FP-528, U.S.A.) utilizando la malla número 100 (0.150 mm) (Bremner, 1965, 1091).

Variables morfológicas

Después de 21 días de aplicar los tratamientos salinos, se eligieron al azar 10 plántulas por repetición, de las cuales, cinco plántulas se utilizaron para medir variables morfológicas y las otras cinco para determinar porcentaje de colonización en sus raíces. Las variables morfológicas que se midieron fueron altura de la planta (cm), longitud de raíz (cm), biomasa fresca y seca de parte aérea y de la radícula (g), mismas que se determinaron por el método destructivo al dividir

cada plántula en radícula y parte aérea y pesar cada una por separado, utilizando una balanza analítica (Mettler® Toledo, AG204, U.S.A.). La biomasa fresca y seca de parte aérea y raíz se obtuvo al colocar estos tejidos en bolsas de papel e introducirlas en una estufa de secado (Shel-Lab®, FX-5, serie-1000203, U.S.A.) a una temperatura de 70°C por 72 horas hasta obtener peso constante. Posteriormente se pesaron en balanza analítica (Mettler Toledo®, AG204, U.S.A.).

Colonización de raíces por hongos micorrízicos arbusculares (HMA)

Para evaluar el porcentaje de colonización micorrízica se utilizó la metodología de Phillips y Hayman (1970, 158) y se utilizó como colorante el azul de tripano (C₃₄H₂₈N₆O₁₄S₄). La colonización se evaluó tomando en cuenta la presencia de vesículas, arbusculos y/o hifas cenocíticas (hifas) típicas de los HMA.

Análisis estadístico

Se realizaron análisis de varianza y comparaciones múltiples de medias (Tukey HSD $p=0.05$). Los valores de porcentaje de emergencia se transformaron mediante arcoseno (Little y Hills, 1989, 270; Steel y Torrie, 1995, 622) para cumplir con el supuesto de normalidad. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa estadístico Statistica v. 10.0 para Windows (StatSoft®, Inc., 2011, 1098).

Resultados

Análisis químico del sustrato

El sustrato (vermiculita) presentó una fertilidad química muy baja con un contenido medio de Mg²⁺ (4.9 mg kg⁻¹), disponibilidad baja de K⁺ intercambiable (18.2 mg kg⁻¹), muy baja de P asimilable (10.0 mg kg⁻¹), contenido bajo de N (0.02%), cero contenido de materia orgánica, cero contenido de calcio, pH ligeramente ácido a neutro (6.4) y conductividad eléctrica muy baja (0.015 dS m⁻¹).

Análisis químico del inóculo

El inóculo presentó una fertilidad química media con un contenido de 3.5 mg kg^{-1} de Mg^{2+} , disponibilidad media de K^+ intercambiable (23.44 mg kg^{-1}), media de P asimilable (20.0 mg kg^{-1}), bajo en Ca^{2+} (1.00 mg kg^{-1}), contenido bajo de N (0.20%), 3.7% de materia orgánica, pH prácticamente neutro (7.3) y conductividad eléctrica muy baja (0.088 dS m^{-1}).

Tasa y porcentaje de emergencia

Para tasa de emergencia (TE) se encontraron diferencias significativas entre variedades, NaCl, HMA, interacción variedades \times NaCl \times HMA, mientras que para las interacciones variedades \times NaCl, variedades \times HMA, NaCl \times HMA no se encontraron diferencias significativas. Al analizar el factor variedades se observó que la variedad Napoletano mostró mayor tasa de emergencia, seguida por Nufar y Genovese (Tabla 1). Para el factor NaCl, se observó que la tasa de emergencia disminuyó significativamente conforme los niveles de NaCl incrementaron, registrándose la TE mayor en 0 mM de NaCl (Tabla 1). El análisis del factor HMA mostró que la tasa de emergencia fue mayor en aquellas semillas inoculadas con HMA (CM) con respecto al control (SM) (Tabla 1). En relación a la triple interacción de los factores, variedades \times NaCl \times HMA, los resultados muestran que la tasa de emergencia fue mayor en Napoletano en los tres niveles de NaCl y con HMA, mientras que los valores inferiores los mostraron Genovese y Nufar en 100 mM NaCl y sin HMA (Tabla 3). El porcentaje de emergencia (PE) mostró diferencias significativas entre variedades, NaCl, HMA y entre la triple interacción variedades \times NaCl \times HMA, mientras que para las interacciones variedades \times NaCl, variedades \times HMA, NaCl \times HMA no se encontraron diferencias significativas. La respuesta de las variedades fue diferencial, aunque Napoletano y Nufar mostraron igualdad estadística en esta variable, mientras que Genovese mostró el porcentaje de emergencia menor (Tabla 1). El porcentaje de emergencia también disminuyó conforme se incrementaron los niveles de NaCl (Tabla 1) y en el mismo sentido, esta última variable mostró valores superiores en aquellas semillas tratadas con el consorcio de HMA (Tabla 1). En relación a la interacción de los factores variedad \times NaCl \times HMA mostró mayor porcentaje de emergencia la variedad Napoletano con 0 mM de NaCl con HMA y menor en Genovese 100 mM de NaCl sin HMA (Tabla 3).

Variables morfométricas

Altura de plántulas (AP) mostró diferencias significativas entre variedades, HMA, la interacción variedades \times NaCl, mientras que para NaCl, las interacciones variedades \times HMA, NaCl \times HMA y variedades \times NaCl \times HMA no se presentaron diferencias significativas. La altura de plántulas entre variedades fue mayor en Napoletano y Genovese, mientras que Nufar presentó valor inferior (Tabla 1). Respecto a la inoculación con HMA, la altura fue mayor en aquellas plántulas procedentes de semillas inoculadas con HMA (Tabla 1). En la interacción variedades \times NaCl, la altura de plántulas fue mayor en Napoletano y Nufar con respecto a Genovese (Tabla 2).

Tabla 1. Respuesta de plántulas de tres variedades de albahaca sometidas a estrés salino por NaCl y la inoculación con HMA como mitigadores del estrés en la tasa, porcentaje de emergencia y variables morfométricas.

Variedades	TE **	PE (%) **	AP (cm) **	LR (cm) **	BFPA (g) **	
Genovese	2.62 c	63.33 b	1.38 a	4.33 b	0.178 b	
Napoletano	4.14 a	81.66 a	1.42 a	5.49 a	0.234 a	
Nufar	3.11 b	75.97 a	1.17 b	4.41 b	0.187 b	
NaCl (mM)	TE **	PE (%) **	LR (cm) **	BFPA (g) **	BFR (g) **	
0	3.59 a	80.69 a	5.12 a	0.175 b	0.094 a	
50	3.29 b	73.75 b	4.64 b	0.214 a	0.089 a	
100	2.99 c	66.52 c	4.47 b	0.210 a	0.069 b	
HMA	TE **	PE (%) **	AP (cm) **	LR (cm) **	BFPA	BFR (g) **
					** (g)	
SM	2.73 b	65.09 b	1.23 b	4.19 b	0.171 b	0.068 b
CM	3.85 a	82.22 a	1.42 a	5.30 a	0.229 a	0.100 a

TE= Tasa de emergencia, PE= Porcentaje de emergencia, AP= Altura de plántulas, LR= Longitud de raíz, BFPA= Biomasa fresca de parte aérea, NaCl= Cloruro de sodio, BFR= Biomasa fresca de raíz, HMA= Hongos micorrízicos arbusculares, SM= sin HMA (control), CM= con HMA (1 g del inóculo de HMA), *= significativo a $p \leq 0.05$, **= significativo al $p \leq 0.01$. Medias con letras distintas en una misma columna difieren estadísticamente (Tukey HSD, $p=0.05$).

Tabla 2. Efecto de las interacciones variedades \times NaCl, variedades \times HMA y NaCl \times HMA en variables morfométricas de plántulas de albahaca sometidas a estrés por NaCl y HMA como mitigadores del estrés.

Variedades	NaCl (mM)	AP (cm) **	LR (cm) *	BFPA (g) **	BFR(g) **
Genovese	0	1.13 c	5.02 ab	0.156 b	0.079 c
Genovese	50	1.17 c	4.19 bcd	0.180 b	0.086 abc
Genovese	100	1.20 c	3.79 cd	0.171 b	0.069 c
Napoletano	0	1.37 ab	5.55 a	0.182 b	0.081 bc
Napoletano	50	1.43 ab	5.71 a	0.283 a	0.124 a

Napoletano	100	1.47 a	5.23 ab	0.264 a	0.072 c
Nufar	0	1.43 ab	4.80 abc	0.188 b	0.123 ab
Nufar	50	1.43 ab	4.03 cde	0.177 b	0.055 c
Nufar	100	1.29 bc	4.41 abcd	0.197 b	0.068 c

Variedades	HMA	BFPA (g) *	NaCl	HMA	BFPA (g) *	LR (cm) *
Genovese	SM	0.167 cd	0	SM	0.196 b	4.51 c
Genovese	CM	0.188 c	0	CM	0.154 c	5.74 a
Napoletano	SM	0.190 bc	50	SM	0.170 bc	4.4.1 c
Napoletano	CM	0.278 a	50	CM	0.258 a	4.88 bc
Nufar	SM	0.154 d	100	SM	0.188 b	3.65 d
Nufar	CM	0.220 b	100	CM	0.233 a	5.30 ab

AP= Altura de plántulas, LR= Longitud de raíz, BFPA= Biomasa fresca de parte aérea, BFR= Biomasa fresca de raíz. HMA= Hongos micorrízicos arbusculares, SM= sin HMA (control), CM= con HMA (1 g del inóculo de HMA). *= significativo a $p \leq 0.05$, **= significativo a $p \leq 0.01$. Medias con letras distintas en una misma columna difieren estadísticamente (Tukey HSD, $p=0.05$).

Tabla 3. Efecto de la interacción de variedades \times NaCl \times HMA en la tasa, porcentaje de emergencia y variables morfométricas de plántulas de variedades de albahaca sometidas a estrés por NaCl e inoculadas con HMA como mitigadores del estrés.

Variedades	NaCl (mM)	HMA	TE *	PE (%) **	BFPA (g) **	LR (cm) **
Genovese	0	CM	3.51 cd	71.66 bcde	0.191 cdefg	6.08 ab
Genovese	50	CM	3.18 cdef	63.33 de	0.191 cdefg	4.69 bcdef
Genovese	100	CM	2.8 cdef	73.33 bcde	0.183 cdefg	4.27 cdef
Genovese	0	SM	2.53 efg	65.83 cde	0.134 g	3.96 ef
Genovese	50	SM	2.28 fg	60.83 e	0.189 cdefg	3.70 ef
Genovese	100	SM	1.37 hi	37.50 f	0.159 efg	3.32 f
Napoletano	0	CM	4.95 a	99.16 a	0.172 defg	6.10 ab
Napoletano	50	CM	4.66 ab	87.50 abc	0.377 a	5.75 abc
Napoletano	100	CM	4.51 ab	83.33 abcd	0.280 b	6.49 a
Napoletano	0	SM	3.79 bc	80.83 abcd	0.191 cdefg	5.00 abcde
Napoletano	50	SM	3.53 cd	79.16 abcde	0.172 defg	5.67 abcd
Napoletano	100	SM	3.38 cde	67.50 bcde	0.248 bc	3.96 ef
Nufar	0	CM	3.76 bcd	87.50 abc	0.219 bcde	5.04 abcd
Nufar	50	CM	3.90 bc	88.33 ab	0.205 cdef	4.21 def
Nufar	100	CM	3.35 cde	78.33 abcde	0.238 bcd	5.13 abcde
Nufar	0	SM	2.97 cdefg	71.66 bcde	0.157 efg	4.57 bcdef
Nufar	50	SM	2.53 efg	70.83 bcde	0.150 fg	3.86 ef
Nufar	100	SM	2.14 h	59.16 ef	0.155 efg	3.69 ef

HMA= Hongos micorrízicos arbusculares, SM= sin HMA (control), CM= con HMA (1 g del inóculo de HMA), TE= Tasa de emergencia, PE= Porcentaje de emergencia, BFPA= Biomasa fresca de parte aérea, LR= Longitud de raíz. *= significativo a $p \leq 0.05$, **= significativo a $p \leq 0.01$. Medias con letras distintas en una misma columna difieren estadísticamente (Tukey HSD, $p=0.05$).

Longitud de la raíz (LR) mostró diferencias significativas entre variedades, NaCl, HMA, las interacciones variedades \times NaCl, NaCl \times HMA y variedades \times NaCl \times HMA. La interacción

variedades \times HMA no mostró diferencias significativas para esta variable. El análisis del factor variedades mostró a Napoletano con la longitud de raíz mayor respecto a las otras dos variedades (Tabla 1). Esta variable mostró valor superior en 0 mM de NaCl y disminuyó conforme los niveles de NaCl incrementaron (Tabla 1). Asimismo, la LR fue mayor en aquellas plantas cuyas semillas se inocularon con HMA (Tabla 1). Al descomponer la interacción variedades \times NaCl para esta variable, se observó que las plántulas de Napoletano en 50 y 0 mM de NaCl mostraron longitud de raíz mayor, seguido de Napoletano en 100 mM de NaCl, mientras que Genovese en 0, 50 y 100 mM de NaCl mostró valores inferiores para esta variable (Tabla 2). La interacción NaCl \times HMA mostró que la longitud de raíz fue superior en aquellas plántulas del control con HMA, seguido de aquellas plantas sometidas a 100 mM de NaCl con HMA (Tabla 2). La interacción variedades \times NaCl \times HMA mostró que las plántulas de Napoletano sometidas a 100 mM de NaCl cuyas semillas se inocularon con HMA mostraron longitud de raíz mayor, mientras que las plántulas de Genovese presentaron longitud de raíz menor en 100 mM de NaCl de semillas que no se inocularon con HMA (Tabla 3).

Para biomasa fresca de parte aérea (BFPA) se observaron diferencias significativas entre variedades, NaCl, HMA, las interacciones variedades \times NaCl, variedades \times HMA, NaCl \times HMA y para la triple interacción variedades \times NaCl \times HMA. El análisis del factor variedades mostró que la BFPA fue mayor en Napoletano seguida por Nufar y Genovese (Tabla 1). La BFPA no disminuyó conforme los niveles de NaCl se incrementaron, ya que ésta fue mayor en 50 y 100 mM de NaCl (Tabla 1). La BFPA fue superior en las plántulas cuya semilla se inoculó con HMA (Tabla 1). El análisis de la interacción variedades \times NaCl mostró que la BFPA fue mayor en Napoletano en 50 y 100 mM de NaCl (Tabla 2). En la interacción variedades \times HMA, la BFPA fue mayor en Napoletano con HMA y menor en Nufar y Genovese sin HMA (Tabla 2). Considerando la interacción NaCl \times HMA, la BFPA fue mayor en 50 y 100 mM de NaCl con HMA, mientras que el valor inferior se presentó en 0 mM de NaCl con HMA (Tabla 2). Con respecto a la triple interacción variedades \times NaCl \times HMA la BFPA fue mayor en Napoletano en 50 mM de NaCl y con HMA, mientras que la BFPA menor la presentó Genovese en 0 mM de NaCl sin HMA (Tabla 3).

Para biomasa seca de parte aérea (BSPA) no se observaron diferencias significativas entre variedades, NaCl, HMA, las interacciones variedades \times NaCl, variedades \times HMA NaCl \times HMA y para la triple interacción variedades \times NaCl \times HMA. Igualmente, biomasa seca de raíz (BSR) no mostró diferencias significativas entre variedades, NaCl, HMA, las interacciones variedades \times NaCl, variedades \times HMA, NaCl \times HMA y para la triple interacción variedades \times NaCl \times HMA. Para biomasa fresca de la raíz (BFR) se observaron diferencias significativas entre NaCl, HMA y la interacción variedades \times NaCl, mientras que entre variedades, las interacciones variedades \times HMA, NaCl \times HMA y variedades \times NaCl \times HMA no se presentaron diferencias significativas. El análisis de esta variable considerando el factor NaCl mostró que la BFR fue mayor en 0 y 50 mM de NaCl y disminuyó conforme se incrementaron los niveles de NaCl (Tabla 1). Esta variable también fue superior en aquellas plántulas cuya semilla se inoculó con HMA (Tabla 1). El análisis de la interacción variedades \times NaCl mostró que la BFR fue superior para Napoletano en 50 mM de NaCl, seguido por Nufar en 0 mM de NaCl, mientras que la BFR menor la mostró Nufar en 50 mM de NaCl (Tabla 2).

Colonización de raíces por HMA

En esta etapa fenológica de la especie en estudio, ninguna de las raíces de las plántulas de las variedades en estudio mostraron presencia de vesículas, arbuscúlos y/o hifas cenocíticas (hifas) típicas de los HMA. Sin embargo, a los 21 días después de la siembra, en aquellas plántulas cuyas semillas se inocularon con HMA se mostró un inicio del proceso observándose el micelio del hongo estableciendo contacto en el interior de las raíces de las plántulas pero no una auténtica colonización (Figura 1). En las raíces de las plántulas cuya semilla no se inoculó con HMA, no se observó ningún indicio de colonización (Figura 2).

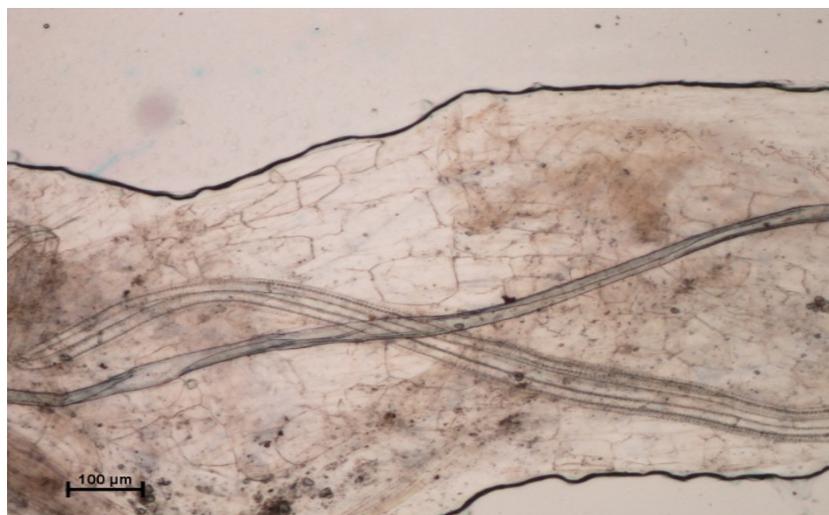


Figura 1. Micrografía de raíces de albahaca inoculadas con un consorcio de HMA (*Funneliformis mosseae* y *Claroideoglossum etunicatum*).



Figura 2. Micrografía de raíces de albahaca sin inocular.

Discusión

El sustrato que se utilizó en este estudio se caracterizó como apto para el desarrollo de las especies de HMA evaluadas (Schubert y Hayman, 1986, 79; Swift, 2002, 4) y para la especie vegetal en estudio de acuerdo con Castellanos *et al.* (2000, 94). Un aspecto importante al momento de utilizar suelo o sustratos comerciales para estudios con HMA depende del contenido de P, ya que éste se relaciona con la colonización radicular por HMA. Si existe un nivel bajo de P

se reduce el nivel de fosfolípidos en la membrana vegetal que conduce a una exudación radicular mayor lo cual trae como consecuencia una estimulación en la colonización del endófito (Smith y Read, 2008, 144). Desde el punto de vista nutricional el mayor beneficio de las plantas por la micorrización deriva en un crecimiento superior por un incremento de la absorción de P cuando este elemento es limitante en el suelo, mientras que cuando no es limitante, el beneficio es nulo o reducido, según el grado de dependencia micorrízica de la planta. Schubert y Hayman (1986, 79) y Swift (2002, 4) estiman que los niveles de P contenidos en un suelo donde se pretende conocer esencialmente la eficiencia de los HMA deben mantenerse alrededor de 50 ppm, para lo cual insisten en la necesidad de realizar de manera anticipada un análisis del sustrato que se utilizará. Fernández-Martin (2003, 13) reporta que niveles altos de fósforo inhiben el proceso simbiótico. En un estudio se evaluó un concentrado de cepas de HMA en diferentes tipos de suelos y encontraron que en los suelos donde el P fue inferior de 50 ppm se presentó mayor actividad micorrízica (Fernández *et al.*, 1999a, 9).

Las diferencias mostradas entre las variedades para tasa y porcentaje de emergencia se atribuyen a la respuesta de éstas al estrés salino, porque al incrementarse la concentración de NaCl impide la correcta imbibición y la emergencia se ve inhibida. Gomes-Filho *et al.* (1983, 183) establecen que existe una gran variabilidad entre variedades en respuesta al estrés salino, esta es una característica que desde el punto de vista del mejoramiento genético debe aprovecharse. Los resultados de este estudio demuestran que la tolerancia de las plántulas al estrés salino por NaCl no solo varía entre especies sino entre variedades de la misma especie y que debe considerarse al momento de realizar estos estudios. De acuerdo con Maas (1986, 12) y Reyes-Pérez *et al.* (2013, 268) es importante seleccionar y clasificar las variedades de especies de plantas por su tolerancia o sensibilidad a la salinidad en las primeras etapas fenológicas ya que una comparación de tolerancia durante la emergencia da pauta para utilizar diferentes criterios y condiciones para efectuar la evaluación de la respuesta de la planta en posteriores etapas fenológicas. Asimismo, es importante considerar que los criterios potenciales y mejores de selección para tolerancia a salinidad son entre otros el porcentaje de emergencia, la sobrevivencia de plántulas y las variables morfométricas (Tal, 1985, 199; Reyes-Pérez *et al.*, 2013a, 112). La disminución de la tasa y porcentaje de emergencia de plántulas conforme las concentraciones de NaCl incrementaron, coincide con los resultados reportados en otras especies de plantas halofitas y glicófitas, en las cuales se encontró una emergencia mayor en los tratamiento de menor

concentración de NaCl (Gorai y Neffati, 2007, 53). Resultados similares encontró Batista-Sánchez *et al.* (2015, 265) en tres variedades de albahaca donde la tasa y el porcentaje de emergencia disminuyeron conforme la concentración de NaCl se incrementó. Asimismo, coinciden con lo reportado por González *et al.* (2000, 105) quienes en una investigación con estrés salino (NaCl) en cultivares de *Vigna unguiculata* L., encontraron que a medida que incrementaron las concentraciones de NaCl se redujo la tasa y porcentaje de emergencia de las plántulas, confirmando que el NaCl tiene un efecto adverso en esta etapa fenológica. Uno de los efectos primarios del estrés por NaCl es retardar la emergencia de plántulas (Batista-Sánchez *et al.*, 2015, 265) debido a la inhibición del crecimiento del eje embrionario por un retraso de la movilización de reservas y a los disturbios de la membrana causado por la salinidad, el cual es evidenciado por el incremento de la pérdida de materiales del eje embrionario (Lamz *et al.*, 2013, 11; Van, 2015, 99). Según Parés *et al.* (2008, 27) la salinidad reduce el crecimiento al afectar negativamente la germinación y/o la capacidad de emerger de las plántulas. La salinidad es uno de los principales factores abióticos que limitan la germinación y emergencia de las semillas, el efecto más común sobre las plantas es la reducción del desarrollo debido a una disminución del potencial osmótico del medio de crecimiento y, en consecuencia, de su potencial hídrico, la toxicidad iónica normalmente se asocia con la absorción excesiva de Na⁺ y de Cl⁻ y un desequilibrio nutricional debido a la interferencia de los iones salinos con la absorción de los nutrientes esenciales que requiere la planta (García-Garrido *et al.*, 2009, 449). El hecho de que la tasa y el porcentaje de emergencia de plántulas de albahaca fueron mayores en los tratamientos inoculados con HMA se atribuye a la fertilidad del sustrato del inóculo, pues en esta etapa no se encontró colonización. En estudios realizados por Colla *et al.* (2008, 501) encontraron que el arbusculo, estructura micorrízica que garantiza el intercambio de sustancias esenciales durante la simbiosis, debe estar presente para que la planta obtenga los beneficios del endófito. En el presente estudio no se encontró arbusculo por lo que en esta etapa no hubo beneficio de los HMA en las plántulas. El hecho que la tasa y el porcentaje de emergencia se incrementó en aquellas plántulas cuyas semillas se trataron con el consorcio de HMA, se atribuye a la capacidad de respuesta de cada variedad y no como un producto de la inoculación con los HMA, pues en esta etapa no se encontró colonización en la raíz de las plántulas. Estos resultados coinciden con los reportados por Fernández-Martin (2003, 13) quien indica que los HMA requieren de un periodo considerable para su establecimiento y reconocimiento de las raíces que está en dependencia de la

edad del cultivo y del proceso de fotosíntesis. El presente estudio se realizó en la etapa fenológica de emergencia, por lo que indudablemente el tiempo no fue suficiente para que se estableciera una simbiosis micorrízica (Fernández-Martin, 2003, 13), aunque se observó un inicio del proceso con la presencia de micelio vegetativo penetrando en las raíces (Figura 1). La variedad Napoletano mostró valores superiores en la tasa y porcentaje de emergencia en la interacción de los factores, resultado que se relaciona con la capacidad de respuesta de esta variedad a la salinidad, la cual se clasificó previamente como tolerante al NaCl (Reyes-Pérez *et al.*, 2013a, 101; 2013b, 869; 2013c, 257; Reyes-Pérez *et al.*, 2014, 35; Batista-Sánchez *et al.*, 2015, 265). En este estudio Genovese mostró valores inferiores de tasa y porcentaje de emergencia. Reyes-Pérez *et al.* (2013a, 101) también reportó que la variedad Genovese fue la más sensible al estrés por NaCl.

También las variedades mostraron diferencias en las variables morfométricas con respuesta diferencial a los tratamientos de NaCl y HMA aplicados. La altura de las plántulas fue mayor en Napoletano, Genovese y menor en Nufar. Esta variable que es el resultado de la asimilación de nutrientes y los procesos de división y elongación celular de manera normal, su respuesta en condiciones de salinidad alude a la tolerancia de la planta ante la interferencia en la nutrición mineral, la toxicidad iónica y a los daños en el aparato fotosintético (Paellob, 2010, 46). La altura de plántula fue mayor en aquellas que procedían de semillas inoculadas con HMA; sin embargo, este resultado pudiera estar relacionado con las características propias de la variedad y no a la inoculación pues en esta etapa no se manifestó el beneficio dado por este simbionte debido a la etapa fenológica del cultivo ya que fue muy poco tiempo para que se estableciera la simbiosis. Las afectaciones en el crecimiento y la acumulación de biomasa en las plantas en condiciones salinas, se mantienen a través de todo su ciclo vegetativo. Sin embargo, se requiere atención especial durante el periodo inicial de crecimiento de las plántulas, una vez aplicado el estrés abiótico, el cual se caracteriza por las variaciones que ocurren en los procesos del metabolismo de las plántulas (Khaliq *et al.*, 2014, 18). Estos resultados se atribuyen a la restricción en el crecimiento celular que provoca el estrés salino a las plántulas, debido a la interferencia de los iones salinos con la nutrición de las plántulas o a la toxicidad de iones acumulados que conducen a la muerte celular y esto a su vez afecta la biomasa fresca de la raíz (Chávez y Gonzáles, 2009, 231). Argentel *et al.* (2006, 45) en plantas de trigo, encontraron que conforme se incrementaban

los niveles de salinidad se redujo la altura de las plántulas, biomasa fresca y la longitud de la raíz, lo cual se atribuye a una disminución del crecimiento celular debido a una sequía fisiológica de la planta y a la interferencia de los iones salinos como son el Na^+ y el Cl^- (Bray *et al.*, 2000, 1158). Por su parte, Munns (2002, 301) plantea que la biomasa y la altura de las plántulas son características suficientes para conocer la tolerancia a la salinidad, a su vez la morfometría es uno de los principales factores que influyen en el crecimiento de las plantas. Los resultados del presente estudio muestran como tolerante a la salinidad en la etapa de emergencia a la variedad Napoletano con respecto a Nufar y Genovese. Las disminuciones en la altura de las plántulas es el resultado de una pérdida de turgencia a nivel celular, provocada por la disminución del potencial osmótico en el medio de crecimiento de los cultivares (Heidari y Jamshid, 2010, 39). Estos daños son el resultado de los trastornos provocados en el metabolismo de las plántulas, principalmente por los cambios en el potencial osmótico del suelo, el desbalance nutricional por la interacción entre los iones tóxicos y los nutrientes esenciales para el crecimiento y desarrollo, así como el estrés oxidativo, inducido a partir de los diferentes efectos por el aumento de las especies reactivas de oxígeno (ERO) en los componentes celulares (Nawaz *et al.*, 2010, 5475).

La acumulación de biomasa fresca de parte aérea en estudios relacionados con la salinidad se atribuye al efecto osmótico que resulta de las concentraciones elevadas de sales disueltas que disminuyen el potencial osmótico de la solución del suelo y consecuentemente la disponibilidad del agua para la planta, tal efecto negativo trae como resultados una disminución de la biomasa fresca en las plántulas (Tadeo y Gómez-Cadena, 2008, 577). El hecho que la biomasa fresca de parte aérea fue mayor en 100 mM de NaCl con respecto a 0 mM de NaCl se atribuye a que al analizar por separado el factor NaCl, se consideran los valores de las tres variedades y en este caso los valores de Napoletano fueron superiores para esta variable lo que ocasiona que se incrementen estos valores por ser una variedad tolerante al estrés por NaCl; esta respuesta también se debe a que la biomasa fresca de parte aérea se considera una variable representativa en los estudios de estrés abiótico, ya que un valor alto de ésta, indica que la planta fue capaz de tolerar el estrés a que fue sometida.

Los resultados del presente estudio en relación a la biomasa fresca de la raíz están en correspondencia con los obtenidos por Meloni (2012, 79) quien reportó en el cultivo de algodón, que a medida se incrementaron los niveles de NaCl, disminuyó el crecimiento de las raíces y de

la biomasa fresca. El efecto de la salinidad retarda el crecimiento de las plántulas a través de su efecto sobre varios procesos fisiológicos tales como fotosíntesis, conductividad estomática, ajuste osmótico, absorción de iones, síntesis de ácidos nucleicos, actividad enzimática y balance hormonal; además afecta el proceso de transporte de agua e iones, lo que promueve toxicidad iónica y desbalance nutricional y en consecuencia las variables de crecimiento como son altura de la planta y biomasa fresca de la raíz son afectadas (Evelin *et al.*, 2012, 203). Uno de los principales efectos fisiológicos que provoca el estrés salino en las plantas es la reducción del crecimiento debido a una disminución en la capacidad de absorber agua por éstas, por lo que la variable altura de las plantas se convierte en un indicador muy importante para evaluar la capacidad de tolerancia de las plantas antes este tipo de estrés (Núñez *et al.*, 2007, 95). Por su parte, Paellob (2010, 46) señala que a nivel de raíces, las sales alteran la absorción de agua por lo que afectan el crecimiento de estos órganos; disminuye considerablemente la cantidad de pelos adsorbentes, afectando la absorción de agua y nutrientes. Los resultados del presente estudio coinciden con lo reportado por Deinlein *et al.* (2014, 371) quien afirma que la salinidad es un fenómeno que afecta en gran medida el crecimiento de la parte aérea y el desarrollo de las raíces, al restringir la absorción de agua lo cual se relaciona con la disminución del potencial osmótico y a la vez el daño que éste provoca al desarrollo general de las plántulas. La raíz como principal órgano de absorción de agua e iones, tiene gran importancia en la respuesta a corto y largo plazo al estrés salino. En este órgano se sintetiza ácido abscísico (ABA), una de las señales tempranas de estrés capaz de producir cambios fisiológicos locales (conductividad hidráulica) y a distancia (cierre estomático) (Hartung *et al.*, 2002, 27). Las características anatómicas y morfométricas de la raíz tienen gran influencia en la capacidad de adaptación a la salinidad (Maggio *et al.*, 2001, 999). El efecto de las sales sobre las raíces de las plantas siempre resulta negativo y se expresa en un crecimiento menor de estos órganos y afecta el crecimiento general de la planta al reducir el volumen de suelo que exploran las raíces (Almasoum, 2000, 773). También las sales afectan el crecimiento al alterar la absorción de agua por las raíces, fenómeno que se denomina componente osmótico y es el efecto inicial que reciben las plantas (Shannon y Grieve, 1999, 5).

Respecto a la colonización de raíces por HMA, en este estudio no se presentaron evidencias de la aparición de vesículas, arbuscúlos y/o hifas cenocíticas (hifas) típicas de los HMA. Lo anterior es probable que se deba a que en la etapa fenológica de emergencia, no fue suficiente la edad o el

desarrollo de las plántulas para que ocurra el proceso simbiótico entre la planta y el hongo, ya que sino existe exudación radical no hay reconocimiento entre el hongo y las raíces y el proceso se ve limitado por lo que es de gran importancia el estado fenológico en que se encuentre el cultivo (Arriagada *et al.*, 2010, 118). De acuerdo con Fernández-Martin (2003, 13) el proceso simbiótico se inicia a partir de una hifa de penetración, originada desde una espora germinada (propágulo de HMA más resistente), raicilla infectada o segmento de hifa que se encuentran en el suelo o sustrato y activan su crecimiento en condiciones de humedad y temperatura adecuadas o señales químicas favorables. Al hacer contacto con la planta en los pelos absorbentes o células epidérmicas situadas detrás de la región meristemática, se forma una hifa especializada llamada apresorio que funciona como sostén en la fase primaria de penetración a la raíz. Por su parte, Colla *et al.* (2008, 501) mencionan que la colonización fúngica ocurre de manera continua y en dos sentidos, hacia el interior y exterior de la raíz. Una vez dentro de la raíz, se origina una hifa infectiva denominada haustorio, la cual penetra en el interior radical ramificándose intensamente de manera dicotómica para formar el arbusculo, estructura micorrízica que garantiza el intercambio de sustancias esenciales durante la simbiosis y que debe estar presente para que la planta obtenga los beneficios que reporta este endófito. Se sabe que los compuestos exudados por las raíces de las plantas (flavonoides, auxinas, strigolactona) permiten el reconocimiento de los HMA, estimulando la germinación de esporas, el crecimiento y ramificación de las hifas. Para que ocurra este proceso, las plantas realizan el proceso fotosintético del cual la planta utiliza los elementos necesarios para su desarrollo y otros compuestos son desechados por las raíces a través de los exudados radicales (Akiyama *et al.*, 2002, 334), por lo que la diversidad de las plantas y su edad son importantes en este proceso simbiótico (Arriagada *et al.*, 2010, 118).

Conclusiones

Ninguna de las raíces de las plántulas de las variedades en estudio mostraron presencia de vesículas, arbusculos y/o hifas cenocíticas (hifas) típicas de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA). El periodo de emergencia (21 días) fue insuficiente para lograr la simbiosis micorrízicas entre las plántulas de albahaca y los HMA. Sin embargo, todas las variables mostraron valores superiores en aquellas plántulas cuyas semillas se inocularon con HMA. Las variedades mostraron diferencias para la mayoría de las variables evaluadas, siendo Napoletano superior

respecto a Nufar y Genovese. La mayoría de las variables disminuyeron sus valores conforme las concentraciones de NaCl incrementaron.

Agradecimientos

Esta investigación se desarrolló con recursos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C., a través de los proyectos con clave interna AGROT1 y 143C y recursos del proyecto SEP-CONACYT No. 236240. Se agradece el apoyo técnico de Carmen Mercado-Guido, Pedro Luna-García, Lidia Hirales-Lucero, Manuel Salvador Trasviña-Castro y Mirian Lizzeth Hernández-De Haro. El Dr. Luis Guillermo Hernandez-Montiel y el Dr. Bernardo Murillo-Amador fungen como directores de tesis de Yuneisy Milagro Agüero Fernández, estudiante de doctorado en ciencias en el uso, manejo y preservación de los recursos naturales con orientación en agricultura sustentable.

Referencias

- Akiyama, K., Matsuoka, H., Hayashi, H. (2002). Isolation and identification of a phosphate deficiency-induced C-glycosylflavonoid that stimulates arbuscular mycorrhiza formation in melon roots. *Mol Plant Microbe Interact.* 15:334-340.
- Allen, M.F. (2007). Mycorrhizal fungi: highways for water and nutrients in arid soils. *Vadose Zone Journal.* 6:291-297.
- Almasoum, A. (2000). Effect of planting depth on growth and productivity of tomatoes using drip irrigation with semi saline water. *Acta Hort.* 537:773-778.
- Argentel, L., González, L. M., Plana, R. (2006). Efecto de altas concentraciones salinas sobre la germinación y el crecimiento del trigo variedad Cuba-C-204 (*Triticum aestivum*). *Cultivos Tropicales.* 27:45-48.
- Arriagada, C., Pereira, G., Garcia-Romera, I., Ocampo, J.A. (2010). Improved zinc tolerance in *Eucalyptus globulus* inoculated with *Glomus deserticola* and *Trametes versicolor* or *Coriolopsis rigida*. *Soil Biol. Biochem.* 42:118-124.

- Bago, B., Bécard, G. (2002). Bases of the obligate biotrophy of arbuscular mycorrhizal fungi. In: Gianinazzi, S., Schüepp, H., Barea, J.M., Hasel Wandter K. (Eds.). Mycorrhizal Technology in Agriculture. Birkhauser Verlag Basel, Switzerland. pp. 33-48.
- Batista-Sánchez, D., Nieto-Garibay, A., Alcaraz-Meléndez, L., Troyo-Diéguez, E., Hernández-Montiel, L.G., Ojeda-Silvera, C.M. y Murillo-Amador, B. (2015). Uso del FitoMas-E® como atenuante del estrés salino (NaCl) durante la emergencia y crecimiento inicial de *Ocimum basilicum* L. Revista Electrónica Nova Scientia. 7:265-284.
- Bray, E.A., Bailey-Serres, J., Weretilnyk, E. (2000). Response to abiotic stresses. In: Biochemistry and Molecular Biology of Plants. Buchanan, B.B., Gruissem, W., Jones, R.L. (Eds.). American Society of Plant Physiologists Press, Rockville, MD. U.S.A. p. 1158-1203.
- Bremner, J. M. (1965). Total nitrogen. Methods of soil analysis. Part 3. Agronomy 5. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin, U.S.A. pp. 1091-1100.
- Castellanos, J.Z., Uvalle-Bueno, J.X., Aguilar-Santelises, A. (2000). Manual de interpretación de análisis de suelo y agua. Universidad Autonoma de Chapingo. Estado de Mexico. pp. 94-97.
- Chávez, S.L., González, L.M. (2009). Mecanismos moleculares involucrados en la tolerancia de las plantas a la salinidad. ITEA. 105:231-256.
- Cheng, K.L., Bray, R.H. (1951). Determination of calcium and magnesium in soil and plant material. Soil Science. 72:449-458.
- Colla, G., Roupheal, Y., Cardarelli, M., Tullido, M., Rivera, C.M., Rea, E. (2008). Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal in zucchini plants grown at low and high phosphorus concentration. Biology and Fertility of Soils. 44:501-509.
- Deinlein, U., Stephan, A. B., Horie, T., Luo, W., Xu, G., Schroeder, J. I. (2014). Plant salt-tolerance mechanisms. Trends Plant Sci. 19:371-379.
- Evelin, H., Giri, B., Kapoor, R. (2012). Contribution of *Glomus intraradices* inoculation to nutrient acquisition and mitigation of ionic imbalance in NaCl-stressed *Trigonella foenum-graecum*. Mycorrhiza. 22:203-217.
- Evelin, H., Giri, B., Kapoor, R. (2013). Ultrastructural evidence for AMF mediated salt stress mitigation in *Trigonella foenum-graecum*. Mycorrhiza. 23:71-86.

- Fernández, F., Gómez, R., Vanegas, L.F., Martínez, M.A., Blanca de la Noval y Rivera, R. (1999b). Metodología de recubrimiento de semillas con inoculo micorrizógeno. Patente Cubana No. 22641.
- Fernández, F., Rodríguez, E.L., Gómez, R. (1999a). Caracterización de la efectividad de un nuevo inoculante micorrizógeno en Poaceas. *CultivosTropicales*. 20:9-14.
- Fernández-Martin, F. (2003). Avances en la producción de inoculantes micorrízicos arbusculares. En: Rivera, R., Fernández, K. (Eds.). *El manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: El Caribe*. Ministerio de Relaciones Exteriores de Cuba. La Habana, Cuba. 166 p.
- Finlay, R.D., Lindahl, B.D., Taylor, A.F.S. (2008). Responses of mycorrhizal fungi to stress. In: Avery S., Stratford M., van West P. (Eds.). *Stress in yeasts and filamentous fungi*. Edit. Elsevier. Amsterdam. pp. 201-220.
- García, E. (2004). Modificaciones al sistema de clasificación climática de *Köppen*. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México, México. 98 p.
- García-Garrido, J.M., Lenzemo, V., Castellanos-Morales, V., Steinkellner, S., Vierheilig, H. (2009). Strigolactones, signals for parasitic plants and arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*. 19: 449-59.
- Ghazi, N., Al-Karaki. (2008). Response of wheat and barley during germination to seed osmopriming at different water potential. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 181:229-235.
- Gomes-Filho, E., Prisco, J.T., Campos, F.A.P., Enéas-Filho, J. (1983). Effects of NaCl salinity *in vivo* and *in vitro* on ribonuclease activity of *Vigna unguiculata* cotyledons during germination. *Physiologia Plantarum*. 59:183-188.
- González, L.M., Zamora, A., Céspedes, N. (2000). Tolerancia a la salinidad en cultivares de *Vigna unguiculata* L. Walp durante las etapas iniciales del crecimiento de las plantas. *Alimentaria*. 314:105-108.
- Gorai, M., Neffati, M. (2007). Germination responses of *Reaumuria vermiculata* to salinity and temperature. *Annals of Applied Biology*. 151:53-59.
- Hartung, W., Sauter, A., Hose, E. (2002). Abscisic acid in the xylem: where does it comes from, where does it goes to? *Journal of Experimental Botany*. 53:27-32.

- Heidari, M., Jamshid, P. (2010). Interaction between salinity and potassium on grain yield, carbohydrate content and nutrient uptake in pearl millet. *J Agric Biol Sci.* 5:39-46.
- Horie, T., Karahara, I., Katsuhara, M. (2012). Salinity tolerance mechanisms in glycophytes: An overview with the central focus on rice plants. *Rice.*10:5-11.
- ISTA, (2010). Rules proposals for the International Rules for Seed Testing 2010 Edition, OM Rules Proposals for the International Rules for Seed Testing 2010 Edition. Approved by ECOM Decision. No.498. 51 p.
- Jackson, M.L. (1958). Soil Chemical analysis. Prentice-Hall, Inc., Englewood. Cliffs, N.J. U.S.A. pp. 66-81.
- Jackson, M.L. (1976). Análisis Químico de Suelos. Ediciones Omega, S.A., Barcelona, España. pp. 283-301.
- Jeffries, P., Gianinazzi, S., Perotto, S., Turnau, K., Barea, J. (2003). The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biology and Fertility of Soils.* 37:1-16.
- Khalig, S., Vllah, Z., Athar H., Khal, R. (2014). Physiological and biochemical basis of salt tolerance in *Ocimum basilicum L.* *Journal of Medicinal Plants Studies.* 2:18-27.
- Lamz, P.A., González, C.M., Reyes, G.Y. (2013). Indicadores bioquímicos para la selección temprana de genotipos de arroz (*Oryza sativa L.*) con tolerancia a la salinidad. *Cultivos Tropicales.* 1:11-17.
- Little, T.M., Hills, F.J. (1989). Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. México. Edit. Trillas. 270 p.
- Maas, E.V. (1986). Salt tolerance of plants. *Applied Agricultural Research.* 1:12-26.
- Maggio, A., Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Consiglio, M.F., Joly, R.J. (2001). Unravelling the functional relationship between root anatomy and stress tolerance. *Functional Plant Biology.* 28:999-1004.
- Maguire, J. D. (1962). Speed of germination -Aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science.* 2:176-177.

- Meloni, D.A. (2012). Respuestas fisiológicas a la suplementación con calcio de plántulas de vinal (*Prosopis ruscifolia* G.) estresadas con NaCl. *Rev. FCA UNCUYO*. 44:79-88.
- Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Journal of Plant Biology*. 49:301-304.
- Nawaz, K., Hussain, K., Majeed, A., Khan, F., Afghan, S. y Ali, K. (2010). Fatality of salt stress to plants: Morphological, physiological and biochemical aspects. *Afric. J. Biotechnol.* 9:5475-5480.
- NOM-021-SEMARNAT. (2000). Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Secretaria de Medio ambiente y Recursos Naturales. Diario Oficial. Segunda Sección. México D. F. pp. 12-13.
- Núñez, M., Mazorra, L.M., Martínez, L., González, M.C., Robaina, C. (2007). Análogos de brasinoesteroides revierten parcialmente el impacto del estrés salino en el crecimiento inicial de las plántulas de dos genotipos de arroz (*Oryza sativa* L.). *Cultivos Tropicales*. 28:95-99.
- Paellob, F. (2010). Root length, ion uptake and relationship with salinity tolerance in wheat, rice and previff. *Plant Growth Regulation*. 1:46-54.
- Parés, J., Arizaleta, M.A., Sanabria, M.E., García, G. (2008). Efecto de los niveles de salinidad sobre la densidad estomática, índice estomática y el grosor foliar en plantas de *Carica papaya* L. *Acta Botánica Venezuela*. 31:27-34.
- Pascual, J.A., García, C., Hernández, T., Moreno, J.L., Ros, M. (2000). Soil microbial activity as a biomarker of degradation and remediation processes. *Soil Biol Biochem*. 32:1877-1883.
- Phillips, J.M., Hayman, D.S. (1970). Improved procedure for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular fungi for rapid assessment of infection. *Transactions British Mycological Society*. 55:158-161.
- Reyes-Pérez, J.J., Murillo-Amador, B., Nieto-Garibay, A., Troyo-Diéguez, E., Reynaldo-Escobar, M.I., Rueda-Puente, E.O., García-Hernández, J.L. (2013a). Tolerancia a la salinidad en variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) en las etapas de germinación, emergencia y crecimiento inicial. *Universidad y Ciencia*. 2:101-112.
- Reyes-Pérez, J.J., Murillo-Amador, B., Nieto-Garibay, A., Troyo-Diéguez, E., Reynaldo-Escobar, M.I., Rueda-Puente, E.O. (2013b). Germinación y características de plántulas de

variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) sometidas a estrés salino. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 6:869-880.

Reyes-Pérez, J.J., Murillo-Amador, B., Nieto-Garibay, A., Troyo-Diéguez, E., Reynaldo-Escobar, M.I., Rueda-Puente, E.O. (2013c). Emergencia y crecimiento de plántulas de variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) en condiciones salinas. Rev. FCA UNCUYO. 45:257-268.

Reyes-Pérez, J.J., Murillo-Amador, B., Nieto-Garibay, A., Troyo-Diéguez, E., Reynaldo-Escobar, M.I., Rueda-Puente, E.O. (2014). Crecimiento y desarrollo de variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) en condiciones de salinidad. Revista Terra Latinoamericana. 1:35-45.

Rodríguez, W., Leihner, D. (2006). Análisis del crecimiento vegetal. Fisiología de la producción de los cultivos tropicales. 1ra Ed. San José, Costa Rica. Editorial Universidad de Costa Rica. 37 p.

Schubert, A., Hayman, D.S. (1986). Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza: XVI. Effectiveness of different endophytes at different levels of soil phosphate. New Phytologist. 103:79-90.

Shannon, M.C, Grieve, C.M. (1999). Tolerance of vegetable crops to salinity. Sci. Hort. 78:5-38.

Smith, S., Read, D. (2008). Mineral nutrition, toxic element accumulation and water relations of arbuscular mycorrhizal plants in Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press. London, U.K. pp. 144-187.

StatSoft. (2011). Statistica. System reference. StatSoft, Inc., Tulsa, Oklahoma, U.S.A. 1098 p.

Steel, G.D.R., Torrie, J.H. (1995). Bioestadística. Principios y procedimientos. México. Edit. McGraw Hill. 622 p.

Swift, C.E. (2002). Mycorrhiza and soil phosphorus levels. Consultado en línea el 04 de marzo de 2016.

<http://mining.state.co.us/SiteCollectionDocuments/MycorrhizaAndSoilPhosphorusLevels.pdf>. 4 p.

Tadeo, F.R., Gómez-Cadena, A. (2008). Fisiología de las plantas y el estrés. En: Fundamentos de Fisiología Vegetal. Azcón-Bieto, J., Talón, M. (Eds.). Mc Graw-Hill Interamericana. Madrid, España. pp: 577-597

Tal, M. (1985). Genetics of salt tolerance in higher plants: theoretical and practical considerations. *Plant and Soil*. 89:199-226.

Van Loon, J.C. (1985). Selected Methods of Trace Metal Analysis: Biological and Environmental Samples. *Chemical Analysis. A series of Monographs on Analytical Chemistry and its Applications*. Vol. 80. Elving, P.J., Winefordner, J.D. (Eds.). John Wiley and Sons. New York, U.S.A. 357 p.

Van, I.W. (2015). Effects of different day and night salinity levels on vegetative growth, yield and quality of tomato. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 1:99-112.

