

Efecto de gremios de hongos micorrícicos arbusculares aislados de un ambiente desértico sobre el crecimiento de frijol *Phaseolus vulgaris* bajo una condición de déficit hídrico

Effect of arbustive mycorrhizal associations isolated from a desert environment on the growth of the bean *Phaseolus vulgaris* under water deficit.

Laura C. Herrera-Corrales^{1, 4}, David F. Ospina-Alzate^{2, 5}, Omar Ocampo-Jiménez^{3, 6}

Resumen

Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) aumentan la capacidad de las plantas para resistir o tolerar condiciones estresantes como las ocasionadas por la deficiencia de nutrientes, el ataque de patógenos, la presencia de contaminantes químicos y el déficit hídrico. Sin embargo, estos hongos tienen diferentes efectos sobre las plantas. Estos efectos, son regulados por la planta, las condiciones ambientales y el hongo, de tal manera, que aunque no existe especificidad entre los simbiosites, no todas las interacciones micorrícicas terminan siendo mutualistas, así, la búsqueda de hongos micorrícicos arbusculares infectivos y efectivos es primordial para una simbiosis benéfica. En este trabajo se seleccionaron cinco sitios de muestreo ubicados en la Alta Guajira colombiana, en los municipios de Riohacha y Maicao, considerando la comunidad de especies vegetales y las características físicas del suelo. Los hongos se multiplicaron en suelo estéril y una mezcla de especies vegetales (*Allium cepa*, *Calendula officinalis*, *Lolium perenne* y *Phaseolus vulgaris*) usadas como plantas trampa. Después de 10 semanas de multiplicación se seleccionaron dos gremios en función del contenido de esporas. Se evaluaron 6 tratamientos con 7 repeticiones por tratamiento: dos gremios de HMA (G 3 y G 4) y un control sin hongo (C) y bajo dos condiciones de humedad: sin agobio hídrico (SAH) y con agobio hídrico (AH). Se evaluó el efecto de los gremios y la condición de humedad sobre la altura de la planta, área foliar, número de hojas, peso seco radical y diámetro del tallo de la planta de frijol (*Phaseolus vulgaris*) y el porcentaje de colonización micorrícica (hifas, vesículas y arbusculos). Cuando las plantas se mantuvieron sin estrés hídrico el gremio que mejores resultados tuvo fue G 3 y para las plantas bajo agobio hídrico el mejor gremio fue G 4. Los hongos micorrícicos nativos de clima desértico pueden ser una alternativa efectiva para usarse en cultivos expuestos a condiciones de sequía.

Palabras clave: estrés hídrico, micorriza, *Phaseolus vulgaris*, simbiosis micorrícica

Abstract

Arbustive mycorrhizal fungi (HMA) increase the ability of plants to resist or tolerate stressful conditions such as those caused by nutrient deficiency, attack by pathogens, chemical contaminants, and water deficit. However, these fungi have different effects on plants that are regulated by the plant, the fungus and environmental conditions, so that although there is no specificity between symbionts, not all mycorrhizal interactions end up being mutualistic, so the search for effective arbuscular mycorrhizal fungi is essential to insure a beneficial symbiosis. In this study, we selected five sampling sites located in the upper Guajira of Colombian in the municipalities of Riohacha and Maicao, considering the plant community and physical characteristics of the soils. The fungi were multiplied in sterile soil and a mixture of plant species (*Allium cepa*, *Calendula officinalis*, *Lolium perenne* y *Phaseolus vulgaris*) were used as plant traps. After 10 weeks of multiplication, two guilds were selected based on the content of propagules. We evaluated 6 treatments with 7 replicates per treatment: two guilds of HMA (G 3 and G 4) and a control without fungus (C) and two moisture conditions [water overwhelmed (AH) and without water burden (SAH)]. The effects of the guilds and the moisture condition on plant height, leaf area, leaf number, root dry weight, stem diameter of bean plants (*Phaseolus vulgaris*) and the percentage of mycorrhizal colonization (hyphae, vesicles, and arbuscules) were

Recibido: octubre 2013; aceptado: marzo 2014.

¹ Docente. Instruimos. Calle 53, # 54-53. Medellín, Antioquia, Colombia.

² Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia. A. A. 1226. Medellín, Antioquia, Colombia.

³ Docente. Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia. A. A. 1226. Medellín, Antioquia, Colombia. Correos electrónicos: ⁴<kristi0619@gmail.com>; ⁵<davospina@hotmail.com>; ⁶<ocampojimenez@gmail.com>.

evaluated. When plants were maintained without hydric stress, the best guild was G 3 and for plants under hydric stress the best guild was G 4. Mycorrhizal fungi native to desert climates may be effective alternatives for use with crops exposed to drought conditions.

Key words: mycorrhiza, mycorrhizal symbiosis, *Phaseolus vulgaris*, water stress

INTRODUCCIÓN

Las sociedades humanas requieren agua para consumo, producción de alimentos, generación de energía y como soporte de las actividades comerciales e industriales. De estas, la agricultura, practicada por 1.200 millones de personas, consume el 65% de agua usada a nivel mundial. Sin embargo, una tercera parte de la población vive en países con disponibilidad de agua entre escasas moderada y severa (Cosgrove y Rijsberman 2000). La sequía y otros factores abióticos como salinidad, temperaturas extremas y toxicidad química son condiciones físicas y químicas comunes que afectan negativamente el crecimiento de las plantas, la producción de cosechas (Maggio et al. 2001, Xiong et al. 2002) y deterioran el ambiente. Según Bray et al. (2000), el estrés, ocasionado por factores abióticos puede reducir en más del 50% la producción de alimentos. Según el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (UNEP), la desertificación amenaza a la cuarta parte del planeta, afecta directamente a más de 250 millones de personas y pone en peligro los medios de vida de más de 1.000 millones de habitantes de más de 100 países al reducir la productividad de las tierras destinadas a la agricultura y la ganadería CINU (2013), ocasionando pérdidas anuales superiores a 42.000 millones de dólares y seis millones de hectáreas de tierras productivas.

Colombia es un país muy rico en agua, la oferta hídrica promedio es de 58 lseg⁻¹ por km², la cual, sextuplica el promedio mundial y triplica la cantidad de agua en Latinoamérica. Sin embargo, hay regiones con escasa precipitación, como la Alta Guajira, con menos de 1 lseg⁻¹ por km². También, la zona Andina y el Caribe colombiano, donde vive el 80% de la población del país, tienen zonas con déficit permanente de agua durante el año hidrológico.

Las interacciones benéficas microorganismo-planta son determinantes en la sanidad de las plantas y la fertilidad de los suelos, afectando la productividad tanto de los suelos agrícolas como de los sistemas vegetales naturales (Barea et al. 2005, Jeffries et al. 2003). La micorriza arbuscular (MA) es la interacción más importante para la mayoría de las plantas, afecta el desarrollo de las comunidades vegetales, la absorción de nutrientes, las relaciones hídricas y la productividad de la

rizósfera. También, actúa como bioprotectora contra los patógenos y el estrés causado por elementos tóxicos. Los factores abióticos como la sequía, la alta concentración de metales pesados, la escasez de nutrientes y las temperaturas extremas pueden influenciar el desarrollo de la micorriza, sin embargo, en casi todos los casos su presencia puede disminuir el estrés ocasionado por estos factores (Jeffries et al. 2003). Además, la micorriza arbuscular mejora las relaciones hídricas de muchas plantas. Porcel y Ruiz (2004) observaron que el potencial hídrico fue mayor en las plantas micorrícicas de soya (*Glicine max*) estresadas que en las plantas no micorrícicas. Mena et al. (2006) mostraron que plantas de Chile (*Capsicum annum*) estresadas por sequía e inoculadas con un consorcio de hongos micorrícicos arbusculares aislados del desierto de Sonora (Sonora, México), registraron mayor tamaño y calidad de frutos que las plantas no micorrícicas bajo humedad adecuada. Ocampo (2003) evidenció que plantas de Chile estresadas por sequía e inoculadas con un consorcio de hongos micorrícicos arbusculares aislados del desierto de Sonora (Sonora, México) registraron mayor peso seco de raíz, de follaje, de frutos, mayor biomasa total, mayor eficiencia en el uso del agua, mayor colonización y más rápida rehidratación del follaje después del riego de auxilio, en comparación con plantas no micorrícicas bajo humedad adecuada o inoculadas con *Glomus fasciculatum* o con un gremio de hongos MA aislados de la selva bajo estrés por agobio hídrico. Sin embargo, los mecanismos por los cuales la MA mejora la tolerancia a la sequía y el flujo de agua a través de la planta hospedera son poco claros. Los posibles mecanismos incluyen: **1)** absorción de agua vía hifas externas (Auge et al. 2003); **2)** regulación estomatal a través de señales hormonales (Goicoechea et al. 1997); **3)** un efecto indirecto sobre las relaciones hídricas debido al incremento en la absorción de fósforo (Fitter et al. 1988); **4)** mayor ajuste osmótico en plantas micorrícicas (Porcel y Ruiz 2004, Ruiz 2003); y **5)** mejoramiento de las propiedades físico y químicas del suelo (Buscot 2005).

El objetivo del presente trabajo fue aislar y seleccionar gremios de hongos MA aislados de la rizósfera de plantas nativas de clima seco y estudiar su potencialidad en la promoción del crecimiento de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) cultivadas bajo condiciones de déficit hídrico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento de hongos MA. El muestreo se llevó a cabo en la península colombiana de la Guajira, en la región denominada Alta Guajira, específicamente en los municipios de Riohacha y Maicao. Se seleccionaron cinco sitios de muestreo para el aislamiento de gremios de HMA, cada uno con comunidades vegetales y características físicas y químicas diferentes. De cada una las muestras de suelo recolectadas se realizaron el respectivo conteo de esporas, estableciendo el número promedio por 100 g de suelo. Debido a la baja cantidad de esporas encontradas, los gremios de hongos micorrízicos arbusculares (HMA; G 1, G 2, G 3, G 4, G 5) fueron multiplicados utilizando una mezcla de plantas trampa: cebolla (*Allium cepa*), frijol (*Phaseolus vulgaris*), caléndula (*Calendula officinalis*) y pasto (*Lolium perenne*). La multiplicación se realizó en macetas que contenían una mezcla de suelo-arena estéril, fertilizada con una fórmula comercial baja en fósforo. De los gremios multiplicados se seleccionaron dos (G 3 y G 4) en función del contenido de propágulos (esporas). La composición florística del gremio G 3 comprendía las siguientes especies: *Bastardio viscosa*, *Capparis odoratissima*, *Ipomea carnea*, *Opuntia wentiana*, *Phitecellobium* sp., *Portulaco oferacea*, *Prosopis juliflora* y *Stenocereus griseus*. La composición florística del gremio G 4 comprendía las siguientes especies vegetales: *Castela erecta*, *Cephalocereus russelianas*, *Croton rhamnifolium*, *Opuntia wentiana* y *Phitecellobium* sp.

Extracción de esporas (inóculo). Las muestras de suelo se tamizaron en húmedo, siguiendo una metodología modificada a la descrita por el INVAM (2006). Donde se tomaron 100 g de suelo que fueron licuados con 300 ml de agua corriente, el material licuado fue suspendido por agitación manual en un vaso de precipitados aforando a 500 ml con agua corriente. La suspensión se vació sobre un juego de tamices de 70, 100, 150 y 500 μm . El material recolectado en los tamices de 150 y 500 μm se lavó y se transfirió a una probeta de en la cual se vertió glicerol hasta la marca de 250 ml para separar las esporas por flotación. Después, el sobrenadante se vació nuevamente sobre en el tamiz de 500 μm . El material recuperado se colocó en probetas y se suspendió con agua corriente hasta la marca de 20 ml. Posteriormente, se tomaron alícuotas de 1 ml y se colocaron en cajas de Petri. Utilizando un estereomicroscopio se contaron las esporas en cada caja y se obtuvo el número promedio de esporas por 100 g de suelo. Los conteos se realizaron por triplicado. Solo se consideraron las esporas intactas y de apariencia sana. Si algunas esporas estaban agrupadas en esporocarpos, estos se consideraron como una espora. Para evitar contar esporas más de una vez, las esporas se fueron destruyendo al contarlas.

Experimento de agobio hídrico en frijol. Se evaluaron 6 tratamientos con 7 repeticiones por tratamiento: dos gremios de hongos MA (G 3 y G 4) y un control sin hongo (C), todos bajo dos condiciones de humedad [agobio hídrico (AH) y sin agobio hídrico (SAH)], y cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico (sin estrés hídrico, estrés hídrico moderado, estrés hídrico severo y después de un riego de rehidratación). Tres semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) esterilizadas superficialmente fueron sembradas bajo condiciones de vivero en macetas con 2 kg de una mezcla de suelo-arena estéril. Las plantas se regaron cada dos días con suficiente agua para mantener el suelo a capacidad de campo y se fertilizaron con una fórmula comercial baja en fósforo (se incrementó la dosis de fósforo si las plantas mostraban síntomas de deficiencia de este elemento). 15 días después de la siembra se dejó una planta por maceta, seleccionando plantas visualmente sanas y de altura, área foliar, número de hojas y grosor de tallo, uniformes. En esta fecha las plantas se inocularon con aproximadamente 500 esporas/100 g de suelo. El tratamiento control recibió un filtrado pasado por el tamiz de 500 μm obtenido a partir del suelo-inóculo, para incorporar otros microorganismos presentes en él, excepto los propágulos de hongos MA. A los 45 días después de la siembra las plantas se sometieron a un régimen de agobio hídrico que consistió en la eliminación de los riegos y fertilización por un período de 21 días, seguido por un riego de rehidratación. En cada etapa del régimen de agobio hídrico se midieron las variables del crecimiento vegetativo y de colonización micorrízica.

Variables de crecimiento vegetativo. Se midieron las siguientes variables de crecimiento: altura de la planta, área foliar, número de hojas, peso seco radical y diámetro del tallo, siguiendo la metodología propuesta por Hunt (1982) y Radford (1967).

Colonización micorrízica arbuscular de raíces. Se llevó a cabo siguiendo el método de Phillips y Hayman (1970) con algunas modificaciones. Las raíces preservadas en medio FAA (formol-ácido acético-alcohol etílico) se cortaron en segmentos de aproximadamente 1 cm de longitud y se lavaron varias veces con agua corriente, posteriormente se colocaron en tubos de ensayo y blanquearon con KOH 10% (w/v) a 121 °C por 10-15 min (el tiempo dependió del tamaño, estructura y pigmentación de la raíz), se retiró el KOH y se lavaron con abundante agua corriente. Las raíces se acidificaron con HCl 2% por 15 min. Después de acidificadas, se tiñeron con azul de tripano al 0,05% y se pigmentaron a 121 °C por 10-15 min. Después de teñidas las raíces, se retiró el exceso de colorante y se adicionó 1 ml de la mezcla glicerol-agua al 50% (v/v). 100 segmentos de raíz por planta fueron fijados en portaobjetos (15 por portaobjetos) para evaluar el porcentaje de colonización (hifas, vesículas y arbusculos) empleando un microscopio óptico a 40X.

Análisis estadísticos. Para el procesamiento y análisis estadístico de los datos se empleó el utilitario estadístico SPSS (versión 19). En el cual se realizaron los análisis de varianza, pruebas de comparación de medias (DMS, Fisher). Los experimentos se llevaron a cabo con un diseño completamente aleatorizado.

RESULTADOS

Selección de gremios. Después de la multiplicación se procedió con el conteo de esporas en todos los gremios siguiendo la metodología ya descrita. Con los valores obtenidos de la prueba F con un nivel de significancia de 0,05, se pudo determinar que existe diferencia significativa entre los gremios en cuanto al número de esporas. Para identificar los gremios diferentes se aplicó la prueba DMS, los resultados obtenidos permitieron establecer que el gremio G 3 contenía el mayor número de esporas, seguido del gremio G 4 y por último los gremios G 1, G 2 y G 5 (figura 1).

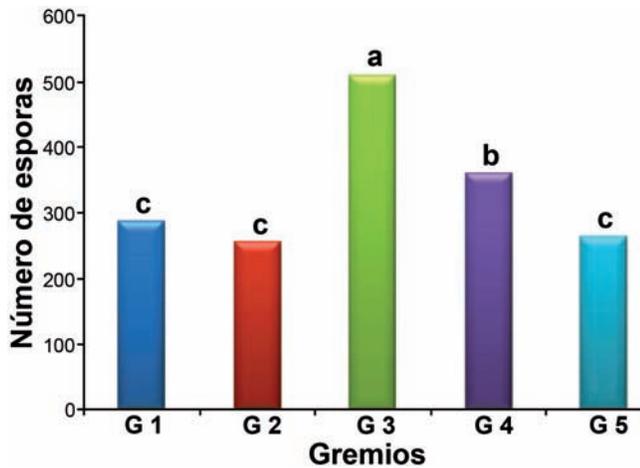


Figura 1. Conteo de esporas por gremio después de un ciclo de multiplicación en cultivo trampa (G1 = gremio 1, G2 = gremio 2, G3 = gremio 3, G4 = gremio 4 y G5 = gremio 5; los valores se obtuvieron aplicando la prueba F con un nivel de significancia de 0,05; letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos)

Variables de crecimiento vegetal. *Variable altura.* Durante las semanas 1 y 4, que corresponden a las fechas de evaluación sin estrés y después de un riego de rehidratación, se observaron diferencias significativas para esta variable. En las semanas 2 y 3, correspondientes a estrés moderado y estrés severo, no se encontraron diferencias significativas (figura 2). En la primera fecha de evaluación, los tratamientos G 3 SAH y CSAH presentaron las medias más altas, seguidos del tratamiento CAH y por último los tratamientos G 4 AH y G 3 AH. En la cuarta fecha de evaluación, el tratamiento G 4 SAH mostró la media más alta, seguido del tratamiento G 4 AH, después, los

tratamientos G 3 SAH, CSAH y CAH los cuales no presentaron diferencias estadísticas entre ellos; y por último el tratamiento G 3 AH (figura 2).

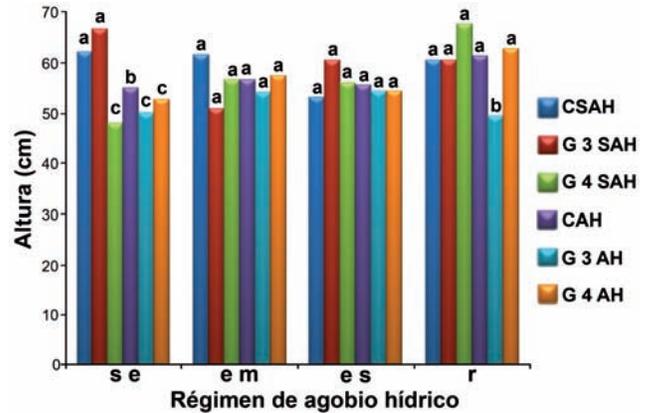


Figura 2. Altura de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) inoculadas con gremios 3 (G 3) y 4 (G 4) de hongos micorrícicos arbusculares (HMA), y un control sin hongos micorrícicos arbusculares (C), bajo dos condiciones de humedad: sin agobio hídrico (SAH) y con agobio hídrico (AH), en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico (se = sin estrés hídrico; em = estrés hídrico moderado; es = estrés hídrico severo; r = después de un riego de rehidratación; CSAH = control sin agobio hídrico; G 3 SAH = gremio 3 sin agobio hídrico; G 4 SAH = gremio 4 sin agobio hídrico; CAH = control con agobio hídrico; G 3 AH = gremio 3 con agobio hídrico; G 4 AH = gremio 4 con agobio hídrico; los valores se obtuvieron aplicando la prueba F con un nivel de significancia de 0,05; letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos)

Variable área foliar. Durante las semanas 3 y 4, que corresponden a las fechas de evaluación estrés severo y después de un riego de rehidratación, se observaron diferencias estadísticamente significativas. Para las semanas 1 y 2, correspondientes a las fechas sin estrés y estrés moderado, no se encontraron diferencias significativas. En la tercera fecha de evaluación, el tratamiento CSAH registró la media más alta, seguido de los tratamientos G 3 SAH, G 4 SAH y CAH y, finalmente por los tratamientos G 3 AH y G 4 AH (figura 3). En la cuarta fecha, los tratamientos G 3 SAH y CSAH mostraron diferencias significativas con los tratamientos G 4 SAH, CAH, G 4 AH y G 3 AH (figura 3).

Variable diámetro del tallo. Durante las semanas 1, 2 y 3, que corresponden a las fechas de evaluación sin estrés, estrés moderado y estrés severo, se observaron diferencias estadísticamente significativas. Para la semana 4, correspondiente a la fecha de después de un riego de rehidratación, no se encontraron diferencias significativas. En la primera fecha de evaluación, los tratamientos G 3 AH, G 3 SAH y CSAH mostraron los valores más altos sin que se

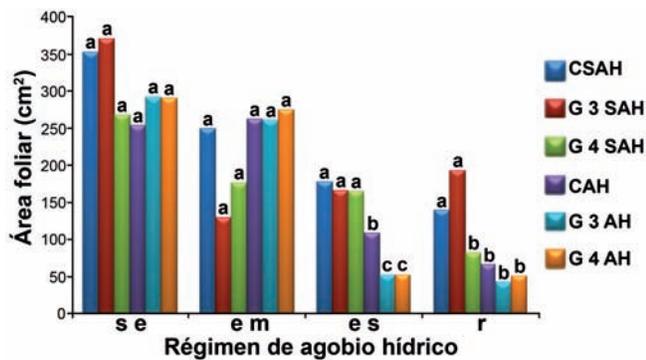


Figura 3. Área foliar de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) inoculadas con gremios 3 (G 3) y 4 (G 4) de hongos micorrícicos arbusculares (HMA), y un control sin hongos micorrícicos arbusculares (C), bajo dos condiciones de humedad: sin agobio hídrico (SAH) y con agobio hídrico (AH), en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico (s e = sin estrés; e m = estrés moderado; e s = estrés severo; r = rehidratación; CSAH = control sin agobio hídrico; G 3 SAH = gremio 3 sin agobio hídrico; G 4 SAH = gremio 4 sin agobio hídrico; CAH = control con agobio hídrico; G 3 AH = gremio 3 con agobio hídrico; G 4 AH = gremio 4 con agobio hídrico; los valores se obtuvieron aplicando la prueba F con un nivel de significancia de 0,05; letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos)

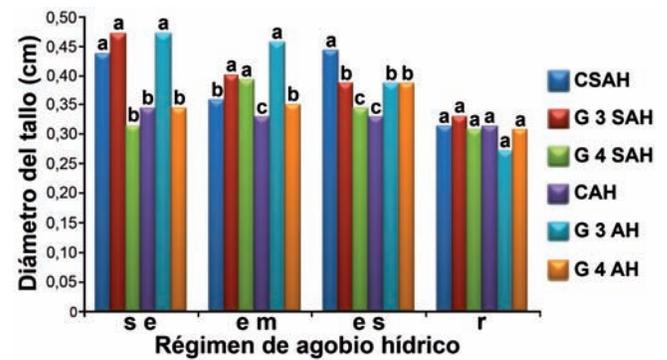


Figura 4. Diámetro del tallo de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) inoculadas con gremios 3 (G 3) y 4 (G 4) de hongos micorrícicos arbusculares (HMA), y un control sin hongos micorrícicos arbusculares (C), bajo dos condiciones de humedad: sin agobio hídrico (SAH) y con agobio hídrico (AH), en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico (s e = sin estrés; e m = estrés moderado; e s = estrés severo; r = rehidratación; CSAH = control sin agobio hídrico; G 3 SAH = gremio 3 sin agobio hídrico; G 4 SAH = gremio 4 sin agobio hídrico; CAH = control con agobio hídrico; G 3 AH = gremio 3 con agobio hídrico; G 4 AH = gremio 4 con agobio hídrico; los valores se obtuvieron aplicando la prueba F con un nivel de significancia de 0,05; letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos)

observaron diferencias significativas entre ellos, seguidos por los tratamientos G 4 SAH, CAH y G 4 SAH. En la segunda fecha, los tratamientos G 3 AH, G 3 SAH y G 4 SAH mostraron los valores más altos sin que se observaran diferencias significativas entre ellos, seguidos por los tratamientos CSAH, G 4 AH, y por último, el tratamiento CAH. En la tercera fecha de evaluación, el tratamiento CSAH mostró diferencias significativas con los tratamientos G 4 SAH y CAH, seguido de los tratamientos G 3 SAH, G 3 AH y G 4 AH los cuales fueron estadísticamente iguales entre ellos. Los tratamientos G 4 SAH y CAH registraron las medias más bajas (figura 4).

Variable número de hojas. Durante las cuatro fechas de evaluación (sin estrés, estrés moderado, estrés severo y después de un riego de rehidratación) se observaron diferencias significativas. Para la primera fecha de evaluación, los tratamientos G 3 SAH y CSAH mostraron las medias más altas seguidos de los tratamientos G 4 AH, G 3 AH y G 4 SAH, y por último el tratamiento G 3 AH. Durante la segunda fecha de evaluación, el tratamiento G 4 AH mostró la media más alta, seguido del tratamiento G 3 AH, y por último, los tratamientos CAH, G 3 SAH, G 4 SAH y CSAH, sin que se observaran diferencias significativas entre ellos. En la tercera fecha de evaluación, el tratamiento G 4 SAH mostró la media más alta, seguido de los tratamientos CSAH, G 3 SAH y CAH, y por último, los tratamientos G 3 AH y G 4 AH los cuales presentaron el mismo valor. En la cuarta fecha de evaluación,

el tratamiento G 3 SAH presentó la media más alta, seguido de los tratamientos G 4 SAH, CSAH, G 4 AH y G 3 AH, y finalmente por el tratamiento CAH (figura 5).

Variable peso seco de raíz (psr). Durante las semanas 1, 2 y 4, que corresponden a las fechas de evaluación sin estrés, estrés moderado y después de un riego de rehidratación, respectivamente, se observaron diferencias significativas. En la fecha 3, correspondiente a la evaluación estrés severo, no se encontraron diferencias significativas. En la primera fecha de evaluación, los tratamientos G 4 SAH y CSAH presentaron las medias más altas sin que se observaran diferencias significativas entre ellos, seguidos por el tratamiento G 3 SAH, y por último, los tratamientos CAH, G 3 AH y G 4 AH. En la segunda fecha de evaluación, el tratamiento G 4 AH presentó la media más alta, seguido por los tratamientos G 4 SAH, CSAH, CAH y G 3 AH los cuales observaron diferencias significativas entre ellos, y por último, el tratamiento G 3 SAH. En la cuarta fecha, los tratamientos G 3 AH y G 4 AH mostraron las medias más altas, seguidos de los tratamientos G 4 SAH, CAH y G 3 SAH, y en último lugar, se encontró el tratamiento CSAH (figura 6).

Variables de colonización micorrícica. Porcentaje de hifas. En la variable porcentaje de hifas se observaron diferencias significativas durante las semanas 1, 2 y 4, correspondientes a las fechas de evaluación sin estrés, estrés moderado y después

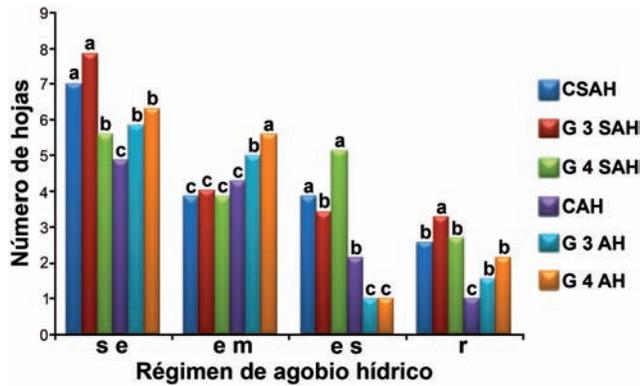


Figura 5. Número de hojas de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) inoculadas con gremios 3 (G 3) y 4 (G 4) de hongos micorrícicos arbusculares (HMA), y un control sin hongos micorrícicos arbusculares (C), bajo dos condiciones de humedad: sin agobio hídrico (SAH) y con agobio hídrico (AH), en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico (s e = sin estrés; e m = estrés moderado; e s = estrés severo; r = rehidratación; CSAH = control sin agobio hídrico; G 3 SAH = gremio 3 sin agobio hídrico; G 4 SAH = gremio 4 sin agobio hídrico; CAH = control con agobio hídrico; G 3 AH = gremio 3 con agobio hídrico; G 4 AH = gremio 4 con agobio hídrico; los valores se obtuvieron aplicando la prueba F con un nivel de significancia de 0,05; letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos)

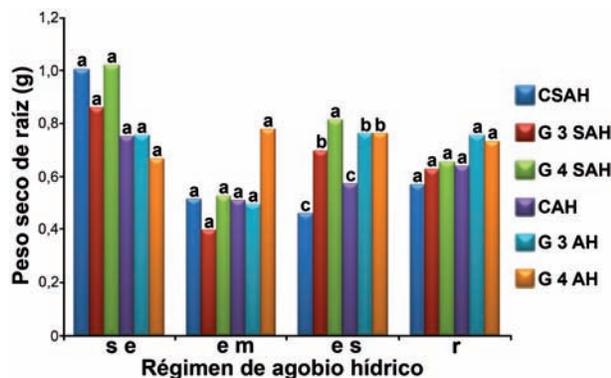


Figura 6. Peso seco de raíz de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) inoculadas con gremios 3 (G 3) y 4 (G 4) de hongos micorrícicos arbusculares (HMA), y un control sin hongos micorrícicos arbusculares (C), bajo dos condiciones de humedad: sin agobio hídrico (SAH) y con agobio hídrico (AH), en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico (s e = sin estrés; e m = estrés moderado; e s = estrés severo; r = rehidratación; CSAH = control sin agobio hídrico; G 3 SAH = gremio 3 sin agobio hídrico; G 4 SAH = gremio 4 sin agobio hídrico; CAH = control con agobio hídrico; G 3 AH = gremio 3 con agobio hídrico; G 4 AH = gremio 4 con agobio hídrico; los valores se obtuvieron aplicando la prueba F con un nivel de significancia de 0,05; letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos)

de un riego de rehidratación. Para la semana 3, que corresponde a la fecha de estrés severo, no se encontraron

diferencias significativas. Durante la primera fecha de evaluación, los tratamientos G 3 AH y G 4 AH mostraron el porcentaje más alto, seguidos de los tratamientos G 4 SAH y G 3 SAH. Para la segunda fecha, el tratamiento G 4 AH se mostró como el mejor tratamiento, seguido de los tratamientos G 4 SAH, G 3 SAH y G 3 AH. Para la cuarta fecha, los tratamientos G 3 SAH y G 3 AH mostraron los porcentajes más altos, seguidos de los tratamientos G 4 AH y G 4 SAH (figura 7).

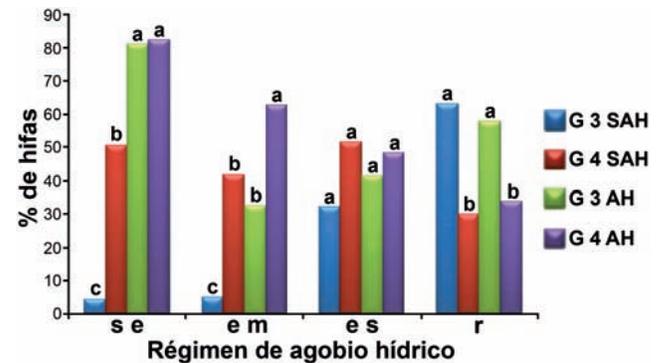


Figura 7. Porcentaje de hifas de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) inoculadas con gremios 3 (G 3) y 4 (G 4) de hongos micorrícicos arbusculares (HMA), y un control sin hongos micorrícicos arbusculares (C), bajo dos condiciones de humedad: sin agobio hídrico (SAH) y con agobio hídrico (AH), en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico (s e = sin estrés; e m = estrés moderado; e s = estrés severo; r = rehidratación; G 3 SAH = gremio 3 sin agobio hídrico; G 4 SAH = gremio 4 sin agobio hídrico; G 3 AH = gremio 3 con agobio hídrico; G 4 AH = gremio 4 con agobio hídrico; los valores se obtuvieron aplicando la prueba F con un nivel de significancia de 0,05; letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos)

Porcentaje de arbusculos. En la variable porcentaje de arbusculos se observaron diferencias significativas durante todas las fechas de evaluación (sin estrés, estrés moderado, estrés severo y después de un riego de rehidratación). En la primera fecha de evaluación, el tratamiento G 3 AH mostró el porcentaje más alto y fue significativamente diferente de los demás tratamientos, estuvo seguido de los tratamientos G 4 SAH y G 3 AH, y en último lugar el tratamiento G 3 SAH. Durante la segunda fecha, el tratamiento G 4 AH se mostró como el mejor tratamiento, seguido de los tratamientos G 4 SAH y G 3 SAH, y en último lugar el tratamiento G 3 AH. En la tercera fecha de evaluación, los tratamientos G 4 SAH y G 4 AH mostraron los porcentajes más altos, seguidos por los tratamientos G 3 AH y G 3 SAH. En la cuarta fecha de evaluación, el tratamiento G 3 SAH mostró el porcentaje más alto, seguido del tratamiento G 3 AH, y por último los tratamientos G 5 AH y G 5 SAH (figura 8).

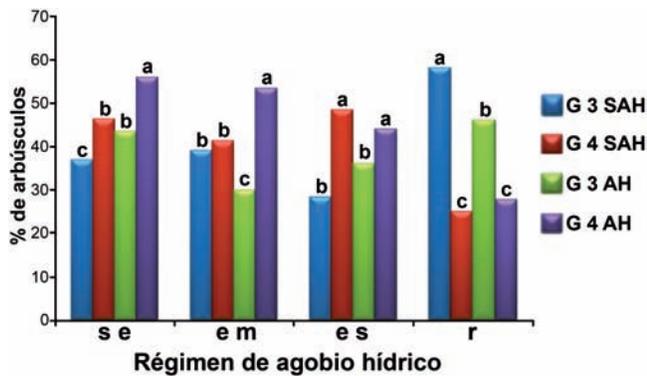


Figura 8. Porcentaje de arbusculos de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) inoculadas con gremios 3 (G 3) y 4 (G 4) de hongos micorrícicos arbusculares (HMA), y un control sin hongos micorrícicos arbusculares (C), bajo dos condiciones de humedad: sin agobio hídrico (SAH) y con agobio hídrico (AH), en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico (s e = sin estrés; e m = estrés moderado; e s = estrés severo; r = rehidratación; G 3 SAH = gremio 3 sin agobio hídrico; G 4 SAH = gremio 4 sin agobio hídrico; G 3 AH = gremio 3 con agobio hídrico; G 4 AH = gremio 4 con agobio hídrico; los valores se obtuvieron aplicando la prueba F con un nivel de significancia de 0,05; letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos)

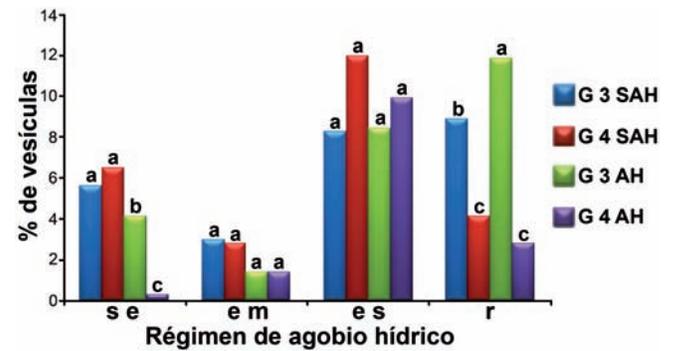


Figura 9. Porcentaje de vesículas de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) inoculadas con gremios 3 (G 3) y 4 (G 4) de hongos micorrícicos arbusculares (HMA), y un control sin hongos micorrícicos arbusculares (C), bajo dos condiciones de humedad: sin agobio hídrico (SAH) y con agobio hídrico (AH), en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico (s e = sin estrés; e m = estrés moderado; e s = estrés severo; r = rehidratación; G 3 SAH = gremio 3 sin agobio hídrico; G 4 SAH = gremio 4 sin agobio hídrico; G 3 AH = gremio 3 con agobio hídrico; G 4 AH = gremio 4 con agobio hídrico; los valores se obtuvieron aplicando la prueba F con un nivel de significancia de 0,05; letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos)

Porcentaje de vesículas. En la variable porcentaje de vesículas se observaron diferencias significativas durante la evaluación que corresponden a las fechas sin estrés y después de un riego de rehidratación. Para las semanas 2 y 3, correspondientes a las fechas estrés moderado y estrés severo no se encontraron diferencias significativas. En la primera fecha, los tratamientos G 4 SAH y G 3 SAH mostraron los porcentajes más altos, seguidos del tratamiento G 3 AH, y por último el tratamiento G 4 AH. En la cuarta fecha, el tratamiento G 3 AH presentó el porcentaje más alto, seguido del tratamiento G 4 SAH, y en último lugar los tratamientos G 4 AH y G 4 AH (figura 9).

DISCUSIÓN

Los hongos micorrícicos arbusculares promueven el crecimiento de las plantas bajo condiciones de agobio hídrico, lo cual es publicado por diferentes autores (Díaz y Garza 2007, Goicoechea et al. 2001, Sieverding 1991). Esta promoción de crecimiento o la disminución de los efectos negativos del estrés producido por la falta de agua dependen de la severidad del estrés, la especie cultivada y el tipo de hongo. Estos resultados concuerdan con los observados en nuestro trabajo, los cuales muestran que en la primera fecha de evaluación las plantas control registraron una altura estadísticamente igual a la de las plantas inoculadas con uno de los gremios evaluados. Estos resultados señalan que las plantas con hongos

micorrícicos y el control tenían un estado fisiológico similar cuando las condiciones no son estresantes, además, que el efecto de los hongos micorrícicos sobre las plantas es funcionalmente diferente y no siempre benéfico, lo cual se observa porque la altura de las plantas de uno de los gremios es menor a la de las plantas control. Durante las evaluaciones en condiciones de estrés moderado y severo no se observaron diferencias significativas entre tratamientos y los valores de altura se conservaron durante las fechas de evaluación, sin embargo, después del riego de rehidratación se observó que las plantas registraron un incremento en la altura, particularmente las inoculadas con el G 4, lo cual concuerda con los resultados publicados por otros autores (Goicoechea et al. 2001, Quiang y Ren 2006). Los resultados de altura de las plantas se relacionan con los resultados de la colonización micorrícica cuando observamos la disminución en los porcentajes de hifas intrarradicales y un incremento en el porcentaje de vesículas, ambos fenómenos están asociados al aumento de la condición de estrés. Después del riego de rehidratación el aumento en la altura de las plantas con micorriza puede estar relacionado con aumento en el porcentaje de arbusculos, pues es sabido que esta estructura fúngica es la principal responsable del intercambio de nutrientes entre estos simbioses. Estos resultados pueden atribuirse a mayor absorción y translocación de agua por parte de las hifas extrarradicales hacia la planta, debido a que, estas hifas pueden explorar mayor volumen de suelo, absorber agua de sitios que no son

alcanzados por las raíces y a la alta conductividad hidráulica que presentan.

Según Boyer (1995) el crecimiento de las hojas es más sensible al déficit hídrico que la raíz. En nuestros resultados se observó que durante las dos primeras fechas de evaluación las plantas con y sin micorrizas no mostraron diferencias significativas. Sin embargo, a partir del tratamiento de agobio hídrico se registró una disminución drástica del área foliar de todos los tratamientos, siendo más evidente en las plantas sometidas a agobio hídrico y un cambio en el patrón de colonización micorrícica, que se manifestó como una disminución en el porcentaje de hifas, un incremento en el de vesículas pero, un mantenimiento del porcentaje de arbusculos. Es probable que los porcentajes de colonización observados, particularmente el de arbusculos, sean responsables de la disminución del impacto del déficit hídrico de las plantas, reflejándose en el mantenimiento de la promoción del crecimiento. Este efecto puede estar asociado con la diversidad de especies del inóculo, su diversidad funcional y su adaptación a estas condiciones ambientales. Stahl y Christensen (1991), evaluaron la respuesta de 3 poblaciones de *G. mosseae* aislados de hábitat distintos, a diferentes temperaturas, propiedades físico y químicas del suelo y niveles de humedad, y encontraron que las 3 poblaciones variaron significativamente en su respuesta a las diferentes condiciones ambientales y en su protección contra factores ambientales estresantes. La deshidratación genera un estrés en las plantas que produce la dehiscencia foliar y cuando esta condición es severa la simbiosis micorrícica no tiene un efecto significativo sobre la promoción de crecimiento. Sin embargo, puede ayudar en la disminución de los daños y en el más rápido restablecimiento de las condiciones fisiológicas normales de las plantas.

Con respecto al diámetro del tallo se observó que para las tres primeras fechas de evaluación, las plantas inoculadas con el gremio G 3 registraron en las dos condiciones de humedad valores superiores o iguales al control sin agobio hídrico. Para la fecha de rehidratación no se registró diferencias significativas entre los tratamientos, lo cual puede atribuirse a la edad de las plantas. En algunos casos, se han descrito que las micorrizas no tienen efectos significativos sobre el crecimiento de las plantas. Sin embargo, en la mayoría de estas situaciones, la depresión o estabilidad del crecimiento es transitoria, probablemente debido bien a la competencia entre planta y hongo por fotosintatos en los estadios iniciales de la infección, cuando el hongo consume carbono sin aportar aún beneficios, o bien cuando las condiciones para la fotosíntesis son subóptimas en cuanto a intensidad o calidad lumínica, temperatura, etc.

Las depresiones persistentes de algunas variables de

crecimiento vegetal pueden tener lugar cuando se provocan concentraciones supraóptimas de fósforo en los tejidos vegetales, o bien cuando su concentración en el medio es tal que la planta se satisface sin necesidad del hongo, por lo cual el mantenimiento de este es un gasto superfluo, o sea, que el microsimbionte se está comportando como un auténtico parásito.

Aunque en la primera, segunda y cuarta fecha de evaluación no se observaron diferencias significativas en el peso seco de raíz, el G 4 mostró valores más elevados a los controles e incluso al G 3. Sin importar el gremio, las plantas micorrizadas registraron valores de *psr* más altos que algunos controles. La disminución de *psr* en la fecha de estrés moderado se puede deber a un retardo en el proceso de simbiosis o a otros factores. Existen diversos factores que podrían haber generado este hecho como es la fase de latencia del efecto de la inoculación micorrícica. En varios estudios se ha demostrado que existe un periodo de latencia después de la inoculación micorrícica (Sieverding 1991). Es importante recordar que las plantas que mantienen simbiosis micorrícica necesitan una gran cantidad de energía metabólica, para lograr un desarrollo integral. Este fenómeno representa un elevado flujo de carbono derivado del proceso fotosintético que se expresa en un retraso del crecimiento vegetal (Guerrero et al. 1996).

En las variables de colonización micorrícica, específicamente en el porcentaje de hifas se observó que en las tres primeras fechas de evaluación el G 4 registró valores superiores al G 3 independientemente de la condición de humedad. Para la fecha de rehidratación el G 3 mostró una recuperación significativamente mayor que el G 4. Esto se debe a que el hongo está supeditado a las condiciones ambientales del suelo, en particular la humedad parece ser un factor regulador de importancia. El G 3 AH tuvo la capacidad durante las fechas de estrés de aumentar el porcentaje de hifas y la rehidratación potencializó su desarrollo. Esto es un indicativo de que las hifas promueven la eficiencia para localizar y absorber el agua, implicando un efecto altamente benéfico contra el estrés hídrico. Algunos autores señalan que el grado de micorrización y colonización del sistema radical se ve influenciado por factores como el grado de fertilidad del suelo y el pH (Kluber et al. 2012). En nuestros resultados se observó que el gremio G 4 obtuvo mayor porcentaje de arbusculos durante las tres primeras fechas de evaluación, sin embargo el G 3 aumentó su porcentaje de formación de arbusculos cuando pasó de la fecha de estrés severo a la rehidratación. El hecho de que el G 4 haya disminuido su porcentaje de arbusculos para la última fecha de evaluación es una muestra de que los arbusculos tienen un periodo de vida corto entre una y tres semanas, revelando su superioridad en las tres primeras fechas de evaluación, cuando el intercambio de nutrientes está activo

evidenciándose en algunas de las variables de crecimiento. Estos resultados pueden correlacionarse con los encontrados por Aguirre y Kohashi (2002) quienes obtuvieron mayor cantidad de arbusculos durante el desarrollo vegetativo del frijol y hasta la floración (78%), después de esta etapa, el porcentaje se redujo a 40% hasta la cosecha. La reducción de la infección coincidió con la aparición de los órganos reproductivos y el desarrollo de las vainas.

Durante las dos primeras fechas de evaluación los porcentajes de vesículas son bajos, estos resultados pueden ser explicados dado que la producción de las vesículas ocurre como respuesta a factores adversos de humedad. Las vesículas son las estructuras de almacenamiento de los hongos, cuya formación de sustancias es posterior a la de los arbusculos, correlacionándose esto con las dos últimas fechas donde el porcentaje de arbusculos tiende a disminuir y el de las vesículas aumenta. Para la fecha de estrés severo se observó cómo aumenta el porcentaje de vesículas de una forma significativa sin diferencias entre los tratamientos, ya que las vesículas responden a estímulos de estrés. Esto puede ser relacionado con lo reportado por Parodi (2010) que registró la presencia de vesículas durante todas las estaciones del año, aunque los mayores valores se registraron en primavera y verano, cuando las plantas están bajo estrés hídrico.

CONCLUSIONES

La condición de agobio hídrico afectó significativamente el crecimiento de las plantas de frijol y la respuesta de estas a la colonización por hongos micorrícicos arbusculares. El agobio hídrico genera cambios negativos significativos en la fisiología y morfología de las plantas y cuando esta falta de agua es severa los daños son casi siempre irreversibles, sin embargo, algunos microorganismos como los hongos micorrícicos pueden disminuir los daños ocasionados por la falta de agua en las plantas.

Se observaron diferencias funcionales en los dos gremios, puesto que el G 3 se comporta mejor bajo condiciones de humedad adecuada (SAH) mientras que el G 4 tiene mayores beneficios bajo condiciones de déficit de agua (AH).

Las diferencias en la colonización micorrícica (% de hifas, arbusculos y vesículas) durante la exposición de las plantas de frijol en agobio hídrico mostraron que el porcentaje de arbusculos e hifas aumentaron en condiciones de humedad adecuada, mientras que el porcentaje de vesículas se incrementa cuando las condiciones de agobio son más estresantes. Las condiciones de humedad afectan de forma diferente del desarrollo de las plantas de frijol y la eficiencia y funcionalidad de los HMA sobre las plantas. Esta eficiencia y

funcionalidad de los hongos micorrícicos arbusculares puede estar asociada a su adaptabilidad a las condiciones naturales de crecimiento, y por lo tanto, la selección de estos microorganismos debe empezarse en aquellos sitios que presentan los problemas que se pretenden resolver o disminuir.

Los HMA promovieron o mantuvieron el crecimiento de las plantas de frijol y disminuyeron diferencialmente el efecto nocivo de la falta de agua. Los HMA nativos de suelo de clima cálido son una alternativa para usarse en cultivos que se ven expuestos a condiciones de estrés hídrico ocasionado por la sequía u otro factor ambiental o físico y químico que produzca en las plantas una condición de este tipo de estrés.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro agradecimiento al CODI-Universidad de Antioquia por la financiación de este proyecto. A las autoridades administrativas, al director científico y trabajadores del vivero del Jardín Botánico de Medellín “Joaquín Antonio Uribe” por facilitarnos el espacio para el establecimiento del experimento. A Jairo Rafael Rosado Vega director del grupo PICHIHUEL de la Universidad de la Guajira por su colaboración en los muestreos de suelos en la península de la Guajira. Al laboratorio de microbiología del Instituto de Biología de la Universidad de Antioquia por facilitarnos el espacio y equipos para el procesamiento de las muestras.

REFERENCIAS

- Aguirre MJF, Kohashi SJ. 2002. Componentes morfológicos y fisiológicos del rendimiento, dinámica de la colonización micorrízica y contenido de fósforo en frijol *Phaseolus vulgaris* L. Agricultura Técnica en México, 28:23-33.
- Auge RM, Moore JL, Cho K, Stutz JC, Sylvia DM, Al-Agely A, Saxton AM. 2003. Relating the hydration resistance of mycorrhizal *Phaseolus vulgaris* to soil and root colonization by hyphae. Journal of Plant Physiology, 160: 1147-1156.
- Barea JM, Pozo MJ, Azcón R, Azcón-Aguilar C. 2005. Microbial co-operation in the rhizosphere. Journal of Experimental Botany, 56: 1761-1778.
- Boyer JS. 1995. Measuring the water status of plants and soil. Delaware (U. S. A.): Academic Press Inc. p. 178.
- Bray EA, Bailey SJ, Weretilnyk E. 2000. Responses to abiotic stresses. Chapter 22. En: Gruissem W, Buchanan B, Jones R, eds. Biochemistry and molecular biology of plants. Rockville, MD: American Society of Plant Physiologists. p. 1158-1249.
- Buscot F. 2005. ¿What are soils? Microorganisms in soils: roles in genesis and functions. Heidelberg (Germany): Springer-Verlag. p. 3-18.
- CINU. 2013 [Internet]. Desertificación. Centro de Información de las Naciones Unidas. Fecha de acceso: 17 de octubre de 2013. Disponible en: <<http://www.cinu.mx/temas/medio-ambiente/desertificacion/>>.
- Cosgrove WJ, Rijsberman FR. 2000. World Water Vision: Making water everybody's business. London (England): Earthscan Publications. p. 108.

- Díaz A, Garza I. 2007. Growth of sorghum and safflower genotypes associated with arbuscular mycorrhizal colonization in low fertility soil. *Revista Universidad y Ciencia*, 23: 15-20.
- Fitter AH, Nichols R. 1988. The use of benomyl to control infection by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 110: 201-206.
- Goicoechea N, Antolin MC, Sánchez M. 1997. Gas exchange is related to the hormone balance in mycorrhizal or nitrogen-fixing alfalfa subjected to drought. *Plant Physiology*, 100: 989-997.
- Goicoechea N, Merino S, Sánchez M. 2001. Adaptaciones a la sequía en albaída micorrizada. *Pastos*, 31: 201-216.
- Guerrero E, Azcon C, Barea J, Moyersen B, Orozco C, Cano C, Mejía D, Mayer J, Rivillas C, Rivera E. 1996. Micorrizas: fundamentos biológicos y estado del arte. En: Guerrero E, editor. *Micorrizas: recurso biológico del suelo*. Bogotá (Colombia): Fondo FEN. p. 208.
- Hernández C. 2001. Efecto del hongo micorriza (*Glomus intraradices*) en el crecimiento del portainjerto mexicola (*Persea americana Mill*) cultivado bajo cinco tratamientos de fertilización [Tesis de grado]. [Valparaíso (Chile)]: Facultad de Agronomía, Universidad Católica de Valparaíso. p. 84.
- Hunt R. 1982. *Plant growth curves. The functional approach to plant growth analysis*. London (England): Edward Arnold Publishers. p. 248.
- INVAM. 2006. International culture collection of (vesicular) arbuscular mycorrhizal fungi. Fecha de acceso: 3 de octubre de 2013. Disponible en: <<http://invam.caf.wvu.edu>>.
- Jeffries P, Gianinazzi S, Perotto S, Turnau K, Barea JM. 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biology and Fertility of Soil*, 37: 1-16.
- Kluber LA, Carrino-Kyker SR, Coyle KP, DeForest JL, Hewins CR, Shaw AN, Smemo KA, Burke DJ [Internet]. 2012. Mycorrhizal response to experimental pH and P manipulation in acidic hardwood forests. *PLoS ONE*, 7 (11). Fecha de acceso: 3 de octubre de 2013. Disponible en: <<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0048946>>.
- Maggio A, Hasegawa MP, Bressan RA, Consiglio MF, Joly RJ. 2001. Unravelling the functional relationship between root anatomy and stress tolerance. *Australian Journal of Plant Physiology*, 28: 999-1004.
- Mena VH, Ocampo JO, Dendooven L, Martínez SG, González CJ, Davies FT, Olalde PV. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance fruit growth and quality of chile ancho (*Capsicum annum L. cv. San Luis*) plants exposed to drought. *Mycorrhiza*, 16 (4): 261-267.
- Ocampo JO. 2003. Efecto de gremios de hongos micorrícicos arbusculares sobre el crecimiento y fisiología de chile (*Capsicum annum L. cv San Luis*) bajo déficit hídrico [Tesis de doctorado]. [Ciudad de México (México)]: Unidad de Irapuato, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. p. 123.
- Parodi G. 2010. Micorrizas arbusculares en dos gramíneas nativas (*Nassella neesianan* y *Coelorhachis selloana*) de un pastizal natural de Uruguay [Tesis de grado]. [Montevideo (Uruguay)]: Facultad de Ciencias, Universidad de la República. p. 28.
- Phillips JM, Hayman DS. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55: 157-160.
- Porcel R, Ruiz JM. 2004. Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. *Journal of Experimental Botany*, 55 (403): 1743-1750.
- Quiang SW, Ren XX. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. *Journal of Plant Physiology*, 163: 417-425.
- Radford PJ. 1967. Growth analysis formulae - their use and abuse. *Crop Science*, 7: 171-175.
- Ruiz LJM. 2003. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress: new perspectives for molecular studies. *Mycorrhiza*, 13: 309-317.
- Sieverding E. 1991. *Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal management in tropical agrosystems* [Monografía]. [Eschborn (Germany)]. German Agency for Technical Cooperation. p. 371.
- Stahl PD, M Christensen. 1991. Population variation in the mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*: breadth of environmental tolerance. *Mycological Research*, 95 (3): 300-307.
- Xiong L, Schumaker S, Zhu JK. 2002. Cell signaling during cold, drought, and salt stress. *The Plant Cell*, 14: 165-183.