Crecimiento de girasol ornamental en maceta a nivel de campo por efecto de hongos micorrízicos arbusculares Growth of ornamental sunflower in pot at field level by effect of arbuscular mycorrhizal fungi

Isabel Vital-Vilchis¹, Evangelina Esmeralda Quiñones-Aguilar¹, Laura Verónica Hernández-Cuevas² Gabriel Rincón-Enríquez^{1‡}

RESUMEN

La popularidad del girasol como planta ornamental se incrementó dramáticamente en la última década. Algunos estudios muestran que hongos micorrízicos arbusculares (HMA) aumentaron el diámetro del capítulo floral y un adelanto en la floración de gerbera; sin embargo, esto depende tanto de la especie de HMA, como de la planta hospedera. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de diferentes inóculos de HMA en el crecimiento de variedades ornamentales de girasol. Se estableció un experimento en Zapopan durante 2017 en bloques al azar con seis repeticiones por tratamiento con dos factores: HMA con cinco niveles: Rhizophagus intraradices (Ri), Funneliformis mosseae (Fm), consorcios: Cerro del Metate (CM) y Las Campesinas (LC) y sin HMA; variedad de girasol ornamental con cuatro niveles: belleza de otoño (BO), gigante simple amarillo (GSA), doble enana (DE) y doble gigante (DG). Setenta días después de establecido el experimento se evaluaron variables de crecimiento y colonización micorrízica. Los resultados mostraron que GSA-CM fue superior en variables de crecimiento respecto a los otros tratamientos (Tukey, $P \le 0.05$). El consorcio CM estimuló el crecimiento de GSA con respecto al girasol no inoculado en un 31%. Sin embargo, la variedad BO mostró 60% de decremento del crecimiento con todos los inóculos de HMA respecto al control sin HMA. Con el inóculo

SUMMARY

Sunflower popularity as an ornamental plant has increased dramatically in the last decade. The arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) increased the diameter of the floral chapter and early flowering in the gerbera; however, this effect depends on the inoculum species of AMF and the host plant. The aim of this study was to assess the effect of different AMF inoculums on plant growth of different sunflower ornamental varieties. A two factors random block experiment with six replicates in Zapopan at 2017 was established; AMF with five levels: Rhizophagus intraradices (Ri), Funneliformis mosseae (Fm), consortium Cerro del Metate (CM), Las Campesinas (LC) and without AMF; ornamental sunflower variety with four levels: belleza de otoño (BO), gigante simple amarillo (GSA), doble enana (DE) and doble gigante (DG). Seventy days after having established the experiment, growth variables and mycorrhizal colonization percentage were measured. Results showed that GSA-CM was superior in plant growth to other treatments (Tukey, $P \le 0.05$). The consortium CM of AMF stimulated GSA growth in comparison with respect to the non-inoculated by 31%. Nevertheless, the variety BO showed 60% growth decrement whenever inoculated with AMF in comparison with the control without AMF. Fm inoculum had the lowest mycorrhizal colonization percentage (28%), despite of this, it showed significant

¹ Laboratorio de Fitopatología, Biotecnología Vegetal, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. Camino Arenero 1227, El Bajío del Arenal. 45019 Zapopan, Jalisco, México.

[‡] Autor para correspondencia / Corresponding author (grincon@ciatej.mx)

² Centro de Investigación en Genética y Ambiente, Universidad Autónoma de Tlaxcala. Carretera San Martín Texmelucan-Tlaxcala km 10.5, San Felipe Ixtacuixtla. 90120. Ixtacuixtla de Mariano Matamoros, Tlaxcala, México.

Fm, se tuvo la menor colonización micorrízica (28%); sin embargo, mostró efectos significativos en el crecimiento del girasol. Estos resultados sugieren una diversidad de respuesta al crecimiento dependiendo de la variedad de girasol y el tipo de HMA.

Palabras clave: floricultura, Helianthus annuus, *micorrizas*.

INTRODUCCIÓN

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) del phylum Glomeromycota, son simbiontes obligados que establecen una relación de tipo mutualista con más del 80% de las plantas terrestres entre las que se encuentra el girasol (Helianthus annuus). Los HMA, a cambio de recibir fotosintatos, ejercen un rol clave en el crecimiento de las plantas, así como resistencia y tolerancia a estrés de tipo biótico y abiótico. Las plantas son protegidas contra patógenos, salinidad, metales pesados y sequía, entre otros, al causar los HMA un cambio sistémico en ellas; aunque también participan en la estabilidad del suelo (Khan, 2006; Lingua et al., 2012; Souza, 2015). Además, se ha comprobado que las micorrizas son un factor importante que contribuye al mantenimiento de la biodiversidad vegetal de un ecosistema (Van der Heijden et al., 1998), ya que existen plantas que dependen de la micorrización para sobrevivir (Wilson y Hartnett, 1997). La estimulación en el crecimiento de las plantas por efecto de la micorrización se ha comprobado en diversas especies vegetales de importancia agrícola como por ejemplo el tomate (Ley-Rivas et al., 2015), la papaya (Quiñones-Aguilar et al., 2012), el café (Parra et al., 1990), el maíz (Bi et al., 2018), el frijol (Liriano et al., 2012) y en el árbol Heliocarpus popayanensis usado para reforestación (Zangaro et al., 2015).

El girasol (*H. annuus*) pertenece a la familia Asteraceae, tiene su origen y centro de biodiversidad en México. El girasol ha sido tradicionalmente usado como planta oleaginosa, sin embargo, en la última década su popularidad como cultivo ornamental ha incrementado significativamente. La atractiva apariencia del capítulo floral en el girasol ha estimulado su uso como planta de jardín, maceta y como flor de corte (Bye *et al.*, 2009; Yañez *et al.*, 2004). Distintos estudios muestran que la micorrización aumenta el tamaño de algunas plantas ornamentales como anturio (*Anthurium andreanum*) (Corbera *et al.*, 2008) y gerbera (*Gerbera jamesonni*

effects over ornamental sunflower varieties growth. These results suggest the wide diversity of responses, in terms of growth, depending on the variety of sunflower and the type of AMF.

Index words: floriculture, Helianthus annuus, *mycorrhizas.*

INTRODUCTION

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) of the phylum Glomeromycota are obliged symbionts that establish a mutualistic type relationship with more than 80% of the terrestrial plants, among which the sunflower (Helianthus annuus) is found. The AMF, in exchange of receiving photosynthates, perform a key role in plant growth, as well as in resistance and tolerance to biotic and abiotic stresses. Plants are protected against pathogens, salinity, heavy metals, and drought, among others, by the systemic change caused on them by the AMF, which also participate in soil stability (Khan, 2006; Lingua et al., 2012; Souza, 2015). In addition, mycohrrizae have shown to be an important factor that contributes to the maintenance of plant biodiversity in an ecosystem (Van der Heijden et al., 1998) since plants depend on mycorrhizae to survive (Wilson and Hartnett, 1997). Plant growth stimulation by the effects of mycorrhization has been proven in different plant species of agricultural importance, for example, tomato (Ley-Rivas et al., 2015), papaya (Quiñones-Aguilar et al., 2012), coffee (Parra et al., 1990), maize (Bi et al., 2018), bean (Liriano et al., 2012) and the tree Heliocarpus popayanensis used for reforestation (Zangaro et al., 2015).

The sunflower (*H. annuus*) belongs to the family *Asteraceae*, and its biodiversity is native to Mexico. It has been traditionally used as an oleaginous plant, and in the last decade its popularity as ornamental cultivation has increased significantly. The attractive appearance of the sunflower floral chapter has stimulated its use as garden, pot, and cut flower (Bye *et al.*, 2009; Yañez *et al.*, 2004). Different studies have shown that the size of some ornamental plants, such as anthurium (*Anthurium andreanum*) (Corbera *et al.*, 2008) and gerbera (*Gerbera jamesonni* cv. Bolus) increased 27% the diameter of the floral chapter by effect of mycorrhizae, and flowering started 50 days earlier (Soroa *et al.*, 2003). These benefits make AMF

cv. Bolus), donde la micorrización aumentó un 27% el diámetro del capítulo floral y adelantó la floración 50 días (Soroa et al., 2003). Esto hace de los HMA, una herramienta importante para la floricultura. En girasol se ha comprobado que plantas micorrizadas con Funneliformis mosseae muestran mayor acumulación de biomasa, así como nitrógeno y rendimiento de semillas en condiciones de sequía (Gholamhoseini et al., 2013). Los HMA influyen en la absorción de fósforo de manera positiva cuando éste no está accesible en el suelo. De hecho, se recomienda el uso de HMA para reducir la fertilización de fósforo inorgánico en plantas (Chandrashekara et al., 1995; Soleimanzadeh, 2010; Quiñones-Aguilar et al., 2012). Algunas de las especies de HMA que colonizan a girasol son: Funneliformes mosseae (Hassan et al., 2013), diferentes especies de Glomus: G. intraradices, G. albidum, G. diaphanum y G. claroideum (Davies et al., 2001; Barcos et al., 2015) y Rhizoglomus irregularis (Vangelisti et al., 2018). Algunas especies de HMA muestran mayor efecto benéfico que otras (Gholamhoseini et al., 2013) ya que los HMA pueden presentar diferentes grados de compatibilidad con su hospedero (Van der Heijden et al., 1998). Los HMA se benefician en forma diferente según la planta hospedera y estas responden de manera diferencial según la especie que se utilice (Ley-Rivas et al., 2015). No es sorprendente que la identidad de la planta y su abundancia está correlacionada con la composición y diversidad de los hongos micorrízicos del suelo (Martínez-García et al., 2015). Además, en algunos casos se ha observado que el uso de consorcios micorrízicos favorece más el crecimiento vegetal que el uso de inóculos con monoespecies (Mehrotra y Baijal, 1995). Al respecto, Trejo et al. (2011) observaron crecimiento significativamente mayor en plantas de café con un consorcio que contuvo mayor número de especies de HMA que con otro consorcio con menor cantidad. Bajo este contexto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de diferentes inóculos de hongos micorrízicos arbusculares (consorcios y monoespecies) en el crecimiento vegetal de variedades ornamentales de girasol cultivado en maceta a cielo abierto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Variedades de Girasol Ornamental e Inóculos de HMA

Se emplearon cuatro variedades de girasol ornamental: belleza de otoño (BO), doble gigante

an important tool for flower cultivation. Mycorrhized sunflowers with Funneliformis mosseae have shown greater biomass accumulation, as well as nitrogen and seed yield in drought conditions (Gholamhoseini, 2013). The AMF influence positively phosphorus absorption when it is not accessible in soil. In fact, the use of AMF is recommended to reduce inorganic phosphorus fertilization in plants (Chandrashekara et al., 1995; Soleimanzadeh, 2010; Quiñones-Aguilar et al., 2012). Some of the AMF species that colonize sunflower are Funneliformes mosseae (Hassan et al., 2013) and different species of Glomus: G.intraradices, G. albidum, G. diaphanum and G. claroideum (Davies et al., 2001; Barcos et al., 2015), and Rhizoglomus irregularis (Vangelisti et al., 2018). Some AMF species have shown greater beneficial effects than others (Gholamhoseini, 2013) since AMF may show different compatibility degrees with their host (Van der Heijden et al., 1998). They also benefit themselves in different forms according to the host plant and respond differently depending on the species used (Ley-Rivas et al., 2015). It is not surprising that plant identity and abundance is correlated with composition and diversity of soil mycorrhizal fungi (Martínez-García et al., 2015). Additionally, in some cases the use of mycorrhizal consortium has been observed to favor plant growth more than the use of inoculants with monospecies (Mehrotra and Baijal, 1995). In this respect, Trejo et al. (2011) observed significantly greater growth in coffee plants with a consortium that contained a greater number of AMF species than with another one of lesser amount. Under this context, the objective of this study was to assess the effect of different inoculants of arbuscular mycorrhizal fungi (consortia and monospecies) in plant growth of ornamental sunflower varieties cultivated in pots at open air.

MATERIALS AND METHODS

Varieties of Ornamental Sunflower and Inoculants of Arbuscular Mycorrhizal Fungi

Four varieties of ornamental sunflower were used: belleza de otoño (BO), doble gigante (DG), doble enana (DE), and girasol simple amarillo (GSA) of the company Vita® (Morelos, MX). The seeds were washed with sodium hypochlorite (5%) for five min and subsequently rinsed thrice with distilled water.

(DG), doble enana (DE) y girasol simple amarillo (GSA) de la compañía Vita®. Las semillas fueron lavadas con hipoclorito de sodio (5%) durante 5 min y posteriormente fueron enjuagadas con agua destilada tres veces. Posteriormente, las semillas fueron colocadas en papel absorbente humedecido con agua corriente a través de la técnica "tacos de germinación" (Moreno, 1996). Estos tacos permanecieron en condiciones de oscuridad a 25 °C por cinco días. Posteriormente se procedió al trasplante de las plántulas a maceta, seleccionando aquellas con aproximadamente 6 cm de altura. Los inóculos de HMA empleados fueron: Rhizophagus intraradices (Ri), Funneliformis mosseae (Fm) y los consorcios nativos de rizosfera de agave: Cerro del Metate (CM) y Las Campesina (LC) descritos por Trinidad et al. (2017). Estos inóculos fueron previamente propagados durante ocho meses bajo invernadero en macetas trampa empleando sorgo (Sorghum bicolor × Sorghum sudanese Sweet Chow; Western Seed Co.) como hospedero. Las variedades de girasol fueron inoculadas con 100 esporas de HMA al momento del trasplante colocadas directamente sobre la raíz. El sustrato empleado en el experimento fue 50:50 (v/v) de Peat Moss (Sunshine Mix® No. 3) y una mezcla suelo:arena:agrolita (60:25:5, v/v/v). El sustrato fue esterilizado en autoclave (120 °C, 1.05 kg cm⁻², 6 h). Se emplearon bolsas de polietileno negro con capacidad de 5 kg como macetas para una planta de girasol, en cada bolsa se colocaron 3 kg de la mezcla esterilizada.

Condiciones Ambientales Durante la Experimentación

El experimento se realizó en condiciones de campo, en las instalaciones del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), sede Zapopan ubicado en las coordenadas geográficas 20° 42' 5.97" N, 03° 28' 25.83" O; en la época de lluvias de 2017 (14 de junio al 23 de agosto). La temperatura promedio fue 20.3 °C con una máxima promedio de 31 °C y mínima de 15.5 °C. Durante el experimento se registró una precipitación pluvial acumulada de 279.1 mm; una velocidad promedio del viento de 2.1 km h-1 (IAM-CUCEI, 2017).

Then, seeds were placed in absorbent paper moistened with tap water following the technique "tacos de germinación" (germination wraps) (Moreno, 1996). These wraps were maintained in darkness conditions at 25°C for five days. Subsequently, seedlings were transplanted to pots, selecting those of approximately 6 cm in height. The AMF inoculants used were: Rhizophagus intraradices (Ri), **Funneliformis** mosseae (Fm), and native consortia of agave (Agave cupreata) rhizosphere: Cerro del Metate (CM) and Las Campesinas (LC) described by Trinidad et al. (2017). These inoculants were previously propagated for eight months under greenhouse conditions and in pot traps using sorghum (Sorghum bicolor × Sorghum sudanese Sweet Chow; Western Seed Co.; Kitale, KE) as host. Sunflower varieties were inoculated with 100 AMF spores at the moment of transplanting and placed directly on the root. The substrate used in the experiment was 50:50 (v/v) of Peat Moss (Sunshine Mix® No. 3, Agawam, USA) and a soil:sand:agrolite (60:25:5, v/v/v) mixture, which was sterilized in autoclave (120 °C, 1.05 kg cm⁻², 6 h). Black 5 kg polyethylene bags were used as pots for one sunflower plant, placing 3 kg of sterilized mixture in each bag.

Environmental Conditions During the Experiment

The experiment was performed in field conditions in the facilities of Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ) at Zapopan located at 20° 42′ 5.97" N, 03° 28′ 25.83" W in the rainy season (14 June to 23 August) of 2017. The average temperature was 20.3 °C with an average maximum of 31 °C and minimum of 15.5 °C. During the experiment a heavy accumulated precipitation of 279.1 mm was recorded at an average wind speed of 2.1 km h-¹ (IAM-CUCEI, 2017).

Evaluation Assay of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Ornamental Sunflower Growth

A bifactorial 5×4 randomized complete block design was used with six replicates per treatment. Blocking eliminated the solar radiation factor. The experimental unit was a pot with a sunflower plant. The five levels of the first AMF factor were (1) *Rhizophagus intraradices* (Ri); (2) *Funneliformis*

Ensayo de Evaluación de los HMA en el Crecimiento de Girasol Ornamental

Se utilizó un diseño experimental en bloques al azar de factores fijos bajo un arreglo bifactorial 5 × 4 y seis repeticiones por tratamiento. El bloqueo eliminó el factor de radiación solar. La unidad experimental fue una maceta con una planta de girasol. Los cinco niveles del factor HMA fueron: Rhizophagus intraradices (Ri), Funneliformis mosseae (Fm), Cerro del Metate (CM), Las Campesinas (LC), sin HMA (control). Los cuatro niveles del factor girasol ornamental fueron: belleza de otoño (BO), gigante simple amarillo (GSA), doble enana (DE), doble gigante (DG). En cada unidad experimental se cuantificó al final del experimento (70 días después del trasplante): altura de planta, diámetro del tallo, número de hojas, diámetro de capítulo floral, peso seco de raíz, tallo con hojas, capítulo floral y colonización micorrízica. Para la colonización micorrízica se siguió la técnica de clareo y tinción de Phillips y Hayman (1970); para la cuantificación se empleó el método propuesto por Hernández-Cuevas et al. (2012) consistente en tomar 90 raíces tenidas de 2 cm de longitud, se colocan 30 por portaobjeto y se observan al micoscropio compuesto (40X) las estructuras de la simbiosis micorrízica, la estimación del porcentaje de colonización micorrízica (PCM) fue mediante la formula siguiente: PCM = [(número de campos colonizados/número total de campos observados) × (100)]. Los datos obtenidos de la evaluación de las distintas variables de respuesta fueron sometidos a un análisis de varianza y a una prueba de comparación múltiple de medias de Tukey ($P \le 0.05$). Los datos de peso seco fueron transformados con logaritmo natural; para el peso seco y colonización micorrízica se realizó un análisis de correlación de Pearson; estos análisis estadísticos fueron realizados con el programa Statgraphics Centurion (StatPoint Inc., 2005).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El Crecimiento de Girasol en Asociación con HMA Depende de la Variedad Vegetal

De manera general, 70 días después de establecido el experimento, las plantas de la variedad gigante simple amarillo (GSA) tanto las inoculadas como mosseae (Fm); (3) Cerro del Metate (CM); (4) Las Campesinas (LC); (5) without-AMF (control). The four levels of the second ornamental sunflower factor were (1) belleza de otoño (BO); (2) gigante simple amarillo (GSA); (3) doble enana (DE); (4) doble gigante (DG). At the end of the experiment (70 days after transplant), plant height, stem diameter, leaf number, floral chapter diameter, dry root weight, stem with leaves, floral chapter and mycorrhizal colonization were quantified in each experimental unit. For mycorrhizal colonization, the clearing and staining technique developed by Phillips and Hayman (1970) was followed; for quantification, the method proposed by Hernández-Cuevas et al. (2012) was used, which consisted of taking 90 stained roots of 2 cm in length; 30 roots were placed per slide in a compound microscope (40X) to observe the mycorrhizal symbiosis structures; the mycorrhizal colonization percentage (MCP) was estimated by the following formula: MCP = [(Number of colonized fields/Number of total fields observed) \times (100)]. The data obtained in the assessment of the different response variables were subjected to an analysis of variance (ANOVA) and a Tukeys's multiple comparison of means tests ($P \le 0.05$). Dry weight data were transformed with a natural logarithm; for dry weight and mycorrhizal colonization, Pearson's correlation analysis was carried out. These statistical analyses were performed with the Statgraphics Centurion (StatPoint Inc., 2005) program.

RESULTS AND DISCUSSION

Sunflower Growth in Association with Arbuscular Mycorrhizal Fungi Depends on Plant Variety

In general, 70 days after the experiment was established, the plants of the variety gigante simple amarillo (GSA), both inoculated and without-AMF inoculation showed greater growth compared with the other varieties. The treatment sunflower-GSA inoculated with Cerro del Metate (CM) showed significantly greater plant growth (Tukey's, $P \le 0.05$) when compared with the variety GSA without-AMF. The inoculant CM promoted plant growth of the variety GSA in the majority of the response variables, except for height and leaf number (Tukey's, $P \le 0.05$) (Tables 1 and 2).

las no inoculadas con HMA presentaron un crecimiento mayor a las demás variedades. El tratamiento girasol-GSA inoculado con Cerro del Metate (CM) presentó significativamente el mayor crecimiento vegetal (Tukey, $P \le 0.05$) en comparación con la variedad GSA sin HMA. El inóculo CM promovió el crecimiento vegetal de la variedad GSA en la mayoría de las variables de respuesta excepto altura y número de hojas (Tukey, $P \le 0.05$) (Cuadro 1 y 2).

The Ornamental Sunflower Varieties Showed a Wide Plasticity Response to Inoculation with Native Mexican Arbuscular Mycorrhizal Fungi

For the ornamental sunflower variety factor, plant growth, both those inoculated and without-AMF, the majority of the response variables followed this order: GSA > DE > DG > BO. This tendency suggested a differential response due to the intrinsic genotype of

Cuadro 1. Crecimiento de variedades de girasol ornamental inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) a los 70 días después del trasplante (época de lluvias 2017, Zapopan Jalisco).

Table 1. Growth of ornamental sunflower varieties inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) at 70 days after transplant (rainy season 2017, Zapopan Jalisco).

Tratamiento / Treatment			Diámetro tallo / Stem diameter		Altura de planta / Plat height		Diámetro de capítulo floral / Floral chapter diameter		Colonización micorrízica / Mycorrhizal colonization	
Variedad-HMA / Variety-AMF			m	m		cı	m		0/	6
GSA-Ri	13.0	abc	8.48	bcd	80.4	cd	7.3	cdef	63.0	de
GSA-Fm	14.8	abc	13.98	f	86.8	d	8.9	ef	20.1	abc
GSA-CM	13.7	abc	12.41	ef	91.0	d	9.4	f	72.6	e
GSA-LC	14.5	abc	8.4	bcd	78.1	bcd	5.8	abcd	49.7	bcde
GSA	17.5	c	10.0	d	87.2	d	7.3	def	23.8	abcd
DG-Ri	10.3	ab	9.0	cd	54.9	ab	5.7	abcd	46.7	abcde
DG-Fm	12.5	abc	8.6	bcd	48.6	a	5.4	abcd	45.3	abcde
OG-CM	12.3	abc	8.0	abcd	57.3	ab	6.6	bcde	73.4	e
DG-LC	11.2	abc	7.6	abc	48.2	a	4.7	abc	51.7	abcde
DG	12.5	abc	7.9	abcd	53.5	a	5.0	abcd	17.0	ab
DE-Ri	12.3	abc	7.7	abc	50.6	a	5.4	abcd	37.7	abcde
DE-Fm	13.2	abc	10.1	de	60.3	abc	7.6	def	22.5	abcd
DE-CM	13.2	abc	8.4	bcd	56.9	ab	5.3	abcd	57.0	cde
DE-LC	11.0	abc	8.4	bcd	60.4	abc	6.6	bcdef	63.0	de
DE	9.8	a	8.7	bcd	59.8	abc	6.3	bcde	20.6	abcd
BO-Ri	13.7	abc	7.4	abc	75.2	bcd	4.4	ab	37.9	abcde
BO-Fm	11.0	abc	6.5	ab	62.4	abcd	4.3	ab	25.7	abcd
BO-CM	10.3	ab	6.2	ab	57.5	abc	3.1	a	33.3	abcde
BO-LC	12.5	abc	6.1	a	62.9	abc	4.1	ab	37.4	abcde
30	16.5	bc	8.0	abcd	79.1	bcd	4.7	abcd	8.7	a

Medias con letras distintas en la misma columna son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \le 0.05$). Variedades de girasol: GSA = gigante doble amarilla, DE = doble enana, DG = doble gigante, BO = belleza de otoño. Inóculos de HMA: Ri = *Rhizophagus intraradices*, Fm = *Funneliformis mosseae*, consorcios Cerro del Metate (CM) y Las Campesinas (LC).

Averages with different letters in the same column are statistically different (Tukey's, $P \le 0.05$). Sunflower varieties: GSA = gigante doble amarilla; DE = doble enana; DG = doble gigante; BO = belleza de otoño. AMF inoculants: Ri = *Rhizophagus intraradices*; Fm = *Funneliformis mosseae*; consortia Cerro del Metate (CM) and Las Campesinas (LC).

Las Variedades Ornamentales de Girasol Mostraron una Amplia Plasticidad de Respuesta a la Inoculación con los HMA Nativos Mexicanos

Para el factor variedad ornamental de girasol, el crecimiento vegetal, tanto de plantas inoculadas como de las no inoculadas con HMA, para la mayoría de las variables de respuesta sigue este orden de respuesta: GSA > DE > DG > BO. Esta tendencia sugiere una respuesta diferencial debida al genotipo intrínseco de cada variedad, bajo esta idea, las variedades

each variety; under this idea, the varieties GSA and BO showed the greatest and least plant growth, respectively (Table 3). With respect to the response of the sunflower varieties to mycorrhizal colonization, a tendency GSA = DG = DE > BO was observed, which showed that all the varieties were capable of establishing the mycorrhizal association; however, the degree by which they were colonized was variable (Table 3). For the AMF inoculant factor, observing the growth variables with significant differences (Tukey's, $P \le 0.05$) a tendency of without-AMF = Fm > CM = Ri > LC

Cuadro 2. Acumulación de biomasa seca de variedades de girasol ornamental inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) a los 70 días después del trasplante (época de lluvias 2017, Zapopan Jalisco).

Table 2. Dry biomass accumulation of ornamental sunflower varieties inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) at 70 days after transplant (rainy season 2017, Zapopan Jalisco).

	Peso seco / Dry weight								
Tratamiento / Treatment	Raíz / Root		Tallo con hojas / Stem with leaves			Capítulo floral / Floral chapter		Total	
Variedad-HMA / Variety-AMF					- g				
GSA-Ri	6.1	cdef	9.5	cdef	7.0	de	23.0	def	
GSA-Fm	8.8	def	16.7	ef	9.8	e	36.2	ef	
GSA-CM	13.2	f	18.5	f	10.3	e	43.1	f	
GSA-LC	4.5	bcdef	10.3	cdef	3.5	bcde	16.8	bcdef	
GSA	9.7	ef	14.9	ef	6.7	de	32.8	ef	
DG-Ri	2.2	abcde	6.0	abcd	4.6	bcde	12.8	abcde	
DG-Fm	2.2	abcd	4.4	abc	3.2	bcde	11.1	abcd	
DG-CM	3.1	abcde	5.4	abcd	4.0	bcde	12.7	abcd	
DG-LC	1.2	ab	3.6	a	1.7	b	6.5	ab	
DG	2.9	abcde	5.1	abcd	3.6	bcde	11.2	abcd	
DE-Ri	1.9	abc	4.8	abc	2.4	bcd	9.2	abcd	
DE-Fm	3.3	bcdef	8.5	bcdef	5.3	cde	17.3	cdef	
DE-CM	3.0	abcde	5.0	abcd	3.7	bcde	12.2	abcd	
DE-LC	4.54	bcdef	7.5	abcde	5.6	cde	18.5	cdef	
DE	2.7	abcde	6.4	abcd	4.0	bcde	13.1	abcde	
BO-Ri	2.3	abcd	7.9	bcde	2.1	bc	11.2	abcd	
BO-Fm	2.5	abcde	4.3	ab	2.5	bcd	9. 6	abcd	
BO-CM	0.8	a	5.0	abcd	0.4	a	5.5	a	
BO-LC	1.4	ab	5.6	abcd	1.5	ab	7.7	abc	
BO	3.7	bcdef	11.2	def	1.8	bc	15.4	abcde	

Medias con letras distintas en la misma columna son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \le 0.05$). Variedades de girasol: GSA = gigante doble amarilla; DE = doble enana; DG = doble gigante; BO = belleza de otoño. Inóculos de HMA: Ri= *Rhizophagus intraradices*, Fm = *Funneliformis mosseae*, consorcios Cerro del Metate (CM) y Las Campesinas (LC).

Averages with different letters in the same column are statistically different (Tukey's, $P \le 0.05$). Sunflower varieties: GSA = gigante doble amarilla; DE = doble enana; DG = doble gigante; BO = belleza de otoño. AMF inoculants: Ri = *Rhizophagus intraradices*; Fm = *Funneliformis mosseae*; consortia Cerro del Metate (CM) and Las Campesinas (LC).

GSA y BO mostraron el mayor y menor crecimiento vegetal respectivamente (Cuadro 3). Con respecto a la respuesta de las variedades de girasol a la colonización micorrízica se presentó una tendencia GSA = DG = DE > BO; esto muestra que todas las variedades son capaces de establecer la asociación micorrízica; sin embargo, el grado por el cual son colonizadas es variable (Cuadro 3). Para el factor inóculo de HMA, observando las variables de crecimiento con diferencias significativas (Tukey, $P \le 0.05$) se puede establecer una tendencia de sin-HMA = Fm > CM = Ri > LC; esto sugiere que los HMA tienen efectos negativos en el crecimiento vegetal de girasol ornamental; bajo este contexto, el consorcio LC fue el inóculo con mayor efecto negativo, seguido por CM y Ri, mientras que Fm no mostró ningún efecto sobre el crecimiento al comparase con el testigo de plantas de girasol sin

could be established, which suggested that AMF have negative effects in ornamental sunflower plant growth. Under this context, the LC consortium was the inoculant with the greatest negative effect, followed by CM and Ri; whereas Fm did not show any effect on growth when compared with the control group without-AMF sunflower plants (Table 3) while for mycorrhizal colonization the following order was observed Ri = CM = LC > Fm = without-AMF. These results show that the Fm inoculant colonized ornamental sunflower variety little and did not cause negative effects in their growth (Table 3), which could be due to the existing interaction among the sunflower varieties and AMF inoculants in the different response variables assessed except for leaf number and mycorrhizal colonization ($P \le 0.05$). This result suggested that the sunflower varieties responded differently to the different AMF inoculants (Table 3,

Cuadro 3. Efecto de inóculos de HMA y variedades ornamentales de girasol en el crecimiento vegetal a los 70 días después del trasplante (época de lluvias; Zapopan, Jalisco).

Table 3. Effect of arbuscular mycorrhizal inoculants and ornamental sunflower varieties on plant growth at 70 days after transplant (rainy season; Zapopan, Jalisco).

Factor de estudio /	Peso seco / Dry weight				Número de hojas /	Diámetro tallo /	Altura de	Diámetro de capítulo /	Diámetro de capítulo /
Study factor	Raíz / Root	Tallo y hojas / Stem & leaves	Capítulo floral / Floral chapter	Total	Leaf number	Stem diameter	planta / Plant height	Chapter diameter	Chapter diameter
Variedad / Variety			g			mm	c	m	%
Belleza de otoño	1.9 a	6.5 b	1.6 a	9.0 a	12.3 a	7.1 a	66.7 b	4.1 a	27.7 a
Doble enana	3.0 a	6.2 b	4.1 b	13.7 b	12.0 a	8.5 b	56.2 a	6.0 b	42.7 b
Doble gigante	2.3 a	4.5 a	3.2 b	11.0 ab	11.4 a	8.1 b	52.7 a	5.5 b	46.4 b
Gigante simple amarillo	7.8 b	13.2 с	6.7 c	28.1 c	14.9 b	10.6 c	85.8 c	7.3 c	46.8 b
HMA / AMF									
R. intraradices	3.0 ab	6.7 a	3.6 ab	13.9 ab	12.3 a	8.3 a	64.2 a	5.6 ab	46.2 b
F. mosseae	3.6 ab	6.9 a	4.2 b	16.0 b	12.5 a	9.0 a	62.9 a	6.1 b	28.4 a
Consorcio CM / CM Consortium	3.1ab	6.9 a	3.3 ab	12.8 ab	12.9 a	8.6 a	63.2 a	5.5 ab	59.1 b
Consorcio LC / LC Consortium	2.3 a	6.4 a	2.6 a	11.1 a	12.3 a	8.0 a	61.1 a	5.1 a	50.4 b
Sin HMA / Without-AMF	4.3 b	8.5 a	3.7 ab	16.8 b	13.3 a	8.6 a	69.9.a	5.7 ab	17.5 a
Interacción / Interaction									
F^{\dagger}	2.09	4.38	2.79	3.40	0.84	2.51	2.30	4.32	1.72
P ‡	0.035	0.0002	0.0060	0.0012	0.6101	0.0150	0.0219	0.0002	0.0812

Medias con letras distintas en la misma columna son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \le 0.05$) para cada factor de estudio. † Valor de F asociado a la Ho: No existe interacción entre el HMA y la variedad de girasol. ‡ Probabilidad observada del estadístico F.

Averages with different letters in the same column are statistically different (Tukey's, $P \le 0.05$) for each study factor. † Value of F associated to the null hypothesis (Ho): No interaction existed between AMF and the sunflower variety. ‡ Probability observed from statistical F.

HMA (Cuadro 3). Mientras que para la colonización micorrízica se presentó el orden siguiente Ri = CM = LC > Fm = Sin HMA. Esto muestra que el inóculo Fm coloniza poco las variedades de girasol ornamental y no provoca efectos negativos en su crecimiento (Cuadro 3). Esto puede deberse a la interacción que existe entre las variedades de girasol e inóculos de HMA en las distintas variables de respuesta evaluadas excepto para número de hojas y colonización micorrízica ($P \le 0.05$). Este resultado sugiere que las variedades de girasol responden de manera diferente a los distintos inóculos de HMA (Cuadro 3, Figura 1), lo que muestra una amplia plasticidad de respuesta de las variedades ornamentales de girasol a la micorrización. Estas tendencias son claramente observadas en los datos que se presenta en el Cuadro 4; donde se observa el efecto de los distintos inóculos de HMA en cada una de las variedades de girasol, se aprecia que hay efectos significativamente positivos (Tukey, $P \leq 0.05$), por ejemplo, un incremento del 31% del inóculo CM en la variedad GSA con respecto al tratamiento no inoculado con HMA, hasta efectos negativos, pues en la variedad BO todos los inóculos de HMA mostraron disminución del crecimiento vegetal (Figura 1, Cuadro 4 y 5).

La Colonización Micorrízica y el Crecimiento Vegetal están Relacionados en la Variedad BO

El análisis de correlación mostró un valor r de -0.4078 entre el peso seco y la colonización micorrízica para la variedad BO. Esto revela que mientras se incrementa el porcentaje de colonización micorrízica, el crecimiento de la planta es menor en la variedad de girasol BO; este efecto no se observó en las demás variedades de girasol, para las cuales los valores de correlación (r) fueron estadísticamente cero (P > 0.05), lo que sugiere que no existe relación entre la colonización micorrízica y el peso seco vegetal (Cuadro 5).

Discusión

El girasol presenta una gran plasticidad en el crecimiento vegetal como efecto de la colonización micorrízica: en este estudio GSA fue estimulado por CM e inhibido por LC mientras que para la variedad DE no se encontró efecto significativo con ningún hongo micorrízico arbusculare (HMA) (Tukey, $P \leq 0.05$); en contraste, el crecimiento de BO fue inhibido por todos

Figure 1), showing a wide plasticity response of the ornamental sunflower varieties to mycorrhization. These tendencies are clearly observed in the data shown in Table 4, where the significantly (Tukey's, $P \le 0.05$) positive effects of the different AMF inoculants can be appreciated in each one of the sunflower varieties; for example, an increase of 31% by the CM inoculant observed in the GSA variety with respect to the group without-AMF inoculated treatment, and even negative effects since in the BO variety all the AMF inoculants showed a decrease in growth (Figure 1, Tables 4 and 5).

Mycorrhizal Colonization and Plant Growth are Related in the Belleza de Otoño (BO) Variety

The correlation analysis showed an r value of -0.4078 between dry weight and mycorrhizal colonization for the BO variety, which revealed that while mycorrhizal colonization percentage increased, plant growth was lower in the BO sunflower variety. This effect was not observed in the rest of the sunflower varieties, for which the (r) correlation values were statistically zero (P > 0.05); this result suggested that no relationship existed between mycorrhizal colonization and plant dry weight (Table 5).

Discussion

The sunflower showed a great plasticity in plant growth by the effect of mycorrhizal colonization; in this study GSA was stimulated by CM and inhibited by LC while no significant effect was found with any AMF for the DE variety (Tukey's, $P \le 0.05$); in contrast, BO growth was inhibted by all AMF inoculants whereas for DG, the effect in growth was negative with LC. The high response variability (from parasitic to mutualistic) of different plants in the presence of mycorrhizal fungus strains is a phenomenon reported by Klironomos (2003) where magnitude and direction were determined by the combination plant-fungus. Additionally, no variety showed its best effect with the same mycorrhizal inoculant. This study has shown that the plasticity response to AMF is not only due to the differences among species but also to the varieties of the same plant species. The responses the sunflower showed to mycorrhizal colonization, in terms of growth, depended on the balance between the organic carbon donated to the fungus and phosphorus absorption that it provided to the plant (Smith and Smith, 2012).

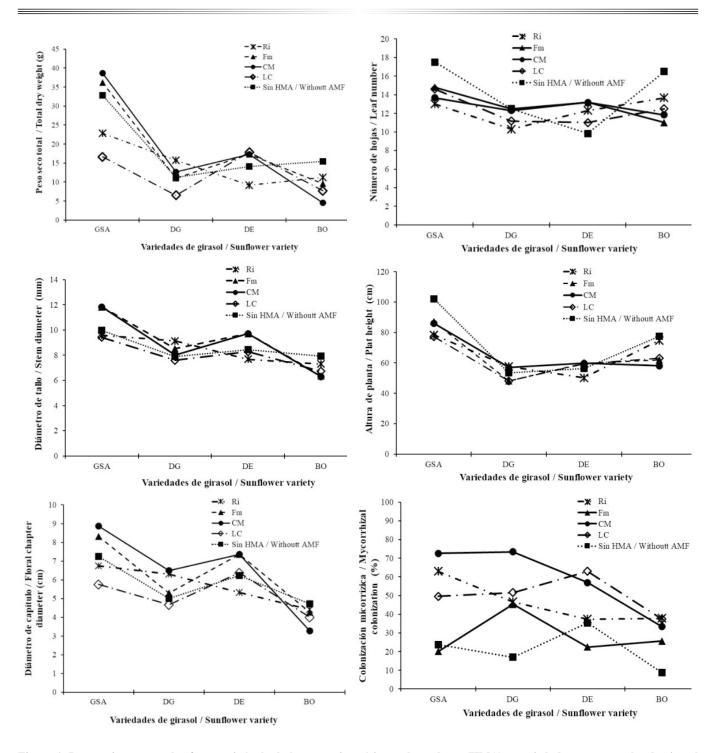


Figura 1. Interacciones entre los factores inóculo de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y variedades ornamentales de girasol en maceta a cielo abierto a los 70 días después del trasplante (época de lluvias, 2017; Zapopan, Jalisco). Variedades de girasol: GSA = gigante doble amarilla; DE = doble enana; DG = doble gigante; BO = belleza de otoño. Inóculos de HMA: Ri = *Rhizophagus intraradices*; Fm = *Funneliformis mosseae*; consorcios Cerro del Metate (CM) y Las Campesinas (LC).

Figure 1. Interactions among inoculant factors of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and ornamental sunflower varieties in pot at open sky at 70 days after transplant (rainy season 2017; Zapopan, Jalisco). Sunflower varieties: GSA = gigante doble amarilla; DE = doble enana; DG = doble gigante; BO = belleza de otoño. Inoculants of AMF: Ri = *Rhizophagus intraradices*; Fm = *Funneliformis mosseae*; consortia Cerro del Metate (CM) and Las Campesinas (LC).

Cuadro 4. Comportamiento del peso seco en cada variedad ornamental de girasol según el inóculo del hongo micorrízico arbuscular (HMA) inoculado a los 70 días después del trasplante en maceta a cielo abierto (época de lluvias, 2017; Zapopan, Jalisco). Table 4. Behavior of dry weight in each ornamental variety of sunflower according to the inoculum of the arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) inoculated at 70 days after transplantation in an open pot (rainy season, 2017; Zapopan, Jalisco).

HMA / AMF	Peso seco total de variedades ornamentales de girasol / Total dry weigh of ornamental sunflower varieties							
	Gigante simple amarilla	Doble gigante	Belleza de otoño	Doble enana				
			g					
R. intradices	$23.5 (-28)^{\dagger} ab$	13.3 (+18) b	11.2 (-27) a	9.2 (-36) a				
F. mosseae	37.0 (+12) ab	11.1 (+1) ab	9.6 (-37) a	17.3 (+19) a				
Consorcio CM / CM Consortium	43.2 (+31) b	12.7 (+13) b	9.5 (-38) a	12.2 (-15) a				
Consorcio LC / LC Consortium	17.2 (-48) a	6.5 (-42) a	7.7 (-50) a	18.1 (+25) a				
Sin HMA / Without-AMF	32.8 ab	11.2 b	15.4 a	14.42 a				

Medias con letras distintas en la misma columna son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \le 0.05$). † Entre paréntesis se muestra el cálculo del incremento (+) o decremento (-) del peso seco total respecto al tratamiento control sin HMA.

Averages with different letters in the same column are statistically different (Tukey's, $P \le 0.05$). † The calculus of increase (+) or decrease (-) of the total dry weight with respect to the control without-AMF treatment is shown in parenthesis.

los inóculos de HMA; en cambio para DG el efecto en el crecimiento fue negativo con LC. La alta variabilidad de respuestas (desde parasítica hasta mutualista) de diferentes plantas en presencia de diferentes cepas de hongos micorrízicos es un fenómeno reportado por Klironomos (2003) donde la magnitud y dirección del efecto fueron determinados por la combinación plantahongo. Además, ninguna variedad presentó su mejor efecto con el mismo inóculo micorrízico. En el presente estudio se muestra que esta plasticidad de respuesta a los HMA no solamente se debe a la diferencia entre especies, sino también a las variedades de una misma especie vegetal. La respuesta que presenta el girasol a la colonización micorrízica, en términos de crecimiento, depende del balance entre el carbono orgánico donado

A positive growth effect is attributed to the adequate phosphorus absorption of the plant through the AMF, and a negative response is attributed to this same fault of the fungus to provide phosphorus at the same time it consumes too much carbon (Smith and Smith, 2012).

A mycorrhizal fungus may be considered as a plant parasite when the net cost of symbiosis exceeds the net benefit. Parasitism may be induced by the plant development by the ambience or inclusive when determined by the plant species genotype (Johnson *et al.*, 1997). For example, the lack of light or phosphorus fertilization is considered a condition that favors parasitism by the fungi that form mycorrhizae (Friede *et al.*, 2016) and cause mycorrhized plants to grow less than those non-mycorrhized (Daft and El-

Cuadro 5. Coeficiente de correlación de Pearson (r) entre el peso seco total de cada variedad de girasol y su colonización micorrízica. Table 5. Pearson's correlation coefficient (r) between the total dry weight of each sunflower variety and its mycorrhizal colonization.

	Gigante simple amarilla	Doble gigante	Belleza de otoño	Doble enana
Correlación / Correlation	-0.0583	0.1246	-0.4078	0.0889
$Valor\text{-}P^{\dagger} \ / \ Value\text{-}P^{\dagger}$	0.7866	0.5711	0.0665	0.6866

Valor-P asociado a la Ho: r = 0; en negritas se rechaza Ho a un nivel de significancia de 0.07.

[†] P-Value associated to the null hypothesis (Ho): r = 0; Ho is rejected in bold to a level of significance of 0.07.

al hongo y la absorción de fósforo que éste le provee a la planta (Smith y Smith, 2012). Un efecto positivo del crecimiento se le atribuye a la absorción adecuada de fósforo de la planta a través del HMA y una respuesta negativa se atribuye a esta misma falla del hongo para proveer fósforo a la vez que consume demasiado carbono (Smith y Smith, 2012).

Un hongo micorrízico puede ser considerado como parásito de plantas cuando el costo neto de la simbiosis excede los beneficios netos. El parasitismo puede ser inducido por el desarrollo de la planta, por el ambiente o incluso puede estar determinado por el genotipo de la especie vegetal (Johnson et al., 1997). La falta de luz o la fertilización con fósforo, por ejemplo, se consideran condiciones que favorecen el parasitismo por los hongos que forman micorrizas (Friede et al., 2016) y que provoca que las plantas micorrizadas crezcan menos que las no micorrizadas (Daft y El-Giahmi, 1978; Ballhorn et al., 2016). Sin embargo, Friede et al. (2016) observaron que Hieracium pilosella (micotrófico obligado) forma asociaciones micorrízicas de tipo mutualistas de manera consistente bajo condiciones edáficas y de suelo tanto promotoras de mutualismo como de parasitismo, mientras que Corynephorus canescens (menos micotrófica) presentó una asociación pronunciada de parasitismo en todos los casos. Demostrando que el genotipo del hospedero tiene una función importante en la simbiosis micorrízica. En este caso, belleza de otoño es consistentemente afectada por la micorrización (independientemente del tipo de inóculo) lo cual sugiere que es un efecto del genotipo.

CONCLUSIONES

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) tienen un efecto diferencial en el crecimiento vegetal según la variedad de girasol hospedera, mientras que las variedades responden según la especie o consorcio de HMA que se utilice, lo cual se traduce que cada cepa de HMA puede establecer una relación de tipo mutualista, parasítica o no mostrar efectos sobre el crecimiento de las variedades de girasol ornamentales. belleza de otoño mostró una relación constante de parasitismo (respecto al crecimiento) con todos los inóculos de HMA, mientras que gigante simple amarillo (GSA) tuvo una relación de mutualismo con Cerro del Metate (CM),

Giahmi, 1978; Ballhorn *et al.*, 2016). Nevertheless, Friede *et al.* (2016) observed that *Hieracium pilosella* (obliged mycotrophic) formed mutualistic type mycorrhizal associations consistent under edaphic and soil conditions, both promoters of mutualism and parasitism, while *Corynephorus canescens* (less mycotrophic) showed a pronounced parasitism association in all the cases. These results demonstrated that the host genotype had an important function in mycorrhizal symbiosis. In this case, Belleza de Otoño was consistently affected by mycorrhization (independently of the inoculum type), which suggested it was a genotype effect.

CONCLUSIONS

The arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) had a differential effect on plant growth according to the sunflower variety host while the varieties responded according to the AMF species or consortium used, which translates to the fact that each AMF strain may establish a mutualistic, parasitic type relationship or may not show growth effects on ornamental sunflower varieties. Belleza de otoño showed a constant parasitism relationship (with respect to growth) with all the AMF inoculants, while gigante simple amarillo (GSA) had a mutualism type relationship with Cerro del Metate (CM); the doble enana (DE) variety did not show mycorrhization effects, and finally the doble gigante (DG) variety had mutualism and parasitism type relationships.

ACKNOWLEDGMENTS

This research was supported by the projects of Phytopathology line of research of CIATEJ and by the CONACYT Project 293362 through the Laboratorio Nacional PLANTECC. IVV is grateful to CONACYT for the scholarship for Master's studies. E. E. Quiñones-Aguilar participated as co-director of this Master's thesis research study; D. Fischer provided translation and edition services.

-End of english version-

la variedad doble enana (DE) no mostró efectos de la micorrización y finalmente la variedad doble gigante (DG) tuvo relaciones de mutualismo y parasitismo.

AGRADECIMIENTOS

La presente investigación fue apoyada por proyectos de la línea de Fitopatología del CIATEJ y mediante el proyecto 293362 del CONACYT a través del Laboratorio Nacional PLANTECC. IVV agradece al CONACYT por la beca de estudios de maestría. La Dra. E. E. Quiñones-Aguilar participó como codirectora de este trabajo de tesis de maestría; a D. Fischer por sus servicios editoriales en inglés.

-Fin de la versión en español-

LITERATURA CITADA

- Ballhorn, D. J., M. Schadler, J. D. Elias, J. Millar, and S. Kautz. 2016. Friend or foe light availability determines the relationship between mycorrhizal fungi, rhizobia and lima bean (*Phaseolus lunatus* L.). PloS ONE 11: e0154116. doi: https://dx.doi. org/10.1371/journal.pone.0154116.
- Barcos Arias, M. S., J. J. Peña-Cabriales, A. Alarcón, and M. Maldonado Vega. 2015. Enhanced Pb absorption by *Hordeum vulgare* L. and *Helianthus annuus* L. plants inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi consortium. Int. J. Phytoremediation 17: 405-413. doi: 10.1080/15226514.2014.898023.
- Bi, Y., L. Qiu, Y. Zhakypbek, B. Jiang, Y. Cai, and H. Sun. 2018. Combination of plastic film mulching and AMF inoculation promotes maize growth, yield and water use efficiency in the semiarid region of northwest China. Agric. Water Manage. 201: 278-286. doi: https://doi.org/10.1016/j.agwat.2017.12.008.
- Bye, R., E. Linares y D. Lentz. 2009. México: centro de origen de la domesticación del girasol. Rev. Esp. Cienc. Quím. Biol. 12: 5-12.
- Chandrashekara, C. P., V. C. Patil, and M. N. Sreenivasa. 1995. VA-mycorrhiza mediated P effect on growth and yield of sunflower (*Helianthus annuus* L.) at different P levels. Plant Soil 176: 325-328. doi: https://doi.org/10.1007/BF00011797.
- Corbera, J., V. M. Paneque, J. M. Calaña y C. Morale. 2008. Evaluación de sustratos y aplicación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en el cultivo de *Anthurium andreanum* en etapa de vivero. Cult. Trop. 29: 27-33.
- Davies, T. F., J. D. Puryear, R. J. Newton, J. N. Egilla, and G. J. A. Saraiva. 2001. Mycorrhizal fungi enhance accumulation and tolerance of chromium in sunflower (*Helianthus annuus*). J. Plant Physiol. 158: 777-786. doi: 10.1078/0176-1617-00311.
- Daft, M. J. and A. A. El-Giahmi. 1978. Effect of arbuscular mycorrhiza on plant growth. New Phytol. 80: 365-372.

- Friede, M., S. Unger, C. Hellmann, and W. Beyschlag. 2016. Conditions promoting mycorrhizal parasitism are of minor importance for competitive interactions in two differentially mycotrophic species. Front. Plant Sci. 7. 1465. doi: https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01465.
- Gholamhoseini, M., A. Ghalavand, A. Dolatabadian, E. Jamshidi, and A. Khodaei-Joghan. 2013. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on growth, yield, nutrient uptake and irrigation water productivity of sunflowers grown under drought stress. Agric. Water Manage. 117: 106-114. doi: https://dx.doi.org/10.1016/j.agwat.2012.11.007.
- Hassan, S. E., M. Hijri, and M. St-Arnaud. 2013. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on trace metal uptake by sunflower plants grown on cadmium contaminated soil. New Biotechnol. 30: 780-787. doi: https://doi.org/10.1016/j.nbt.2013.07.002.
- Hernández-Cuevas, L. V., P. Guadarrama-Chavez, I. Sánchez-Gallen y J. Ramos-Zapata. 2012. Micorriza arbuscular, colonización intrarradical y extracción de esporas de suelo. pp. 1-6. *In.* F. J. Álvarez S. y A. Monroy A. (Comps.). Técnicas de estudio de las asociaciones micorrízicas y sus implicaciones en la restauración. UNAM Fac. de Ciencias. México, D. F. ISBN: 978-607-02-3493-4.
- IAM-CUCEI (Instituto de Astronomía y Meteorología del Departamento de Física CUCEI Universidad de Guadalajara). 2017. Annual climatological summary. http://astro.iam.udg.mx/estacion/NOAAPRYR.TXT (Consulta: enero18, 2017).
- Johnson, N. C., J. H. Graham, and F. A. Smith. 1997. Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. New Phytol. 135: 575-585. doi: https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1997.00729.x.
- Khan, A. G. 2006. Mycorrhizoremediation-an enhanced form of phytoremediation. J. Zhejiang Univ. Sci. B 7: 503-514. doi: https://doi.org/10.1631/jzus.2006.B0503.
- Klironomos, J. N. 2003. Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. Ecology 84: 2292-2301. doi: https://doi.org/10.1890/02-0413.
- Ley-Rivas, J. F., J. A. Sánchez, N. E. Ricardo y E. Collazo. 2015. Efecto de cuatro especies de hongos micorrizógenos arbusculares en la producción de frutos de tomate. Agron. Costarricense 39: 47-59.
- Liriano G., R., D. B. Núñez S. y R. Barceló Díaz. 2012. Efecto de la aplicación de *Rhizobium* y micorriza en el crecimiento del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad CC-25-9 negro. Centro Agríc. 39: 17-20.
- Lingua, G., E. Bona, V. Todeschini, C. Cattaneo, F. Marsano, G. Berta, and M. Cavaletto. 2012. Effects of heavy metals and arbuscular mycorrhiza on the leaf proteome of a selected poplar clone: A time course analysis. PloS ONE 7: e38662. doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038662.
- Martínez-García, L. B., S. J. Richardson, J. M. Tylianakis, D. A. Peltzer, and I. A. Dickie. 2015. Host identity is a dominant driver of mycorrhizal fungal community composition during ecosystem development. New Phytol. 205: 1565-1576. doi: https://doi.org/10.1111/nph.13226.
- Mehrotra, V. S. and U. Baijal. 1995. Effects of single and mixed inocula of VAM fungi on the growth and yield of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Philippine J. Sci. 124: 183-201.

- Moreno, M. E. 1996. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. UNAM México D. F. ISBN: 9688373044, 9789688373040.
- Parra, M., M. Sánchez de Prager y E. Sieverding. 1990. Efecto de micorriza vesículo-arbuscular en café (*Coffea arabica* L.) variedad Colombia en almacigo. Acta Agron. 40: 88-99. doi: https://doi.org/10.15446/acag.
- Phillips, J. M. and D. S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. British Mycol. Soc. 55: doi: 158-161. doi: https://doi. org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3.
- Quiñones-Aguilar, E. E., E. Hernández-Acosta, G. Rincón-Enríquez y R. Ferrera-Cerrato. 2012. Interacción de hongos micorrízicos arbusculares y fertilización fosfatada en papaya. Terra Latinoamericana 30: 165-176.
- Smith, S. E. and F. A. Smith. 2012. Fresh perspectives on the roles of arbuscular mycorrhizal fungi in plant nutrition and growth. Mycologia 104: 1-13. doi: https://dx.doi.org/10.3852/11-229.
- Soleimanzadeh, H. 2010. Effect of VA-Mycorrhiza on growth and yield of sunflower (*Helianthus annuus* L.) at different phosphorus levels. Int. J. Agric. Biosyst. Engin. 71: 414-417. doi: https://doi.org/10.5281/zenodo.1072373.
- Soroa, M. R., S. L. Cortés y A. Hernández. 2003. Estudio del efecto de la aplicación de biofertilizantes sobre algunas variables de crecimiento y rendimiento en *Gerbera jamesonni* cv. Bolus. Cult. Trop. 24: 15-17.
- Souza, T. 2015. Handbook of arbuscular mycorrhizal fungi. Springer. Coimbra, Portugal. ISBN: 978-3-319-24850-9.
- StatPoint, Inc. 2005. StatGraphics Centurion XV version 15.02.06. Warrenton, Virginia, USA.

- Trejo, D., R. Ferrera-Cerrato, R. García, L. Varela, L. Lara y A. Alarcón. 2011. Efectividad de siete consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares en plantas de café en condiciones de invernadero y campo. Rev. Chilena Hist. Nat. 84: 23-31. doi: http://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2011000100002.
- Trinidad-Cruz, J. R., E. E. Quiñones-Aguilar, L. V. Hernández-Cuevas, L. López-Pérez y G. Rincón-Enríquez. 2017. Hongos micorrízicos arbusculares asociados a la rizósfera de *Agave cupreata* en regiones mezcaleras del estado de Michoacán, México. Sci. Fungorum 45: 13-25.
- Vangelisti, A., L. Natali, R. Bernardi, C. Sbrana, A. Turrini, K. Hassani-Pak, D. Hughes, A. Cavallini, M. Giovannetti, and T. Giordani. 2018. Transcriptome changes induced by arbuscular mycorrhizal fungi in sunflower (*Helianthus annuus* L.) roots. Sci. Rep. 8. doi: https://doi.org/10.1038/s41598-017-18445-0.
- Van der Heijden, M. G. A., J. N. Klironomos, M. Ursic, P. Moutoglis, R. Streitwolf-Engel, T. Boller, A. Wiemken, and I. R. Sanders. 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. Nature 396: 69-72. doi: https://doi.org/10.1038/23932.
- Wilson, G. W. T. and D. C. Hartnett. 1997. Effects of mycorrhizae on plant growth and dynamics in experimental tallgrass prairie microcosms. Am. J. Bot. 84: 478-482. doi: 10.2307/2446024.
- Yañez, P., H. Ohno, and K. Ohkawa. 2004. Effect of photoperiod on flowering and growth of ornamental sunflower cultivar. Environ. Contr. Biol. 42: 287-293. doi: https://doi.org/10.2525/ecb1963.42.287.
- Zangaro, W., J. M. Dominguez Torezan, L. Vergal Rostirola, P. Bochi Souza, and M. A. Nogueira. 2015. Influence of mycorrhizas, organic substrates and container volumes on the growth of *Heliocarpus popayanensis* Kunth. CERNE 21: 395-403. doi: https://dx.doi.org/10.1590/01047760201521031335.