

CRECIMIENTO DE GENOTIPOS DE SORGO Y CÁRTAMO ASOCIADOS A LA COLONIZACIÓN MICORRÍZICA ARBUSCULAR EN SUELO CON BAJA FERTILIDAD

Growth of sorghum and safflower genotypes associated with arbuscular mycorrhizal colonization in low fertility soil

A Díaz-Franco ✉, I Garza-Cano

(ADF)(IGC) Campo Experimental Río Bravo, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Carr. Matamoros-Reynosa, km 61/Apartado Postal 172, CP. 88900, Río Bravo, Tamaulipas, México. diaz.arturo@inifap.gob.mx.

Artículo recibido: 19 de enero de 2006, **aceptado:** 24 de enero de 2007

RESUMEN. Para conocer la efectividad de la simbiosis por el hongo micorrízico arbuscular (HMA) *Glomus intraradices* en el crecimiento de nueve híbridos de sorgo para grano y cinco genotipos de cártamo, en suelo con deficiente contenido de N (9 mg kg^{-1}), P (11 mg kg^{-1}) y materia orgánica (1.4%), se realizó un estudio de invernadero donde las plantas fueron o no inoculadas con el HMA. Se realizaron mediciones de índice de clorofila, altura de planta, biomasa seca, peso seco de raíz y colonización micorrízica. En plantas colonizadas de sorgo, se observó una promoción significativa ($p=0.01$) de altura de planta, biomasa seca y peso seco de raíz, comparadas con las plantas no micorrizadas. La colonización micorrízica alcanzó en promedio 37.5%. El índice de clorofila mostró una respuesta diferencial entre los híbridos de sorgo, con solo 'Patrón' y '83G66' sin incrementos significativos. En los genotipos de cártamo, la colonización micorrízica registró 36.8% en promedio e incrementó significativamente la altura de planta ($p=0.001$) y la biomasa seca ($p=0.05$), con relación a las plantas no micorrizadas. El índice de clorofila también fue variable entre los genotipos de cártamo, solamente las líneas CS-1623, S-518 y SI-CEN-1240, incrementaron significativamente el contenido de clorofila con la micorrización. Los resultados demostraron que *G. intraradices* promovió el crecimiento de genotipos de sorgo y cártamo en suelo de baja fertilidad.

Palabras clave: Micorrización, *Glomus intraradices*, *Sorghum bicolor*, *Carthamus tinctorius*, características de planta

ABSTRACT. A greenhouse study was carried out to determine the effectiveness of the arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) *Glomus intraradices* on the growth of nine hybrids of grain sorghum and five genotypes of safflower, in soil with deficient N (9 mg kg^{-1}), P (11 mg kg^{-1}) and organic matter (1.4%), using plants that were and were not inoculated with AMF. Chlorophyll, plant height, dry biomass, root dry weight and mycorrhizal colonization were measured. Mycorrhizal colonized sorghum plants showed a significant ($p=0.01$) increase in plant height, dry biomass and root dry weight, in comparison with non-colonized plants. Mean mycorrhizal colonization reached 37.5%. Chlorophyll rate showed a differential response between the sorghum hybrids, where only 'Patron' and '83G66' showed no significant increases. In the safflower genotypes, mycorrhizal colonization registered 36.8% on average and significantly increased plant height ($p=0.001$) and dry biomass ($p=0.05$), with respect to the non-colonized plants. Chlorophyll rate also varied among the safflower genotypes, with only lines CS-1623, S-518 and SI-CEN-1240 significantly increasing in chlorophyll content with mycorrhization. Results show that *G. intraradices* promoted growth in sorghum and safflower genotypes in low fertility soil.

Key words: Mycorrhization, *Glomus intraradices*, *Sorghum bicolor*, *Carthamus tinctorius*, plant characteristics

INTRODUCCIÓN

Entre los beneficios que aporta la simbiosis originada por los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en las plantas hospederas, se encuentra la promoción del crecimiento y la nutrición mineral

de la planta (Schachtman *et al.* 1998; Allen *et al.* 2001), la tolerancia a patógenos de la raíz (Graham 2001; Espinosa *et al.* 2004) y a condiciones abióticas adversas como sequía (Augé *et al.* 2001, Kaya *et al.* 2003), heladas (El-Tohamy *et al.* 1999) y salinidad (Al-Karaki 2000). Por lo anterior y debido al

interés en la búsqueda de prácticas de alternativa dentro de los sistemas de agricultura sostenible, la micorrización representa una práctica que debe ser considerada (Sylvia 1999; Ferrera-Cerrato & Alarcón 2004).

El sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) y el cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) son cultivos utilizados comúnmente en diversas regiones y en suelos de baja fertilidad en México. Existen antecedentes reportando la simbiosis del sorgo y el cártamo con los HMA. En sorgo las plantas micorrizadas con *Glomus intraradices* (Schenk & Smith), mostraron más crecimiento, pigmentos fotosintéticos y conductancia estomatal comparadas con las plantas no micorrizadas (Ibrahim *et al.* 1990; Abdel & Mohamedin 2000). Bressan *et al.* (2001) informaron que la inoculación con diferentes especies de HMA, contribuyó al incremento de la biomasa seca, y a una mayor absorción de N, P, K, Zn y Cu por la planta. Caris *et al.* (1998) evidenciaron que las hifas de *G. mosseae* (Nicol. & Gerd.) son capaces de transportar el Fe^{+3} del suelo a la planta de sorgo. Para el caso de cártamo, la información es limitada y con resultados negativos. La colonización del cártamo por HMA *G. etunicatum* (Becker & Gerd.) en cártamo no tuvo impacto en el estatus osmótico, la cantidad de agua en la planta ni en la adquisición de P por la planta (Bryla & Duniway 1997; 1998). No se conoce la respuesta de genotipos de cártamo y sorgo a HMA. Por lo anterior, el propósito del presente estudio fue conocer la influencia que tiene la inoculación de *G. intraradices* en el crecimiento de genotipos de sorgo y cártamo en suelos con baja fertilidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el invernadero del Campo Experimental Río Bravo del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Río Bravo, México (25° 57' N y 98° 01' O). Las características físicoquímicas del suelo fueron: textura franco arenoso; ligeramente alcalino (pH 7.6); con bajo contenido de materia orgánica (1.4%), de N (9 mg kg⁻¹), de P (11 mg kg⁻¹) y alto en K (350 mg kg⁻¹) (Plenecassagne *et al.* 1999). El suelo se esterilizó con bromuro de metilo y se colocó en macetas de 24.5 cm de diáme-

tro y de 28 cm de alto. Los genotipos de cártamo evaluados fueron las líneas avanzadas CS-1623, SI-CEN-1240 y S-518 (provenientes del Campo Experimental Sur de Tamaulipas, INIFAP), así como las variedades 'Gila 91' y 'Quilantán' (del Campo Experimental Valle del Yaqui, INIFAP). Los genotipos de sorgo para grano fueron los híbridos comerciales Asgrow: 'Coral'; INIFAP: 'Patrón' y 'RB-3030'; Pioneer: '83G66', '82G63' y '8443'; Dekalb: 'DK-55' y 'DK-52'; y Warner: 'Wac 690'. Cada genotipo fue o no inoculado al momento de la siembra con el HMA *Glomus intraradices* a razón de 10 g de sustrato debajo de la semilla por maceta. El inóculo estuvo formado de suelo y trozos de raíces de sorgo micorrizados (75 % de colonización) como planta hospedante. La siembra de cártamo se realizó el 11 de noviembre de 2002 y la de sorgo el 29 de enero de 2003. La población final de plantas por maceta en ambos cultivos fue de seis a siete; las plantas se regaron por aspersión regularmente una vez por semana. La unidad experimental fue una maceta con un total de 15 macetas (repeticiones) para el tratamiento inoculado y 15 para el testigo, en un arreglo factorial (A x B) con tratamientos aleatorizados en un diseño experimental completamente al azar.

Las plantas se desarrollaron durante 11 semanas. La información registrada fue el índice de clorofila por un método no destructivo, obtenido de 25 lecturas mediante el medidor portátil Minolta SPAD 505 en la hoja bandera de las plantas de sorgo (Garza *et al.* 2005) y en el tercio superior de las hojas para el caso del cártamo; la altura de planta y el peso de la biomasa seca. Posteriormente, las raíces se lavaron con agua para después medir la biomasa radical seca; también, se determinó la colonización micorrízica mediante un muestreo de cada maceta siguiendo la técnica de aclareo y tinción con azul de tripano sugerida por Phillips & Hayman (1970). Los datos se sometieron al análisis de varianza y, posteriormente, a la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey (p=0.05); adicionalmente, se calcularon los coeficientes de correlación simple entre las variables. Para el análisis estadístico se utilizó el software Statgraphics Plus 3.1 (1997).

RESULTADOS

Sorgo. El análisis de varianza indica que la sim-

Tabla 1. Características de los híbridos de sorgo con o sin la inoculación de micorriza arbuscular *G. intraradices*.
Table 1. Characteristics of sorghum hybrids with or without inoculation of the arbuscular mycorrhizae *G. intraradices*.

Variable	Índice de clorofila	Altura de planta (cm)	Biomasa seca (g)	Peso de raíz (g)	CMR (%) ^X
Micorriza (M)					
Con	31.1	46.2	13.1	10.8	37.5
Sin	28.8	42.7	11.3	9.8	0
<i>Significancia F</i>	***	***	***	**	**
Híbrido (H)					
Coral	29.6 bcd ^Y	43.6 bc	11.6 bcd	15.8 a	38.2 abZ ^Z
8443	30.3 bc	44.3 bc	13.0 b	8.6 d	42.8 a
RB-3030	30.2 bc	39.2 d	10.7 d	6.4 e	29.5 c
Patrón	31.8 a	44.1 bc	13.2 b	10.1 c	30.1 c
Wac-690	28.5 de	49.8 a	11.3 d	9.6 cd	42.3 a
DK-55	30.6 b	46.2 ab	12.9 bc	9.7 c	38.1 ab
83G66	29.5 cde	40.7 cd	11.6 bcd	11.8 b	39.2 ab
82G63	28.7 e	49.2 a	11.4 cd	12.8 b	38.4 ab
DK-52	30.1 bc	43.1 bc	14.7 a	9.7 c	38.4 ab
<i>Significancia F</i>	***	***	***	**	***
M x H	**	NS	NS	NS	NS

^XCMR, colonización micorrizica radical.

^YValores unidos con la misma letra son semejantes en el ámbito p=0.05 en la prueba de Tukey.

^ZValores de tratamiento inoculado.

NS, **, *** No significancia o significancia a nivel de p=0.01 y 0.001, respectivamente.

biosis originada por la inoculación micorrizica en los híbridos de sorgo incrementó significativamente (p=0.01) el contenido de clorofila, la altura de planta, la biomasa seca y el peso seco de raíz, en comparación con las plantas no colonizadas. En promedio las plantas inoculadas alcanzaron 37.5% de colonización micorrizica radical. Solamente se observó interacción entre la inoculación de micorriza comparada contra tipo de híbrido para la variable índice de clorofila. Comparativamente, las plantas micorrizadas superaron a las no micorrizadas con 7.9% en índice de clorofila, 8.1% en altura de planta, 16% en biomasa seca, 10.2% en peso seco de raíz (Tabla 1). Todo ello manifiesta la efectividad simbiótica de *G. intraradices* en los híbridos de sorgo.

Se observó una respuesta estadísticamente distinta (p=0.01) entre los híbridos de sorgo en función de las variables evaluadas. En general, se apreció que 'Wac-690' y '82G63' registraron la mayor altura de planta (49.5 cm en promedio), 'DK-52' fue superior en biomasa seca (14.7 g), 'Coral' y '8443' se distinguieron por el mayor peso seco de raíz (15.8 g) y la colonización micorrizica radical (42.8%), respectivamente (Tabla 1). El análisis estadístico no detectó diferencias significativas para la

mayoría de las interacciones, lo que demuestra que los efectos de los dos factores en el estudio son independientes. Sin embargo, la interacción significativa (p=0.01) representada por inoculación micorrizica x híbrido de sorgo para el índice de clorofila (Tabla 1) evidenció que el HMA *G. intraradices* fue capaz de incrementar significativamente su contenido, excepto en los híbridos 'Patrón' y '83G66' (Tabla 2). No se destacaron correlaciones significativas entre las variables estudiadas.

Tabla 2. Índice de clorofila con o sin la inoculación de *G. intraradices* en híbridos de sorgo.

Table 2. Chlorophyll rate with or without inoculation of *G. intraradices* in sorghum hybrids.

Híbrido	Inoculación micorrizica		Tukey
	Con	Sin	
Coral	31.64	27.74	*
8443	31.60	29.08	*
RB-3030	31.16	29.58	*
Patrón	31.92	31.68	NS
Wac-690	30.04	27.10	*
DK-55	32.32	28.94	*
83G66	30.40	29.00	NS
82G63	29.98	27.52	*
DK-52	31.56	28.82	*

NS, * No significancia o significancia a nivel de p=0.05, respectivamente.

Cártamo. El análisis de varianza indicó que, con excepción del peso seco de raíz, el efecto simbiótico

Tabla 3. Características de los genotipos de cártamo con o sin la inoculación del HMA *G. intraradices*.
Table 3. Characteristics of safflower genotypes with or without inoculation of the arbuscular mycorrhizae *G. intraradices*.

Variable	Índice de clorofila	Altura de planta (cm)	Biomasa seca (g)	Peso de raíz (g)	CMR (%) ^X
Micorriza (M)					
Con	45.1	31.3	9.9	3.0	36.8
Sin	42.6	28.2	8.7	2.8	0
<i>Significancia F</i>	**	***	*	NS	***
Genotipo (G)					
CS-1623	43.8	26.4 b ^Y	8.4	2.7 a	34.6 ab ^Z
S-518	44.8	31.1 a	9.8	2.6 a	40.2 a
SI-CEN-1240	43.4	33.7 a	10.4	3.2 a	29.3 b
Quilantán	44.3	33.8 a	9.7	3.3 a	28.4 b
Gila-91	42.8	23.7 b	8.6	2.6 a	38.2 a
<i>Significancia F</i>	NS	*	NS	*	**
M x G	***	NS	NS	NS	NS

^XCMR, colonización micorrízica radical.

^YValores unidos con la misma letra son semejantes en el ámbito $p=0.05$ en la prueba de Tukey.

^ZValores de tratamiento inoculado.

NS, *, **, *** No significancia o significancia a nivel de $p=0.01$ y 0.001 , respectivamente.

Tabla 4. Índice de clorofila con o sin la inoculación de *G. intraradices* en genotipos de cártamo.
Table 4. Chlorophyll rate with or without inoculation of *G. intraradices* in safflower genotypes.

Inoculación micorrízica	Genotipos				
	CS-1623	S-518	SI-CEN-1240	Quilantán	Gila-91
Con	47.60	46.18	44.03	44.84	43.12
Sin	40.00	43.62	42.94	43.90	42.63
Tukey	*	*	*	NS	NS

NS, *No significancia o significancia a nivel de $p=0.01$ y 0.001 , respectivamente.

originado por *G. intraradices* promovió significativamente ($p=0.05$) el índice de clorofila, la altura de planta y la biomasa seca, comparadas contra las plantas no colonizadas de los cinco genotipos de cártamo. Al igual que en el caso de sorgo, en cártamo se observó la interacción entre la inoculación micorrízica y los genotipos para el índice de clorofila. La micorrización incrementó 6% el índice de clorofila, 11% la altura de planta, 13.7% la biomasa seca y, en promedio, la colonización micorrízica de los genotipos de cártamo alcanzó 36.8% (Tabla 3). Los resultados manifestaron también la efectividad simbiótica de *G. intraradices* en los genotipos de cártamo. Se observaron variaciones significativas entre los genotipos de cártamo como respuesta a la inoculación con micorriza para altura de planta ($p=0.05$), la colonización micorrízica radical ($p=0.01$) y el peso seco de raíz ($p=0.05$); no obstante, ésta última variación no fue significativa según la prueba de separación de medias de Tukey ($p=0.05$). Los genotipos de cártamo con mayor al-

tura de planta fueron las líneas S-518, SI-CEN-1240 y la variedad 'Quilantán' (32.8 cm en promedio); los mayores valores de colonización micorrízica radical los registraron la línea S-518 (40.2%) y la variedad 'Gila-91' (38.2%) (Tabla 3). El análisis estadístico no detectó diferencias significativas para la mayoría de las interacciones, lo que demuestra, al igual que en sorgo, que los efectos de los dos factores en el estudio con cártamo son independientes. También se observó la interacción significativa ($p=0.001$) entre inoculación micorrízica x genotipo para la variable índice de clorofila, lo que evidenció que *G. intraradices* fue capaz de incrementar significativamente su contenido solamente en las tres líneas (CS-1623, S-518 y SI-CEN-1240) (Tabla 4). A diferencia del experimento de sorgo, se observaron asociaciones significativas entre la altura de planta y la biomasa seca ($r=0.86^{**}$) y la altura de planta y el peso seco de raíz ($r=0.80^{**}$).

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio demostraron que la inoculación con el HMA *G. intraradices* impactó favorablemente el crecimiento de los genotipos de sorgo y de cártamo, dado que la efectividad simbiótica en las dos especies fue evidente. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Díaz & Garza (2006) y Abdel & Mohamedin (2000), quienes informaron que la inoculación del pasto buffel (*Cenchrus ciliaris* L.) y sorgo con *G. intraradices* incrementó el crecimiento, la síntesis de pigmentos fotosintéticos y de proteínas en comparación con plantas sin inocular.

Bressan *et al.* (2001) concluyeron que la inoculación de sorgo con HMA aumentó la biomasa y la absorción de nutrientes como N, P, K, Zn y Cu. El efecto benéfico de la micorrización por *G. intraradices* en otras especies de plantas se ha atribuido a la mayor asimilación de minerales asociado con la mayor producción de biomasa (Ibrahim *et al.* 1990; Plascencia *et al.* 1997; Clark *et al.* 1999). En cártamo Bryla & Duniway (1997; 1998) indican que la colonización de *G. etunicatum* no influyó en características de planta, como el estatus osmótico, el contenido de agua en la planta o la asimilación de P por la planta.

Por otro lado, las plantas con y sin inoculación micorrízica crecieron en un mismo suelo con deficiencias en materia orgánica, N y P, y así la diferencia positiva encontrada en plantas micorrizadas puede atribuirse tanto al crecimiento externo del micelio como a la extensión de la superficie de exploración y a la capacidad del HMA para incrementar el transporte de nutrimentos, particularmente P (Caris *et al.* 1998; González *et al.* 2004). Garza *et al.* (2005) destacaron que *G. intraradices* aumentó el

contenido de P foliar en sorgo, aún en suelo con bajo contenido de dicho elemento.

La inoculación con *G. intraradices* en sorgo dio lugar a una respuesta diferencial en índice de clorofila, altura de planta, biomasa seca, peso seco de raíz y colonización micorrízica entre híbridos; mientras entre genotipos de cártamo la respuesta se registró en altura de planta y en colonización micorrízica en la raíz. Particularmente, destacó el incremento significativo de clorofila promovido por la simbiosis en siete de los nueve híbridos de sorgo, así como en tres de los cinco genotipos de cártamo. Dicha manifestación podría explicarse por el grado de especificidad entre el HMA y el genotipo evaluado. Este es el primer informe sobre la variabilidad de respuesta entre genotipos de sorgo y cártamo asociados con la colonización de HMA. Díaz & Garza (2006) reportaron respuesta diferencial entre genotipos de pasto buffel colonizados con *G. intraradices*, en ese caso, la micorrización promovió mayor contenido de proteína foliar en tres de cinco genotipos. Ferrera-Cerrato & Alarcón (2004) señalaron la importancia del genotipo tanto de los hospedantes como de los HMA involucrados en la simbiosis, ya que esta interacción determina la respuesta de la inoculación con los HMA, por lo que no es apropiado generalizar que los HMA siempre estimulan el crecimiento de las plantas.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo de la Fundación Produce Tamaulipas, A. C. y del Patronato para la Investigación, Fomento y Sanidad Vegetal, del norte de Tamaulipas, a través del proyecto 3113315A. A Juan Olvera y Francisco García Martínez, por su asistencia en el trabajo.

LITERATURA CITADA

- Abdel FG, Mohamedin AH (2000) Interactions between a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and *Streptomyces* and their effects on sorghum plants. *Biol. & Fert. Soils* 32(5): 401-409.
- Al-Karaki GN (2000) Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. *Mycorrhiza* 10(2): 51-54.
- Allen BL, Jolley VD, Robbins W, Freeborne LL (2001) Fallow versus wheat cropping of unamended and manure-amended soils related to mycorrhizal colonization, yield and plant nutrition of dry bean and sweet corn. *J. Plant Nutr.* 24(6): 921-943.
- Augé RM, Stodola AJ, Tims JE, Saxton M (2001) Moisture relation properties of a mycorrhizal soil. *Plant and Soil* 230(1): 87-97.

- Bressan W, Siqueira JO, Vasconcellos CA, Purcino AA (2001) Mycorrhizal fungi and phosphorus on growth, yield and nutrition of intercropped grain sorghum and soybean. *Pesq. Agrop. Bras.* 36(2): 315-323.
- Bryla DR, Duniway JM (1997) Effects of mycorrhizal infection on drought tolerance and recovery in safflower and wheat. *Plant and Soil* 197(1): 95-103.
- Bryla DR, Duniway JM (1998) The influence of the mycorrhiza *Glomus etunicatum* on drought acclimatation in safflower and wheat. *Physiol. Plant.* 104(1): 87-96.
- Caris C, Hordt W, Hawkins HJ, Romheld V, George E (1998) Studies of iron transport by arbuscular mycorrhizal hyphae from soil to peanut and sorghum plants. *Mycorrhiza* 8(1): 35-39.
- Clark RB, Zobel RW, Zeto SK (1999) Effects of mycorrhizal fungus isolates on mineral acquisition by *Panicum virgatum* in acidic soil. *Mycorrhiza* 9(3): 167-176.
- Díaz FA, Garza CI (2006) Colonización micorrízica arbuscular y crecimiento de genotipos de pasto buffel (*Cenchrus ciliaris*). *Rev. Fitotec. Mex.* 29(3): 203-206.
- El-Tohamy W, Schnitzler W, El-Behairy U (1999) Effect of VA mycorrhiza on improving drought and chilling tolerance of bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Appl. Bot.* 73(2): 178-183.
- Espinosa VD, González MD, Plascencia PJ, García ER (2004) Reducción de la incidencia de *Phytophthora capsici* Leo en el sistema radical de plántulas de chile pre-micorrizadas con *Glomus intraradices* Terra Latinoamer. 22(3): 317-326.
- Ferrera-Cerrato R, Alarcón A (2004) Biotecnología de los hongos micorrízicos arbusculares. En: Díaz FA, Mayek PN, Mendoza HA, Maldonado MM (eds). Memoria Simposio de Biofertilización. Campo Experimental Río Bravo, INIFAP y Centro de Biotecnología Genómica, IPN. Río Bravo, México. p. 1-9.
- Garza CI, Pecina QV, Díaz FA, Williams AH, Ramírez LJ (2005) Sorgo cultivado con biofertilizantes, fitohormonas y fósforo inorgánico. *Terra Latinoamer.* 23(4): 581-586.
- González CM, Gutiérrez CM, Wright S (2004) Hongos micorrízicos arbusculares en la agregación del suelo y su estabilidad. *Terra Latinoamer.* 22(4): 507-514.
- Graham JH (2001) What do root pathogens see in mycorrhizas? *New Phytol.* 149(3): 357-359.
- Ibrahim MA, Campbell WF, Rupp LA, Allen EB (1990) Effects of mycorrhizae on sorghum growth, photosynthesis and stomatal conductance under drought conditions. *Arid Soil Res. Rehabil.* 4(2): 99-107.
- Kaya C, Higgs D, Kirnak H, Tas I (2003) Mycorrhizal colonization improves fruit yield and water use efficiency in watermelon (*Citrullus lanatus*) grown under well-watered and water-stressed conditions. *Plant and Soil* 253(2): 287-292.
- Phillips JM, Hayman DS (1970) Improved procedure for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55(1): 158-161.
- Plascencia EO, Francisca JJ, Vargas H, Ferrera-Cerrato R, González VA (1997) Effect of vesicular-arbuscular micorriza on growth and biomass allocation of eucalyptus seedlings. *Terra* 15(1): 7-14.
- Plenecassagne A, Romero FE, López BC (1999) Manual de laboratorio: Análisis de suelo, planta y agua. INIFAP-ORSTOM. Gomez Palacio, México. 173 pp.
- Schachtman DP, Reid RJ, Ayling SM (1998) Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. *Plant Physiol.* 116(2): 447-453.
- Statgraphics Plus 3.1 (1997) Manugistics, Inc. Rockville, USA.
- Sylvia DM (1999) Fundamentals and applications of arbuscular mycorrhizae: A "biofertilizer" perspective. En: Siqueira JO, Moreira FM (eds). *Soil Fertility, Soil Biology, and Plant Nutrition Interrelationships*. Sociedade Brasileira de Ciencia do Solo. Minas, Brasil. p. 705-723.