

Inoculación con aislamientos seleccionados de hongos vesículo-arbusculares como alternativa para moderar el estrés hídrico en plantas de tomate platense bajo condiciones de invernáculo.

Ruscitti, Marcela¹; Sebastián Garita¹; María Cecilia Arango¹; José Beltrano^{1,2,3}

¹INFIVE (CCT CONICET La Plata) - Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata. Diagonal 113 N° 495, La Plata, Buenos, Argentina; ²CICBA. Comisión de Investigaciones Científicas, Calle 526 entre 10 y 11 CP: 1900, La Plata, Buenos Aires, Argentina; ³josebeltrano@gmail.com; jbeltrano@agro.unlp.edu.ar

Ruscitti, Marcela; Sebastián Garita; María Cecilia Arango; José Beltrano (2015) Inoculación con aislamientos seleccionados de hongos vesículo-arbusculares como alternativa para moderar el estrés hídrico en plantas de tomate platense bajo condiciones de invernáculo. Rev. Fac. Agron. Vol 114 (2): 219-229

El estrés por déficit hídrico provoca en las plantas modificaciones a nivel celular que traen como consecuencia diversas alteraciones fisiológicas y bioquímicas y la detención del crecimiento. La simbiosis entre los hongos micorrícicos arbusculares y la mayoría de las plantas superiores permite a éstas últimas una mayor absorción de agua y nutrientes, a partir de la extensa red de hifas que los hongos desarrollan aumentando el volumen de suelo explorado. En el presente trabajo se plantea la hipótesis que la inoculación de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* var. platense) con hongos micorrícicos arbusculares morigerar el efecto del estrés hídrico moderado o severo. El objetivo fue, comprobar que la inoculación con hongos micorrícicos favorece el crecimiento y modifica el metabolismo de plantas de tomate crecidas con diferentes grados de déficit hídrico y volúmenes de sustrato explorable. Se cultivaron plantas de tomate en envases con 0,5; 1; y 3 kg de sustrato, las cuales fueron sometidas a 3 situaciones hídricas: capacidad de campo, estrés hídrico moderado y severo. La inoculación se realizó con: *Glomus mosseae*, *Glomus intraradices* A4 y *Glomus intraradices* B1. Al finalizar el ensayo se evaluó: área foliar, acumulación de materia seca, contenido de prolina y de malondialdehído. La micorrización fue elevada con las 3 cepas de hongos y en los parámetros evaluados las plantas micorrizadas presentaron un mayor crecimiento que las no micorrizadas. Además, los niveles de prolina y malondialdehído demuestran que las plantas no micorrizadas fueron más afectadas por el estrés respecto de las inoculadas. La simbiosis con hongos micorrícicos resultó una estrategia apropiada para moderar el estrés hídrico en plantas de tomate.

Palabras clave: *Glomus mosseae*, *Glomus intraradices*, prolina, malondialdehído, estrés hídrico

Ruscitti, Marcela; Sebastián Garita; María Cecilia Arango; José Beltrano (2015) Vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis as an alternative to moderate water stress in tomato (*Solanum lycopersicum* var. platense). Rev. Fac. Agron. Vol 114 (2): 219-229

The water stress causes changes at the cellular level that result in physiological and biochemical alterations and decreased plants growth. The symbiosis between arbuscular mycorrhizal fungi and most of the plants, allows greater absorption of water and nutrients from the extensive network of fungal hyphae that develop inside the root and in the external medium. In this study, we hypothesized that inoculation of tomato plants (*Solanum lycopersicum* var. Plata) with arbuscular mycorrhizal fungi morigerar the effect of moderate to severe water stress. The aim was to check that inoculation with mycorrhizal fungi promotes the growth and metabolism of tomato plants grown with different levels of water deficit and volumes substrate. Tomato plants were grown in 0.5: 1 and 3 kg of substrate, and 3 water situations: field capacity, moderate and severe water stress. The inoculums was: *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices* A4 and B1; and inactive inoculum was used for control. At the end of the assay the parameters evaluated were: leaf area and accumulation of dry matter, proline and malondialdehyde content. Mycorrhization was with 3 strains, and in all parameters evaluated the mycorrhizal plants showed higher growth respect to non-mycorrhizal plants. Furthermore, levels of proline and malondialdehyde demonstrated that non-mycorrhizal plants were more affected by stress than inoculated plants. The symbiosis with mycorrhizal fungi, results a appropriate strategy to modular the effects of water stress in tomato plants.

Key words: *Glomus mosseae*, *Glomus intraradices*, malondialdehyde, proline, water stress.

Recibido: 14/11/2014

Aceptado: 11/08/2015

Disponible on line: 30/01/2016

ISSN 0041-8676 - ISSN (on line) 1669-9513, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, Argentina

INTRODUCCIÓN

La producción hortícola es una de las principales actividades económicas del Partido de la Plata. El Cinturón Hortícola Platense es la zona de mayor producción de tomate del país (33%), seguido por las provincias de Corrientes (22%) y Salta (18%). El tomate platense es una variedad que se ha cultivado por décadas en el área de La Plata, lo que permitió su adaptación a las distintas condiciones edafoclimáticas. Esta variedad se destaca por su sabor, aroma y rusticidad. El estrés por sequía es el principal factor que limita el rendimiento de los cultivos. Los efectos de la deficiencia de agua están directamente relacionados con la intensidad y duración del estrés, con el estado fenológico del cultivo y la capacidad genética del cultivar utilizado (Panozzo & Eagles, 1999). El cultivo de tomate requiere riego frecuente porque es exigente en agua y carece de un sistema de raíces profundas siendo uno de los factores más importante que afecta su crecimiento (Hsiao & Bradford, 1983). La respuesta más sensible al estrés hídrico es la detención del crecimiento celular (Sharp, 1979), seguida por la reducción en la síntesis de componentes de la pared celular y de proteínas y por alteraciones en los lípidos constitutivos de las membranas celulares (Göbel et al., 2003; Bai et al., 2010). Por otro lado, el estrés hídrico induce la acumulación de solutos como glicerol, azúcares, betaína y prolina como resultado de un mecanismo adaptativo de tolerancia a la sequía o la salinidad, que es el ajuste osmótico; por lo tanto la acumulación de prolina puede considerarse un indicador del estrés (Hare et al., 1998). Además, la peroxidación lipídica en las plantas es una característica importante de la senescencia y muerte celular, en situaciones de estrés biótico y abiótico (Göbel et al., 2003). El malondialdehído (MDA) es el primer producto de la peroxidación lipídica y es utilizado como un marcador de daño oxidativo en la planta variando su concentración en función del tipo y duración del estrés (Bai et al., 2010). Las micorrizas arbusculares (MA) son asociaciones simbióticas que se establecen entre hongos del phylum Glomeromycota y las raíces de la mayoría de las plantas (Harley & Smith, 1983). Esta asociación ha sido conocida desde hace más de un siglo, pero en las últimas décadas se ha convertido en una herramienta útil en la horticultura, la agricultura y la silvicultura, donde hay evidencias de su eficacia en el desarrollo competitivo y sostenible de los sistemas de producción (Pawlowska & Charvat, 2004; Pawlowska & Taylor, 2005; Ruscitti et al., 2011a). Los hongos formadores de micorrizas arbusculares pueden ejercer un efecto positivo sobre el crecimiento de las plantas, como fue demostrado en numerosos trabajos (Alarcón & Ferreyra-Cerrato, 2000; Loredó et al., 2004). Por otro lado, esta simbiosis además de beneficiar la nutrición de las plantas, le da mayor tolerancia a los estreses bióticos y abióticos (Dassi et al., 1998; Augé, 2001; Beltrano et al., 2003; Ruscitti et al., 2011b; Beltrano et al., 2012). Los posibles mecanismos para incrementar la resistencia de las plantas micorrizadas incluyen cambios en la regulación estomática (Duan et al., 1996), aumento en la absorción de agua por las hifas extraradicales (Davies et al., 1992), y el ajuste osmótico que mantiene la turgencia celular (Augé 2001;

Porcel & Ruiz-Lozano, 2004; Khalvati et al., 2005), entre otros cambios. En general, cuanto más temprano se establezca la simbiosis, mayor es el beneficio (Azcón & Barea, 1997). En consecuencia, las plántulas micorrizadas son más competitivas y capaces de tolerar estreses ambientales, comparadas con las no micorrizadas (Juniper & Abbott, 1993). Las micorrizas aumentan las ramificaciones y el crecimiento de las raíces y el área potencial de exploración en el suelo alcanzando una mayor distancia a las fuentes de nutrientes esenciales y sobre todo de agua (Ronco et al., 2008). Entre los caracteres más relevantes de esta simbiosis relacionados con la resistencia de las plantas a la sequía, se mencionan el desarrollo del micelio intra y extraradical del hongo. La absorción del agua del suelo por las hifas que crecen más allá de la rizósfera implica un efecto altamente beneficioso ante el estrés hídrico (Sieverding, 1991; Bago et al., 1998, 2000; George et al., 1995; Cabello, 2001). El volumen de sustrato explorable es un factor determinante de la producción en las plantas cultivadas en condiciones de estrés hídrico moderado o severo. En función de lo dicho, resulta de interés estudiar la interacción que se establece entre la participación de la simbiosis en el balance hídrico de la planta y su relación con la colonización o volumen de suelo con posibilidades de ser explorado por las raíces. La inoculación con hongos micorrícicos arbusculares es considerada una buena práctica, pues encaja dentro de una gestión biológica dirigida hacia un manejo sustentable y respetuoso del ambiente. En el presente trabajo se plantea la hipótesis que la inoculación de plantas de tomate con hongos micorrícicos morigeran el efecto del estrés hídrico moderado o severo. El objetivo de este trabajo fue comprobar que la inoculación con hongos micorrícicos arbusculares favorece el crecimiento y modifica el metabolismo de plantas de tomate crecidas con diferentes grados de déficit hídrico y volúmenes de sustrato explorable.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE), de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (UNLP) en la localidad de La Plata (34°S, 58°O), Argentina, se llevó a cabo el experimento en invernáculo, con fotoperíodo natural, entre los meses de agosto y diciembre del año 2009.

Semillas de tomate *Solanum lycopersicum* (var. Platense) se sembraron en almácigos, utilizando como sustrato una mezcla tinalizada de perlita-vermiculita (2:1) previa colocación del inóculo micorrícico (10% del peso del sustrato) a la mitad de las plantas. El inóculo estaba constituido por una mezcla de sustrato, hifas, esporas (40 a 70 esporas g⁻¹ de inóculo) y fragmentos de raíces de trébol (*Trifolium repens* L.) micorrizadas con MA: *Glomus intraradices* (actualmente llamado *Rhizophagus intraradices*) B₁ (B1) (Banco in vitro de Glomeromycota, BGI, Bs. As., Argentina), *Glomus mosseae* (actualmente llamado *Funnelliformis mosseae*) (M) (aislado SB1, Colección del Instituto Spegazzini, UNLP) ó *Glomus intraradices* (actualmente llamado *Rhizophagus intraradices*) A₄ (A4) (Banco in vitro de Glomeromycota, BGI, Bs. As., Argentina). A las plantas

no inoculadas (NM) se les agregó inóculo autoclavado (inactivado), formado por una mezcla en partes iguales de los inóculos utilizados, para generar las mismas condiciones de crecimiento. El inóculo utilizado en los ensayos se obtuvo en el INFIVE, a partir de la multiplicación de tres cepas de MA, *Glomus mosseae* y *Glomus intraradices* B₁ y A₄. Como planta trampa se utilizó trébol blanco (*Trifolium repens* L.) cultivado durante tres meses, en suelo tinalizado. Cuarenta y cinco días después de la siembra, cuando las plantas tenían entre 5 y 6 hojas expandidas, se determinó el porcentaje de micorrización (%M) de acuerdo a Trouvelot et al. (1986), a través de la tinción de las raíces por la técnica de Phillips & Hayman (1970). Se observó la presencia de estructuras fúngicas con microscopio óptico, sobre 30 fragmentos de raíces de 1 cm de longitud, por planta, con seis repeticiones. El %M se calculó como la proporción de raíces infectadas sobre el número total de fragmentos analizados. Al corroborar un %M superior al 50%, se realizó el trasplante a envases de distinta capacidad (0,5 kg, 1 kg y 3 kg). Se colocó 1 planta por recipiente, con una mezcla de suelo tamizado y arena (1:1). El suelo fue un argiudol *vértico* (USA, Soil taxonomy) que presentó las siguientes características: pH 5.5, 10 mg.kg⁻¹ de P total, 3.5% de materia orgánica, 2.0% de C total y 0.24% de N total. Luego de cinco semanas de realizado el trasplante, todas las plantas fueron sometidas a distintos regímenes de riego, determinando los siguientes tratamientos de estrés hídrico: CC: plantas mantenidas a capacidad de campo ($\Psi_s = -0,03$ MPa), EHM: estrés hídrico moderado ($\Psi_s = -0.6$ MPa) y EHS: estrés hídrico severo ($\Psi_s = -1,2$ MPa). Utilizando un psicrómetro (HR-33T Wescor Inc., Logan, UT, USA), se construyó una curva que relacionaba el peso del sistema maceta-suelo-planta con valores de potencial hídrico del suelo. De este modo fue posible mantener el potencial hídrico del suelo a través de pesadas periódicas de las macetas y el posterior riego hasta que el conjunto alcanzaba los valores indicados en la curva (Beltrano & Ronco, 2008; García Petillo, 2008). Las plantas permanecieron en estas diferentes condiciones hídricas durante cuatro semanas. Al finalizar el ensayo se midieron los siguientes parámetros:

-Crecimiento: se evaluó mediante la determinación del área foliar (AF) utilizando un integrador LI-3000 y el peso seco de raíz, aéreo y total mediante el secado en estufa a 80 °C hasta peso constante.

-Dependencia micorrícica (DM), este índice permite evaluar la eficiencia de la micorrización en la producción de biomasa, al relacionar el peso seco total de las plantas micorrizadas y no micorrizadas de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$DM = \frac{PST \text{ de plantas micorrizadas} - PST \text{ de plantas no micorrizadas}}{PST \text{ de plantas no micorrizadas}} \times 100$$

PST de plantas micorrizadas

DM: dependencia micorrícica

PST: peso seco total

-Contenido de malondialdehído (MDA) en hojas y raíces: de acuerdo al método de Heath & Packer (1968).

-Contenido de prolina en hojas y raíces: según el método de Bates et al. (1973).

Los tratamientos fueron distribuidos siguiendo un modelo completamente aleatorizado con 6 repeticiones en un factorial de 4 x 3 x 3, con cuatro niveles de micorrización (NM; B₁; A₄ y M), tres niveles de disponibilidad hídrica (CC, EM y ES) y tres niveles de sustrato (0,5 kg, 1 kg y 3 kg). Los datos fueron sometidos a análisis de la varianza y las medias comparadas por el test de LSD al 5% (Statgraphics centurion).

RESULTADOS

Micorrización

Al trasplante el porcentaje de micorrización de las plantas inoculadas con *Glomus mosseae* (M) fue 70%, y las inoculadas con *Glomus intraradices* A₄ (A₄) y *Glomus intraradices* B₁ (B₁) del 60% y 90% respectivamente. Las plantas no inoculadas no mostraron colonización. Con la menor proporción de sustrato explorable (0,5 kg) la DM fue mayor con *G. intraradices* A₄ en condiciones de capacidad de campo y de estrés moderado, mientras que en condiciones de estrés severo fue con *G. mosseae*. La DM de las plantas a capacidad de campo y de estrés moderado fue de alrededor de 22% para la cepa A₄, mientras que para *G. mosseae* fue del 12% en las dos situaciones y fue menor para B₁. En condiciones de estrés severo la DM más elevada fue del 18% para *G. mosseae* y 12% para las dos cepas de *G. intraradices*. La tendencia fue muy similar para 1 kg de sustrato explorable. Mientras que con 3 kg de sustrato la DM alcanzó valores superiores al 100% para la cepa más eficiente en capacidad de campo y estrés moderado. En condiciones de estrés severo la DM fue del 17% para *G. mosseae* que fue el inóculo más eficiente (Tabla 1).

Parámetros de crecimiento

Área foliar

En las plantas cultivadas a capacidad de campo, se observó que con 0,5 kg y 1kg de sustrato el AF de las plantas inoculadas con A₄, fue significativamente mayor que el de las NM. Mientras que con 3 kg, las inoculadas con B₁ son las que presentaron mayor área foliar con diferencias no significativas sobre A₄ y el resto de los tratamientos (Tabla 2).

En situaciones de estrés hídrico moderado, independientemente del peso de sustrato explorable, el área foliar de las micorrizadas con A₄ fue significativamente mayor al resto de los tratamientos, las NM mostraron el menor AF. Cuando las plantas se sometieron a estrés hídrico severo, el mayor AF se presentó en las plantas inoculadas con M, y las NM registraron los valores menores. El análisis estadístico muestra que en 0,5 kg de sustrato, las diferencias por micorrización y por severidad de estrés son significativas, mientras que la interacción doble mico x estrés, no resultó significativa. En 1 kg de sustrato, el grado de estrés resultó significativo, mientras que los tratamientos de inoculación y la interacción de mico x estrés, no resultaron significativos. Del mismo modo, con 3 kg de sustrato, sólo el grado de estrés mostró diferencias significativas y la interacción mico x estrés

resulta significativa (Tabla 2). El análisis multifactorial mostró diferencias significativas ($P < 0,05$) para el volumen del sustrato, el estrés hídrico, la interacción entre éstos y la interacción entre la micorrización y el estrés hídrico (Tabla 3).

Tabla 1. Dependencia micorrícica (DM) de plantas de *Solanum lycopersicum* cultivadas en envases con 0,5; 1,0 y 3,0 kg de sustrato, sometidas a 3 condiciones hídricas (CH): capacidad de campo (CC), estrés hídrico moderado (EHM) y estrés hídrico severo (EHS) y cuatro inóculos: NM: No micorrizadas; M: Inoculadas con *G. mosseae*, A4: Inoculadas con *G. intraradices* A4, B1: Inoculadas con *G. intraradices* B1. Se presentan los valores promedio. Letras diferentes en cada columna para cada condición hídrica indica diferencias significativas ($p < 0,05$). $n = 6$

CH	Inóculos	Dependencia micorrícica (%)		
		0,5 kg	1,0 kg	3,0 kg
CC	NM			
	M	12,24 b	16,84 b	107,65 a
	A ₄	21,94 a	20,41 a	100,51 a
	B ₁	2,55 c	15,31 b	68,37 b
EHM	NM			
	M	12,14 b	16,18 b	42,77 b
	A ₄	22,54 a	38,15 a	104,62 a
	B ₁	-7,51 c	10,98 c	-29,48 c
EHS	NM			
	M	18,02 a	31,23 a	17,26 a
	A ₄	12,50 b	18,51 b	5,18 b
	B ₁	12,50 b	17,92 b	-7,55 c

Peso seco

En las plantas mantenidas a capacidad de campo, las inoculadas con A4 presentaron mayor acumulación de materia seca que las NM, con diferencias significativas en 0,5; 1 y 3 kg. Del mismo modo, las plantas inoculadas con A4 y sometidas a estrés moderado presentaron una acumulación de materia seca significativamente mayor a las demás en todos los niveles de sustrato explorable. En condiciones de estrés severo, las plantas inoculadas con M mostraron una acumulación de materia seca significativamente mayor al resto, en 1 y 3 kg. Se observó además que para los distintos volúmenes de sustrato la materia seca de la raíz mantuvo valores similares, independientemente de la inoculación y del riego (Datos no presentados). El análisis del PS total en función del peso del sustrato explorable, el grado de estrés y la inoculación, muestra que en 0,5 kg de sustrato, las diferencias por inóculo y por severidad de estrés y la interacción de inóculo x estrés son significativas. Con 1 kg de sustrato, el grado de estrés, los tratamientos de inoculación y la interacción de inóculo x estrés, no resultaron significativos. Mientras que con 3 kg de sustrato explorable, el grado de estrés mostro diferencias significativas, aunque los tratamientos de inoculación y la interacción inóculo x estrés no resultó significativa (Tabla 2). El análisis multifactorial mostró diferencias significativas ($P < 0,05$) en el volumen del sustrato y el grado de estrés hídrico, la interacción entre éstos y la interacción entre la micorrización y el estrés hídrico, mientras que la interacción triple no resultó significativa (Tabla 3).

Contenido de prolina

El contenido de prolina fue mayor en hojas, donde alcanzó valores cercanos a los 25.000 $\mu\text{mol}\cdot\text{gr}^{-1}$ de

Tabla 2. Análisis de parámetros de crecimiento: área foliar (AF) y peso seco total (PST) de plantas de *S. lycopersicum* cultivadas en envases con 0,5; 1,0 y 3,0 kg de sustrato, sometidas a 3 condiciones hídricas (CH): capacidad de campo (CC), estrés hídrico moderado (EHM) y estrés hídrico severo (EHS), y cuatro inóculos: NM: No micorrizadas; M: Inoculadas con *G. mosseae*, A4: Inoculadas con *G. intraradices* A4, B1: Inoculadas con *G. intraradices* B1. Análisis de las probabilidades para los efectos principales e Interacciones de las variables medidas y analizadas mediante un ANOVA. Se presentan los valores promedio. Letras diferentes en cada columna para cada condición hídrica indica diferencias significativas ($p < 0,05$). $n = 6$.

CH	Inóculos	0,5 kg		1 kg		3 kg	
		AF (cm^2)	PST (g)	AF (cm^2)	PST(g)	AF (cm^2)	PST(g)
CC	NM	66,41b	1,72b	110,01b	3,15b	180,67b	7,03b
	M	73,71ab	1,96ab	125,67ab	3,48ab	190,31b	9,14a
	A ₄	83,98a	2,15a	133,41a	3,55a	199,09ab	9,00a
	B ₁	72,23ab	1,77b	122,48ab	3,45ab	220,02a	8,37ab
EHM	NM	52,33c	1,52c	97,66b	2,71b	122,65c	6,67b
	M	63,81b	1,73b	112,37ab	2,99b	158,46b	7,41b
	A ₄	75,53a	1,91a	120,23a	3,37a	189,66a	8,48a
	B ₁	63,62b	1,39c	108,4ab	2,90b	122,68c	6,16b
EHS	NM	18,20b	0,91b	68,13c	2,29c	98,06b	5,13b
	M	28,02a	1,11a	88,77a	3,33a	122,83a	6,20a
	A ₄	22,82ab	1,04ab	78,29b	2,81b	110,25ab	5,41b
	B ₁	22,80ab	1,04ab	75,56b	2,79b	103,89ab	4,77b
Significancia							
A: micorrización		(*)	(*)	ns	ns	ns	ns
B: estrés		(*)	(*)	(*)	ns	(*)	(*)
Interacciones							
AB		ns	(*)	ns	ns	(*)	ns

peso fresco (Figura 1A), mientras que en raíces alcanzó valores de 8.500 $\mu\text{mol.gr}^{-1}$ de peso fresco (Figura 1B). En las plantas sometidas a capacidad de campo y en las sometidas a estrés moderado, el contenido de prolina se mantuvo por debajo de los 1.200 $\mu\text{mol.gr}^{-1}$ de peso fresco, tanto en raíces como hojas. En las sometidas a estrés hídrico severo, las NM presentaron contenidos de prolina significativamente mayores que las micorrizadas. Las plantas inoculadas con M, fueron las que presentaron los menores contenidos de prolina, tanto en tejidos aéreos como radicales (Figura 1A y Figura 1B). Los mayores valores de prolina se determinaron en las plantas sometidas a estrés severo con 0,5 kg de sustrato explorable, tanto en hojas como en raíces. Aunque en raíces con valores más bajos a medida que se aumenta el peso de sustrato.

El análisis de prolina en hoja en función del peso del sustrato explorable, el grado de estrés y la inoculación, muestra que independientemente del volumen del sustrato, las diferencias son significativas sólo por severidad de estrés, la interacción de mico x estrés no resultó significativa. El análisis multifactorial mostró diferencias significativas ($P < 0,05$) en el volumen del sustrato, el grado de estrés hídrico y la interacción entre éstos, mientras que la interacción triple no resultó significativa (Tabla 3).

El análisis de prolina en raíz, muestra que independientemente del volumen del sustrato, las diferencias son significativas sólo por la severidad del estrés, la interacción de inóculo x estrés no resultó significativa, salvo con 1 kg de sustrato. El análisis multifactorial mostró diferencias significativas ($P < 0,05$) en todos los tratamientos y en la interacción entre peso de sustrato x grado de estrés y para inóculo x estrés, mientras que la interacción triple no resultó significativa (Tabla 3).

Contenido de malondialdehído (MDA)

El contenido de MDA en las hojas varió entre 1,4 y 2,4 nmoles.g^{-1} PF tanto en plantas mantenidas a capacidad de campo como en plantas estresadas (Figura 2A). En

general se observó mayor contenido de MDA en las plantas NM respecto a las micorrizadas. En las raíces de plantas mantenidas a capacidad de campo o a estrés moderado el contenido de MDA varió entre 1,70 y 3 nmoles.g^{-1} PF; mientras que en estrés severo alcanzó valores entre 3,8 y 5 nmoles.g^{-1} PF. El contenido de MDA en la raíz, aumentó junto con la intensidad del estrés. En todos los niveles de estrés, el contenido de MDA fue mayor en las plantas NM comparadas con las micorrizadas (Figura 2B).

El análisis de MDA en hoja, en función del peso del sustrato explorable, el grado de estrés y la inoculación, no mostró diferencias significativas, independientemente del factor, sólo resultó significativa por severidad de estrés en 1 kg de sustrato. El análisis multifactorial mostró diferencias significativas ($P < 0,05$) sólo en la interacción entre peso del sustrato x grado de estrés, mientras que la interacción triple no resultó significativa (Tabla 3).

El análisis de MDA en raíz, en función del peso del sustrato explorable, el grado de estrés y la inoculación, mostró diferencias significativas, sólo por severidad de estrés, que resultó significativa en 0,5, en 1 y en 3 kg de sustrato. El análisis multifactorial mostró diferencias significativas ($P < 0,05$) sólo por el nivel de estrés y con la interacción entre peso de sustrato x grado de estrés, mientras que la interacción triple no resultó significativa (Tabla 3).

DISCUSIÓN

Las plantas como organismos sedentarios, desafían constantemente una amplia gama de estreses ambientales como la sequía, que se traducen en reducción de la productividad y pérdidas significativas en las cosechas (Bartels & Sunkar, 2005). Los hongos micorrícicos colonizan las raíces de más del 90% de las especies de plantas para el beneficio mutuo de la planta y el hongo (Harley & Smith, 1983). Esta simbiosis puede aumentar la resistencia a la sequía,

Tabla 3. Análisis multifactorial de área foliar (AF), peso seco total (PST), prolina en hojas y raíz y MDA en hojas y raíz, de plantas de *S. lycopersicum* cultivadas en envases con 0,5; 1,0 y 3,0 kg de sustrato, sometidas a 3 condiciones hídricas: capacidad de campo (CC), estrés hídrico moderado (EHM) y estrés hídrico severo (EHS), y cuatro inóculos: NM: No micorrizadas; M: Inoculadas con *G mosseae*, A4: Inoculadas con *G intraradices* A4, B1: Inoculadas con *G intraradices* B1. ns: no significativa, *: significativa a $P \leq 0.05$. $n=6$

	AF (cm^2)	PST (g)	Prolina hoja	Prolina raíz	MDA hoja	MDA raíz
significancia						
A: envase	(*)	(*)	(*)	(*)	ns	ns
B: micorrización	ns	ns	ns	(*)	ns	ns
C: estrés	(*)	(*)	(*)	(*)	ns	(*)
interacciones						
AB	ns	ns	ns	ns	ns	ns
AC	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)
BC	(*)	(*)	ns	(*)	ns	ns
ABC	ns	ns	ns	ns	ns	ns

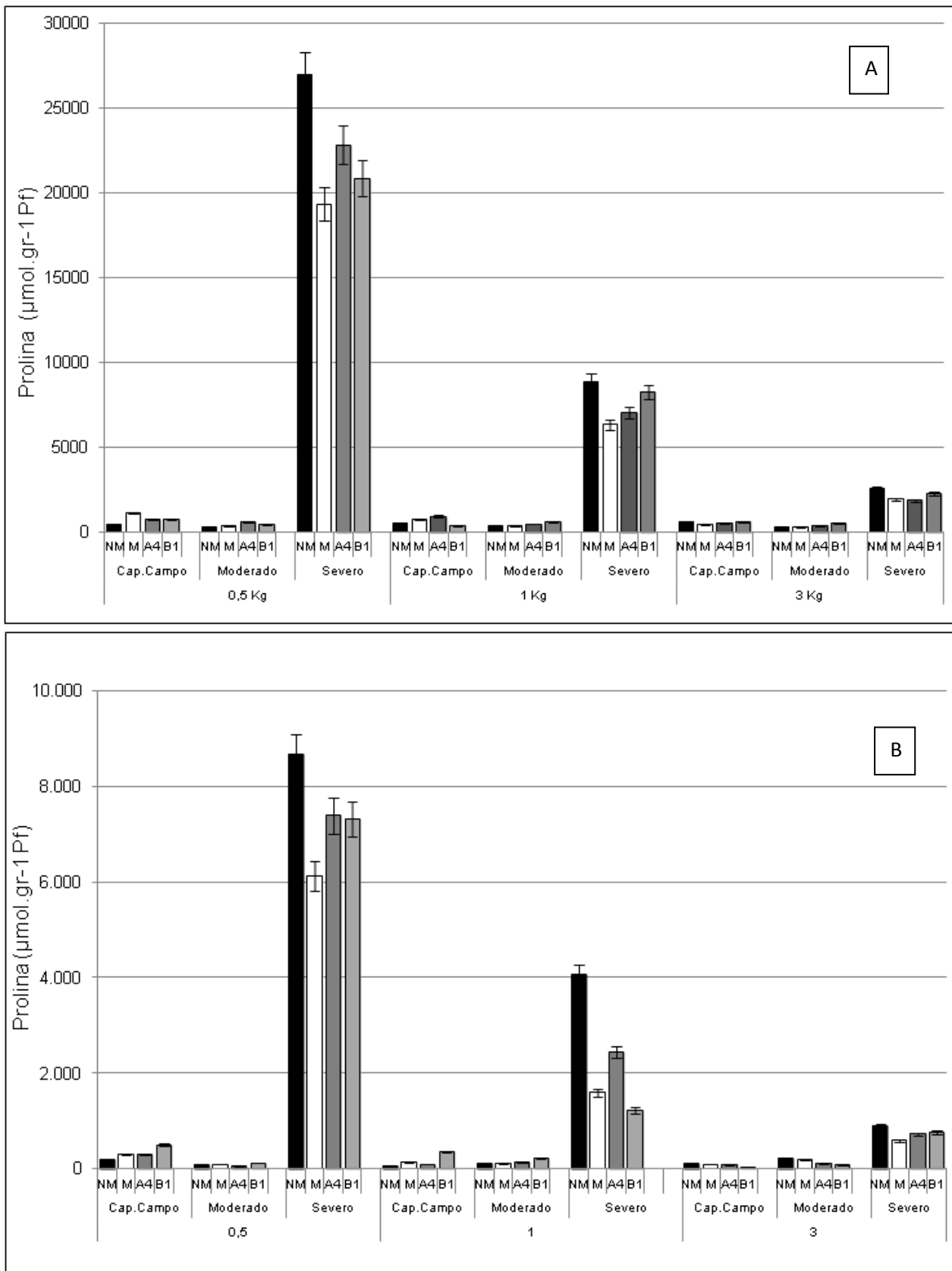


Figura 1. Contenido de prolina en hojas (A) y en raíces (B) de *S. lycopersicum* cultivadas en envases de 0,5 kg, 1 kg, y 3 kg- de sustrato, y expuestas a 3 condiciones hídricas (CH): capacidad de campo (CC), estrés moderado (EHM) y estrés severo (EHS). NM: No micorrizadas; M: Inoculadas con *G mosseae*, A4: Inoculadas con *G intraradices* A4, B1: Inoculadas con *G intraradices* B1. Se presentan los valores promedio y las barras verticales muestran el error estándar de la media.

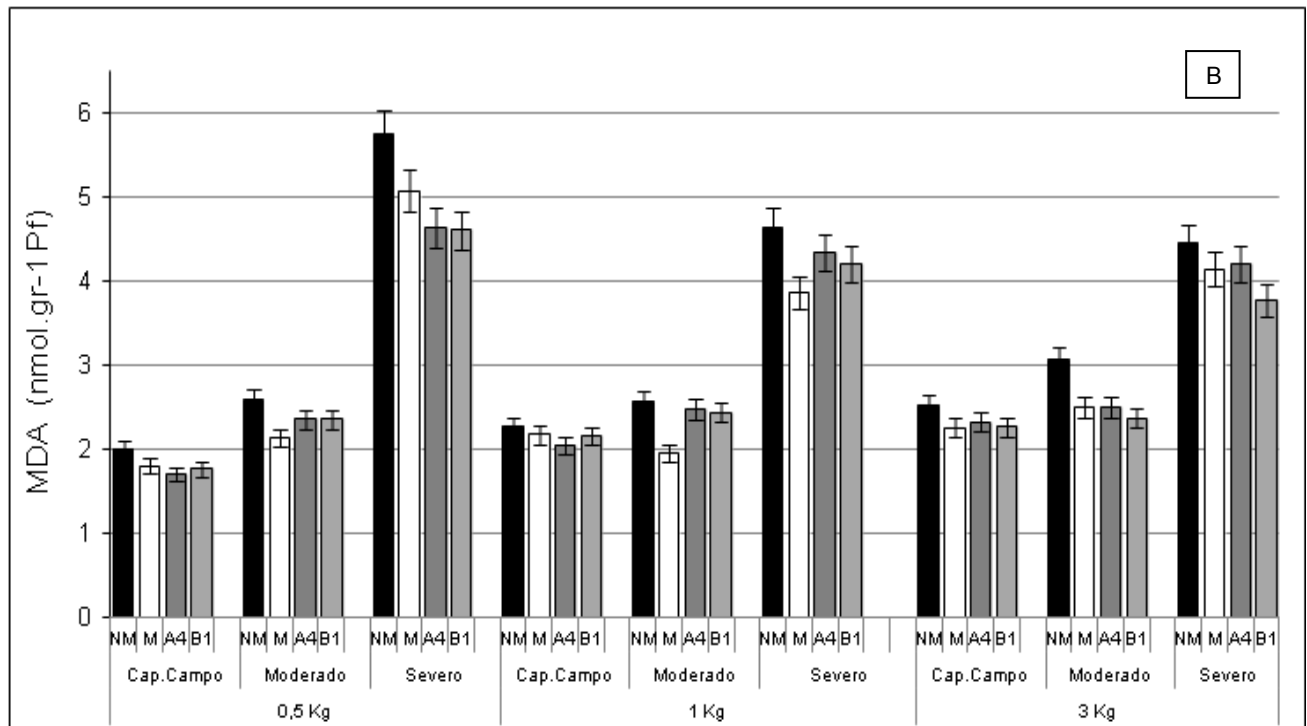
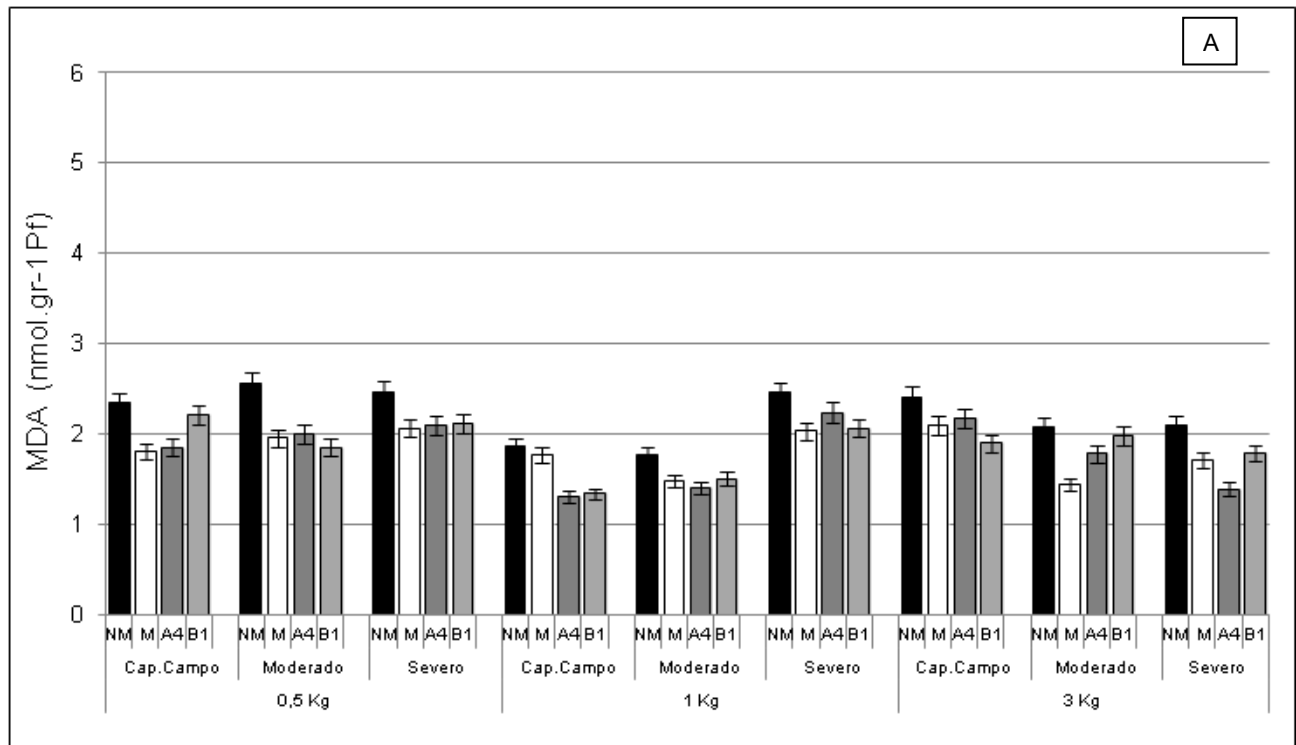


Figura 2. Contenido de malondialdehído en hojas (A) y en raíces (B) de *S. lycopersicum*, cultivadas en envases con 0,5 kg, 1 kg y 3 kg de sustrato y expuestas a 3 condiciones hídricas: capacidad de campo (CC), estrés moderado (EHM) y estrés severo (EHS). NM: No micorrizadas; M: Inoculadas con *G. mosseae*, A4: Inoculadas con *G. intraradices* A4, B1: inoculadas con *G. intraradices* B1. Se presentan los valores promedio y las barras verticales muestran el error estándar de la media.

por varios mecanismos. En la asociación de tomate con AM, las hifas fúngicas pueden contribuir a la absorción de agua, siendo *G. intraradices* y *G. mosseae* algunos de los más eficaces (Marulanda et al., 2003). El tomate es una especie altamente micotrófica, alcanzando 90% con *G. intraradices* B1, coincidiendo con trabajos previos donde este hongo mostró el mejor comportamiento (Ruscitti et al., 2011a). Se conoce que la simbiosis con micorrizas arbusculares (AM) altera las relaciones planta-agua, tanto en condiciones de riego, como de estrés por sequía, y que la simbiosis es beneficiosa, en el aumento de la tolerancia de las plantas al déficit hídrico, aunque los mecanismos implicados no están plenamente dilucidados (Auge, 2001; Ruiz-Lozano, 2003; Ruiz-Lozano & Aroca, 2010). La longitud hifal asociado con raíces de tomate se ha estimado que puede variar desde 1m a más de 100 m por gramo de suelo (Smith et al., 2010). Los diámetros medios de las hifas están en el intervalo 2-20 μm , es decir, uno o dos órdenes de magnitud más estrecho que las raíces. Esta diferencia de tamaño tiene implicancias importantes para el acceso a los poros microscópicos, porque las hifas serán capaces de penetrar en una proporción mucho mayor de poros que las raíces (Smith et al., 2010). El aumento de la absorción de agua por hifas puede ser menos importante cuando el suelo está cerca de la saturación y los grandes poros están llenos de agua. Sin embargo, cuando el suelo se seca y el agua es retenida en los poros más pequeños, donde hifas fúngicas pueden acceder, pero no las raíces, la función de absorción de agua por las hifas se hace más significativa (Allen, 2007; Lehto & Zwiazek, 2011). De hecho, en situación de estrés, la absorción de agua por las hifas y su traslado a las plantas hospederas se ha demostrado en varios estudios (Ruiz-Lozano & Azcon, 1995; Marulanda et al., 2003; Khalvati et al., 2005). En este trabajo, las plantas micorrizadas toleraron mejor el estrés hídrico observándose un mayor crecimiento comparadas con las NM, en concordancia con lo descrito por Beltrano et al., (2003) y Beltrano & Ronco (2008) en plantas de trigo. Díaz Franco et al., (2008) destacaron los beneficios de la micorrización en plantas de poroto y Baslam & Goicochea (2012), en plantas de lechuga, en todos los casos sometidas a déficit hídrico. En este estudio, la inoculación provocó un aumento significativo en la producción de materia seca, lo que podría ser atribuible a un aumento de la dependencia micorrízica (Al-Karaki et al., 2004). Nuestros datos coinciden con Sánchez-Díaz & Honrubia (1994), quienes sugieren que la colonización favorece el crecimiento de las plantas en condiciones de estrés, respecto de las que crecen en ambientes con alta disponibilidad de agua. En este caso el beneficio de la micorrización fue similar en las tres condiciones de cultivo, y podemos concluir que *G. intraradices* A4 es una cepa eficiente en condiciones de alta disponibilidad de agua o estrés moderado, mientras que *G. mosseae* es más eficiente en condiciones de estrés severo, independientemente del volumen de sustrato explorable. Mientras que *G. intraradices* con su cepa B1 resultó la menos eficiente de los inóculos utilizados, independientemente de la condición hídrica y de la cantidad de sustrato explorado. El aumento del área foliar de las plantas micorrizadas con respecto a las

NM, se atribuye a un mejor estado nutricional de las plantas micorrizadas, en concordancia con Giri et al., (2007), Al-Karaki et al., (2001) y Al-Karaki & Clark, (1998) y al posible aumento de la tolerancia al estrés debido a la simbiosis. El peso seco tuvo un comportamiento similar al área foliar, disminuyó con el aumento del estrés y con la reducción del volumen de sustrato; en general *G. mosseae* presentó mejor comportamiento en el estrés severo y *G. intraradices* A4 en el estrés moderado. Estas diferencias pueden estar dadas por una mayor capacidad de *G. mosseae* para sobrevivir en potenciales hídricos más negativos. El mayor peso seco de las plantas micorrizadas con *Glomus*, en situaciones de estrés, coincide con estudios de varios autores en diferentes especies (Ronco et al., 2008; Juniper & Abbott, 1993). Ruiz-Lozano et al. (1995) demostraron que la severidad y duración del estrés hídrico pueden modificar el efecto de la micorrización sobre la fisiología (crecimiento) de las plantas. En diversos trabajos se ha reportado la acumulación de prolina en plantas sometidas a varios tipos de estrés, entre ellos al estrés hídrico y que el aumento temporal de este compuesto es importante en la respuesta de la planta al estrés. El contenido de prolina en los tejidos es utilizado como un indicador metabólico de estrés (Shahba et al., 2010). Existen antecedentes referidos al aumento del contenido de este aminoácido en respuesta a situaciones de estrés, tanto hídrico como salino (Inal, 2002; Cicek & Cakirlar, 2002; Harinasut et al., 2003; De Lacerda et al, 2005). En nuestro estudio, la imposición del déficit hídrico a las plantas micorrizadas y no micorrizadas indujo la acumulación diferencial de prolina en coincidencia con Medina et al. (2014) quienes determinaron un aumento significativo en el contenido de prolina en hojas de *Solanum lycopersicum* L. en condiciones de estrés salino y con los encontrados en tejido foliar de tres especies de tomate, *Lycopersicon esculentum*, *L. peruvianum* y *Solanum pennellii* (Tal et al., 1979); como así también con los resultados de Amini & Ehsanpour, (2005) en hojas y tallos de dos cultivares de tomate, cultivados in vitro con la adición de NaCl. En nuestro trabajo el contenido de prolina fue significativamente mayor en las hojas que en las raíces. Este resultado coincide con Ruscitti et al. (2011b) en pimiento, aunque no con Shahba et al., (2010) quienes reportaron en tomate un mayor contenido de prolina en raíces que en hojas. En nuestro caso, el contenido de prolina se mantuvo bajo, tanto en el tratamiento a capacidad de campo como en el estrés moderado, pero aumentó significativamente en el estrés severo. También se observó un mayor contenido de prolina en situaciones de menor volumen de sustrato explorable (0,5 kg), donde el estrés fue más acentuado. Si comparamos los diferentes inóculos podemos observar que las plantas inoculadas con *G. mosseae* mostraron un menor contenido de prolina que las plantas inoculadas con el resto de los hongos micorrízicos y que las plantas no micorrizadas. A diferencia de lo que ocurrió con la prolina, el contenido de MDA fue 50% mayor en raíces que en hojas. Posiblemente porque las raíces son las primeras en ser expuestas al estrés hídrico, y en consecuencia el daño en las membranas celulares fue mayor. Los valores más altos de MDA se observaron en las plantas cultivadas con menor volumen de sustrato

explorable y con estrés severo. Las plantas inoculadas, en general, mostraron valores más bajos de MDA que las no inoculadas, lo que indicaría un menor daño en las membranas celulares. Esto coincide con trabajos previos realizados en tomate y sometidos a estrés por glifosato (Beltrano et al., 2012), donde el MDA aumentó con la concentración del herbicida y los valores más altos se observaron en las plantas no inoculadas.

En resumen, los resultados de nuestro estudio coinciden con Baslam & Goicoechea (2012) y con Gianinazzi et al. (2010) en la idea que la simbiosis micorrícica interactúa con el ecosistema en la biorregulación del desarrollo y en el aumento de la calidad de las plantas debido a la capacidad de AM para modificar el metabolismo y la fisiología vegetal. Muestra además, el efecto beneficioso de la simbiosis en la acumulación de materia seca y área foliar, tanto a capacidad de campo como en condiciones de estrés moderado o severo. Tomando en cuenta estos resultados, se puede concluir que la simbiosis con micorrizas no sólo puede mejorar el crecimiento de las plántulas de tomate, sino también puede conducir al uso más eficiente del agua de irrigación. Sin embargo, en coincidencia con Gianinazzi et al. (2010), es importante señalar que estos efectos beneficiosos de AM pueden depender de las especies o cepas, ya que en este estudio se demuestra que las respuestas a condiciones de capacidad de campo y de estrés moderado fueron favorecidas las inoculadas con *G. intraradices* cepa A4, mientras que en condiciones de estrés severo, las respuestas más favorables fueron las ofrecidas por *G. mosseae*.

CONCLUSIONES

- Las plantas inoculadas presentaron mayor crecimiento que las no inoculadas en todos los tratamientos realizados.
- El volumen de sustrato influyó en el efecto del estrés. La combinación de menor volumen y el estrés severo mostró un efecto aditivo y en consecuencia fue el tratamiento que más redujo el crecimiento, tanto en las plantas inoculadas como en las no inoculadas.
- En condiciones de estrés severo, la disminución en la producción de materia seca fue morigerada por *G. mosseae* comparado con el resto de los inóculos
 - El contenido de prolina fue mayor en las plantas no inoculadas respecto de las micorrizadas, y fue mayor en hojas respecto de raíz.
 - El contenido de MDA fue mayor que en las inoculadas, no se modificó en las hojas y aumentó gradualmente en las raíces a medida que aumentó el estrés.
- Se puede afirmar que las micorrizas arbusculares constituyen una alternativa promisoriosa y sustentable para el cultivo de tomate en condiciones de estrés hídrico.

Agradecimientos

Los autores agradecen a O. Peluso y L. Wanhan (CONICET) por su colaboración en las tareas de laboratorio. Este trabajo se realizó con subsidios de la CIC BA y de la UNLP.

BIBLIOGRAFÍA

- Alarcón, A.R. & R. Ferreyra-Cerrato.** 2000. Biofertilizantes: Importancia y utilización en la agricultura. Ed. Agricultura Técnica Mexicana 26: 191-203.
- Al-Karaki, G.N. & R.B. Clark.** 1998. Growth, mineral acquisition and water use by mycorrhizal wheat grown under water stress. *Journal of Plant Nutrition* 21: 263-276.
- Al-Karaki, G.N., R. Hammad & M. Rusan.** 2001. Response of two tomato cultivars differing in salt tolerance to inoculation with mycorrhizal fungi under salt stress. *Mycorrhiza* 11: 43-47.
- Al-Karaki, G., B. McMichael & J. Zak.** 2004. Field response of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress. *Mycorrhiza* 14: 263-269.
- Allen, M.F.** 2007. Mycorrhizal fungi: highways for water and nutrients in arid soils. *Vadose Zone Journal* 6: 291-297.
- Amini, F. & A.A. Ehsanpour.** 2005. Soluble proteins, proline, carbohydrates and Na⁺/K⁺ changes in two tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars under in vitro salt stress. *American Journal Biochemistry & Biotechnology* 1: 212-216.
- Auge, R.M.** 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11: 3 - 42.
- Azcón, C. & J.M. Barea.** 1997. Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture significance and potentials. *Scientia Horticulturae*, 68: 1-24.
- Bago, B., C. Azcon-Aguilar, A. Goulet, & Y. Piche.** 1998. Branched absorbing structures. A feature of the extraradical mycelium of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 139: 375-388.
- Bago, B., C. Azcón-Aguilar & P. Shachar-Hill.** 2000. El micelio externo de la micorriza arbuscular como puente simbiótico entre la raíz y el entorno. *Ecología, Fisiología y Biotecnología de la micorriza arbuscular*. Eds. A. Alarcón y R. Ferrera-Cerrato. Mundi Prensa Mexico, S.A. de C.V. 78-92 pp.
- Bai, T., C. Li, F. Ma, F. Feng & H. Shu.** 2010. Responses of growth and antioxidant system to root-zone hypoxia stress in two *Malus* species. *Plant Soil* 327: 95-105.
- Bartels, D. & R. Sunkar.** 2005. Drought and salt tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Science* 24:1-36.
- Baslam, M., N. Goicoechea.** 2012. Water deficit improved the capacity of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) for inducing the accumulation of antioxidant compounds in lettuce leaves. *Mycorrhiza* 22: 347-359.
- Bates, L.S., R.P. Waldren & I.D. Tease.** 1973. Rapid determination of the proline for stress studies. *Plant Soil*. 85: 107-129.
- Beltrano, J., M. Ronco, M. Salerno, M. Ruscitti & O. Peluso.** 2003. Respuesta de plantas de trigo (*Triticumaestivum* L.) micorrizadas en situaciones de déficit hídrico y de rehidratación del suelo. *Revista de Ciencia y Tecnología* 8: 1-7.
- Beltrano, J. & M.G. Ronco.** 2008. Improved tolerance of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) to drought stress and rewatering by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroideum*: effect on growth and cell

- membrane stability. Brazilian Journal of Plant Physiology 20: 29-37.
- Beltrano, J., M. Ruscitti, C. Arango, L. Wahnam & M. Ronco.** 2012. Interacción fósforo-glifosato. Efecto sobre la producción y partición de shikimico en plantas de tomate (*Lycopersicum esculentum* L.) Inoculadas con hongos micorrizicos arbusculares. Actas de XXIX Reunión Argentina de Fisiología Vegetal, Mar del Plata 17 al 20 de septiembre de 2012.
- Cabello, M.N.** 2001. Mycorrhizas and Hydrocarbons. En: Fungi in Bioremediation. Ed. G.M. Gadd. Cambridge University Press. pp: 456-471.
- Cicek, N. & H. Cakirlar.** 2002. The effect of salinity on some physiological parameters in two maize cultivars. Bulgaria Journal of Plant Physiology 28: 66-74.
- Dassi, B., E. Dumas-Gaudot, & S. Gianinazzi.** 1998. Physiology and Molecular Plant Pathology 52:167-183.
- Davies, Jr. F.T., J.R. Potter & R.G. Linderman.** 1992. Mycorrhiza and repeated drought exposure affect drought resistance and extraradical hyphae development of pepper plants independent of plant size and nutrient content. Journal of Plant Physiology 139: 289-294.
- Díaz Franco, A., I. Garza Cano, V. Quintero & G.M. Montes.** 2008. Respuesta del sorgo a micorriza arbuscular y azospirillum en estrés hídrico. Revista Fitotécnica Mexicana vol 31, Número 001. Sociedad Mexicana de Fitogenética.
- De Lacerda, C.F., J. Cambraia, M.A. Oliva & H.A. Ruiz.** 2005. Changes in growth and in solute concentrations in sorghum leaves and roots during salt stress recovery. Environmental and Experimental Botany 54: 69-76.
- Duan X., D.S. Neuman, J.M. Reiber, C.D. Green, A.M. Saxton & R.M. Augé.** 1996. Mycorrhizal influence on hydraulic and hormonal factor involved in the control stomatal conductance of mycorrhiza *Vigna unguiculata* in drying soil. New Phytologist 135: 755-761.
- García Petillo, M.** 2008. Manejo del riego: uso de instrumentos de medición de agua del suelo y del estado hídrico de los cultivos, presentación de casos de estudio incluso en riego deficitario. Jornadas sobre "Ambiente y Riegos: Modernización y Ambientalidad", Guatemala, CYTED y AECID.
- George, E., H. Marschner & I. Jakobsen.** 1995. Role of arbuscular-mycorrhizal fungi in uptake of phosphorus and nitrogen from soil. Critical Reviews in Biotechnology 15: 257-270.
- Gianinazzi, S., A. Gollotte, M-N Binet, D.van Tuinen, D. Redecker & D. Wipf.** 2010. Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. Mycorrhiza 20: 519-530.
- Giri, B., R. Kapoor & K.G. Mukerji.** 2007. Improved tolerance of *Acacia nilotica* to salt stress by arbuscular mycorrhiza, *Glomus fasciculatum* may be partly related to elevated K:Na ratios in root and shoot tissues. Microbial Ecology 54: 753-760.
- Göbel, C., I. Feussner & S. Rosahl.** 2003. Lipid peroxidation during the hypersensitive response in potato in the absence of 9-lipoxygenases. The Journal of Biological Chemistry 278: 52834-52840.
- Hare P.D., W.A. Cress & J. Van Staden.** 1998. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. Plant Cell Environmental 21:535-53.
- Harinasut, P., D. Poonsopa, K. Roengmongkol & R. Charoensataporn.** 2003. Salinity effects on antioxidant enzymes in mulberry cultivar.-Science Asia 29: 109-113.
- Harley J.L. & S.E. Smith.** 1983. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press. Londres, RU. 483 pp
- Heath R.L. & L. Packer.** 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives in Biochemistry and Biophysics 125: 189-198.
- Hsiao, C. & F. Breadford.** 1983. Physiological consequences of cellular water deficit en: Limitations to efficient water use in crop production. Londres. Howard. M. 265p.
- Inal, A.** 2002. Growth proline accumulation and ionic relations of tomato (*Lycopersicum esculentum* L.) as influence by NaCl and Na₂SO₄ salinity. Turkish Journal of Botany 26: 285-290.
- Juniper, S. & L. Abbott.** 1993. Vesicular-arbuscular Mycorrhizas and soil salinity. Mycorrhiza 4: 45-57.
- Khalvati M.A., Y. Hu, A. Mozafar, & U. Schmidhalter.** 2005. Quantification of water uptake by arbuscular mycorrhizal hyphae and its significance for leaf growth, water relations, and gas exchange of barley subjected to drought stress. Plant Biology 7: 706-712
- Lehto, T. & J.J. Zwiazek.** 2011. Ectomycorrhizas and water relations of trees: a review. Mycorrhiza 90: 21-71.
- Loredo O.C., R.D. López & V. Espinosa.** 2004. Microorganismos promotores del crecimiento vegetal. Una Revisión. Terra Latinamericana 22: 225-239
- Marulanda, A., R. Azcon & J.M. Luiz-Lozano.** 2003. Contribution of six arbuscular mycorrhizal fungal isolates to water uptake by *Lactuca sativa* plants under drought stress. Physiologia Plantarum 119: 526-533.
- Medina, M.Ch., R. Veneros Terrones, E. Araujo Castillo, A. Ramírez Cruz, J. Hidalgo Rodríguez, S.L. Alaya & C. Ramos Otiniano.** 2014. Contenido de prolina en *Solanum lycopersicum* pretratado con glicina betaina y sometido a estrés salino, Vol. 34, núm. 1 Revista De Investigación Científica(Rebiol).
- Panozzo, J.F. & H.A. Eagles.** 1999. Rate and duration of grain filling and grain nitrogen accumulation of wheat cultivars grown in different environments, Australian Journal of Agricultural Research 50: 1007-1015
- Pawlowska, T.E. & I. Charvat.** 2004. Heavy-metal stress and developmental patterns of arbuscular mycorrhizal fungi. Applied Environmental Microbiology 70: 6643-6649
- Pawlowska, T.E. & J.W. Taylor.** 2005. Arbuscular mycorrhizal fungi: Hyphal fusion and multigenomic structure (reply). Nature 433(7022): E4 (doi: 10.1038/nature03295)
- Phillips, J.M. & D.S. Hayman.** 1970. Improved procedure of clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society 55:159-161.
- Porcel, R. & J.M. Ruiz-Lozano.** 2004. Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. Journal of Experimental Botany 55:1743-1750.
- Ronco M.G., M.F. Ruscitti, M.C. Arango & J. Beltrano.** 2008. Glyphosate and mycorrhization induce

changes in plant growth and in root morphology and architecture in pepper plants (*Capsicum annuum* L.). The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 83: 497-505.

Ruscitti, M., C. Arango, M. Ronco & J. Beltrano. 2011a. Interacción micorrización – salinidad en tomate. Actas del XII Congreso de Micología. XXII Jornadas Argentinas de Micología. Posadas, Misiones, 15-17 de Junio de 2011.

Ruscitti, M., M. Arango, M. Ronco & J. Beltrano. 2011b. Inoculation with mycorrhizal fungi modifies proline metabolism and increases chromium tolerance in pepper plants (*Capsicum annuum* L.). Brazilian Journal of Plant Physiology 23:15-25.

Ruiz-Lozano, J.M., R. Azcon & M. Gomez. 1995. Effects of arbuscular-mycorrhizal glomus species on drought tolerance: physiological and nutritional plant responses. Applied and Environmental Microbiology 61: 456-460.

Ruiz-Lozano, J.M. & R. Azcón. 1995. Hyphal contribution to water uptake in mycorrhizal plants as affected by fungal species and water status. Physiological Plantarum 95: 472-478.

Ruiz-Lozano, J.M. 2003. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress: new perspectives for molecular studies. Mycorrhiza 13: 309-317.

Ruiz-Lozano, J.M. & R. Aroca. 2010. Modulation of aquaporin genes by the arbuscular mycorrhizal symbiosis in relation to osmotic stress tolerance. In: Seckbach J, GrubeM, editors. Symbioses and stress: joint ventures in biology, cellular origin, life in extreme habitats and astrobiology. Dordrecht: Springer Science+Business Media. p. 359-374.

Smith, S.E., E. Facelli, S. Pope & F.A. Smith. 2010. Plant performance in stressful environments: interpreting new and established knowledge of the roles of arbuscular mycorrhizas. Plant and Soil 326:3-20.

Sánchez-Díaz, M. & M. Honrubia. 1994. Water relations and alleviation of drought stress in mycorrhizal plants. Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems. ALS Advances in Life Sciences. pp 167-178.

Shahba, Z., A. Baghizadeh, A. Vakili Seid Mohamad, A. Yazdanpanah & Y. Mehdi. 2010. The salicylic acid effect on the tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) sugar, protein and proline contents under salinity stress (NaCl). Journal of Biophysics and Structural Biology 2: 35-41.

Sharp, R.E. 1979. Solute Regulation and growth by roots and shoots of water-stressed maize plants. Planta 147:43-49.

Sieverding, E. 1991. Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza management in Tropical Agrosystems. Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit, GTZ N° 224. Eschborn.

Tal, M., A. Katz, H. Heikin & K. Dehan. 1979. Salt tolerance in the wild relatives of the cultivated tomato: proline accumulation in *Lycopersicon esculentum* mill., *L. peruvianum* mill. and *Solanum pennellii* cor. Treated with NaCl and polyethylene glycol. New Phytologist 82: 349-355.

Trouvelot, A., J.L. Kough & V. Gianinazzi-Pearson. 1986. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de methods d'estimation ayant une signification fonctionnelle. En 'Physiological and genetical aspects of mycorrhizae'. 1^{er} Simposio europeo de micorrizas. INRA, Paris, 101-109.