

Selección de un sustrato para la aplicación de hongos micorrízicos arbusculares en el cultivo de girasol ornamental en campo

Selection of a substrate for application of arbuscular mycorrhizal fungi in the cultivation of ornamental sunflower in the field

Isabel Vital-Vilchis¹, Evangelina Esmeralda Quiñones-Aguilar¹, Luis Guillermo Hernández-Montiel² y Gabriel Rincón-Enríquez^{1,*}

¹Laboratorio de Fitopatología de Biotecnología Vegetal, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. Camino Arenero 1227, El Bajío del Arenal, Zapopan, Jalisco, México, C.P. 45019. Tel. (33) 33455200. ²Laboratorio de Fitopatología del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. Av. Instituto Politécnico Nacional 195, Col. Playa Palo de Santa Rita Sur, La Paz, BCS, México, C.P. 23096.

Resumen

El cultivo de girasol ornamental (*Helianthus annuus*) está cobrando gran importancia en la floricultura mexicana actualmente, sin embargo, es necesario conocer aspectos importantes en el proceso de producción, un aspecto indispensable es determinar las condiciones edáficas para aplicación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en su proceso de producción en maceta en campo. El objetivo de este estudio fue evaluar diferentes mezclas de sustratos para el cultivo de girasol ornamental *var.* Doble Enana en macetas en condiciones de campo y su efecto en la aplicación de HMA. Se realizaron dos experimentos completamente al azar: 1) cinco tratamientos resultado de combinaciones en diferente proporción de suelo, arena, perlita y turba; 2) aplicación de cinco tratamientos a base de HMA: consorcios CM y LC, *Funneliformis mosseae* (Fm), *Rhizophagus intraradices* (Ri) y un control sin HMA. En ambos experimentos las plantas de girasol se colocaron en macetas plásticas de manera individual y se establecieron en condiciones de campo por ocho y diez semanas para el primer y segundo experimento respectivamente. Se evaluó la altura de planta (AP), diámetro de tallo (DT), número de hojas (NH) y acumulación de materia seca (PST). Los datos fueron analizados mediante una prueba Tukey ($P \leq 0.05$). Los resultados mostraron que el sustrato con suelo: arena: agrolita: turba (30:18:2:50 v/v/v/v) promovió

Summary

The cultivation of ornamental sunflower (*Helianthus annuus*) is becoming very important in Mexican floriculture nowadays, however, it is necessary to know important aspects in the production process, one necessary aspect is to determine the edaphic conditions for application of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and its production process in flowerpot in open sky conditions. The objective of this study was to evaluate different substrate mixtures for the cultivation of *var.* Doble Enana ornamental sunflower in flowerpots in field conditions and its effect on the application of AMF. Two completely randomized experiments were carried out: 1) five treatments resulting from combinations in different proportions of soil, sand, perlite and peat; 2) application of five treatments based on AMF: CM and LC consortia, *Funneliformis mosseae* (Fm), *Rhizophagus intraradices* (Ri) and without AMF. In both experiments the sunflower plants were placed in plastic pots individually and established in field conditions for eight and ten weeks for the first and second experiments respectively. Plant height (PH), stem diameter (SD), number of leaves (NL) and dry matter accumulation (DMA) were evaluated. Data were analyzed using a Tukey test ($P \leq 0.05$). Results showed that the substrate with soil: sand: agrolite: peat (30: 18: 2: 50 v/v/v/v) significantly promoted ($P \leq 0.05$) the growth of

significativamente ($P \leq 0.05$) el crecimiento del girasol ornamental establecido en maceta en condiciones de campo (AP=27.4 cm; DT=8.7 mm; PST=10.5 g). Mientras que Fm mostró un efecto significativamente mayor ($P \leq 0.05$) en el crecimiento de las plantas de girasol ornamental con respecto al control sin HMA (DT= 10 mm; NH= 13). Un sustrato rico en componentes orgánicos es importante para un óptimo crecimiento de plantas de girasol ornamental *var.* Doble Enana y además permiten el establecimiento de HMA.

Palabras clave: *Helianthus annuus*, sustrato orgánico, crecimiento de girasol, micorrización.

***Autor para correspondencia:**
grincon@ciatej.mx

Introducción

El girasol (*Helianthus annuus*) pertenece a la familia de las Asteraceae. El análisis de documentos históricos y semillas descubiertas en los estados de Tabasco y Morelos, México, indican que los girasoles cultivados fueron importantes durante la época prehispánica y del virreinato en el centro del país. A pesar de que las plantas silvestres son genéticamente distantes de los cultivares comerciales contemporáneos, las evidencias indican a México como el centro de origen y domesticación de la especie (Bye *et al.*, 2009). Las variedades de girasol pueden emplearse como: 1) fuente de semillas comestibles o para obtención de aceite; en general, estas plantas son monocefálicas (con un solo tallo y una inflorescencia principal); 2) para fines ornamentales, las que pueden ser policefálicas (con varias inflorescencias) con una “flor” apical dominante y pocas pequeñas “flores” laterales dispuestas en racimos cerca del ápice (Bye *et al.*, 2009; Uhdre *et al.*, 2017).

Actualmente el girasol ornamental tiene mayor relevancia en la floricultura mexicana, aunque la tecnología de producción está enfocada a su cultivo como oleaginosa. Para la producción de flores, el componente suelo es esencial y las características físicas, químicas y biológicas del suelo pueden afectar el

potted ornamental sunflower in field conditions (PH= 27.4 cm; SD= 8.7 mm; DMA= 10.5 g). While Fm showed a significantly greater effect ($P \leq 0.05$) on the growth of ornamental sunflower plants with respect to the control without AMF (SD= 10 mm; NL= 13). A substrate rich in organic components is important for optimal growth of *var.* Doble Enana ornamental sunflower plants and allow the establishment of AMF.

Keywords: *Helianthus annuus*, organic substrate, sunflower growth, mycorrhization.

Introduction

Sunflower (*Helianthus annuus*) is a plant species that belongs to the family of Asteraceae. Historical documents and seed analysis discovered in Mexican states of Tabasco and Morelos indicate that sunflowers were very important in the centre of the country during the prehispanic and viceroyalty epoch. In spite of the fact that wild plants and commercial sunflower cultivars are, genetically speaking, very distant, evidences point Mexico as the centre of origin and domestication of the specie (Bye *et al.*, 2009).

Different varieties of sunflower can be used as: 1) source of edible seeds and for the extraction of oil; in general, these plants are monocephalic (one main stem with one main inflorescence); 2) ornamental purposes, which can be polycephalic (several inflorescences) with a main apical dominant flower and few smaller lateral flowers near the apex (Bye *et al.*, 2009; Uhdre *et al.*, 2017).

Nowadays, ornamental sunflowers have a mayor relevance in Mexican floriculture and yet still, technology is very much focused on its culture as an oil plant. For the production of flowers, the physical, chemical and biological soil components are crucial. Soil compaction affects its structure as it increases its density and lowers its porosity (Kozłowski, 1999; Popova *et*

crecimiento vegetal. La compactación del suelo afecta su estructura al aumentar su densidad y bajar su porosidad (Kozłowski, 1999; Popova *et al.*, 2016), lo que a su vez causa problemas fisiológicos en las plantas ya que afecta el crecimiento de las raíces y en consecuencia la absorción de agua y nutrientes (Unger y Kaspar, 1993). Estas condiciones también alteran el nivel de fitohormonas, aumentando la cantidad de etileno y ácido abscísico que son hormonas de respuesta a estrés (Kozłowski, 1999; Zhang *et al.*, 2018; Page, 2006; Solís-Guzmán *et al.*, 2017). Igualmente, estas condiciones impactan en el establecimiento y efecto de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) sobre el crecimiento de las especies vegetales. Por ejemplo, Liu y Wang (2003) realizaron un experimento donde colocaron distintas mezclas de suelo de bosque y suelo salino en macetas trampa de HMA empleando distintos hospederos, el resultado obtenido fue que las condiciones de las mezclas influía directamente sobre la esporulación y diversidad de los HMA reproducidos con respecto a los colocados inicialmente; esto muestra como las propiedades químicas del sustrato puede limitar la propagación de los HMA; por otro lado, Johansson *et al.* (2004) concluyen en su análisis de revisión que los sistemas de labranza de conservación en la agricultura impactan en el desarrollo de los HMA, en particular muestran que en distintas investigaciones propiedades físicas del suelo como la compactación y la estructura juegan un rol clave en la interacción entre el HMA y su hospedero. Igualmente, la compactación, inhibe la germinación de las semillas (Kozłowski, 1999). Por lo cual los suelos y los sustratos deben tener propiedades que permitan el sano desarrollo de las plantas que incluya la interacción simbiótica con microorganismos benéficos como los HMA.

Un sustrato es cualquier material sólido que se utiliza para producir plantas o cultivos en contenedores o macetas; entre sus principales funciones están las de servir como soporte, brindar aireación y permitir retención de agua; el sustrato puede o no intervenir en el proceso de nutrición mineral de las plantas (ACCIMIN, 2018). Ejemplos de sustratos son perlita,

al., 2016), which causes physiological problems in the plant's growth, affecting mainly roots growth and, as a consequence, decreasing water and nutrients flow through the plant (Unger y Kaspar, 1993). Soil compaction also alters phytohormones levels, increasing ethylene and abscisic acid levels which are directly associated with plant stress responses (Kozłowski, 1999; Zhang *et al.*, 2018; Page, 2006; Solís-Guzmán *et al.*, 2017). To add up, these conditions affect the establishment and the effect of the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) over plant growth of different species.

For example, Liu and Wang (2003) conducted an experiment in which they used different mixtures of forest soil and saline soil, different host plants and AMF inoculum. Results showed that the composition of the mixture directly influences sporulation and diversity of AMF which clearly demonstrates that chemical soil properties can limit the propagation of AMF; Also, Johansson *et al.* (2004) concluded in their review analysis that conservation tillage systems in agriculture impact AMF development, they particularly concluded that different research works show that physical soil properties such as compaction and soil structure play a crucial role in the AMF-host interactions. To add up, compaction inhibits seed germination (Kozłowski, 1999). Whereby, soils and substrates should have the adequate properties which permit the healthy development of plants and their symbiotic interaction with beneficial microorganisms such as AMF.

A substrate is any solid material utilized to culture plants in containers or in flower pots; In between its main functions, substrates should give support, provide aeration and allow water retention; the substrate can or cannot intervene in the process of mineral nutrition of the plant (ACCIMIN, 2018). Example of common substrates are perlite, vermiculite, peat moss, sand and soil itself.

For all of the above, the objective of this work was to evaluate the effect of different substrate mixtures over the growth of *Var.*

vermiculita, turba, la arena y el propio suelo. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de distintas mezclas de sustratos sobre el crecimiento de girasol ornamental *Var. Doble Enana* en macetas en condiciones de campo para la óptima aplicación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA).

Materiales y Métodos

Determinación del sustrato para el crecimiento de girasol ornamental. Se utilizó la *Var. Doble Enana (Vita®)* de girasol ornamental. Las semillas se germinaron con la técnica “tacos de germinación” (Moreno, 1996) durante cinco días en condiciones de oscuridad a 25°C. Las plántulas germinadas de aproximadamente 6cm de longitud y con sólo sus cotiledones se trasplantaron en bolsas de polietileno negro con capacidad de 3 L. En cada maceta se colocaron 1.5 kg de sustrato esterilizado en autoclave (120°C, 1.05 kg cm⁻², 6 h). Los sustratos utilizados fueron suelo agrícola, arena, perlita (Agrolita®) y turba (Sunshine® Mix No. 3) en diferentes proporciones como se muestra en la Tabla 1.

Doble Enana ornamental sunflower in flowerpots in open sky for the optimal application of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF).

Materials and Methods

Determination of substrate composition for ornamental sunflower growth. *Var. Doble Enana (Vita®)* was used as ornamental sunflower. Seeds were germinated with the technique “germination tacos” (Moreno, 1996) for five days in complete darkness 25°C. Germinated seedlings with approximately 6cm length and only the cotyledons present were transplanted in black polyethylene bags with capacity of 3 L. 1.5 kg of substrate were placed in each flowerpot with, previously sterilized, substrate (120°C, 1.05 kg cm⁻², 6 h). The substrates utilized were agricultural land, sand, perlite (Agrolita®) and peat moss (Sunshine® Mix No. 3) in different proportions as shown in Table 1.

Tabla 1. Diseño de los diferentes sustratos compuestos de distintas proporciones de suelo agrícola, arena, perlita y turba para el cultivo de girasol ornamental *Var. Doble Enana* en macetas en condiciones de campo.

Table 1. Design of the different substrates composed of different proportions of agricultural soil, sand, perlite and peat for the cultivation of ornamental sunflower *Var. Doble Enana* in pots in field conditions.

| Sustrato | Composición del sustrato | Proporciones (%; v/v/v/v) |
|----------|----------------------------|---------------------------|
| 1 | Suelo: arena: perlita | 60:35:5 |
| 2 | Suelo: arena: perlita | 42:25:33 |
| 3 | Suelo: arena: perlita | 30:18:52 |
| 4 | Suelo:arena:perlita: turba | 30:18:2:50 |
| 5 | Turba | 100 |

Se realizó un experimento con arreglo completamente al azar con cuatro repeticiones por tratamiento. Este experimento fue establecido en mayo de 2017 y conducido durante ocho semanas en condiciones de cielo abierto (campo) en las instalaciones de la Unidad Zapopan del CIATEJ (coordenadas decimales: 20.701659, -103.474632). La unidad experimental (UE) fue una maceta con una planta de girasol ornamental; cada UE fue regada a capacidad de campo hasta el inicio de las lluvias; a las dos semanas después del trasplante fueron fertilizadas con 0.3 g de nitrógeno por maceta.

A las ocho semanas después de establecido el experimento se evaluaron variables de crecimiento vegetal: altura de la planta (cm), medida desde la base hasta el ápice de la planta sin tomar en cuenta el capítulo floral con un flexómetro (Truper®). Diámetro del tallo (mm): medido con un vernier electrónico (Surtek®) a nivel de los cotiledones. Número de hojas completamente desarrolladas. Diámetro del capítulo floral (cm): se midió con un flexómetro (Truper®); en caso de que el capítulo fuera ovalado se tomó en cuenta el diámetro menor. Peso seco de tallo-hojas, raíz y capítulo floral (g): cada órgano vegetal fue colocado en bolsas de papel por tratamiento y se secó a 65°C hasta peso constante, el peso fue determinado con una balanza digital (2 decimales); en caso de plantas con más de un capítulo, se procedió de la siguiente manera: para capítulo floral se consideró el apical, los laterales fueron incluidos en el peso del tallo-hojas.

Efecto de los HMA en el crecimiento de girasol ornamental. Concluido el experimento de sustratos se estableció un segundo experimento (julio de 2017) en condiciones de campo y concluido a las 10 semanas después de su establecimiento. Se empleó la *Var. Doble Enana* de girasol y la preparación de las plántulas fue igual como se indicó arriba. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con cinco tratamientos repetidos seis veces. Los tratamientos fueron: *Rhizophagus intraradices* (Ri), *Funneliformis mosseae* (Fm);

The experiment was completely random with four replicates per treatment. It was established in May 2017 and conducted for 8 weeks in open sky conditions in CIATEJ Unidad Zapopan instalments (decimal coordinates 20.701659, -103.474632). The experimental unit (EU) was a flowerpot with one sunflower; each EU was watered to field capacity till the beginning of the rainy season; two weeks after the transplant they were fertilized with 0.3g of nitrogen each one.

Eight weeks after the establishment of the experiment the following plant growth variables were measured: plant height (cm) measured from the base of the plant to the apex, not considering the flower, with a flexometer (Truper®). Stem diameter (mm) with an electronic Vernier (Surtek®) at the level in which the cotyledons were. Number of completely developed leaves. Diameter of the flower head (cm) measured with a flexometer (Truper®); in cases in which the floral head was oval, the minor diameter was considered. Dried weight of stem-leaves, root and flower head (g): each plant organ was dried in paper bags 65°C till constant weight, the weight was determined with a digital scale (2 decimals); in cases in which there were more than one flower head, only the apex head was considered for flower weight and the rest of the flowers were included in stem-leaves weight.

Effect of AMF over ornamental sunflower growth. Once the substrates experiment was concluded, a new experiment was established during July 2017 in flowerpots in sky conditions. The experiment lasted 10 weeks and *Var. Doble Enana* sunflower was used.

Preparation of the plants for the experiment was made using the same procedures as in the first experiment. It was completely random with 5 treatments and 6 replicates each. Treatments were *Rhizophagus intraradices* (Ri), *Funneliformis mosseae* (Fm); consortium Cerro del Metate (CM) and consortium Las Campesina (LC) (described by

los consorcios Cerro del Metate (CM) y Las Campesina (LC) (descritos por Trinidad *et al.*, 2017) y un control sin HMA. El sustrato empleado fue suelo: arena: agrolita: turba (30:18:2:50) esterilizado (120°C, 1.05 kg cm⁻², 6 h). Se empelaron bolsas de polietileno negro con capacidad de 5 kg como macetas para una planta de girasol, en cada bolsa se colocaron 3 kg de sustrato esterilizado. Se colocaron 100 esporas de HMA por planta directamente en la raíz durante el trasplante de las plántulas de girasol. La UE consistió en una maceta con una planta de girasol ornamental con el tratamiento de HMA. Las UE fueron mantenidas a capacidad de campo durante el experimento. Al final del experimento se cuantificó (70 días después del trasplante): número de hojas, altura de planta y diámetro del tallo, como se mencionó anteriormente. Se realizaron observaciones de la colonización micorrízica en las plantas de girasol mediante la técnica de clareo y tinción de Phillips y Hayman (1970) y toma de fotografías en un microscopio óptico 40X.

Análisis estadísticos de los datos. Los datos de las variables de respuesta obtenidos en cada uno de los experimentos fueron analizados mediante un análisis de varianza de una vía ($P \leq 0.05$ o $P \leq 0.1$) y cuando se encontraron diferencias significativas se aplicó una prueba de comparación múltiple de medias Tukey ($P \leq 0.05$ o $P \leq 0.1$); ambos análisis fueron realizados empleando el programa Statgraphics Centurion (StatPoint Inc., 2005).

Resultados y Discusión

Se presentan los análisis de las distintas variables del crecimiento vegetal del girasol ornamental (*Var. Doble Enana*) en respuesta a los diferentes sustratos en los cuales fueron colocadas las plantas. Como se puede apreciar en la Tabla 2 y Figura 1 y 2, el sustrato 4 (suelo: arena: perlita: turba en una proporción 30:18:2:50) mostró diferencias significativamente superiores en todas las

Trinidad *et al.*, 2017) plus a control without AMF. The substrate employed was soil: sand: perlite: peat moss (30:18:2:50) previously sterilized (120°C, 1.05 kg cm⁻², 6 h). Black polyethylene bags of 5kg capacity were filled with 3kg of sterilized substrate and then 100 AMF spores were directly inoculated in the sunflower seedling's roots at the moment of transplant.

The experimental unit (EU) consisted in a flowerpot with one ornamental sunflower plant and the AMF inoculum. All the EU were watered to field capacity during the experiment. At the end of the experiment (70 days after transplant) the following response variables were measured: leaves number, plant height and stem diameter as mentioned previously.

Observations were made of mycorrhizal colonization in sunflower plants using the clearing and staining technique of Phillips and Hayman (1970) and taking pictures in a 40X optical microscope.

Statistical analysis of data. Data from response variables obtained on each of the experiments were analysed with a one-way variance analysis ($P \leq 0.05$ o $P \leq 0.1$) and when significant differences were found then the Tukey multiple means comparison test ($P \leq 0.05$ o $P \leq 0.1$) was used. Both analyses were done through Statgraphics Centurion (StatPoint Inc., 2005).

Results and Discussion

Analysis of the different ornamental sunflower (*Var. Doble Enana*) plant growth variables are presented in response to the different substrates in which the plants were cultured. As it can be appreciate in Table 2 and Figure 1 and 2, the substrate 4 (soil: sand: perlite: peat moss in proportion 30:18:2:50) showed significantly higher differences in all response variables which indicates the preference of the plant for organic rich substrates; nevertheless, 100% organic

variables de respuesta. Esto indica la preferencia de las plantas de girasol por sustratos ricos en componentes orgánicos, sin embargo, sustratos al 100% orgánicos (sustrato 5) no favorece su desarrollo como se observa en los distintos Cuadro y Figuras. Otro aspecto que resaltar en el tratamiento con el sustrato 4 es el peso seco de la raíz (Figura 1), el cual tuvo un incremento significativo respecto a todos los tratamientos, esto puede ser efecto de que dicho sustrato (Figura 2) proporcionó las óptimas condiciones de porosidad, permitiendo a la planta tener el medio que le proporcionara nutrientes y agua como lo sugieren Unger y Kaspar (1993). A nivel de nutrición, sólo se aportó N₂ y en una muy baja concentración, por lo cual, los nutrientes contenidos en el sustrato pudieron ser tomados por la planta dado el mejoramiento de las propiedades físicas de las distintas mezclas como lo sugiere Unger y Kaspar (1993). Todos estos efectos se observaron durante la totalidad de la duración del experimento (desde la segunda semana hasta la octava) (Figura 3).

substrates (substrate 5) does not favour the correct development of the plant as showed in the different Tables and Figures. Another aspect to stand out in substrate 4 is the dry weight of the roots (Figure 1), which had a significant increment in comparison with the other treatments, this can be the effect of the substrate (Figure 2) providing the optimal porosity conditions, allowing the plant to absorb nutrients and water as suggested by Unger and Kaspar (1993).

In terms of nutrition, only N₂ was provided in a low quantity, whereby, it can be assumed that nutrients from the substrate itself could have had been taken by the plant given the enhancement of the physical properties in the different substrates as suggested by Unger and Kaspar (1993). All these effects were observed during the totality of the experiment (from week two to week eight) (Figure 3).

Tabla 2. Crecimiento de girasol ornamental (*Var. Doble Enana*) en distintos sustratos en maceta bajo condiciones de campo a las ocho semanas después de establecido el experimento.

Table 2. Growth of ornamental sunflower (*Var. Doble Enana*) in different substrates in flowerpot in field conditions eight weeks after establishing the experiment.

| Sustrato | Descripción del tratamiento | | Variables de crecimiento | | | |
|----------|-----------------------------|------------------------|--------------------------|------------------------|---------------------------|-----------------|
| | Composición del sustrato | Proporción (%) v/v/v/v | Altura de planta (cm) | Diámetro de tallo (mm) | Diámetro de capítulo (cm) | Número de hojas |
| 1 | Suelo: arena: perlita | 60:35:5 | 6.8 bc | 2.3 b | 1.1 b | 4.3 bc |
| 2 | Suelo: arena: perlita | 42:25:33 | 6.4 bc | 2.0 b | 1.3 b | 3.0 bc |
| 3 | Suelo: arena: perlita | 30:18:52 | 4.0 c | 1.3 b | 1.9 b | 1.8 c |
| 4 | Suelo:arena:perlita: turba | 30:18:2:50 | 27.4 ab | 8.7 a | 8.8 a | 11.7 a |
| 5 | Turba | 100 | 34.0 a | 6.9 a | 7.5 a | 9.8 ab |

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas, según la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).
 Different letters in the same column indicate significant differences, according to Tukey test ($P \leq 0.05$).

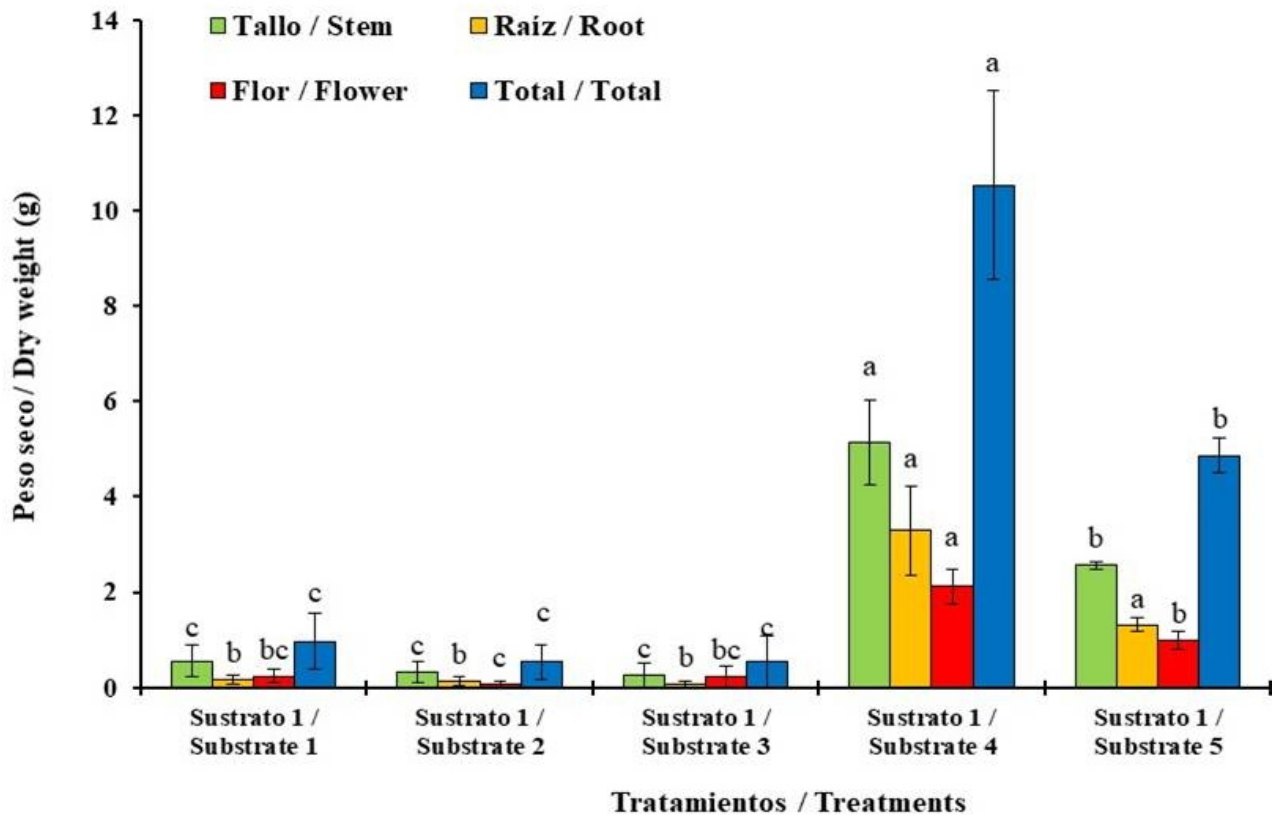


Figura 1. Acumulación de materia seca de plantas de girasol ornamental (*Var.* Doble Enana) en distintos sustratos en maceta bajo condiciones de campo a las ocho semanas después de establecido el experimento. Letras distintas en el mismo tipo de rectángulo y color indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$); las barras en cada rectángulo indican \pm el error estándar.

Figure 1. Accumulation of dry matter from ornamental sunflowers (*Var.* Doble Enana) in different substrates in flowerpot in field conditions 8 weeks after the experiment had been placed. Different letters in the same column and color represent significant differences according to Tukey ($P \leq 0.05$); bars in each column represent \pm standard error.



Figura 2. Crecimiento vegetal y desarrollo de la inflorescencia de plantas de girasol *Var.* Doble Enana. (A) Sustrato 4 [suelo: arena: perlita: turba (30:18:2:50)]; (B) Sustrato 3 [suelo: arena: perlita (30:18:52)].

Figure 2. Plant growth and inflorescence development of *Var.* Doble Enana sunflower. (A) Substrate 4 [(soil: sand: perlite: peat moss (30:18:2:50)]; (B) Substrate 3 [soil: sand: perlite (30:18:52)].





















| | Sustrato / Substrate | Tiempo después de establecido el experimento (semanas) / Time after the experiment establishment (weeks) | | | |
|---|-------------------------|---|---|--|---|
| | | 2 | 4 | 6 | 8 |
| 1 | |  |  |  |  |
| 2 | |  |  |  |  |
| 3 | |  |  |  |  |
| 4 | |  |  |  |  |
| 5 | |  |  |  |  |

Figura 3. Comportamiento del crecimiento vegetal del girasol ornamental (*Var. Doble Enana*) en diferentes sustratos en maceta en condiciones de campo en la época de lluvias en instalaciones de la Unidad Zapopan del CIATEJ.

Figure 3. Behaviour of ornamental sunflower (*Var. Doble Enana*) growth in different substrates in flowerpot in during raining season in CIATEJ Unidad Zapopan

La mezcla Sunshine® contiene musgo *Sphagnum* (Peat Moss), vermiculita, carbonatos para ajustar el pH, un agente humectante y una formulación a base de fertilizantes lo que permite una óptima retención del agua aplicada y una buena aireación (Grc Agroindustrial, 2018).

Esto proporciona al sustrato una consistencia suave y porosa, mientras que los sustratos sin turba (Peat Moss) se endurecen rápidamente estresando a la planta (Figura 4).

El girasol ornamental (*Var. Doble Enana*) es una planta susceptible a la compactación del suelo; en parte los resultados del crecimiento de la Doble Enana respaldan este aspecto.

Posiblemente otras variedades de girasol ornamental también sean susceptibles a la compactación.

The Sunshine® mixture contains *Sphagnum* moss, vermiculite, carbonates to adjust pH, a wetting agent and a fertilizer-based formulation which allows optimum retention of applied water and good aeration (Grc Agroindustrial, 2018).

This provides the substrate with a smooth and porous consistency, while substrates without peat moss harden quickly, stressing the plant (Figure 4).

Ornamental sunflower (*Var. Doble Enana*) is susceptible to soil compaction; in a way, the results on Doble Enana's growth support this statement.

Probably other ornamental sunflower varieties are susceptible as well.

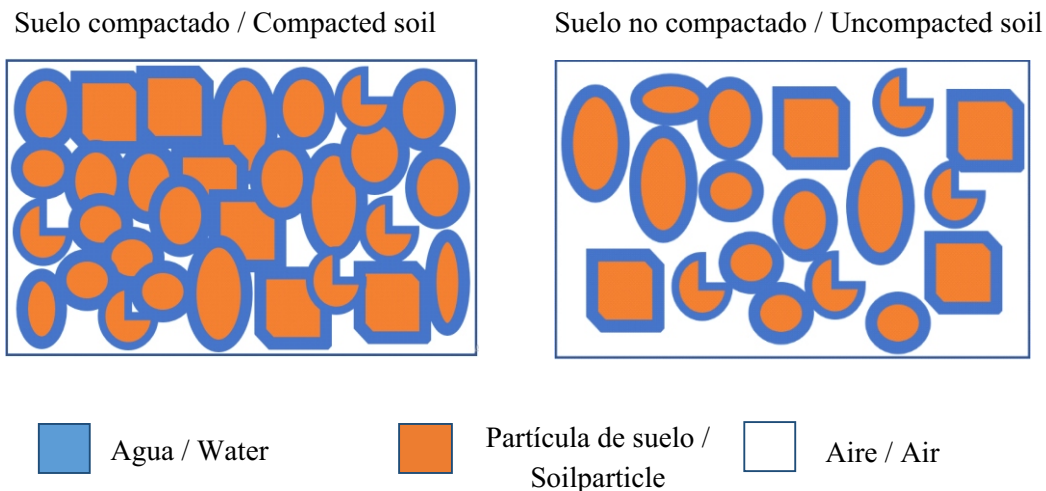


Figura 4. Representación esquemática de un suelo con y sin compactación. El suelo no compactado permite la aireación, la circulación de agua y nutrientes, además tiene espacio para la expansión de las raíces y el micelio de los hongos micorrízicos arbusculares.

Figure 4. Schematic representation of soil with and without compaction. The non-compacted soil allows aeration and circulation of water and nutrients, it also provides space for the expansion of roots and of arbuscular mycorrhizal fungi mycelium.

El sustrato suelo: arena: perlita: turba (30:18:2:50) fue empleado para realizar el experimento del efecto de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA). En la Figura 5 se muestra el resultado del efecto de los distintos HMA sobre el crecimiento del girasol ornamental *Var. Doble Enana* en macetas en condiciones de campo.

En las Figuras 5A y C se aprecia que la cepa del HMA *F. mossea* fue significativamente superior al control a través del tiempo durante la duración del experimento, lo cual sugiere que el HMA fue capaz de hacer simbiosis con el girasol ornamental (Figura 6).

En este sentido Gosling *et al.* (2010) muestra que un incremento en la disponibilidad de materia orgánica en el suelo aumenta los niveles de colonización de los HMA, también Barea *et al.* (2002) indican como la calidad de las características físico, químicas y biológicas son afectadas positivamente por la presencia de los HMA, en particular indican que la estructura del suelo mejora dando óptimas condiciones de aeración, infiltración y retención de humedad, las cuales son características clave para un óptimo crecimiento vegetal.

Los datos mostrados de crecimiento en este estudio sugieren que tanto el incremento de la materia orgánica como la presencia de los HMA en el sustrato a base de suelo: arena: perlita: turba (30:18:2:50) proporcionaron las condiciones apropiadas para asegurar un buen crecimiento a la *Var. Doble Enana* de girasol ornamental en maceta en condiciones de campo.

Substrate soil: sand: perlite: peat moss (30:18:2:50) was utilized to conduct the second experiment with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). Figure 5 shows the results of the effect of different AMF over ornamental sunflower *Var. Doble Enana* growth in flowerpot in open sky conditions.

Figures 5A and C show that AMF strain *F. mossea* was significantly superior to the control through time during the experiment, which suggests that AMF could make symbiosis with ornamental sunflower (Figure 6).

In this matter Gosling *et al.* (2010) proved that an increment in the organic matter availability in soil can increase the levels of AMF colonization, also Barea *et al.* (2002) showed how the quality of the physicochemical and biological characteristics of soil are positively affected by the presence of AMF, they specifically clarify that soil structure enhances, providing the plant with optimal aeration, infiltration and moisture retention conditions, which are key characteristics for good plant growth.

Growth data shown in this study suggests that both the increment in organic matter and the presence of AMF in the substrate soil: sand: perlite: peat moss (30:18:2:50) provided the appropriated conditions to ensure the good growth of *Var. Doble Enana* ornamental sunflower in flowerpot in field conditions.

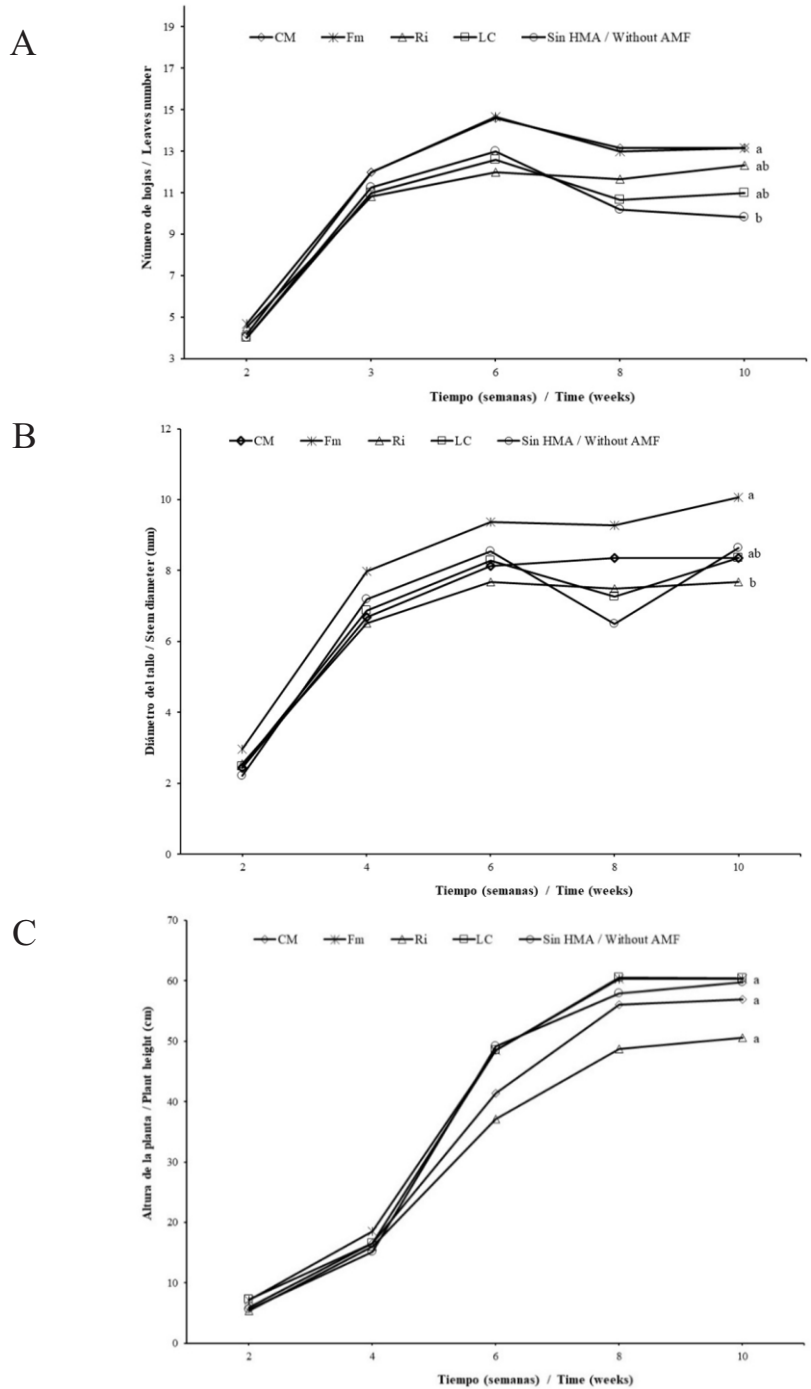


Figura 5. Efecto de hongos micorrizicos arbusculares (HMA) sobre el crecimiento de girasol ornamental *Var. Doble Enana* en el sustrato a base de suelo: arena: perlita: turba (30:18:2:50) en condiciones de campo. (A) Número de hojas, (B) diámetro de tallo y (C) altura de plantas en las plantas de girasol. Inóculos de HMA: Consorcio Cerro del Metate (CM), Consorcio Las Campesinas (LC), *Funneliformis mosseae* (Fm), *Rhizophagus intraradices* (Ri) y el control sin HMA. Letras diferentes en la semana diez después de establecido el experimento indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.10$).

Figure 5. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) over the growth of *Var. Doble Enana* ornamental sunflower in the substrate sand: perlite: peat moss (30:18:2:50) in conditions of field. (A) Leaves number, (B) Stem diameter, (C) Sunflower plant height. AMF inoculums: Consortium Cerro del Metate (CM), Consortium Las Campesinas (LC), *Funneliformis mosseae* (Fm), *Rhizophagus intraradices* (Ri) and without AMF. Different letters after the tenth week of having established the experiment indicate significant differences according to Tukey test ($P \leq 0.10$).

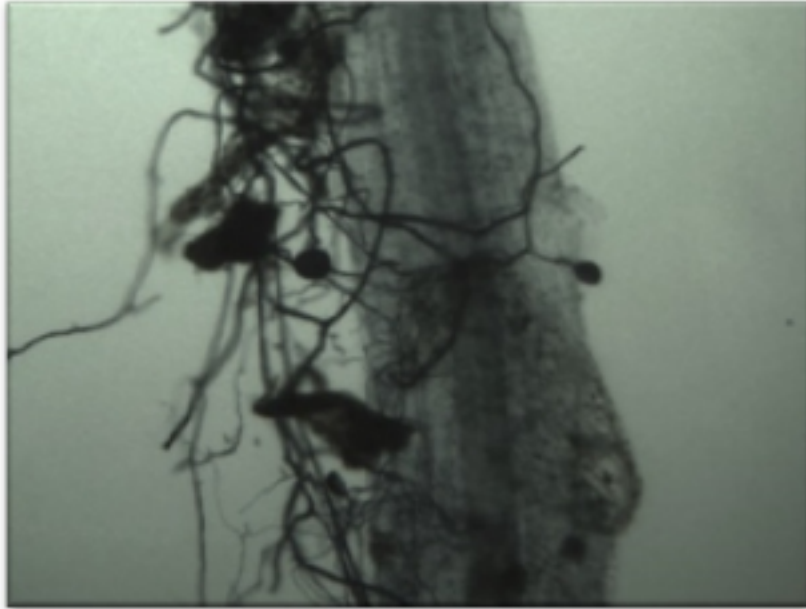


Figura 6. Raíz de girasol ornamental *Var.* Doble Enana colonizada por el consorcio de HMA denominado LC (Las Campesinas) en un experimento bajo condiciones de campo durante época de lluvias en Zapopan, Jalisco.

Figure 6. Ornamental sunflower root *Var.* Doble Enana colonized by the AMF consortium called LC (Las Campesinas) in an experiment under field conditions during the rainy season in Zapopan, Jalisco.

Conclusiones

El sustrato a base de suelo: arena: perlita: turba [30:18:2:50 (%; v/v/v/v)] proporcionó las condiciones apropiadas para el crecimiento óptimo de girasol ornamental (*Var.* Doble Enana) en macetas en condiciones de campo y permitió el empleo de hongos micorrízicos arbusculares como una biotecnología que puede mejorar significativamente el crecimiento vegetal del girasol ornamental.

Agradecimientos

Esta investigación fue apoyada por proyectos del Laboratorio de Fitopatología del CIATEJ y mediante el proyecto 293362 del CONACYT a través del Laboratorio Nacional PLANTECC. IVV agradece a CONACyT por la beca de estudios de maestría. La Dra. E. E. Quiñones-Aguilar participó como codirectora de este trabajo de investigación.

Conclusions

Substrate based on soil: sand: perlite: peat moss [30:18:2:50 (%; v/v/v/v)] provided the appropriated conditions for the optimal growth of ornamental sunflower (*Var.* Doble Enana) in flowerpots in open sky conditions (field) and allowed the use of arbuscular mycorrhizal fungi as a biotechnological tool that can significantly enhance ornamental sunflower growth.

Acknowledgments

This research was supported by projects of the Phytopathology Laboratory of CIATEJ and through the project 293362 of CONACYT through the National laboratory PLANTECC. IVV thanks CONACyT for the master's degree scholarship granted. Dr E.E. Quiñones-Aguilar participated as co-director of this research work.

Referencias

- ACCIMIN (2018) Agrolita. Fecha de consulta: 16 abril (2018)
<http://www.dicamex.com.mx/index.html>
- Barea J.M., Azcón R. and Azcón-Aguilar C. (2002) Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality. *Antonie van Leeuwenhoek* 81: 343–351.
- Bye R., Linares E. and Lentz D. (2009) México: centro de origen de la domesticación del girasol. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* 12: 5-12.
- Gosling P., Ozaki A., Jones J., Turner M., Rayns F. and Bending G.D. (2010) Organic management of tilled agricultural soils results in a rapid increase in colonisation potential and spore populations of arbuscular mycorrhizal fungi. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 139: 273–279. doi:10.1016/j.agee.2010.08.013
- GrcAgroindustrial(2018) Sunshine Mix 3. Fecha de consulta: 16 de abril 2018. http://www.grcagroindustrial.com/grc/index.php?categoryid=8&p2_articleid=2
- Johansson J.F., Paul L.R. and Finlay R.D. (2004) Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture *FEMS Microbiology Ecology* 48: 1–13.
- Kozlowski T.T. (1999) Soil compaction and growth of woody plants. *Scandinavian Journal of Forest Research* 14: 596-619. doi:10.1080/02827589908540825
- Lui R. and Wang F. (2003) Selection of appropriate host plants used in trap culture of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 13:123–127. DOI 10.1007/s00572-002-0207-4
- Page W.M. (2006) Ethylene and plant responses to stress. *Physiologia Plantarum* 100: 620-630. doi:10.1111/j.1399-3054.1997.tb03068.x
- Phillips J.M. and Hayman D.S. (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55:158-161. doi:10.1016/S0007-1536(70)80110-3

References

- Popova L., van Dusschoten D., Nagel K.A., Fiorani F. and Mazzolai B. (2016) Plant root tortuosity: an indicator of root path formation in soil with different composition and density. *Annals of Botany* 118: 685-698. doi: 10.1093/aob/mcw057
- Moreno, M.E. (1996) Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. 3ra ed., UNAM, México DF. 393 p.
- Solís-Guzmán M.G., Argüello-Astorga G., López-Bucio J., Ruiz-Herrera L.F., López-Meza J.E., Sánchez-Calderón L., Carreón-Abud Y. and Martínez-Trujillo M. (2017) *Arabidopsis thaliana* sucrose phosphate synthase (sps) genes are expressed differentially in organs and tissues, and their transcription is regulated by osmotic stress. *Gene Expression Patterns* 25: 92-101. doi:10.1016/j.gep.2017.06.001
- StatPoint Inc. (2005) StatGraphics Centurion XV version 15.02.06. Warrenton, Virginia, USA. www.statgraphics.com
- Trinidad-Cruz J.R., Quiñones-Aguilar E.E., Hernández-Cuevas V.L., López-Pérez L. y Rincón-Enríquez G. 2017. Hongos micorrícicos arbusculares asociados a la rizósfera de *Agavecupreata* Trel. & Berger en regiones mezcaleras del estado de Michoacán, México. *Scientia Fungorum*.45:13-25.
- Uhdre R.S., Manningel A.R., Ecker A.E.A., Sorace M., Castaldo J.H. and Nolla A. (2017) Cultivation of *Helianthus annuus* L. Cv. Sunflower Sunspot Dwarf with silicon application. *Scientific Electronic Archives* 10: 64-67.
- Unger P.W. and Kaspar T.C. (1993) Soil compaction and root growth: a review. *Agronomy Journal* 86: 759-766. doi:10.2134/agronj1994.00021962008600050004x.
- Zhang D.J., Yang Y.J., Liu C.Y., Zhang F. and Wu Q.S. (2018) Root hair growth and development in response to nutrients and phytohormones. *In: Root biology*. Giri B., Prasad R., Varma A. (eds). *Soil Biology* 52: 65-84. doi: 10.1007/978-3-319-75910-4_3.