5º Congreso Internacional Biología, Química y Agronomía

Science and Technological Innovation: A Strategy for Well-Being

Ciencia e Innovación Tecnológica: Estrategia para el Bienestar

José Luis Zavala Aguirre
Juan Villafaña Rojas
Miguel J. Beltrán García
Editores

Editorial Universidad Autónoma de Guadalajara

80 años UAG
COMPROMETIDOS CON LA EDUCACIÓN

La información compendiada en este libro digital proviene de los trabajos presentados durante el 5to Congreso Internacional de Biología, Química y Agronomía de la Universidad Autónoma de Guadalajara el cual fue celebrado del 31 de septiembre al 2 de octubre de 2015 en las instalaciones de UNICO de la misma Universidad. La información fue presentada por investigadores y grupos de trabajo especializados sobre quienes recae la responsabilidad de la validez de dichas investigaciones. Los autores, comité editorial y la casa editorial no somos responsables de las consecuencias del uso que se dé a la información presentada. La mención de productos comerciales o servicios, de ninguna manera implican compromisos o afiliaciones por parte de la Universidad Autónoma de Guadalajara. Se autoriza el uso y distribución de los contenidos, libremente proporcionados por los autores para su compilación y registro ante ISBN, para lo cual se requiere sean citados dando créditos a sus creadores. Cualquier duda o aclaración deberán ser realizadas directamente con los autores correspondientes cuyos datos de contacto están registrados en cada contribución. El comité editorial intentó unificar los formatos en base a las retroalimentaciones recibidas durante el proceso de galeras; los datos incompletos o faltas ortográficas son responsabilidad de los autores que no dieron retroalimentación.

ISBN: 978-607-719-005-9

EDITORIAL: Universidad Autónoma de Guadalajara, A.C. Av. Patria 1201. Lomas del Valle, Zapopan, Jalisco, 45129. México. Primera edición: 2016

Comité Científico:

Agrobiotecnología	Dr. Miguel J. Beltrán García
Biocombustibles	Dr. Froylan Mario Espinosa Escalante
Biología de Recursos Naturales	Dr. José Luis Zavala Aguirre
Biología Molecular	MC. Aurora Huerta Robles / MC Marcela de la Mora Amutio
Biología y Química del estrés oxidativo	Dr. Miguel J. Beltrán García
Biomateriales	Dr. Tito E. Herrera Larrasilla
Biorremediación	Dr. José A. Lomelí Sención
Biotecnología Alimentaria	MC. Gloria M. Macedo Raygoza / Biól. Claudia I. Cisneros Reyes
Biotecnología Clínica	MC. Araceli Escobedo Magallón
Biotecnología Farmacéutica	MC. Carlos Alberto Manuel Cabrera
Conservación de ecosistemas	Dr. José Luis Zavala Aguirre
Control Biológico	Dr. David Ortiz Mendoza
Ecotoxicología	Dr. José Luis Zavala Aguirre
Fermentaciones	Dr. Juan Villafaña Rojas
Fitopatología	MC. Laura Marcela Meixner Rojas
Ingeniería Química	Dr. Efrén Aguilar Garnica
Procesos Químicos	Dr. Efrén Aguilar Garnica
Q. Alimentos	Dra. Lourdes Contreras Pacheco
Q. Analítica	MC. Gloria Macedo Raygoza
Q. Bioorgánica	IQ. Ma. Lourdes Rivera Castro
Q. Clínica	MC. Araceli Escobedo Magallón
Q. Farmacéutica	MC. Carlos Alberto Manuel Cabrera
Q. Productos Naturales	IQ. Ma. Lourdes Rivera Castro
Química Agronómica	IA. Lydia Olvera Avila

PRODUCTION OF BACTERICIDAL SUBSTANCES IN AXIHUITL BY EFFECT OF MYCORRHIZATION AND ORGANIC MATTER

(Producción de sustancias bactericidas del axihuitl por efecto de la micorrización y materia orgánica)

Susana García-Téllez[a,b], Evangelina Esmeralda Quiñones-Aguilar[a], Luís López-Pérez[b], Sylvia Patricia Fernández-Pavía[b], Gabriel Rincón-Enríquez[a*+]

[a] Biotecnología Vegetal del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A. C.
[b] Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

*Autor que presentó el trabajo.
+Autor para correspondencia: grincon@ciatej.mx.

Área del Conocimiento: Fitopatología.

ABSTRACT
Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are obligate symbiotic microorganisms associated with the roots of plants. This association may change the concentration of secondary metabolites produced by plants. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of different AMF commercial and native inoculum, and organic matter (MO) added to the soil on the concentration of bactericidal substances produced axihuitl (*Eupatorium aschembornianum* Sch.) plants. Under greenhouse conditions, one experiment of mycorrhizal inoculums: one commercial use (*R. intraradices*, Ri), two natives of Michoacán (Las Campesinas and Cerro del Metate), three of Morelos (Copalcohuitl, Tezontitla and Antiguas Vias del Tren) and two sources of matter was evaluated organic to 5, 2.5 and 0% v/v (cane rum compost and soil rich in organic matter originating from Morelos). The axihuitl plants in the experiment Ri treating with compost cane or soil rich showed the greatest vegetative growth, while Antiguas Vias del Tren treatments with 5% and 2.5% of cane as a source of organic material, had the highest percentage of mycorrhizal colonization of 61 and 60% respectively. The extracts of axihuitl showed bactericidal activity at a concentration of 60 mg mL^{-1} against *Pseudomonas syringae* pv *phaseolicola* (Psph), were: Ri with 5% of cane; Las Campesinas and Ri 5% of soil rich in organic matter originating from Morelos. These treatments showed 100% inhibition of Psph growth *in vitro*.

Keywords: Arbuscular mycorrhizal fungi, bacterial plant extract, *Eupatorium aschembornianum* Sch, *Pseudomonas syringae* pv *phaseolicola*.

RESUMEN
Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) son microorganismos simbióticos obligados asociados a las raíces de las plantas. Esta asociación puede cambiar la concentración de metabolitos secundarios producidos por las plantas. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de diferentes inóculos de HMA comercial y nativos, y materia orgánica (MO) agregada al suelo sobre la concentración de sustancias bactericidas producidas por plantas de axihuitl (*Eupatorium aschembornianum* Sch.). En condiciones de invernadero, un experimento fue realizado con: 1) inóculos de micorrizas; uno comercial

(*R. intraradices*, Ri), dos nativos de Michoacán (Las Campesinas y Cerro del Metate), tres nativos de Morelos (Copalcohuitl, Tezontitla y Antiguas Vias del Tren); 2) dos fuentes de la materia orgánica al 5% v/v (composta de caña azúcar y el suelo rico en materia orgánica procedente de Morelos). Las plantas de axihuitl en el experimento tratadas con Ri y composta caña o suelo rico mostraron el mayor crecimiento vegetativo, mientras que los tratamientos inoculados con Antiguas Vías del Tren y con 5 o 2.5% de composta de caña como fuente de materia orgánica, tuvieron el mayor porcentaje de colonización micorrícica, 61 y 60%, respectivamente. Los extractos del axihuitl que mostraron actividad bactericida a una concentración de 60 mg mL^{-1} frente a *Pseudomonas syringae* pv *phaseolicola* (Psph), fueron: Ri con 5% de composta de caña; Las Campesinas y Ri con suelo rico en materia orgánica procedente de Morelos al 5%. Estos tratamientos mostraron una inhibición del 100% del crecimiento de Psph *in vitro*.

Palabras Clave: Hongo micorrizicos arbuscular, extracto vegetales bactericida, *Eupatorium aschembornianum* Sch, *Pseudomonas syringae* pv *phaseolicola*.

INTRODUCCIÓN

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son organismos del suelo que se asocian mutualistamente a las raíces de la gran mayoría. Además, promueven el incremento de la biomasa vegetal y modifican la concentración de metabolitos secundarios [1]. Sin embargo, los efectos funcionales de la colonización de los HMA han sido examinados solo en aproximadamente un 10% de las plantas hospederas [2] y los trabajos relacionados con el estudio de la interacción micorriza arbuscular (MA) enfocados al incremento de los metabolitos secundarios en plantas, aún son insuficientes [3]. Actualmente se realizan evaluaciones de la respuesta en el incremento de la concentración de principios activos en plantas medicinales, cuando son inoculadas con los HMA [4]. Muchos de los compuestos naturales, derivados de los metabolitos secundarios contienen ingredientes medicinales [5], como en las especies del género *Eupatorium*, distribuidas en todo el mundo y cuyas propiedades han sido utilizadas como medicamentos tradicionales. De las 1200 especies registradas, sólo se han investigado unas pocas hasta el momento, pero aún, muchas han recibido poca o nula atención en estudios fitoquímicos y biológicos, motivo por el cual debe enfocarse la búsqueda de los componentes bioactivos más potenciales (Li *et al*., 2008). Ante este hecho, en la planta silvestre, conocida como axihuitl (*Eupatorium aschembornianum* Sch.) se han encontrado compuestos con actividad bactericida, con base en pruebas realizadas en la especie bacteriana *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* [6]. Este fitopatógeno pertenece al grupo de bacterias que son capaces de ocasionar daños graves a plantas de frijol [7]. El axihuitl pertenece a la familia *Asteraceae* (*Compositae*), es una planta silvestre, también conocida como hierba de agua. Morfológicamente, tiene abundantes hojas con forma de corazón, con onditas alrededor de la hoja y contiene una especie de filamentos, es de tallo grueso y áspero al tocarlo, con manchas pequeñas en todo su alrededor y se da en varas grandes. Se le puede encontrar fácilmente en la época de lluvias y su periodo de floración ocurre entre los meses de noviembre a febrero en Tepoztlán Morelos México [6]. Por ello, el implemento del extracto del axihuitl como "bioplaguicida", podría aplicarse en la agricultura orgánica y puesto que su origen es vegetal, es de bajo impacto ambiental. Pueden beneficiar al ambiente, dado que a diferencia de los productos químicos, estos son biodegradables, lo que provoca un impacto mínimo sobre el ambiente, son efectivos contra enfermedades y no tienen restricciones toxicológicas [8]. Por este motivo y considerando que los HMA pueden modifican la concentración de los metabolitos secundarios, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de distintos inóculos de hongos micorrízicos arbusculares y diferentes niveles de materia orgánica sobre la concentración de compuestos bioactivos sobre el crecimiento de *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Psph). Para ello,

se establecieron experimentos en los que, se aplicaron distintos inóculos de HMA nativos del estado de Michoacán y de Morelos, así como un inóculo comercial, en tres fuentes y tres concentraciones de materia orgánica para plántulas de axihuitl bajo condiciones de invernadero. Se evaluó la efectividad bactericida de los extractos sobre Psph en condiciones *in vitro*, la hipótesis de trabajo fue que las plantas de axihuitl micorrizadas mostrarían una actividad bactericida (concentración mínima inhibitoria) menor a la reportada (80 mg mL^{-1}). Por lo cual el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de distintos inóculos de hongos micorrízicos arbusculares y materia orgánica en la concentración de compuestos bioactivos con efecto bactericida contra Psph y en la promoción del crecimiento.

METODOLOGÍA

Se estableció un experimento bifactorial en un diseño completamente al azar. Los factores estudiados fueron: 1. HMA (7 niveles): dos consorcios nativos del estado de Michoacán (Las Campesinas and Cerro del Metate), tres consorcios nativos del Estado de Morelos (Copalcohuitl, Tezontitla and Antiguas Vias del Tren), un inóculo comercial (*Rhizophagus intraradices*) y un control sin HMA. 2. Materia orgánica (MO) (dos niveles): composta a base de cachaza de caña (5%, v/v) y suelo de parcelas de cultivo del axihuitl de Morelos (5% (v/v)) y un control sin MO. De la combinación de los niveles de los dos factores se generaron 21 tratamientos y se realizaron 10 repeticiones, conformando un total de 210 unidades experimentales. El experimento se mantuvo en invernadero durante 6 meses. La unidad experimental estuvo conformada por macetas con arena estéril (120°C durante tres horas tres días consecutivos) de 1.5 Kg y una planta por macetas. Se inocularon 80 esporas de HMA de los distintos consorcios de HMA. El experimento se mantuvo en condiciones de invernadero bajo una malla sombra con apertura 80-20 ubicado en la UMSNH. El experimento fue evaluado hasta los 180 días después de establecido el experimento. Para la obtención de los extractos del axihuitl se emplearon el tallo y las hojas del axihuitl completamente secas, protegidas de la luz. La parte aérea se fraccionó en trozos más pequeños y se molió. A partir de este material se realizo una extracción con acetona por maceración por dos semanas en la Figura 1A se presenta de manera esquemática la preparación de los extractos. Para evaluar la actividad biológica de los extractos contra *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Psph) se realizo mediante el método propuesto por Godinez, de manera resumido se presenta en la Figura 1B.

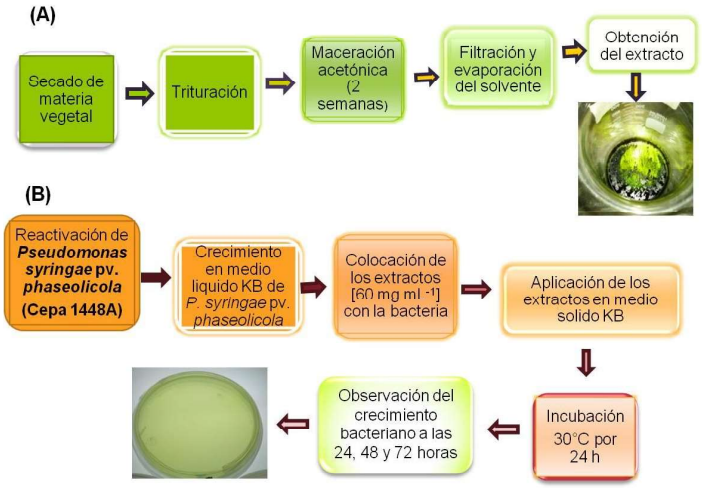

Figura 1.- Esquema general de la preparación de los extractos acetonicos del axihuitl (A) y de su evaluación de actividad bactericida contra *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (B).

Al final del experimento se registraron datos de longitud de raíz, volumen radical, pesos fresco y seco; colonización micorrizica [9, 10]. Los datos de esta variables fueron analizados estadísticamente mediante análisis de varianza y prueba múltiple de comparación de media Tukey a un nivel de significancia del 5% (*P≤0.05*) empleando el programa Statgraphics Centurión XV.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 2 se muestran plantas de axihuitl representativas de los distintos tratamientos. Dado que para hacer el extracto y evaluar su efectividad como bactericida es necesario tener material biológico resulta importante cuantificar el efecto de los distintos tratamientos sobre el crecimiento vegetal. Como se puede observar en la Figura 2 las plantas que contaron con MO mostraron mayor crecimiento.

Figura 2.- Plantas de axihuitl 120 días después de establecido el experimento bajo condiciones de invernadero. (A) Plantas de axihuitl tratadas con composta a base de cachaza de caña al 5%. (B) Plantas de axihuitl adicionadas con suelo de Morelos al 5%. (C) Plantas de axihuitl sin materia orgánica.

El efecto anteriormente comentado se complementa con los datos de la Tabla 1. En dicha tabla se observa que los tratamientos presentaron diferencias estadísticamente significativas en las distintas variables de crecimiento, además se observa que las plasnatas de axihuitl presentaron colonización por parte de los distintos consorcios de HMA. T1 *(R. intraradices* con composta 5%) presentó mayor volumen y longitud de raíz, así como mayor peso seco total, a diferencia de los demás tratamientos, mientras que el área foliar fue mayor en el tratamiento T2 (RI com 2.5%). El incremento en cuanto a la biomasa vegetal con *R. intraradices* ya se ha observado en trabajos con plantas medicinales, presentando incluso, un crecimiento 3 veces mayor al tratamiento que no se inoculó con el HMA [11].

Tabla 1. Efecto de los HMA y materia orgánica en el crecimiento de las plantas de axihuitl a los 180 días después de establecido el experimento bajo condiciones de invernadero.

Tratamiento Inóculo de HMA / MO	Volumen raíz (mL)	Longitud raíz (mm)	Colonización micorrízica (%)	Peso (g)	
				Fresco	Seco
T1 RI SM 5%	5.1 a	51.2 a	18 ef	24.0 a	4.6 a
T2 RI com 2.5%	2.4 b	47.8 a	28 de	15.0 b	3.6 a
T3 RI com 0%	0.8 bcd	38.3 a	36 de	3.9 fg	1.0 bc
T4 Ca SM 5%	1.5 bcd	50.1 a	20 ef	8.2 def	2.1 ab
T5 Ca com 2.5%	2 bc	50.9 a	57 ab	15.0 b	3.9 a

T6 Ca com 0%	0.8 cd	41.2 a	26 de	5.0 ef	1.6 bc
T7 CM com 5%	1.6 bcd	47.7 a	38 cd	7.2 def	1.8 bc
T8 CM com 2. 5%	1.5 bcd	47.3 a	51 ab	13.2 bc	3.2 a
T9 CM SM 0%	0.8 cd	37.8 a	34 de	5.1 ef	1.4 bc
T10 CO com 5%	1.3 bcd	43.8 a	22 de	6.2 def	1.6 bc
T11 CO com 2.5%	1.7 bcd	43.5 a	50 bc	10.7 cd	3.0 ab
T12 CO SM 0%	1 bcd	39.3 a	31 de	5.0 ef	1.3 bc
T13 AV com 5%	1.6 bcd	38.0 a	61 ab	8.5 def	2.1 ab
T14 AV com 2.5%	2.1 bc	44.8 a	60 ab	14.7 b	3.9 a
T15 AV SM 0%	0.1 d	7.6 b	40 cd	1.1 g	0.5 c
T16 Te com 5%	1 bcd	44.5 a	40 cd	6.8 def	4.5 b
T17 Te com 2.5%	2.7 b	40.0 a	54 ab	14.72 b	4.2 a
T18 Te SM 0%	0.9 bcd	44.8 a	54 ab	6.1 ef	1.2 bc
T19 Sin HMA/Com 5%	1.2 bcd	46.05 a	-	8.0 def	2.1 ab
T20 Sin HMA/Com 2.5%	0.8 cd	37.41 a	-	4.0 fg	0.9 bc
T21 Sin HMA/SM 0%	0.5 d	37.87 a	-	3.5 fg	0.9 bc

RI (*Rhizophagus intraradices*), Ca (Campesinas), CM (Cerro del Metate), Co (Copalcohuitl), AV (Antiguas Vías del Tren), Te (Tezontitla), HMA (hongo micorrízico arbuscular), Com (composta), SM (Suelo de Morelos). Medias con letras diferentes por columnas indican diferencias estadísticamente significativas según Tukey ($P< 0.05$).

Los extractos acetonicos de axihuitl se aplicaron a una concentración de 60 mg mL^{-1} para evaluar si el compuesto bactericida se incrementó su concentracion por efecto de la prsencia de los HMA en las raices, ya que esta concentración aplicada es menor a la concentración ya conocida como mínima inhibitoria (80 mg mL^{-1}). Los extractos acetonicos que presentaron un incremento en la actividad bactericida fueron obtenidos de los tratamientos: T1 (*R. intraradices* con cachaza 5%), T2 (*R. intraradices* con suelo de Morelos 5%) y T5 (Campesinas con Suelo de Morelos 5%) (Tabla 2).

Tabla 2. Prueba de efectividad biológica de extractos acetonicos de axihuitl contra *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* bajo condiciones *in vitro*.

TRATAMIENTO	PRESENTÓ INHIBICIÓN BACTERIANA		
	[80 mg mL^{-1}]	[60 mg mL^{-1}]	[40 mg mL^{-1}]
T1(*R. intraradices* / cachaza 5%)	-	si	no
T2(*R. intraradices* / Suelo Morelos 5%	-	si	no
T3 (*R. intraradices* / MO 0%)	no	no	-
T4 (Campesinas / cachaza 5%)	no	no	-
T5(Campesinas / Suelo Morelos 5%)	-	si	no
T6 (Campesinas / MO 0%)	no	no	-
T7 (Cerro Metate / cachaza 5%)	no	no	-
T8 (Cerro Metate / Suelo Morelos 5%)	no	no	-
T9 (Cerro Metate / MO 0%)	no	no	-
T10 (Copalcohuitl / cachaza 5%)	no	no	-
T11 (Copalcohuitl / Suelo Morelos 5%)	no	no	-
T12 (Copalcohuitl / MO 0%)	no	no	-
T13 (Antiguas vias del tren /cachaza 5%)	no	no	-
T14 (Antiguas vias / Suelo Morelos 5%)	si	no	-
T15 (*R. intraradices* / MO 0%)	no	no	-
T16(Tezontitla / cachaza 5%)	no	no	-
T17 (Tezontitla / Suelo Morelos 5%)	si	no	-
T18 (*Tezontitla* / MO 0%)	no	no	-
T19 (Sin HMA/ cachaza 5%)	no	no	-
T20 (Sin HMA/ Suelo Morelos 5%)	si	no	-
T21 (Sin HMA/ MO 0%)	si	no	-

RI (*Rhizophagus intraradices*), Ca (Campesinas), CM (Cerro del Metate), Co (Copalcohuitl), AV (Antiguas Vías del Tren), Te (Tezontitla), HMA (hongo micorrízico arbuscular), Cachaza (composta), SM (Suelo de Morelos).

Estos resultados parecen apoyar el hecho de que el incremento del crecimiento por efecto de los HMA también presentó un efecto en la inhibición de la bacteria, sin embargo esto no se observó en todos los tratamientos, por lo cual, el incremento del compuesto bactericida pudiera estar más relacionado al efecto de alguna especie en particular de HMA contenida en los consorcio de HMA empleados como inóculos en los tratamientos donde se muestra inhibición del crecimiento de *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*.

CONCLUSIONES

Rhizophagus intraradices promueve el crecimiento vegetal de plantas de axihuitl y mostro tener un efecto sobre el incremento del compuesto bioactivo, de extractos acetonicos de axihuitl, que participa en la inhibición del crecimiento bacteriano de *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* bajo condiciones *in vitro*.

AGRADECIMIENTOS

Al Fondo Mixto de Fomento Científico y Tecnológico CONACYT-Gobierno del Estado de Morelos por el financiamiento del proyecto " Uso del axihuitl o hierba de agua (*Eupatorium* sp.) para control de enfermedades del nardo *Polianthes tuberosa* y cultivos ornamentales en agricultura protegida" con el número de proyecto MOR-2009-C02-120296. Susana García-Téllez, agradece a CONACYT por la beca para estudios de maestría.

REFERENCIAS

[1] Pedone, B.M.V.L., Lins, M.A., Coehlo, L.R., Santana, S.A., Silva, F.S.B., Maia, L.C. (2012). "Mycorrhizal technology and phosphorus in the production of primary and secondary metabolites in cebil (*Anadenanthera colubrine* (Vell.) Brenan) seedlings", J Sci Food Agric. 93: 1479-1484.

[2] Montaño, N.M., Alarcón, A., Camargo, R.S.L., Hernández, C.L.V., Álvarez, S.J., et al. (2012). "Research on arbuscular mycorrhizae in México: an historical synthesis and future prospects", Symbiosis DOI 10.1007/s 13199-012-0184-0.

[3] Falcón, O.E., Riera, N.M.C., Rodríguez, L.O. (2013). "Efecto de la inoculación de hongos micorrizógenos sobre la producción de posturas forestales en dos tipos de suelo", Cultivos Tropicales 34(3): 32-39.

[4] De la Rosa, M.C.J. (2009). Micorriza arbuscular y abiótica en el contenido de alcaloides (Vinblastina y Vincristina) de *Catharanthus roseaus* (L) G. Don. (Tesis, COLPOS, Montecillo, Edo. de México). 117 p.

[5] Lewinsohn, E., Gijzen, (2009). "Phytochemical diversity: The sounds of silent metabolism", Plant Science 176: 161-169.

[6] Godínez, V.A.M. (2012). Efecto antimicrobiano *in vitro* de extractos de *Eupatorium aschembornianum* sobre *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. (Tesis de Licenciatura, Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. Guadalajara, Jalisco). p. 98.

[7] Young, J.M., Allen, C., Countinho, T., Denny, T., Elphinstone, J., Fegan, M., et al. (2008). "Plant-pathogenic bacteria as biological weapons - real threats?", Phytopathology 98: 1060-1065.

[8] Chirinos, J. (2009). "Uso de extractos naturales como una alternativa ecológica para el control de enfermedades en plantas", INIA Divulga 14: 40-42.

[9] Phillips, J.M., Hayman, D.S. (1970). "Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection", Trans. Br. Mycol. Soc. 55: 158-160.

[10] McGonigle, T., Miller, M., Evans, D., Fairchild, G., Swan, J. (1990). "A new method wich gives and objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi", *New Phytologist* 115: 495-501.

[11] Araim, G., Saleem, A., Arnason, J.T., Charest, C. (2009). "Root colonization by an arbuscular mycorrizal (AM) fungus increases growth and secondary metabolism of purple coneflores *Echinacea purpurea* (L.) Moench", J. Agric. Food Chem. 57: 2255-2258.