

Contenido de prolina en *Zea mays* L. var. canteño (Poaceae) tratado con *Rhizophagus irregularis* y NaCl

Proline content in *Zea mays* L. var. canteño (Poaceae) treated with *Rhizophagus irregularis* and NaCl

Bernabé Salomón Luis-Alaya

Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
Carrera de Ingeniería Ambiental, Facultad de Ingeniería, Universidad Privada del Norte, Sede Lima Norte.
alayaluisbs@gmail.com // <https://orcid.org/0000-0003-0520-8751>

José Ernesto Manuel Hidalgo Rodríguez

Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo, PERÚ
jemhidalgor@gmail.com // <https://orcid.org/0000-0002-6595-0037>

Cynthia Catheryne Ramos Otiniano

Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo, PERÚ
cynthiaramosotiniano@gmail.com // <https://orcid.org/0000-0003-1739-634X>

Miguel Angel Vera Vega

PIPs en Cereales y Granos Nativos, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, PERÚ
miguelangelveravega001@gmail.com // <https://orcid.org/0000-0002-6870-5926>

Juan Javier Pedro Huamán

Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, PERÚ
bio.juphu@gmail.com // <https://orcid.org/0000-0001-6230-3670>

Jessica Marleny Luján Rojas

Departamento de Humanidades, Universidad Privada del Norte, Trujillo, PERÚ
jmlujroj@gmail.com // <https://orcid.org/0000-0001-8781-4231>

Mercedes Elizabeth Chaman Medina

Laboratorio de Fisiología Vegetal, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, PERÚ
elizchm@yahoo.com // <https://orcid.org/0000-0001-8621-375X>

Resumen

La salinidad del suelo es un problema muy grave que afecta la producción de *Zea mays* L. (Poaceae) El objetivo de este trabajo fue cuantificar prolina en raíces y hojas de *Z. mays* L. var. Canteño tratado con *Rhizophagus irregularis* y 0, 25, 50 y 100 mM de NaCl. Se sembraron plántulas de *Z. mays* L. var. canteño de 7 días en una mezcla de arena de río y musgo para luego ser inoculadas con *R. irregularis*. Las plantas fueron regadas 2 veces por semana a capacidad de campo con las soluciones salinas, por 60 días, tras lo cual se midió el contenido de prolina a nivel foliar y radicular y el porcentaje de micorrización. Se encontraron diferencias significativas en el nivel de prolina a nivel de hojas y raíces en “maíz” var. canteño. A nivel radicular, el contenido de prolina se incrementó con la concentración de NaCl, sin observarse diferencias con respecto a la inoculación con *R. irregularis*. A nivel foliar, la prolina fue inducida por NaCl, mientras que la inoculación con *R. irregularis* disminuyó los niveles de prolina en las concentraciones de 25, 50 y 100mM de NaCl. Se concluye que la cantidad de prolina foliar y radicular de *Z. mays* L. var. Canteño mostró cambios significativos en plantas inoculadas con *R. irregularis* y sometidas a 0, 25, 50 y 100 mM de NaCl.

Palabras clave: *Rhizophagus irregularis*, *Zea mays* L. var. canteño, “maíz morado”, prolina, porcentaje de micorrización.

Abstract

Soil salinity is a serious problem that affects *Zea mays* L. (Poaceae) productivity. The objective of this research was to quantify proline in roots and leaves of *Z. mays* L. var. canteño treated with *Rhizophagus irregularis* and 0, 25, 50 and 100 mM NaCl. 7-day-old plantlets of *Z. mays* L. var. canteño were sown in a mixture of sand and moss and then inoculated with *R. irregularis*. The plants were watered to field capacity with the saline solutions for 60 days. Then, the leaf and root proline contents and mycorrhization percentage were determined. Significant differences were found in leaf and roots proline levels in purple corn. In roots, the proline content increased with NaCl concentration without significant differences in regards to *R. irregularis* inoculation. In leaves, proline was induced by NaCl, while the inoculation with *R. irregularis* decreased the proline levels in NaCl concentration of 25, 50 y 100mM. In conclusion, the amount of leaf and root proline in *Z. mays* L. var. canteño showed significant changes in plants inoculated with *R. irregularis* and treated with 0, 25, 50 and 100 mM NaCl.

Keywords: *Rhizophagus irregularis*, *Zea mays* L. var. canteño, purple corn, proline, mycorrhization.

Citación: Luis, B.; J. Hidalgo; C. Ramos; M. Vera; J. Pedro; J. Lujan & M. Chamán. 2021. Contenido de prolina en *Zea mays* L. var. canteño (Poaceae) tratado con *Rhizophagus irregularis* y NaCl. *Arnaldoa* 28(3): 693-716 doi: <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.283.28313>

Introducción

La salinidad del suelo es un problema muy grave y en constante aumento en muchas partes del mundo, particularmente en las zonas áridas y semiáridas (Zelm *et al.*, 2020). Grandes porcentajes de suelo dedicados a la agricultura, son naturalmente salinos (21%) o pueden ser salinizados (19,5%) (Pandolfi *et al.*, 2016). Varias son las causas vinculadas con los procesos de salinización entre ellas principalmente;

las sales solubles en agua de riego y fertilizantes utilizados en la agricultura (De Moraes *et al.*, 2019; Pandolfi *et al.*, 2016), el mal drenaje y la tala de vegetación arbórea, la baja precipitación y altas temperaturas de las regiones (Borbély *et al.*, 2020).

La elevada concentración de sal en los suelos ejercen efectos directos sobre el crecimiento de las plantas; lo que puede implicar un disturbio en la toma y translocación de iones necesarios para su

nutrición (Kissoudis *et al.*, 2016), reducción en el potencial osmótico de la solución del suelo, el cual reduce la cantidad de agua disponible para la planta, causando sequía fisiológica (Chávez & González, 2009; Farooq *et al.*, 2017) es decir, la planta tiende a perder agua por lo que ésta debe mantener un potencial hídrico más negativo que el suelo para asegurar la absorción de agua (Saldaña *et al.*, 2017). Este déficit hídrico en las plantas provoca una serie de respuestas morfológicas y fisiológicas en sus diferentes estados fenológicos, las cuales pueden tener algún valor adaptativo y por lo tanto conferir un cierto grado de tolerancia al estrés (Abdel-Farid *et al.*, 2020).

El NaCl es una de las sales más importantes en la salinización de los suelos, ya que se encuentra frecuentemente en terrenos de cultivo; por ello, muchos estudios han sido orientados al entendimiento de los mecanismos involucrados en sus sistemas de transporte y mecanismos regulatorios que median la homeostasis de Na⁺ en las plantas (Hessini *et al.*, 2019). La alta concentración de NaCl conlleva a un desequilibrio de Na⁺ y Cl⁻ causando toxicidad en la célula vegetal, dañando los orgánulos celulares y la membrana plasmática, la interrupción de la síntesis de enzimas y proteínas, así como de la fotosíntesis y respiración, afecta también a la división, crecimiento y supervivencia celular (Kissoudis *et al.*, 2016; Liang, 2018)

Las plantas sometidas a estrés por NaCl han desarrollado mecanismos para evitar sus efectos y asegurar la supervivencia, entre ellos la exclusión de iones Na⁺ y Cl⁻ en las hojas y mediante compartimentación en las vacuolas (Wani *et al.*, 2020; Zelm *et al.*, 2020). Los iones Na⁺ pueden entrar en las raíces pasivamente y por tanto las células de las raíces han de utilizar la energía para un transporte activo que devuelva el Na⁺

a la solución externa, por el contrario la membrana plasmática de la raíz es muy poco permeable al Cl⁻; por ello algunas halófitas no excluyen los iones a través de la raíz, sino que por el contrario poseen glándulas salinas en la superficie de las hojas, así los iones Cl⁻ son transportados a estas glándulas en las que cristalizan y dejan de ser lesivas (Arif *et al.*, 2020). Cuando el Na⁺ y Cl⁻ aumentan en la vacuola, las plantas involucran en su metabolismo sustancias orgánicas osmoprotectoras o compatibles, esto con el fin de soportar el efecto osmótico ocasionado por estos iones (Chávez & González, 2009; Hernandez *et al.*, 2000; Higinio *et al.*, 2014). Estas sustancias compatibles, se acumulan a niveles osmóticamente significativos en el citoplasma celular sin causar inhibición enzimática (Farooq *et al.*, 2017).

Diversos compuestos se encuentran agrupados dentro de estos solutos, tales como azúcares (rafinosa, sacarosa y trehalosa), azúcares reducidos o azúcares alcoholes (sorbitol y manitol), aminas (glicina-betaína y algunas poliaminas), aminoácidos (prolina) (Zarco, 2005). La prolina es un aminoácido soluble el cual se sintetiza en plantas superiores, a través de dos vías, la vía Ornitina dependiente (Orn) y la vía ácido Glutámico (Glu) o glutamato dependiente. En la vía Orn, consiste en la trasnominación de la ornitina y es catalizada por la ornitina-o-aminotransferasa (OAT), dando lugar a dos posibles intermediarios 1-pirrolina-5-carboxilato (P5C) y 1-pirrolina-2-carboxilato (P2C), el cual se reduce a prolina. La segunda vía biosintética parece ser la más predominante para la biosíntesis de prolina, sobretodo en bajo condiciones de estrés (Delauney, 1993), en esta vía la prolina es sintetizada a partir de ácido L-glutámico a través de dos intermediarios, glutámico- γ -semialdehído

(GSA) y 1-pirrolina-5-carboxilato (P5C), dos enzimas catalizan esta vía, P5C sintetasa (P5CS) en el primer paso y P5C reductasa (P5CR) en la etapa final (Yoshida, 1997).

Las plantas normalmente sintetizan prolina en pequeñas cantidades cuando estas crecen en condiciones óptimas, por el contrario, en condiciones de estrés salino se sabe que la cantidad de prolina aumenta (Selvakumar *et al.*, 2018). Así la prolina se convierte en uno de los principales solutos compatibles involucrados durante el estrés salino, cuya función ha sido asociada a múltiples roles en la tolerancia de las plantas a este estrés; como sostener la turgencia de los tejidos para mantener optima la función celular (Abdel-Farid *et al.*, 2020; Kumar *et al.*, 2017), fuente de carbono y nitrógeno fácilmente disponible en la rehidratación celular, fuente de equivalentes de reducción (del catabolismo de prolina) para sostener la fosforilación oxidativa y la generación de ATP durante la recuperación del estrés (Dastogeer *et al.*, 2020; Hernandez *et al.*, 2000), en la detoxificación del exceso de NH_4^+ y ayuda a las células a superar la tensión oxidativa (cosechador de especies reactivas de oxígeno) (Hegazi *et al.*, 2017). Además ayuda al control de la acidosis del citosol y puede mantener la proporción de $\text{NAD(P)}^+/\text{NAD(P)H}$ en valores compatibles con el metabolismo en condiciones normales, reduciendo los niveles de NAD celular y participando en el incremento de la relación $\text{NAD(P)}^+/\text{NAD(P)H}$ lo que probablemente aumente la actividad de la vía oxidativa pentosa fosfato, esto último proporciona recursos para soportar la demanda en el incremento de la producción de metabolitos secundarios, síntesis de nucleótidos, los que se generan aceleradamente para la división celular durante el alivio del estrés (Abdel-Farid *et al.*, 2020).

Por otro lado; ciertos microorganismos, particularmente bacterias y hongos benéficos, parecen ser un componente fundamental dentro de estas nuevas alternativas de producción agraria. Estos microorganismos pueden mejorar el rendimiento de la planta en condiciones de estrés y como consecuencia mejorar el rendimiento (Cho *et al.*, 2006; Evelin *et al.*, 2012), por lo que recientemente se ha venido dando una nueva corriente de producción agrícola, enfocada a la agricultura sostenible y orgánica, tratando de sustituir las prácticas de producción convencional. Muchos investigadores han demostrado que los HMA mejoran el crecimiento de las plantas y la tolerancia a la salinidad, mediante el empleo de diversos mecanismos, tales como la mejora de la adquisición de nutrición (Farooq *et al.*, 2017), la producción de hormonas del crecimiento de plantas, la mejora de las condiciones de la rizósfera del suelo (Al-Maliki & Al-Masoudi, 2018), la alteración de las propiedades fisiológicas y bioquímicas del huésped y la resistencia de raíces de la planta contra los patógenos del suelo (Farooq *et al.*, 2017; Mohammad & Mitra, 2013)

Zea mays L. var. canteño “maíz morado” es una poácea originaria de América, ampliamente cultivada, por su importancia en la alimentación humana (Pandolfi *et al.*, 2016). Constituyó uno de los principales alimentos de las numerosas tribus indígenas en la época precolombina y se le atribuyen diversas propiedades medicinales (Kumar *et al.*, 2017). Su consumo disminuye la incidencia de enfermedad cardiaca coronaria, aterosclerosis y ciertas formas de infarto y cáncer (Hessini *et al.*, 2019; Moreira *et al.*, 2020). Además, recientemente, se ha reportado que estos alimentos tienen actividad antioxidante y pueden mejorar los perfiles lipídicos en mamíferos (Al-Maliki

& Al-Masoudi, 2018), es por ello que su demanda ha ido aumentando en los últimos años, generando interés en la investigación de esta especie, con el fin de incrementar su productividad (MINAM, 2011).

El mal manejo de las áreas de cultivo en el Perú, están ocasionando diversos problemas ambientales, uno de los más importantes es el aumento de sales en los suelos, por ello se vienen realizando numerosos estudios sobre la respuesta de las plantas ante el estrés salino. Una de estas respuestas, es la biosíntesis de solutos osmóticamente compatibles, dentro de ellos la prolina es uno de los más conocidos. Una de las herramientas biotecnológicas para contrarrestar el estrés salino lo constituyen los hongos micorrizicos arbusculares, como es *Rhizophagus irregularis*. Además, el efecto benéfico de *R. irregularis* se ha demostrado su asociación con diversos cultivos como sacha inchi, tomate, frijol y papaya (Hidalgo *et al.*, 2014; Ramos *et al.*, 2021; Hidalgo *et al.*, 2019; Hidalgo *et al.*, 2021), existiendo pruebas de su capacidad para promover la regulación iónica y osmótica al estar vinculados a la síntesis bioquímica de compuestos que hacen que la planta tolere este estrés (Ramos *et al.*, 2021). Estudios han demostrado los HMA como *R. irregularis* incrementan la tolerancia ante el estrés por NaCl en plantas de maíz (Selvakumar *et al.*, 2018) cultivo que por su adaptabilidad al agroecosistema costero, viene siendo impulsado en nuestro país, donde un alto porcentaje de suelos dedicados a la agricultura se caracterizan por ser salinos; por otro lado, el cultivo de esta variedad de maíz, se viene impulsando en varias regiones del Perú (MINAM, 2011). Bajo estas perspectivas se hace necesaria la búsqueda de nuevas alternativas de manejo de este cultivo en suelos salinos. Por ello

se propuso como objetivo cuantificar la cantidad de prolina en raíces y hojas de *Z. mays* L. var. canteño inoculado con *R. irregularis* y sometido a 0, 25, 50 y 100 mM de NaCl.

Material y métodos

Material biológico

Se utilizaron plántulas de *Zea mays* L. var. canteño de 7 días de germinadas obtenidas a partir de semillas donadas por el Programa de Investigación y Proyección Social en Maíz de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.

Para la micorrización se utilizó el inóculo de *R. irregularis*, el cual se obtuvo del producto comercial AEGIS Micro Gránulo, donado por la empresa ATENS Agrotecnologías Naturales, S.L. Tarragona, España.

Inoculación de plantas de *Zea mays* con *R. irregularis* y aplicación de NaCl

Para los diferentes tratamientos usados en este trabajo se seleccionaron 80 plántulas en base a su uniformidad en tamaño, las cuales fueron aleatoriamente distribuidas en 8 grupos. El sustrato estuvo constituido por arena de río y musgo. La arena de río fue cernida con un tamiz para homogeneizar su textura, después fue lavada con agua corriente por 8 horas para eliminar impurezas, tras lo cual se esterilizó en la estufa a 200° C, durante 3 horas, para eliminar los agentes patógenos. Luego, la arena fue mezclada con el musgo en proporción 1:1. El sustrato obtenido fue colocado en bolsas de polietileno de 3 kg. de capacidad. Para realizar la inoculación, en las bolsas con sustrato se hizo un orificio de aproximadamente 5 cm. de diámetro, para recibir a las plántulas. A continuación, se agregó a dicho orificio 2g del inóculo

de *R. irregularis*, de manera que las raíces estuvieron en contacto con el HMA. Después, se procedió a regar las plantas, usando solución nutritiva La Molina con 0, 25, 50 y 100 mM de NaCl (Cuadro 1).

Cuadro 1. Tratamientos utilizados en *Zea mays* L. var. Canteño con las combinaciones de los factores inóculo de *Rhizophagus irregularis* y niveles de NaCl (mM).

NaCl <i>R. irregularis</i>	0 mM	25 mM	50mM	100 mM
Sin inóculo	T1	T2	T3	T4
Con inóculo	T5	T6	T7	T8

Los tratamientos, debidamente etiquetados, fueron instalados en el invernadero del Jardín Botánico de la Universidad Nacional de Trujillo. Las plantas fueron regadas 2 veces por semana a capacidad de campo con las soluciones respectivas, por 60 días.

Cuantificación de prolina

La cuantificación de prolina fue medida de acuerdo al descrito por Bates y col. (1973). De las plantas expuestas a los tratamientos antes mencionados, se pesó por separado 0.5 g de tejido fresco de raíces y hojas. Seguidamente cada muestra fue colocada en un mortero de porcelana y triturado en nitrógeno líquido. Para el homogenizado se usó 1 ml de ácido sulfosalicílico al 3%. El residuo fue removido por centrifugación a 13000 g por 10 min. Del sobrenadante del centrifugado se extrajeron 500 ul, el cual se hizo reaccionar con 500 ul de ácido acético glacial y 500 ul. de ninhidrina a 100°C, por una hora. La reacción fue detenida en baño con hielo. El cromóforo conteniendo la prolina fue extraído con 1 ml. de tolueno. La prolina fue cuantificada en un espectrofotómetro Hewlett Packard 842, a 520 nm., usando L-prolina para la curva de calibración.

Porcentaje de micorrización

Para estimar el porcentaje de micorrización se utilizó el método de la Observación Microscópica de Phillips & Hayman, (1970), dicho método consiste en la evaluación de hifas, arbuscúlos, vesículas y esporas de *R. irregularis* en segmentos de 1 cm. de raicillas previamente coloreadas, con el método de los mismos autores y utilizando la fórmula descrita por Ferrera (1993).

$$\%MI = (SI/SO) * 100$$

%MI: Porcentaje de micorrización.

SI: Número de segmentos infectados.

SO: Número de segmentos observados.

Análisis de datos

Cada unidad muestral estuvo constituida por una bolsa conteniendo una planta de maíz. Cada tratamiento contó con tres repeticiones. Las plantas fueron cosechadas a los 28, 35 y 42 días para obtener los resultados. Luego, el análisis de los datos se realizó utilizando el software estadístico Minitab® 19.1. Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba comparación de medias de Tukey HSD. Además, se midió el índice de correlación

entre la cantidad de inóculo, el porcentaje de micorrización y la longitud de tallos y raíces.

Resultados

Según el ANOVA factorial, se observa que los tratamientos indujeron diferencias significativas en el nivel de prolina a nivel de hojas y raíces en “maíz” var. canteño (Tabla 1). En raíces, esta variación puede ser explicada por el efecto de la cantidad de NaCl. En tanto que la cantidad de prolina en hojas fue alterada por el contenido de inóculo y de NaCl. En efecto, someter

las plántulas de maíz al NaCl promovió el incremento del contenido de prolina a nivel radicular y foliar, evidenciando posiblemente una relación directa entre la cantidad de NaCl con estos dos rasgos fisiológicos. En contraste, el análisis estadístico indica que la aplicación de *R. irregularis* redujo el contenido de prolina en hojas. De forma similar, el porcentaje de micorrización fue afectado por la presencia de inóculo de *R. irregularis*, así como por las concentraciones crecientes de NaCl, siendo ese factor, el que ocasionó una reducción estadísticamente significativa.

Tabla 1. Análisis de varianza factorial para cantidad de prolina en raíces y hojas en *Zea mays* L. var. canteño inoculado con *Rhizophagus irregularis* Schenk & Smith y sometido a NaCl.

Fuente de variación	Contenido de prolina		Micorrización (%)
	Raíces (ug/gDW)	Hojas (ug/gDW)	
A: Inóculo (g)			
0	87.29 ^a	86.60 ^a	0.00 ^b
2	87.93 ^a	75.88 ^b	42.56 ^a
B: NaCl (mM)			
0	71.03 ^c	65.83 ^c	28.75 ^a
25	68.95 ^c	69.10 ^b	25.52 ^{ab}
50	83.02 ^b	79.03 ^a	20.00 ^b
100	123.17 ^a	102.98 ^a	10.85 ^c
ANOVA			
A	ns	***	****
B	****	***	****
AB	*	ns	****
CV (%)	4.76	6.56	21.62

ns: no significativo; ***, p < 0.001; ****, p < 0.0001

A nivel radicular, las plantas de “maíz” var. canteño inoculadas con *R. irregularis* y expuestas a NaCl mostraron variación en los niveles de prolina, tal como se aprecia en la Fig. 1. Las plantas sometidas a 0 mM de NaCl mostraron un contenido de prolina en hojas promedio de 74.6 y 67.5 ug/gDW para las plantas no

inoculadas e inoculadas, respectivamente, sin mostrar diferencias estadísticamente significativas entre estos valores. En las plantas sometidas a 25mM de NaCl, el nivel de prolina no mostró variaciones estadísticamente significativas al comparar las plantas inoculadas y no inoculadas, mostrando valores de prolina de 67,4 y 70,5

ug/g de tejido fresco, respectivamente. A partir de los 50mM de NaCl, la cantidad de prolina encontrada a nivel de raíces mostró incrementos significativos en relación a los valores inducidos por niveles inferiores de salinidad. De esta manera, se encontraron 83,4 y 82,3 ug/g de tejido fresco en plantas no inoculadas e inoculadas, respectivamente. Sin embargo, estos valores no mostraron variación estadísticamente significativa entre sí. La

cantidad de prolina se incrementó a nivel que se incrementó la salinidad, de manera que en la concentración de Los mayores valores de prolina fueron inducidos por la concentración de 100mM de NaCl, con medias de: 123,3 y 131,5 ug/gDW para plantas no inoculadas e inoculadas, respectivamente. Estos valores tampoco mostraron diferencias significativas entre sí.

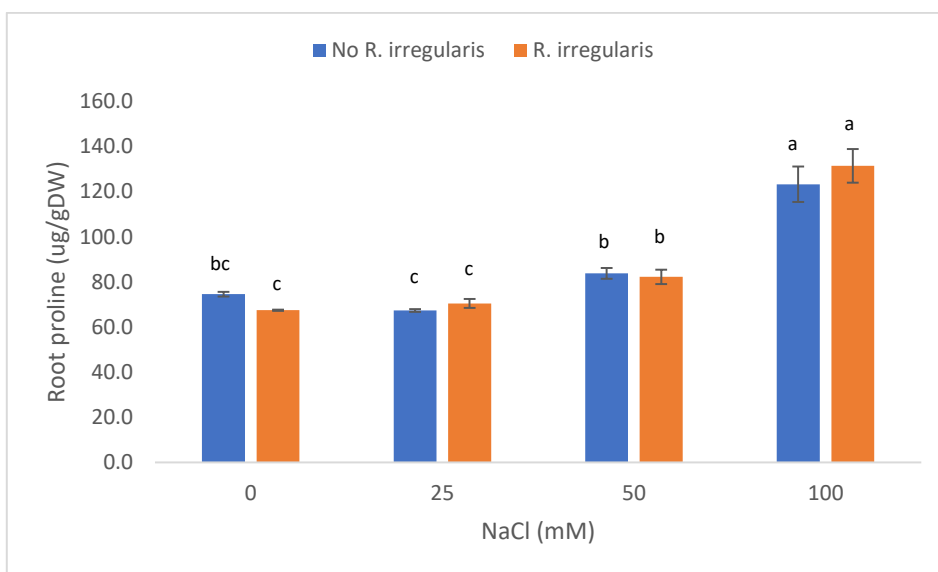


Fig.1. Contenido de prolina en raíces de *Zea mays* L. var. canteño tratado con *Rhizophagus irregularis* e inoculado con NaCl. Letras diferentes (a, b, c) indican diferencias significativas según Tukey HSD; líneas verticales sobre las barras indican la desviación estándar.

A nivel foliar, las plantas de “maíz” *Z. mays* L. var. canteño expuestas al inóculo de micorrizas de *R. irregularis* a diferentes concentraciones, así como diferentes estímulos de NaCl que presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto al contenido de prolina en las hojas (ug/g de tejido fresco) como se puede apreciar en la Fig. 2. Se observa que los menores valores de prolina en hojas fueron inducidos por las concentraciones de NaCl de 0 y 25 mM, en plantas sin, o con *R. irregularis*

(68.1, 63.6, 71.3 y 66.9 ug/g de tejido fresco). Al someter las plantas a concentraciones de 50mM de NaCl, el contenido de prolina se incrementó significativamente en las plantas no tratadas con micorrizas (80.5 ug/g de tejido fresco), en tanto, mantuvo los bajos niveles mostrados en plantas sometidas a menor cantidad de NaCl (77.5 ug/g de tejido fresco). Sin embargo, ambos niveles de prolina mostraron resultados similares estadísticamente. Los niveles de prolina inducidos por los tratamientos con

100mM de NaCl, fueron significativamente superiores a todos los tratamientos previos, tanto en plantas micorrizadas, como no micorrizadas (95.5 y 110.5 ug/g de tejido fresco, respectivamente). Al igual que con las concentraciones de sal anteriores, no hubo diferencias entre plantas tratadas con micorrizas o no en este nivel de salinidad. Es

resultante, sin embargo, que la concentración de prolina en las plantas micorrizadas, mantuvo valores similares a las plantas sometidas a 50mM de NaCl, es decir, no mostraron un incremento estadísticamente significativo en comparación con el grupo anterior.

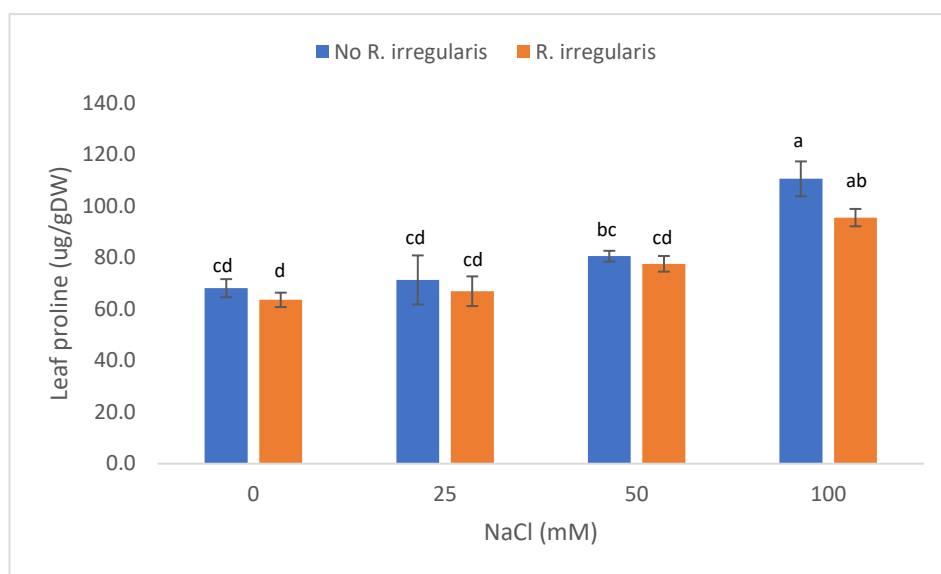


Fig. 2. Contenido de prolina en hojas de *Zea mays* L. var. canteño tratado con *Rhizophagus irregularis* e inoculado con NaCl. Letras diferentes (a, b, c, d) indican diferencias significativas según Tukey HSD; líneas verticales sobre las barras indican la desviación estándar.

El porcentaje de micorrización también mostró alteraciones entre los diferentes tratamientos, tal como puede apreciarse en la Fig. 3. En efecto, las concentraciones crecientes de NaCl ocasionaron reducciones estadísticamente significativas con respecto al nivel de prolina. Las plantas del grupo control mostraron un valor de 57,5% de micorrización, lo cual fue estadísticamente

similar a las plantas sometidas a 25mM (51%). En contraste, la salinidad de 50mM, indujo una reducción en el porcentaje de micorrización con respecto al control (40%). Sin embargo, estos niveles fueron estadísticamente similares a los obtenidos en plantas sometidas a 25mM de NaCl. La reducción más notoria (21,7%), fue inducida por la salinidad de 100mM.

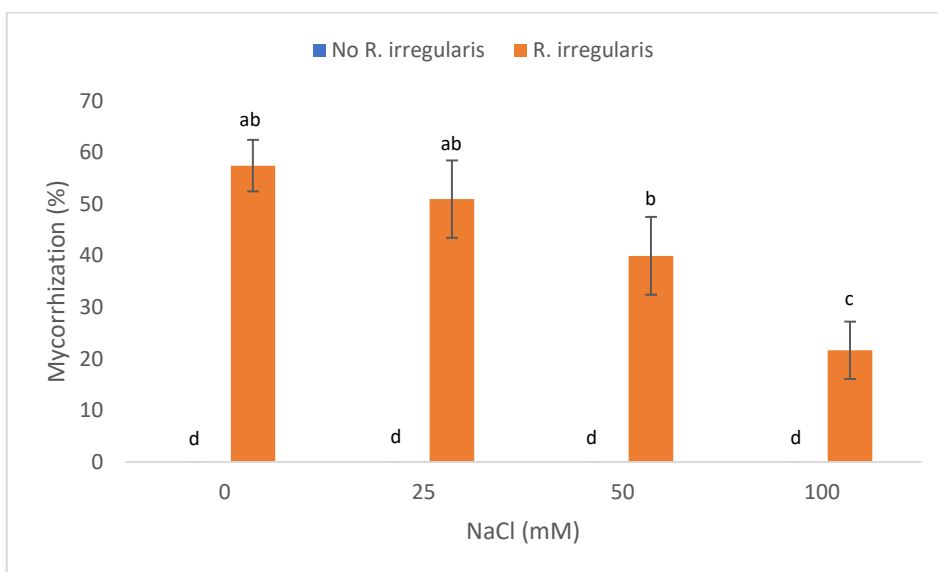


Fig. 3. Porcentaje de micorrización en *Zea mays* L. var. canteño tratado con *Rhizophagus irregularis* e inoculado con NaCl. Letras diferentes (a, b, c) indican diferencias significativas según Tukey HSD; líneas verticales sobre las barras indican la desviación estándar.

Se realizó el análisis de correlación de Pearson entre las variables dependientes e independientes tomadas en cuenta en el estudio, incluyendo inóculo, prolina en raíz, prolina en hoja, y porcentaje de micorrización. Se consideró estadísticamente significativa la correlación entre el NaCl con el contenido de prolina

en raíces (0,92) y hojas (0,91). Este mismo comportamiento se observó entre el inóculo con el porcentaje de micorrización, ya que presentaron una correlación de Pearson de 0,90. Finalmente, el contenido de prolina en hojas y raíces se vincularon de forma relevante con un coeficiente de Pearson de 0,87 (Tabla 2).

Tabla 2. Correlaciones en parejas de Pearson para las variables en estudio de *Z. mays* L. var. canteño tratado con diferentes cantidades de inóculo de *R. irregularis*.

Rasgos	Inóculo (g)	NaCl (mM)	Prolina en raíz (ug/gDW)	Prolina en hoja (ug/gDW)	Micorrización (%)
Inóculo (g)		ns	ns	ns	****
NaCl (mM)	0		****	****	ns
Prolina en raíz (ug/gDW)	0.01	0.92		****	ns
Prolina en hoja (ug/gDW)	-0.21	0.91	0.87		ns
Micorrización (%)	0.90	-0.29	-0.28	0.40	

ns: no significativo; ***: $p < 0.001$; ****: $p < 0.0001$

Discusión

Para sobrevivir en condiciones adversas, las plantas manifiestan cambios adaptativos en su metabolismo con el fin de mantener su crecimiento (Selvakumar *et al.*, 2018). La acumulación de solutos osmóticamente compatibles es una respuesta de las plantas al bajo potencial hídrico del suelo ocasionado por el incremento de sales, siendo la prolina uno de los compuestos más importantes (Chaman, 2007). Desde muy tempranos se ha sugerido que la capacidad para acumular prolina esta correlacionada con la tolerancia a condiciones salinas (Stewart *et al.*, 1974). En el caso de *Z. mays* L. var. canteño, la cantidad de inóculo redujo de forma significativa el contenido de prolina en hojas (Tabla 1). Este mismo comportamiento fue reportado por Ruiz-Lozano *et al.* (1996) y Jahromi *et al.* (2007) en lechuga, donde las especies *Glomus intraradices*, *Glomus deserticola* y *Glomus fasciculatum* redujeron de forma significativa el contenido de prolina a nivel foliar. Esta conducta en “maíz” var. canteño se debe posiblemente a la habilidad selectiva que tiene *R. irregularis* para tomar el ion Na⁺ de la rizósfera (Hammer *et al.*, 2011), facilitando el transporte nutrientes y agua a la raíz. En consecuencia, la homeostasis hídrica y iónica a nivel y foliar se normaliza durante estrés salino (Beltrano *et al.*, 2013), reduciendo la biosíntesis de prolina en hojas (El Moukhtari *et al.*, 2020). En cambio, el contenido de NaCl incremento en forma relevante la producción de prolina en raíces y hojas (Tabla 1). La acumulación osmorreguladora de prolina en hojas bajo condiciones salinas ha sido reportada en *Z. mays* (Sukma *et al.*, 2018), *Brassica rapa* (Pavlović *et al.*, 2019), *Brassica oleracea* (Pavlović *et al.*, 2019) y *Pistacia vera* (Rahneshan *et al.*, 2018) entre otros. Este mismo comportamiento se observó en las

raíces de *Brassica rapa* (Pavlović *et al.*, 2019), *Brassica oleracea* (Pavlović *et al.*, 2019) y *Pistacia vera* (Rahneshan *et al.*, 2018). A pesar del posible vínculo entre el NaCl y la prolina en raíces y hojas de *Z. mays* L. var. canteño (Tabla 1), muchos investigadores afirman que no existe tal relación per se. Sino que la prolina contribuye en la homeostasis redox, aumentando la actividad antioxidante y con ello mantener el crecimiento y desarrollo normal de zona radicular y foliar durante el estrés salino (Pavlović *et al.*, 2019).

Estos resultados coinciden con lo encontrado en las figuras 1 y 2, donde se observa que aumenta el contenido de prolina a nivel de hojas y raíces como una respuesta fisiológica promovida por las micorrizas para afrontar los efectos del estrés que puede darse por el aumento de la concentración salina. Por lo tanto, la prolina cumple un rol muy importante en la respuesta frente al estrés salino, puesto que su incremento, permite prevenir la entrada de iones tóxicos a los tejidos y/o mantener el funcionamiento de bombas para excluir el exceso de NaCl. De esta manera se evita la inhibición enzimática (García, 2003). Además, la prolina compensa osmóticamente los iones secuestrados en la vacuola ya que actúa como soluto osmóticamente compatible con el citoplasma celular (Polijakoff, 1994), permitiendo el movimiento del agua desde la solución del suelo a las raíces de la planta, manteniendo así la actividad metabólica y turgencia de los tejidos. Ejemplos como los estudios realizados en dos genotipos de caña de azúcar muestran el aumento en el contenido de prolina en raíces y hojas sometidas a 100 mM de NaCl. (García, 2003). También podemos mencionar el trabajo realizado en plantas de maíz sometido a estrés salino, donde el contenido de prolina aumentó en los tejidos de hojas de varios

genotipos de esta especie, acompañada por reducciones en la longitud de la raíz (7 mm en plántulas control en comparación con 4 mm cuando 100 mM NaCl), longitud de las células epidérmicas, y en la velocidad aparente de la producción de células (Delauney & Verna, 1993).

La influencia de la cantidad de NaCl como agente promotor del estrés salino en las plantas es apreciable en los parámetros evaluados, especialmente podemos señalar que en el parámetro de porcentaje de micorrización tiene una influencia ampliamente marcada como se aprecia en la Fig. 3. Se conoce que la endosimbiosis micorrízica es importante para promover el crecimiento de las plantas por lo cual se considera que puede ayudar a promover el crecimiento de las plantas mejorando la absorción de nutrientes (Evelin *et al.*, 2012). Se puede resaltar que el estrés salino puede reducir el porcentaje colonización o crecimiento de hifas en las raíces de las plantas, lo cual se puede deber a una inhibición debida al efecto negativo de la salinidad sobre el crecimiento de las hifas de las micorrizas, esto coincide con los resultados encontrados para el estrés inducido por diferentes concentraciones de fósforo (P) en *Z. mays* por Nafady & Elgharably, 2018. De la misma forma coincide con los resultados obtenidos par NaCl con otras micorrizas como *Glomus versiforme* y *G. mosseae* por Zou & Wu en el 2011 donde se nota que el porcentaje de colonización por las micorrizas también disminuye con el incremento en la salinidad, esto también concuerda con los resultados reportados por Santander *et al.* en el 2019 quién trabajó con *Lactuca sativa* exponiendola a la micorriza arbuscular como consorcio (*Claroideoglossum claroideum*) donde al aumentar la concentración

salina se disminuye el porcentaje de micorrización y esto último coincide con la investigación realizada por Jahromi *et al.* en el 2007 que trabajó con lechuga y uso como hongo micorrízico arbuscular a *Glomus intraradices* (Jahromi *et al.*, 2017; Nafady & Elgharably, 2018; Santander *et al.*, 2019; Zou & Wu, 2011). Aunque no se observa este mismo comportamiento para todos los casos como ocurrió en la investigación de Estrada *et al.* en el 2013 quienes realizaron una investigación sobre el efecto de las micorrizas *R. intraradices*, *Claroideoglossum etunicatum* y *Septoglossum constrictum* sobre *Z. mays* expuesto a condiciones de estrés salino por NaCl, donde aunque se incrementó la salinidad, se observó igualmente un aumento en el porcentaje de colonización, esto último también se nota en la investigación realizada por Krishnamoorthy *et al.*, 2018 que trabajaron con diferentes tipos de micorriza arbuscular como *R. intraradices* y *Massilia niastensis*, donde cuando se incrementó la salinidad igualmente aumentó el crecimiento de las hifas en las raíces de las plantas lo cual contrasta con los resultados de la presente investigación (Chul *et al.*, 2018).

En base a los resultados de la tabla 2, el aumento del NaCl, incrementa el contenido de prolina en hojas y raíces. Este patrón se debe a efecto potenciador que tiene la simbiosis entre “maíz” y *R. irregularis* en la biosíntesis de prolina durante el estrés salino (Abdel & Chaoxing, 2014). Este mismo comportamiento se observó entre la micorrización con la cantidad de inoculo, demostrando que existen una alta afinidad simbiótica entre *R. irregularis* y el cultivar de maíz morado (Ávila-Peralta *et al.*, 2015). Por otro lado, el contenido de prolina en raíz y hojas se vinculan de forma positiva y esto es debido al mecanismo de respuesta

rápida en la biosíntesis de prolina a nivel tisular en el maíz morado frente al estrés salino (González, 2005).

Conclusiones

La cantidad de prolina foliar y radicular de *Zea mays* L. var. canteño mostró cambios significativos en plantas inoculadas con *Rhizophagus irregularis* y sometidas a 0, 25, 50 y 100 mM de NaCl.

El contenido de prolina aumentó en raíces y hojas de *Zea mays* L. var. canteño, mostrando incrementos en relación directa con el aumento de la concentración NaCl en los niveles de 25, 50 y 100mM.

La inoculación con *Rhizophagus irregularis* fue capaz de atenuar la cantidad de prolina foliar en *Zea mays* L. var. canteño en la concentración de 100 mM de NaCl.

El porcentaje de micorrización en *Zea mays* L. var. canteño disminuyó conforme se incrementaron las cantidades de NaCl.

Agradecimientos

A Adriana Hernandez y la empresa ATENS Agrotecnologías Naturales, S.L. Tarragona, España por la donación del producto comercial AEGIS Sym Microgránulo, utilizado como inóculo de *R. irregularis*.

Al Ing. Julián Chura Chuquija del Programa de Investigación y Proyección Social en maíz de la Universidad Nacional Agraria La Molina, por la donación de las semillas de *Zea mays* L. var. Canteño.

Contribución de los autores

B. L., M. C.; Concepción, diseño del trabajo de investigación; L. A., C. R., J. H., P. H., A. V., J. L.: Recolección de datos o información, análisis e interpretación de los resultados obtenidos; J. H., C. R., M.

C., A. V., J. P.: Preparación, redacción del artículo y revisión crítica. Todos los autores han leído el manuscrito final y aprobado la revisión.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

Literatura citada

- Abdel Latef., A. & H. Chaoping.** 2014. Does the inoculation with *Glomus mosseae* improve salt tolerance in pepper plants? *Journal of Plant Growth Regulation*, 33, 644-653.
- Abdel-Farid, I.; M. Marghany; M. Rowezek & M. Sheded.** 2020. Effect of salinity stress on growth and metabolomic profiling of *cucumis sativus* and *solanum lycopersicum*. *Plants*, 9(11), 1-19. <https://doi.org/10.3390/plants9111626>
- Al-Maliki, S. & M. Al-Masoudi.** 2018. Interactions between mycorrhizal fungi, tea wastes, and algal biomass affecting the microbial community, soil structure, and alleviating of salinity stress in corn yield (*Zea mays* L.). *Plants*, 7(3). <https://doi.org/10.3390/plants7030063>
- Arif, Y.; P. Singh; H. Siddiqui; A. Bajguz & S. Hayat.** 2020. Salinity induced physiological and biochemical changes in plants: An omic approach towards salt stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, 156(August), 64-77. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.08.042>
- Ávila-Peralta, O.; R. Mendoza-Villarreal; L. Valdez-Aguilar; E. Rodríguez-Campos, E. Hernández-Pérez, A. Cárdenas-Flores.** 2015. Crecimiento y estado nutricional de tomate en respuesta a sustratos orgánicos y hongos micorrízicos. *Rev Mex Cienc Agrícolas*, 12, 2409-2422.
- Beltrano, J.; M. Ruscitti; M. Arango & M. Ronco.** 2013. Effects of arbuscular mycorrhiza inoculation on plant growth, biological and physiological parameters and mineral nutrition in pepper grown under different salinity and p levels. *Journal of soil science and plant nutrition*, 13(1), 123-141.
- Borbély, P.; P. Poór & I. Tari.** 2020. Changes in physiological and photosynthetic parameters in tomato of different ethylene status under salt stress: Effects of exogenous 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid treatment and the inhibition of ethylene signalling. In *Plant Physiology and*

- Biochemistry (Vol. 156, pp. 345–356). <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.09.019>
- Chaman, M.** 2007. Variaciones en el contenido relativo de agua y la concentración de prolina en *Capsicum annum* L. inducido por NaCl. *Arnaldoa* 14(2):251-258.
- Chávez, L. & L. González.** 2009. Mecanismos moleculares involucrados en la tolerancia de las plantas a la salinidad. ITEA Informacion Tecnica Economica Agraria, 105(4), 231–256.
- Cho, K.; H. Toler; J. Lee; B. Ownley; J. Stutz; J. Moore & R. Augé.** 2006. Mycorrhizal symbiosis and response of sorghum plants to combined drought and salinity stresses. *Journal of Plant Physiology*, 163(5), 517–528. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.05.003>
- Chul, S.; P. Manivannan & C. Murugesan.** 2018. Proline Accumulation Influenced by Osmotic Stress in Arbuscular Mycorrhizal Symbiotic Plants. *Frontiers in Microbiology* 9, 2525. DOI=10.3389/fmicb.2018.02525
- Dastogeer, K.; M. Zahan; M. Tahjib-Ul-Arif; M. Akter & S. Okazaki.** 2020. Plant Salinity Tolerance Conferred by Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Associated Mechanisms: A Meta-Analysis. *Frontiers in Plant Science*, 11(December). <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.588550>
- de Moraes, M.; H. Debiassi; J. Franchini; J. Bonetti; R. Levien; A. Schnepf & D. Leitner.** 2019. Mechanical and Hydric Stress Effects on Maize Root System Development at Different Soil Compaction Levels. *Frontiers in Plant Science*, 10(October), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01358>
- Delauney A. & D. Verma.** 1993. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant Journal* 4: 215–223.
- El Moukhtari, A.; C. Cabassa-Hourton ; M. Farissi & A. Savoure.** 2020. How Does Proline Treatment Promote Salt Stress Tolerance During Crop Plant Development? *Front. Plant Sci.*, 11, 1127.
- Estrada, B.; R. Aroca; F. Maathuis; J. Barea & J. Ruiz-Lozano.** 2013. Improved ion homeostasis in maize plants by salt-adapted AMF. *Plant Cell Environ*, 36: 1771-1782. <https://doi.org/10.1111/pce.12082>
- Evelin, H.; B. Giri & R. Kapoor.** 2012. Contribution of *Glomus intraradices* inoculation to nutrient acquisition and mitigation of ionic imbalance in NaCl-stressed *Trigonella foenum-graecum*. *Mycorrhiza*, 22(3), 203–217. <https://doi.org/10.1007/s00572-011-0392-0>
- Farooq, M.; N. Gogoi; M. Hussain; S. Barthakur; S. Paul; N. Bharadwaj; H. Migdadi; S. Alghamdi & K. Siddique.** 2017. Effects, tolerance mechanisms and management of salt stress in grain legumes. *Plant Physiology and Biochemistry*, 118, 199–217. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.06.020>
- Garcia, M. & E. Medina.** 2003. Crecimiento y acumulación de prolina en dos genotipos de caña de azúcar sometidos a salinización con cloruro de sodio. *Rev. Facultad de Agronomía*. 20: 168-179.
- González Salvatierra, C.** 2005. Respuestas fisiológicas y morfológicas a sequía en plántulas de distintos grupos funcionales del desierto chihuahuense. Tesis para obtener el grado de Maestra en Ciencias Aplicadas en Ciencias Ambientales. Posgrado en Ciencias Aplicadas del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica.
- Hammer, E.; H. Nasr; J. Pallon; P. Olsson & H. Wallander.** 2011. Elemental composition of arbuscular mycorrhizal fungi at high salinity. *Mycorrhiza*, 21(2), 117-129.
- Hegazi, A.; A. El-Shraiy & A. Ghoname.** 2017. Abschwächung der negativen Auswirkungen von Salzstress auf Paprika mit Hilfe von Arbuskulären Mykorrhizapilzen (arbuscular mycorrhizal fungi, AMF), *Bacillus megaterium* und Brassinosteroiden (BR). *Gesunde Pflanzen*, 1–12. <https://doi.org/10.1007/s10343-017-0393-9>
- Hernandez, S.; C. Deleu & F. Larher.** 2000. Accumulation de prolina dans les tissus foliaires de tomate en réponse à la salinité. *Comptes Rendus de l'Académie Des Sciences - Series III - Sciences de La Vie*, 323(6), 551–557. [https://doi.org/10.1016/s0764-4469\(00\)00167-0](https://doi.org/10.1016/s0764-4469(00)00167-0)
- Hessini, K.; K. Issaoui; S. Ferchichi; T. Saif; C. Abdelly; K. Siddique & C. Cruz.** 2019. Interactive effects of salinity and nitrogen forms on plant growth, photosynthesis and osmotic adjustment in maize. *Plant Physiology and Biochemistry*, 139(March), 171–178. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.03.005>
- Hidalgo-Rodríguez, J. E. M.; C. Ramos; J. Pedro; B. Luis & M. Chaman.** 2021. Coinoculación de *Rhizophagus irregularis* y *Trichoderma viride* en *Carica papaya* (Caricaceae) “papaya” en condiciones de invernadero. *Arnaldoa* 28(2): 217-108, 2021. doi: <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.282.28206>
- Hidalgo-Rodríguez, J. E. M.; C. Ramos & M. Chaman.** 2014. Efecto de diferentes cantidades NPK y simbiosis con *Glomus intraradices*, sobre

- el contenido de Proteínas solubles totales de *Plukenetia volubilis* L. *Arnaldoa* 21(2): 329--342
- Hidalgo-Rodríguez, J. E. M.; C. Ramos; P. Lezama; P. Chuna & M. Chaman.** 2019. Coinoculación de *Rhizophagus irregularis* y *Rhizobium sp.* en *Phaseolus vulgaris* L. var. canario (Fabaceae) "frijol canario". *Arnaldoa* 26(3): 991-1006. doi: <https://dx.doi.org/10.22497/arnaldoa.263.26309>
- Higinio, F.; R. Espinoza; R. Lizzet; V. Gutiérrez; B. Amador; F. Alfredo; B. Morales & G. Hernández.** 2014. Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) En primeras etapas fenológicas Differential Response to Salinity in Tomato Genotypes (*Lycopersicon Esculentum* Mill.) in Early Phenological Stages. 311–323.
- Jahromi, F.; R. Aroca; R. Porcel & J. Ruiz-Lozano.** 2007. Influence of Salinity on the In Vitro Development of *Glomus intraradices* and on the In Vivo Physiological and Molecular Responses of Mycorrhizal Lettuce Plants. *Microbial Ecology*, 55(1), 45–53. doi:10.1007/s00248-007-9249-7
- Kissoudis, C.; S. Sunarti; C. Van De Wiel; R. Visser; C. Van Der Linden & Y. Bai.** 2016. Responses to combined abiotic and biotic stress in tomato are governed by stress intensity and resistance mechanism. *Journal of Experimental Botany*, 67(17), 5119–5132. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw285>
- Krishnamoorthy, R.; K. Kim; P. Subramanian; M. Senthilkumar; R. Anandham & T. Sa.** 2016. Arbuscular mycorrhizal fungi and associated bacteria isolated from salt-affected soil enhances the tolerance of maize to salinity in coastal reclamation soil. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 231, 233–239. doi:10.1016/j.agee.2016.05.037
- Kumar, K.; K. Manigundan & N. Amaresan.** 2017. Influence of salt tolerant *Trichoderma* spp. on growth of maize (*Zea mays*) under different salinity conditions. *Journal of Basic Microbiology*, 57(2), 141–150. <https://doi.org/10.1002/jobm.201600369>
- Liang, W.** 2018. Biochemical and Biophysical Research Communications Plant salt-tolerance mechanism: A review. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 495(1), 286–291. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.11.043>
- MINAM.** 2011. Mapa de Razas de Maíz del Perú. Recuperado el 15/12/21. Disponible en WorldWideWeb: http://www.minam.gob.pe/index.php?option=com_content&view=article&id=1363:ministerio-del-ambiente-presenta-mapa-de-razas-de-maiz-del-peru&catid=1:noticias&Itemid=21.
- Mohammad, A. & B. Mittra.** 2013. Effects of inoculation with stress-adapted arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus deserticola* on growth of *Solanum melongena* L. and *Sorghum sudanese* Staph. seedlings under salinity and heavy metal stress conditions. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 59(2), 173–183. <https://doi.org/10.1080/03650340.2011.610029>
- Moreira, H.; S. Pereira; A. Vega; P. Castro & A. Marques.** 2020. Synergistic effects of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting bacteria benefit maize growth under increasing soil salinity. *Journal of Environmental Management*, 257(December 2019), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109982>
- Nafady, N. & A. Elgharably.** 2018. Mycorrhizal symbiosis and phosphorus fertilization effects on *Zea mays* growth and heavy metals uptake. *International Journal of Phytoremediation*, 20(9), 869–875. doi:10.1080/15226514.2018.1438358
- Pandolfi, C.; E. Azzarello; S. Mancuso & S. Shabala.** 2016. Acclimation improves salt stress tolerance in *Zea mays* plants. *Journal of Plant Physiology*, 201, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.06.010>
- Pavlović, I.; S. Mlinarić; D. Tarkowská; J. Oklestkova; O. Novák; H. Lepeduš & B. Salopek-Sondi.** 2019. Early Brassica crops responses to salinity stress: a comparative analysis between Chinese cabbage, white cabbage, and kale. *Frontiers in plant science*, 10, 450.
- Phillips, J. & D. Hayman.** 1970. Improves procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*. 55: 158-161.
- Polijakoff-Mayber A.; G. Somers; E. Werker & J. Gallagher.** 1994. Seeds of *Kosteletzkya virginica* (Malvaceae): their structure, germination, and salt tolerance II. Germination and salt tolerance *Am J.* 81: 54-59
- Rahnesan, Z.; F. Nasibi & A. Moghadam.** 2018. Effects of salinity stress on some growth, physiological, biochemical parameters and nutrients in two pistachio (*Pistacia vera* L.) rootstocks. *Journal of Plant Interactions*, 13(1), 73-82.
- Ramos-Otiniano C.; M. Hidalgo; P. Lezama & M. Chaman.** 2021. Efecto de *Rhizophagus irregularis* Schenk & Smith y NaCl sobre el patrón

- electroforético de “tomate” *Solanum lycopersicum* L. (Solanaceae). *Arnaldoa* 28 (2): 217-108, 2021. doi: <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.282.28207>
- Ruiz-Lozano, J.; R. Azcon & M. Gomez.** 1996. Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal *Glomus* species in *Lactuca sativa* plants. *Physiol. Plant.*, 98, 767-772.
- Saldaña, T.; C. Bejarano & S. Guaqueta.** 2017. Efecto de la salinidad en el crecimiento de plantas de tomate tipo chonto. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 11(2), 329–342. <https://doi.org/10.17584/rcch.2017v11i2.7347>
- Santander, C.; M. Sanhueza; J. Olave; F. Borie; A. Valentine & P. Cornejo.** 2019. Arbuscular Mycorrhizal Colonization Promotes the Tolerance to Salt Stress in Lettuce Plants through an Efficient Modification of Ionic Balance. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 19(2), 321–331. doi:10.1007/s42729-019-00032-z
- Selvakumar, G.; C. Shagol; K. Kim; S. Han & T. Sa.** 2018. Spore associated bacteria regulates maize root K⁺/Na⁺ ion homeostasis to promote salinity tolerance during arbuscular mycorrhizal symbiosis. *BMC Plant Biology*, 18(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1317-2>
- Smith, S. & D. Read.** 1995. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, New York, NY: 105-160.
- Stewart G. & J. Lee.** 1974. The role of proline accumulation in halophytes. *Biochem. Life Sci.* 120: 279-289.
- Sukma, K; B. Daryono & I. Purnomo.** 2018. Salinity resistance of seven varieties of Madura corn on early stage of growth. In 4th International Conference on Food and Agriculture Resources (FANRes 2018). Atlantis Press: Advances in Engineering Research, 172, 181-184.
- Wani, S.; V. Kumar; T. Khare; R. Guddimalli; M. Parveda; K. Solymosi; P. Suprasanna & P. Kavi.** 2020 Engineering salinity tolerance in plants: progress and prospects. *Planta*, 251(4), 1–29. <https://doi.org/10.1007/s00425-020-03366-6>
- Yoshiba, Y.; K. Kiyosue; Nakashima; K. Yamaguchi-Shinozaki.** 1997. Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants under water stress. *Plant Cell and Physiology* 38: 1095–1102.
- Zarco, P.; P. Lopez; M. Salinas; H. González.** 2005. Marcadores fisiológicos de la tolerancia a sequía en maíz. *Agrociencia*. 39 (5): 517-528.
- Zelm, E.; Y. Zhang & C. Testerink.** 2020. Salt Tolerance Mechanisms of Plants. *Annual review of plant biology*, 71, 403–433.
- Zou, Y. & Q. Wu.** 2011. Sodium Chloride Stress Induced Changes in Leaf Osmotic Adjustment of Trifoliolate Orange (*Poncirus trifoliata*) Seedlings Inoculated with Mycorrhizal Fungi. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 39(2), 64-69. <https://doi.org/10.15835/nbha3926243>

Anexos

Anexo 1. Resultados de porcentaje de micorrización, prolina en raíz y prolina en tallo obtenidas de *Zea mays* var. canteño en condiciones de invernadero.

Treatment	R. irregularis	NaCl (mM)	Root proline (ug/gDW)	Leaf proline (ug/gPF)	Mycorrhization
T1	0	0	75,6	68,2	0,0
T1	0	0	73,6	71,6	0,0
T1	0	0	74,6	64,5	0,0
T2	0	25	68,0	60,4	0,0
T2	0	25	66,8	75,4	0,0
T2	0	25	67,4	78,1	0,0
T3	0	50	86,2	79,4	0,0
T3	0	50	81,4	79,2	0,0
T3	0	50	83,8	82,9	0,0
T4	0	100	128,3	108,7	0,0
T4	0	100	127,5	104,8	0,0
T4	0	100	114,3	118,0	0,0
T5	2	0	67,7	66,2	62,5
T5	2	0	67,2	63,9	57,5
T5	2	0	67,5	60,6	52,5
T6	2	25	70,5	73,0	58,7
T6	2	25	68,5	66,2	50,7
T6	2	25	72,5	61,5	43,7
T7	2	50	83,7	79,8	48,0
T7	2	50	84,4	78,8	39,0
T7	2	50	78,6	74,1	33,0
T8	2	100	127,8	98,7	27,7
T8	2	100	140,1	95,8	20,7
T8	2	100	126,6	91,9	16,7
Treatment	R. irregularis	NaCl (mM)	Root proline (ug/gDW)	Leaf proline (ug/gPF)	Mycorrhization
T1	0	0	75,6	68,2	0,0
T1	0	0	73,6	71,6	0,0
T1	0	0	74,6	64,5	0,0
T2	0	25	68,0	60,4	0,0
T2	0	25	66,8	75,4	0,0
T2	0	25	67,4	78,1	0,0
T3	0	50	86,2	79,4	0,0
T3	0	50	81,4	79,2	0,0

T3	0	50	83,8	82,9	0,0
T4	0	100	128,3	108,7	0,0
T4	0	100	127,5	104,8	0,0
T4	0	100	114,3	118,0	0,0
T5	2	0	67,7	66,2	62,5
T5	2	0	67,2	63,9	57,5
T5	2	0	67,5	60,6	52,5
T6	2	25	70,5	73,0	58,7
T6	2	25	68,5	66,2	50,7
T6	2	25	72,5	61,5	43,7
T7	2	50	83,7	79,8	48,0
T7	2	50	84,4	78,8	39,0
T7	2	50	78,6	74,1	33,0
T8	2	100	127,8	98,7	27,7
T8	2	100	140,1	95,8	20,7
T8	2	100	126,6	91,9	16,7

Anexo 2. Análisis de varianza y prueba de comparación múltiple de Tukey para las variables consideradas en el estudio en *Zea mays* var. canteño en condiciones de invernadero.

Prolina en raíz ANOVA

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
R. irregularis	1	2,5	2,53	0,15	0,707
NaCl (mM)	3	13378,9	4459,62	257,01	0
R. irregularis*NaCl (mM)	3	191,7	63,89	3,68	0,034
Error	16	277,6	17,35		
Total	23	13850,7			

Prueba de comparación múltiple de medias Tukey

R. irregularis*NaCl (mM)		N	Media	Agrupación			
2	100	3	131,497	A			
0	100	3	123,348	A			
0	50	3	83,82		B		
2	50	3	82,264		B	C	
0	0	3	74,594		B	C	D
2	25	3	70,496			C	D
2	0	3	67,465				D
0	25	3	67,361				D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Prolina foliar ANOVA

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
R. <i>irregularis</i>	1	271,7	271,75	10,12	0,006
NaCl (mM)	3	5081,8	1693,93	63,08	0
R. <i>irregularis</i> *NaCl (mM)	3	140,3	46,76	1,74	0,199
Error	16	429,6	26,85		
Total	23	5923,4			

Prueba de comparación múltiple de medias Tukey

R. <i>irregularis</i> *NaCl						
(mM)	N	Media	Agrupación			
0 100	3	110,505	A			
2 100	3	95,468		B		
0 50	3	80,505			C	
2 50	3	77,541			C	D
0 25	3	71,281			C	D
0 0	3	68,092			C	D
2 25	3	66,904			C	D
2 0	3	63,551				D
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.						

Porcentaje de micorización ANOVA

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
R. <i>irregularis</i>	1	10859,6	10859,6	513,05	0
NaCl (mM)	3	1106,2	368,7	17,42	0
R. <i>irregularis</i> *NaCl (mM)	3	1106,2	368,7	17,42	0
Error	16	338,7	21,2		
Total	23	13410,6			

Prueba de comparación múltiple de medias Tukey

R. <i>irregularis</i> *NaCl						
(mM)	N	Media	Agrupación			
2 0	3	57,5	A			
2 25	3	51,0033	A	B		
2 50	3	40		B		
2 100	3	21,67			C	
0 0	3	0				D
0 25	3	0				D
0 50	3	0				D
0 100	3	0				D
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.						

Anexo 3. Producto comercial AEGIS SYM Microgránulo, donado por la empresa ATENS Agrotecnologías Naturales, S. L. Tarragona, España., utilizado como inóculo de micorrizas.



Anexo 4. Semillas de *Zea mays* L. var. canteño donadas por Programa de Investigación y Proyección Social en Maíz de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.



Anexo 5. Inoculación de *Zea mays* Var. canteño con *R. irregularis*.



Anexo 6. Plantas de *Zea mays* L. var. canteño inoculadas con *R. irregularis*.



Anexo 7. Plantas de 60 días de *Zea mays* L. var. canteño inoculadas con *R. irregularis*.



Anexo 8. Estructuras de *R. irregularis*, observadas en las raíces de *Zea mays* L. var. canteño.

