

# Efecto de la interacción *Glomus intraradices*-Nitrógeno sobre el pH, acumulación de fósforo y desarrollo de *Tagetes erecta* L. bajo condiciones de agobio hídrico

Santos Zepeda Guzmán<sup>1\*</sup>, Enrique Ambriz Parra<sup>2</sup>, Navanita Dasgupta-Schuber<sup>2</sup>, Héctor Javier Anselmo Villegas Moreno<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Maestría en Ciencias Biológicas, opción Interacción Planta-Microorganismo-Insecto. Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Km 9.5 Carretera Morelia-Zinapécuaro. C.P. 58880 Tarímbaro Michoacán, México.

<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas. Ciudad Universitaria, Edificio B-3 Francisco J. Mujica S/N Col. Felicitas del Río Morelia, Mich., Mex. C.P. 58060.

## Resumen

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) estimulan el crecimiento de las plantas principalmente por el aumento en la toma de nutrimentos, particularmente fósforo, pero también porque incrementan la resistencia de las plantas al agobio hídrico. No obstante, se desconoce si la fuente de nitrógeno podría influir en la mayor adquisición de P en plantas micorrizadas bajo condiciones de agobio hídrico. Con base a lo anterior, el objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la interacción *Glomus intraradices*-Nitrógeno sobre el pH de la micorrizosfera, concentración de fósforo y el desarrollo de *Tagetes erecta* L. bajo condiciones de agobio hídrico. Se utilizaron plantas de Cempoalxochitl (*Tagetes erecta* L.) no colonizadas y colonizadas con *Glomus intraradices*, las cuales fueron fertilizadas con nitrato como fuentes de nitrógeno y fósforo insoluble. Las plantas fueron sometidas a dos periodos de agobio hídrico por medio de la suspensión del riego. Una vez transcurrido el agobio hídrico se evaluó el desarrollo de las plantas por lo que se midieron las variables fisiológicas (área foliar, peso fresco y seco del vástago, además de volumen, peso fresco y seco de la raíz). También se evaluó la concentración de fósforo en el vástago y la raíz de las plantas y en los lixiviados recuperados de cada maceta. Los resultados mostraron que el agobio hídrico afectó el desarrollo de las plantas no micorrizadas de *T. erecta* L. fertilizadas con nitrato. *G. intraradices* promovió cambios en el pH de la rizósfera que favorecieron la solubilización de P. Además *G. intraradices* incrementó la concentración de fósforo en las raíces sometidas a agobio hídrico. Los resultados obtenidos en la concentración de P en las plantas micorrizadas podría explicarse en función de la mayor solubilización de P en el suelo, debido al impacto del hongo micorrízico sobre el pH de suelo.

**Palabras Clave:** HMA, *Tagetes erecta*, Agobio hídrico.

## Abstract

The arbuscular mycorrhizal fungi improve the growth plants, enhanced phosphorus uptake and increase drought stress resistance. However, is little known whether nitrogen source has influence on phosphorus uptake under drought stress in mycorrhizal plants. The goal in this investigation was to compare the effect of the interaction *Glomus intraradices*-Nitrogen on mycorrhizosphere pH, plant P concentration and plant growth under drought stress. Plants of *Tagetes erecta* L. were grown in growth chamber and inoculated or no inoculated with *Glomus intraradices*. Nitrogen source as nitrate (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) were added and insoluble phosphorus. Two periods of drought stress were applied to the plants. After drought stress leaf area, shoot and root dry weight, shoot and root fresh weight and root volume were evaluated. Also were evaluated shoot and root phosphorus concentration and soluble phosphorus in the leaching. The results showed that the drought stress decrease plant growth. *G. intraradices* affected pH of leaching increased the root P concentration under drought stress. In colonized plants the shoot P concentration were decreased. The results suggest that P uptake by plants under drought stress is affected by the interaction by AM fungi.

**Keywords:** HMA, *Tagetes erecta* L. drought stress.

## Introducción

El fósforo es uno de los nutrimentos minerales mas limitante para el crecimiento de las plantas, debido a su baja movilidad en muchos de sus estados naturales (Smith *et al.*, 2003). La disponibilidad de fósforo en la rizósfera esta significativamente influenciada por los cambios en el pH y los exudados radicales (Richardson *et al.*, 2009). La eficiencia de las plantas para poder acceder al

fósforo radican en la acidificación de la rizósfera, exudación de aniones orgánicos por parte de las raíces, morfología de la raíz y asociación simbiótica con hongos micorrízicos (McLaughlin *et al.*, 1991). Muchos estudios han puesto de manifiesto que la mayoría de las plantas aumentan la absorción de fósforo al establecer asociaciones micorrizicas (Raghothama 1999; Rausch y Baucher 2002; Jia *et al.*, 2004). También se ha reportado que a

\*Autor de correspondencia: Oaxaca 64 A. Molino de Parras. Morelia, Mich., México. C.P. 58010 zebiol@hotmail.com, vilj4455@yahoo.com.mx

través de la simbiosis micorrízica se incrementa la transferencia de nitrógeno del suelo a la planta, particularmente nitrato (George *et al.*, 1992; Tobar *et al.*, 1994; Bago *et al.*, 1996).

La micorriza es una asociación simbiótica que se presenta entre las raíces de plantas superiores y ciertos hongos del suelo, asociación en la cual las plantas proveen carbono a el hongo quien a su vez aumenta la toma de agua y nutrientes minerales por las plantas principalmente fósforo, además de que incrementan la resistencia de las plantas al agobio hídrico (Smith y Read 1997). El agobio hídrico es uno de los principales factores abiótico que limita la productividad de los cultivos en el mundo (Kramer y Boyer 1995). Los hongos micorrízicos promueven la resistencia a deficiencias hídricas en la planta hospedera, lo cual es consecuencia de diferentes mecanismos, que van desde una respuesta física hasta una respuesta a nivel bioquímico (Azcón-Aguilar y Barea 1997; Cordier *et al.*, 1998; Augé 2001).

Bücking y Shachar-Hill (2005) encontraron en condiciones de no agobio en un experimento en maceta, que la capacidad de transporte y transferencia de P en *G. intraradices* es estimulado por el transporte de carbohidratos de la planta hacia el hongo. Cruz-Cruz (2005) en un experimento *in vitro* bajo condiciones de agobio hídrico y salinidad encontraron que la trealosa y otros disacáridos se acumulan en el micelio externo de *G. intraradices*. Se ha documentado que el beneficio de los HMA es mayor bajo condiciones de estrés ya que incrementan la adquisición de fósforo, también se ha observado que bajo fertilización nitrogenada este efecto es más pronunciado. En el caso de plantas sin agobio hídrico se ha observado que el incremento en la adquisición de fósforo se debe a un mayor flujo de carbohidratos de la planta huésped hacia el hongo. Sin embargo, desconocemos si esos incrementos en la acumulación del carbono en el hongo *G. intraradices* están asociados a una mayor solubilización y concentración de fósforo en el hospedero. Nuestra hipótesis es probar si los hongos micorrízicos arbusculares en presencia de fertilización nitrogenada incrementan la solubilización y la concentración de fósforo mediante la modificación del pH del medio durante el agobio hídrico. Por lo cual el objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la interacción *Glomus intraradices*-N sobre el pH de la micorrizosfera, concentración de fósforo y el desarrollo de *Tagetes erecta* L. bajo condiciones de agobio hídrico.

## Materiales y métodos

Para el experimento se utilizaron 60 semillas de *T. erecta* L. las cuales fueron desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio al 0.1% (v/v) durante 5 minutos. Las semillas se pusieron a germinar en un semillero el cual contenía sustrato a base de agrolita-turba (2:1 v/v) previamente esterilizado a 121 °C por 20 min. Una vez germinadas las semillas, las plántulas se dejaron crecer durante 15 días y la mitad de ellas fueron micorrizadas con esporas asépticas de *G. intraradices* (50 esporas por planta). Las plántulas fueron trasplantadas en contenedores contruidos con tubo de policloruro de vinilo (PVC) de 4.5 cm de diámetro y 13 cm de longitud (una planta por contenedor). A cada maceta se le agregaron 30 g del sustrato antes mencionado y fosfato de calcio Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (10 ppm) en forma insoluble.

Las plantas fueron fertilizadas cada tercer día con solución nutritiva (Hoagland) a base de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> como fuente de nitrógeno

**Tabla 1. Valores promedio obtenidos en el desarrollo de las plantas de *Tagetes erecta* L. fertilizadas con NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.**

Tratamiento	Nitrato (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )					
	AF (cm <sup>2</sup> )	PFV (g)	PSV (g)	VR (cm <sup>3</sup> )	PFR (g)	PSR (g)
nM-A	219.8ab	25.7a	1.88a	0.30a	3.30a	0.19a
nM+A	124.3b	12.8b	0.85b	0.13b	0.64c	0.05b
M-A	220.4ab	22.3ab	0.62b	0.14b	0.71c	0.03b
M+A	264.3 a	14.9b	1.50ab	0.18b	1.30b	0.13a

Plantas no micorrizadas sin agobio hídrico (nM-A) y con agobio hídrico (nM+A), plantas micorrizadas sin agobio hídrico (M-A) y con agobio hídrico (M+A). AF= Área foliar; PFV y PSV= Peso fresco y seco del vástago; VR= Volumen de la raíz; PFR y PSR= Peso fresco y seco de la raíz. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas Tukey (p < 0,05) entre los tratamientos.

(2 mM). El experimento se llevo a cabo en cámara de crecimiento durante seis semanas bajo condiciones controladas de 25 °C, 75% de HR y 14 horas de fotoperiodo. Se establecieron cuatro tratamientos con 15 repeticiones en un diseño al azar. Cuarenta y dos días después del trasplante, las plantas se sometieron a dos periodos de agobio hídrico a través de la suspensión del riego y a una rehidratación entre cada periodo. Cada periodo de agobio tuvo una duración de 7 días y la rehidratación fue durante 2 días. Las variables que se consideraron para su evaluación fueron el área foliar (cm<sup>2</sup>/planta) utilizando el programa (SideLook versión 1.1.01); peso fresco y seco (g) del vástago y raíces. Para obtener los pesos secos, el material biológico fue colocado al horno a 60 °C durante 48 horas. También se determinó el volumen de la raíz (cm<sup>3</sup>/raíz) por el método de Arquímedes. Las determinaciones de fósforo en el vástago y la raíz, así como de los lixiviados fueron realizadas con el método colorimétrico fosfovanadomolibdato (Vogel's 2000) y las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro UV visible (Thermo Scientific. Genesys 10uv. Modelo 335903-000) a una longitud de onda de 465 nm. Los lixiviados se recuperaron por gravedad en cada una de las macetas al final del experimento. Se aplicó un análisis de varianza y cuando se observaron diferencias significativas se realizó una prueba de Tukey (p<0.05) con el paquete estadístico *Assistat 7.5*.

## Resultados

Después de haber trascurrido el agobio hídrico, se evaluaron las variables de crecimiento de las plantas de *T. erecta* L. y los valores promedio obtenidos se presentan en la tabla 1. Se observó un incremento significativo en el área foliar (AF) de las plantas micorrizadas agobiadas (M+A) con respecto a las plantas no micorrizadas también agobiadas (nM+A).

Los resultados mostraron que el contenido de materia fresca (PFV) que el tratamiento no micorrizado y no agobiado (nM-A) presentó significativamente mayor peso fresco en vástago comparado con los tratamientos nM+A y M+A. Con respecto al contenido de materia seca (PSV) bajo la misma fertilización, las plantas nM-A presentaron mayor materia seca que el tratamiento nM+A, incluso fue mayor el peso seco que el tratamiento M-A. En ambos casos se presentaron diferencias significativas. Por

otra parte en las variables relacionadas con la raíz se observó que el volumen de la raíz (VR) de las plantas nM-A se incrementó con respecto al resto de los tratamientos, tal incremento fue significativo. Respecto al peso fresco de raíz (PFR) se observó un incremento significativo en el tratamiento M+A con respecto al tratamiento nM+A. En condiciones adecuadas de riego el peso fresco de las raíces disminuyó significativamente en el tratamiento M-A con respecto al tratamiento nM-A. Entre tratamientos micorrizados existió una ganancia significativa en el peso fresco bajo agobio hídrico con respecto a cuando no existió el agobio. En los tratamientos no micorrizados disminuyó significativamente el peso fresco de raíz cuando se indujo el agobio nM+A. El peso seco de la raíz (PSR) de plantas no micorrizadas y en ausencia de agobio se incrementó significativamente con respecto a los tratamientos nM+A y M-A. De la misma manera el peso seco las raíces micorrizadas se incrementó cuando estuvieron bajo agobio con respecto a los tratamientos M-A y nM+A, tal incremento fue significativo. Una vez concluido el periodo del agobio hídrico se evaluaron los lixiviados recuperados. Se determinó el pH de éstos (Figura 1 a) y se encontró que en la presencia de hongos micorrízicos disminuyó el pH, tanto en el tratamiento no agobiado como el agobiado, pero sólo fue significativa la diferencia entre el tratamiento M+A en relación al tratamiento nM+A. También se determinó la concentración de fósforo (P) soluble en los lixiviados (Figura 1 b). Los tratamientos M+A y M-A presentaron significativamente mayor concentración de P soluble en comparación con los tratamientos no micorrizados.

Al evaluar la concentración de P en el vástago de *T. erecta* L. (Figura 2 a). Se observó que en el tratamiento nM-A

la concentración de P fue mayor con respecto a los demás tratamientos, pero sólo fue significativa dicha diferencia con respecto al tratamiento M+A. Los resultados obtenidos en la concentración de P en las raíces de *T. erecta* L. (Figura 2 b) indicaron que las raíces del tratamiento M+A presentaron significativamente mayor concentración de P que el resto de los tratamientos evaluados.

### Discusión

Kerepesi y Galiba (2000) reportaron que el agobio hídrico es uno de los factores abióticos que causan reducción en el crecimiento de las plantas. Las plantas de *T. erecta* L. no micorrizadas y en presencia del agobio hídrico presentaron una disminución significativa en la mayoría de las variables evaluadas tanto de la parte aérea como de la raíz, en comparación con las plantas no agobiadas. Cuando las plantas fueron micorrizadas y estuvieron en presencia del agobio hídrico las variables evaluadas (AF, PFV, PSV y VR) presentaron una tendencia a incrementarse, aunque tales incrementos no fueron significativos con respecto a cuando no existió el agobio. Esto coincide con Subramanian *et al.*, (1995) quienes en plantas de maíz micorrizadas bajo sequía observaron, que su biomasa se incrementaba durante y después del agobio hídrico aunque tales incrementos no fueron significativos. Y que esos incrementos en la biomasa eran debidos a la acumulación de P. En estudios sin agobio hídrico se ha documentado que las plantas se desarrollan mejor cuando se adiciona nitrato comparado a cuando se adiciona alguna otra forma de nitrógeno (Cuenca y Azcón 1994). Nuestros resultados coinciden con los reportados con Farahani *et al.*, (2008), quienes documentaron

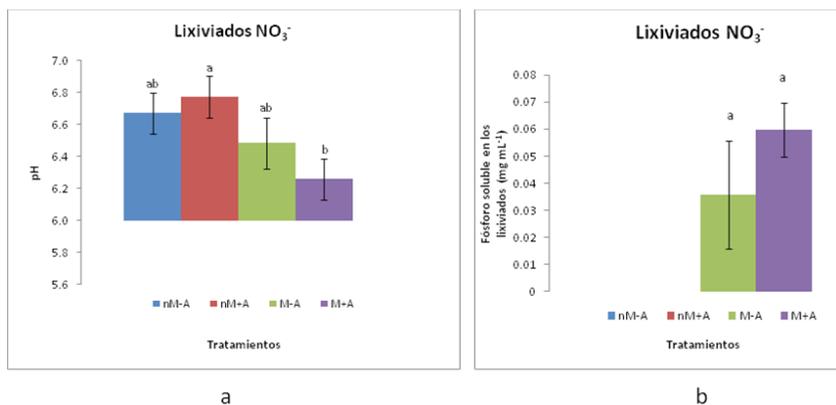


Figura 1. pH (a) y Fósforo soluble (b) (mg mL<sup>-1</sup>) en los lixiviados de *Tagetes erecta* L. fertilizadas con NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Plantas no micorrizadas sin agobio hídrico (nM-A) y con agobio hídrico (nM+A) plantas micorrizadas sin agobio hídrico (M-A) y con agobio (M+A). Letras diferentes indican diferencias significativas Tukey (p<0,05).

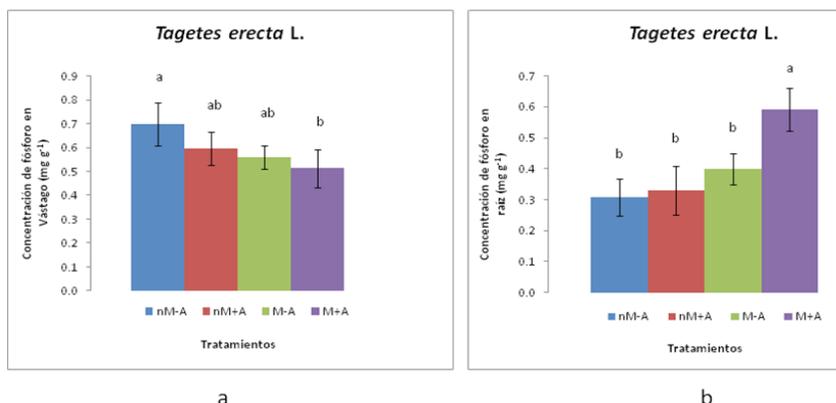


Figura 2. a) Concentración de fósforo en vástago, b) concentración de fósforo en raíces (mg g<sup>-1</sup>) de materia seca de *Tagetes erecta* L. fertilizadas con NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Plantas no micorrizadas sin agobio hídrico (nM-A) y con agobio hídrico (nM+A) plantas micorrizadas sin agobio hídrico (M-A) y con agobio (M+A). Letras diferentes indican diferencias significativas Tukey (p<0,05).

que los HMA son capaces de incrementar la biomasa de plantas de *Coriandrum Sativum* L. sometidas al agobio hídrico y que esos incrementos fueron atribuidos a un aumento en la adquisición de P por parte de los HMA.

En la rizósfera se llevan a cabo cambios químicos que pueden favorecer el desarrollo de las plantas, tal es el caso de los cambios en el pH (Marschner 1995). El pH es altamente dependiente de la forma de nitrógeno aplicada en la fertilización de las plantas (Marschner *et al.*, 2003), estos documentaron que el nitrógeno en forma de  $\text{NH}_4^+$  acidifica el pH de la rizósfera y la fuente de nitrógeno en forma de  $\text{NO}_3^-$  alcaliniza dicho pH. Bajo fertilización con  $\text{NO}_3^-$ , se pudo observar que el pH de los lixiviados de las plantas no micorrizadas tendió a alcalinizarse comparado a cuando las plantas estuvieron micorrizadas, donde se observó un efecto estabilizador en el pH manteniéndolo alrededor de pH 6, efectos similares se presentaron en una fuente de nitrógeno en forma de  $\text{NH}_4^+$  (datos no mostrados). Este efecto estabilizador en el pH por parte del hongo micorrízico fue mayor en presencia del agobio hídrico. La relación entre el nitrógeno y el pH de la micorrizosfera ha sido documentada (Villegas *et al.*, 1996). Varios mecanismos han sido sugeridos a través de los cuales las plantas micorrizadas pueden incrementar su crecimiento y la adquisición de nutrientes (Miyasaka y Abte 2001) y uno de los mecanismos más importantes es la capacidad de alterar el pH de la rizósfera (Bolan 1991) como resultado de la absorción de aniones y cationes por la planta micorrizada lo cual puede afectar la disponibilidad de P (Bago y Azcon-Aguilar 1997; Mohammad *et al.*, 2003). El pH tiene un importante efecto en la solubilización y adquisición de nutrientes minerales por las raíces de las plantas, particularmente P (Li *et al.*, 1991a, b; Villegas y Fortin 2002). En este trabajo se pudo observar que la concentración de P en los lixiviados de plantas micorrizadas se incrementó de forma significativa en comparación a los lixiviados de plantas no micorrizadas. Este efecto de mayor solubilización puede estar relacionado con el efecto estabilizador en el pH de los lixiviados. Cabe señalar que no se ha documentado que el hongo *G. intraradices* tenga un efecto estabilizador sobre el pH del suelo, por lo que este es el primer reporte que documenta esta habilidad de los HMA.

Existen reportes que indican que el agobio hídrico afecta la concentración de P en las plantas (Gutierrez-Boem y Thomas 1999). Bajo agobio hídrico el contenido de P en el vástago de las plantas de *T. erecta* L. no micorrizadas presentaron una disminución en la concentración contrario a cuando no existió el agobio. Monzón y Azcón (2001) utilizando plantas de *Alnus* colonizadas con *G. intraradices*, sin agobio hídrico, observaron que la colonización micorrízica además de incrementar la biomasa de las plantas, incrementaba la absorción y utilización de P. Zhu y Smith (2001) también reportaron que la micorriza incrementó la concentración de P en plantas de trigo (*Triticum aestivum*). En nuestros resultados se observó una tendencia opuesta a la documentada por estos autores, en plantas no micorrizadas agobiadas se encontró mayor concentración de P con respecto a las plantas micorrizadas.

Karagiannidis *et al.*, (2007) fertilizando con  $\text{NO}_3^-$  encontraron una mayor concentración de P en plantas de *Vitis vinifera* colonizadas con *Glomus mossae*. Azcón *et al.*, (1992),

reportaron altas concentraciones de P y otros macronutrientes en plantas de *Lactuca sativa* L. colonizadas con HMA y fertilizadas con  $\text{NO}_3^-$ . En nuestros resultados se observó una tendencia opuesta a la documentada por estos autores. En el vástago de las plantas no colonizadas se presentó mayor concentración de P con respecto a las colonizas. Pero en las raíces colonizadas se observó una tendencia similar a la documentada por estos autores, la colonización micorrízica incrementó la concentración de P. Este efecto puede estar asociado con la presencia del hongo que estabilizó el pH del medio, lo que pudo haber resultado en una mayor solubilización y absorción de P por el hongo micorrízico *G. intraradices*. Bajo condiciones de agobio hídrico el desarrollo de *T. erecta* L. disminuyó cuando no fue micorrizado y *G. intraradices* favoreció el desarrollo, además la presencia del hongo tuvo un efecto estabilizador en el pH de la micorrizosfera que favoreció la solubilización y la concentración de P en la raíz.

## Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo financiero otorgado por el CONACYT para la realización de este proyecto de investigación. También agradecen al Corporativo de Desarrollo Sustentable S.A de C.V (COSUSTENTA) por la beca otorgada para la terminación del trabajo de investigación. A el Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas opción Interacción Planta Microorganismo Insecto.

## Referencias

- Augé RM. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 11: 3-42.
- Azcon R, Gomez M, Tobar R. 1992. Effects of nitrogen source on growth, nutrition, photosynthetic rate and nitrogen metabolism of mycorrhizal and phosphorus-fertilized plants of *Lactuca sativa* L. *New Phytologist*, 121: 227-234.
- Azcon-Aguilar R, Barea J. 1997. Mycorrhizal dependency of a representative plant species in mediterranean shrublands (*Lavandula spica* L.) as a key factor to its use for revegetation strategies in desertification-Threatened areas. *Applied Soil Ecology*, 7: 83-92.
- Bago B, Vierheilig H, Piche Y, Azcon-Aguilar C. 1996. Nitrate depletion and pH changes induced by the external mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *glomus intraradices* Grown in monoxenic culture. *New Phytologist*, 133: 273-280.
- Bago B, Azcon-Aguilar C. 1997. Changes in the rhizosphere pH induced by arbuscular mycorrhiza formation in onion (*Allium cepa*). *Z Pflanzenernaehr Bodenkm*, 160: 333-339.
- Bolan 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and soil*, 134: 189-207.
- Bücking H, Shachar-Hill Y. 2005. Phosphate uptake, transport and transfer by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* is stimulated by increased carbohydrate availability. *New Phytologist*, 165(3): 899-912.
- Cordier C, Pozo M, Barea J, Gianinazzi S, Gianinazzi-Pearson V. 1998. Cell defence responses associated with localized and systemic resistance to *Phytophthora parasitica* induced in tomato by arbuscular mycorrhizal fungus. *Molecular plant-microbe interactions*, 11: 1017-1028.
- Cruz-Cruz CA. 2005. *Acumulación de carbohidratos en micorrizas arbusculares sometidas a estrés in vitro*. Tesis de maestría en biología

- experimental. Universidad michoacana, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas (IIQB), Morelia Michoacán, México.
- Cuenca G, Azcón R.** 1994. Effects of ammonium and nitrate on the growth of vesicular arbuscular mycorrhizal *Erythrina poeppigiana* O I Cook seedlings. *Biol Fertil Soils*, 18: 249-254.
- Farahani HA, Labaschi MH, Hamidi A.** 2008. Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi, Phosphorus and Water Stress on Quantity and Quality Characteristics of Coriander. *Advances in Natural and Applied Science*, 2: 55-59.
- George E, Haussler K, Vetterlein G, Gorgus E, Marschner H.** 1992. Water and nutrient translocation by hyphae of *Glomus mosseae*. *Can J Bot*, 70: 2130-2137.
- Gutierrez-Boem FH, Thomas GW.** 1999. Phosphorus nutrition and water deficits in field-grown soybeans. *Plant and Soil*, 207: 87-96.
- Jia Y, Gray VM, Straker CJ.** 2004. The influence of Rhizobium and arbuscular mycorrhizal fungi on nitrogen and phosphorus accumulation by *Vicia faba*. *Ann Bot*, 94: 251-258.
- Karagiannidis N, Nikolaou N, Ipsilantis I, Zioziou E.** 2007. Effects of different N fertilizers on the activity of *Glomus mosseae* and on grapevine nutrition and berry composition. *Mycorrhiza*, 18: 43-50
- Kerepesi I, Galiba G.** 2000. Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings. *Crop Science*, 40: 482-487.
- Kramer PJ, Boyer JS.** 1995. *Water relations of plants end soils*. Academic Press, San Diego.
- Li X-L, Marschner H, George E.** 1991a. Acquisition of phosphorus and copper by VA-mycorrhizal hyphae and root-to-shoot transport in white clover. *Plant and Soil*, 136(1): 49-57.
- Li X-L, Marschner H, George E.** 1991b. Phosphorus depletion and pH decrease at the root-soil and hyphae-soil interfaces of VA mycorrhizal white clover fertilized with ammonium. *New Phytologist*, 119: 397-404.
- Marschner H.** 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Second edition, Academic Press, London.
- Marschner H, Sas L, Römheld V, Mercik S.** 2003. Effect of nitrogen forms on growth and chemical changes in the rhizosphere of strawberry plants. *Physiologiae Plantarum*, 25: 241-247.
- McLaughlin MJ, Fillery IR, Till AR.** 1991. Operation of the phosphorus, sulphur and nitrogen cycles. In RM Gifford, MM Barson (eds), *Australia's Renewable Resources: Sustainability and Global Change*, pp 67-116. Bureau of Rural Resources, Canberra, Australia.
- Miyasaka SC, Habte M.** 2001. Plant mechanisms and mycorrhizal symbioses to increase phosphorus uptake efficiency. *Commun Soil Sci Plant Anal*, 32: 1101-1147
- Mohammad MJ, Pan WL, Kennedy AC.** 2005. Chemical alteration of the rhizosphere of the mycorrhizal-colonized wheat root. *Mycorrhiza*, 15: 259-266.
- Rausch C, Baucher M.** 2002. Molecular mechanisms of phosphate transport in plants. *Plant*, 216: 23-37.
- Richardson AE, Barea JM, McNeill AM, Prigent-Combaret C.** 2009. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant Soil*, 321: 305-339.
- Raghothama KG.** 1999. Phosphate acquisition. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50: 665-693.
- Smith, SE, Read DJ.** 1997. *Mycorrhizal symbiosis*. London, UK: Academic Press.
- Smith SE, Smith FA, Jakobsen I.** 2003. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. *Plant physiology*, 133: 16-20.
- Subramanian KS, Charest C, Dwyer LM, Hamilton RI.** 1995. Arbuscular mycorrhizas and water relations in maize under drought stress at tasselling. *New Phytologist*, 129: 643-650.
- Tobar R, Azcon R, Barea JM.** 1994. Improved nitrogen uptake and transport from <sup>15</sup>N-labelled nitrate by external hyphae of arbuscular mycorrhizal under water-stressed conditions. *New Phytologist*, 126: 119-122.
- Villegas J, Williams RD, Nantais L, Archambault A, Fortin JA.** 1996. Effect of N-source on pH and nutrient exchanges of extramatrical mycelium in a mycorrhizal Ri T-DNA transformed root system. *Mycorrhiza*, 6: 247-251.
- Villegas J, Fortin JA.** 2002. P solubilization and pH changes as a result of the specific interactions between soil bacteria and AM fungi, on a medium containing NO<sub>3</sub><sup>-</sup> as N source. *Canadian Journal of Botany*, 80: 571-576.
- Vogel's.** 2000. *Textbook of Quantitative Chemical Analysis*. Sixth Edition. Prentice Hall, Greenwich, London.
- Zhu YG, Smith SE.** 2001. Seed phosphorus (P) content affects growth, and P uptake of wheat plants and their association with arbuscular mycorrhizal (AM) fungi. *Plant Soil*, 231: 105-112.