

MICORRIZAS VA. II. EFECTO SOBRE EL CRECIMIENTO
DE LAS PLANTAS

por

J. A. OCAMPO



PUBLICADO EN
ANALES DE EDAFOLOGIA Y AGROBIOLOGIA
TOMO XXXIX, NÚMS. 5-6 — MADRID, 1980

TRABAJOS RECAPITULATIVOS

MICORRIZAS VA. II. EFECTO SOBRE EL CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS

por

J. A. OCAMPO

SUMMARY

VA MYCORRHIZA. II. EFFECT ON PLANT GROWTH

VA mycorrhiza increase plant growth improving P uptake by the network of the external mycelium associated with the infected root. The infection dynamics, specificity and the physiology of P uptake of this association are described in this paper. The effect on plant growth and nutrition are emphasized.

INTRODUCCIÓN

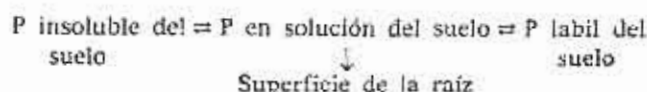
La mayoría de los trabajos sobre micorrizas VA se limitaban a estudiar los aspectos anatómicos y la ocurrencia de la asociación simbiótica (Mosse, 1973 a), pero durante los últimos años ha crecido el interés de los investigadores sobre el efecto que tienen las micorrizas VA sobre el crecimiento de las plantas, y su atención se ha centrado en el papel que juega el hongo en el incremento del suministro de nutrientes, particularmente fósforo, a dichas plantas, lo que ha conllevado a estudiar diversos mecanismos fisiológicos relacionados con la captación de dicho elemento, así como varios procesos implicados en el desarrollo de la asociación simbiótica. Todo ello encaminado a desarrollar el potencial de estos organismos como fertilizantes, con objeto de hacerlos aplicables en la agricultura.

FISIOLÓGIA

El efecto principal de las micorrizas VA sobre el crecimiento de las plantas se debe a que el hongo incrementa la capacidad de captar y translocar el fósforo asimilable del suelo a dichas plantas (Mosse, 1973 a, b, 1978; Gerdemann, 1975; Tinker, 1975; Sanders y Hayman, 1977).

La mayor parte del fósforo del suelo se encuentra en forma insoluble o está fuertemente absorbido a partículas del suelo, especialmente a minerales de las arcillas (Mosse, 1973 c). El fosfato es un ión muy lento en su desplazamiento hacia la planta y se encuentra en el suelo en una concentración muy baja (Bielecki, 1973), tanto es así que normal-

mente es menos del 5 por 100 de fósforo total del suelo el disponible para las plantas (Hayman, 1975). La planta al captar fósforo mediante sus raíces ocasiona la formación de una zona de agotamiento de fósforo alrededor de ésta (Mosse, 1973 a, c, 1978; Tinker, 1975), aunque esta zona de agotamiento es rellenada por cesión de fósforo soluble a partir de la fase sólida según el equilibrio siguiente:



Como se deduce del esquema, el fósforo en la solución del suelo es el único inmediatamente asimilable para las plantas (Mosse, 1978), el cual puede ser renovado aproximadamente diez veces al día (Stout y Owestreet, 1950). Sin embargo, en suelos deficientes en fosfatos asimilables, la velocidad de captación de iones por las raíces de las plantas excede a la velocidad a la que se mueven los iones hacia la superficie de la raíz, siendo ésta la causa de que se origine la zona de agotamiento de fósforo y de que se siga manteniendo dicha zona alrededor de la raíz durante el tiempo que ésta permanece funcional.

Por tanto, la captación de fósforo depende: 1) de la cantidad de fósforo presente en la solución del suelo, 2) de la reserva de fósforo absorbido que está en equilibrio con el fósforo de la solución del suelo, y 3) de la velocidad de los iones fósforo desde la solución del suelo a la superficie de la raíz (Mosse, 1973 c). En definitiva, depende primariamente del número de iones fósforo que alcanzan la superficie de la raíz, lo cual, a su vez, depende de su velocidad de difusión en un suelo determinado (Mosse, 1978).

Se han sugerido diversos mecanismos por los que las micorrizas pueden inducir un incremento en la captación y suministro de fósforo a la planta (Tinker, 1975):

1.—La infección por el hongo micorrízico produciría un cambio en la morfología de la raíz, con lo que induciría en la planta una mayor capacidad de captación de fósforo.

2.—El incremento de la captación de fósforo puede deberse a que las raíces micorrizadas tienen mayor longevidad que las no micorrizadas, como órgano absorbente.

3.—El hongo proporciona una mayor superficie de absorción a la planta.

4.—Las raíces micorrizadas o las hifas tienen capacidad para utilizar fuentes de fósforo no disponibles para la raíz no infectada.

En ensayos con P^{32} se ha encontrado que el flujo de entrada de fósforo (inflow), es en las raíces no micorrizadas aproximadamente de 4×10^{-14} moles/cm/s y en las raíces micorrizadas de 18×10^{-14} moles/cm/s (Tinker, 1975), es decir, que la captación de fósforo por unidad de longitud de raíz es cuatro veces superior en raíces micorrizadas. De otro lado, no se ha descrito que las micorrizas induzcan un cambio morfológico apreciable en la raíz, y si ocurre, debe ser poco significativo,

por lo que un flujo de entrada cuatro veces superior no puede explicarse basándose sólo en cambios morfológicos de las plantas micorrizadas.

Así mismo, los cálculos realizados sobre el flujo de entrada indican una actividad incrementada de captación de fósforo por un espacio de tiempo dado, sin necesidad de justificar este incremento por una prolongación del tiempo de actuación (Tinker, 1975). Por otro lado, mediante técnicas que usan isótopos marcados se ha demostrado que es la hifa la que realmente absorbe fósforo y lo transporta a la planta huésped (Hattingh *et al.*, 1973; Peason y Tinker, 1975; Rhodes y Gerdemann, 1975; Cooper y Tinker, 1978).

La diferencia en flujo de entrada entre las raíces micorrizadas y no micorrizadas elimina la posibilidad de que el hongo actúe sólo como un simple órgano de absorción pasivo, así como este mecanismo tampoco justifica el gran aporte de fósforo por parte del endofito a la planta, teniendo en cuenta que las hifas sólo ocupan el 50 por 100 de la superficie total de la raíz.

En cuanto a la capacidad de las raíces micorrizadas o de las hifas para utilizar fuentes de fósforo no disponibles para la raíz no infectada. Es decir, a la posibilidad de que el hongo podría solubilizar o inducir a las raíces infectadas a solubilizar el fosfato insoluble, no disponible para las plantas, se ha demostrado que el hongo es incapaz de captar fósforo de fuentes diferentes a las que utiliza la planta (Sanders y Tinker, 1971, 1973; Hayman y Mosse, 1972; Ross y Gilliam, 1973; Barrow *et al.*, 1977). De hecho, en experimentos realizados con suelo marcado con P^{32} (con lo que todo el fósforo asimilable queda marcado) se observó que la proporción de P^{32}/P^{31} de la planta (actividad específica) en las plantas micorrizadas fue idéntica a la de las plantas no micorrizadas (Sanders y Tinker, 1971; Hayman y Mosse, 1972), lo que demuestra que las plantas micorrizadas y no micorrizadas utilizan fuentes idénticas de fósforo, el «pool» labil del elemento (Bielecki, 1973), aunque estas últimas actúan menos eficazmente (Nye, 1966; Baylis, 1970). Sin embargo, en varios experimentos se ha observado que las plantas micorrizadas crecen mejor que las no micorrizadas cuando a los suelos se les adicionaba fosfato insoluble (Hall, 1976; Powell y Daniel, 1978), concretamente apatito y fosfato tricálcico (Daft y Nicolson, 1966; Murdoch *et al.*, 1967), fosfato de roca (Jackson *et al.*, 1972; Mosse *et al.*, 1976), fosfatos y fitatos de Fe y Al (Hayman y Mosse, 1972; Ross y Gilliam, 1973). Tal vez esto podría explicarse por una captación más efectiva de las pequeñas cantidades de fosfato soluble que va asociado con estos fosfatos, más que por una movilización, por parte del hongo, de la fracción insoluble (Mosse, 1973 c, 1978), ya que las hifas externas posibilitan a la planta para obtener fosfato a partir de un volumen mayor de suelo, puesto que se extienden más allá de la zona de agotamiento de fósforo que se forma alrededor de la raíz (Mosse, 1973 c, 1978; Tinker, 1975; Gerdemann, 1975; Sanders y Hayman, 1977).

Pero los procesos fisiológicos relacionados con la captación y transporte de fósforo por la hifa y su translocación hacia el huésped, así como los mecanismos implicados en el metabolismo del carbono, se conocen muy poco; sin embargo, se han sugerido posibles mecanismos

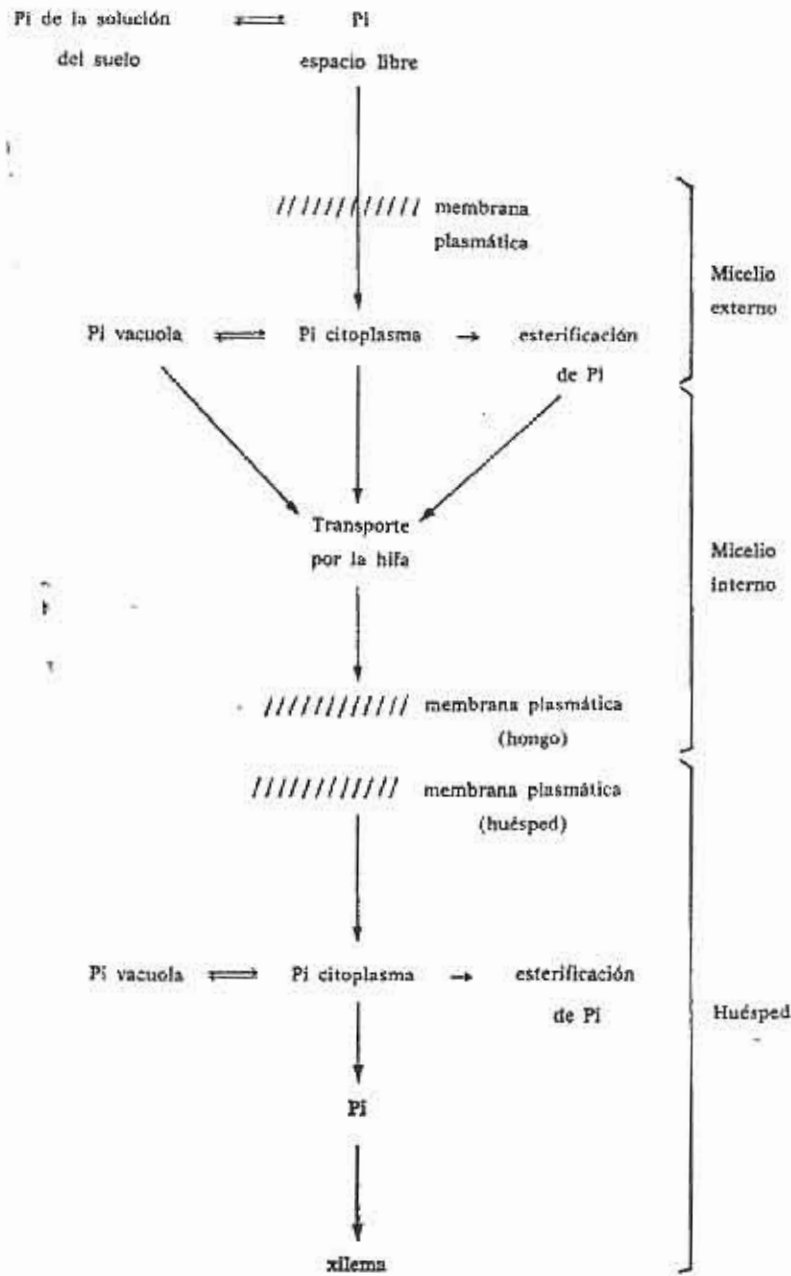
que permiten establecer, al menos, un esquema teórico de estos procesos.

Se sabe que el hongo necesita una fuente carbonada para su crecimiento y desarrollo. Este carbono proviene del fotosintato del huésped (Sanders y Hayman, 1977), ya que su suministro se interrumpe en condiciones de baja iluminación de la planta (Hayman, 1974). La translocación del carbono hacia el micelio externo se ha demostrado en varios experimentos realizados con C^{14} (Ho y Trappe, 1973; Cox *et al.*, 1975). Se ha observado que, al contrario que en otros hongos, el carbono proveniente del huésped no es transportado en forma de trealosa o manitol, ya que no se han detectado ninguno de estos componentes en micorriza VA (Hayman, 1974; Bevege *et al.*, 1975). Por un lado se propone el inositol y el glicerol (Mosse y Phillips, 1971), mientras que por otro, Bevege *et al.*, (1975) proponen la sacarosa y glucosa, como principales azúcares transferidos al hongo, y que niveles bajos de estos azúcares en el hongo mantendrían un gradiente de concentración adecuado para que haya un movimiento pasivo posterior o de difusión facilitada del azúcar. La sacarosa, por ejemplo, se convertiría en glucógeno, el cual mediante un conjunto de sistemas metabólicos existentes en el hongo, tales como TCA, glucólisis, etc. (MacDonald y Lewis, 1978; Cooper y Lösel, 1978), darían lugar a lípidos, proteínas, aminoácidos y ácidos orgánicos. Parece ser que son los lípidos los que actúan como «reservorio» de los azúcares, con objeto de mantener la diferencia de concentración necesaria para su transporte y evitar que éstos vuelvan de nuevo al huésped, tal como indican los trabajos de Cox *et al.* (1975), en los que observan que el carbono marcado derivado del fotosintato aparece a las 27 horas en los lípidos del micelio externo, siendo más abundantes a medida que se alejan del extremo de crecimiento del hongo. Pero, por otro lado, se piensa que es el crecimiento activo y el metabolismo del hongo el que puede actuar como «reservorio» de los carbohidratos (Hayman, 1974).

Es difícil imaginar, sin embargo, que el transporte de carbono del huésped al hongo sea pasivo o de difusión facilitada, pues hay que tener en cuenta que hay un gran flujo en dirección opuesta, debido, entre otros factores, a los mecanismos de transporte del fósforo, como mencionaremos más adelante. Por lo que hay que pensar que el transporte del carbono sea un proceso activo, y que posiblemente el pirofosfato suministrado por el hongo puede servir en los mecanismos de fosforilación necesarios para este transporte activo del carbono del huésped hacia el arbúsculo, mediante una fosforilación directa de los azúcares por un enzima del tipo fosfatasa alcalina, utilizando la energía que suministraría el fósforo inorgánico proveniente del hongo, según el esquema de Kornberg *et al.* (1956), (ver Woolhouse, 1975).

El transporte de este fósforo se realizaría, según el esquema propuesto por Woolhouse (1975). (Ver figura).

La captación de fósforo por la hifa y su circulación por el interior de la misma tiene lugar mediante diferencias de presión originadas en el interior de esta hifa (Tinker, 1975). Una causa posible que explique esta diferencia de presión sería que todo el micelio está en la raíz o en



el suelo y no en contacto con el medio externo aéreo, por lo tanto la transpiración que tenga este micelio debe de ser mínima. El huésped, sin embargo, a través de su parte aérea realiza una gran transpiración, lo que lleva consigo una disminución del potencial de agua entre las células radiculares del huésped y la hifa, la cual puede causar el movimiento neto del contenido de la hifa hacia el huésped, movimiento que será bastante rápido, debido a que las hifas no poseen tabiques que dificulten el transporte.

Se ha calculado que este flujo es del orden de $3,8 \times 10^{-8} - 10^{-9}$ mol/cm², s⁻¹ (Sanders y Tinker, 1973; Pearson y Tinker, 1975).

El transporte en el interior de la hifa será, por tanto, un flujo masivo de sustancias hacia la raíz, generado por estas diferencias de presión. Sin embargo, este mecanismo no explica el movimiento de carbono, en dirección opuesta, en la hifa. De hecho se ha observado corrientes protoplasmáticas que pueden ser mono o bidireccionales (ciclosis) (Callow *et al.*, 1978). Por tanto, hay que concluir que el mecanismo de transporte a través de la hifa sería una combinación entre los mecanismos de ciclosis y flujo (Tinker, 1975).

Una vez que el fósforo penetra en el interior del citoplasma fúngico, las vacuolas fagocitan el fósforo junto con los componentes citoplásmicos, englobando y empacotando el fósforo en forma de gránulos de polifosfato (Cox y Sanders, 1974), hay evidencias de que el secuestro citoplasmático realizado por las vacuolas es específico (Matile y Wiemken, 1976), este polifosfato representa más del 40 por 100 de fósforo presente en el hongo. Estas vacuolas movidas por corrientes citoplasmáticas (flujo más ciclosis) llegan hasta el arbusculo donde descargan el fósforo. Se han observado vacuolas vacías en los extremos del arbusculo, pero no en otra parte del hongo. En el interior de las vacuolas hay fosfatasas alcalinas (Gianinazzi *et al.*, 1979) y quizá estas fosfatasas rompan el polifosfato, liberando Pi, y parte de los productos de esta rotura pueden ser utilizados en la transferencia del fósforo, a través del arbusculo, al huésped.

Se pensaba que el aporte de fósforo podía resultar de la digestión, por parte del huésped, del arbusculo, pero este mecanismo implicaría que sólo habría 1/150 del flujo de fósforo medio por Sanders y Tinker (1973), por lo que la digestión de los arbusculos no parece jugar un papel significativo en la captación de fósforo por micorrizas (Cox y Tinker, 1976).

DINÁMICA DE LA INFECCIÓN

El proceso y desarrollo de la infección de los hongos productores de micorrizas VA en la planta sigue un modelo de tres fases: Fase de latencia, fase logarítmica de desarrollo y fase de estabilización (Peus, 1958; Schraeder, 1958; Sutton, 1973; Rich y Bird, 1974; Khan, 1975 a; Saif, 1977; Sanders y Hayman, 1977).

Fase de latencia.—Está causada posiblemente por el tiempo requerido para la germinación de esporas, crecimiento del tubo germinal

y penetración del huésped por el hongo (Sutton, 1973; Saif, 1977). La disminución del número de esporas durante las primeras semanas después de la inoculación es debido, posiblemente, a la germinación de éstas y al posterior decaimiento de las esporas germinadas; sin embargo, Clarke y Mosse (1978) en experimentos con trébol inoculado con esporas de *G. macrocarpus* var. *Geosporus* observan que el número de esporas no disminuye cuando germinan ni cuando comienza la infección, y, además, el número de esporas aumenta rápidamente a medida que lo hace la infección.

Esta fase tiene una duración aproximada de 20 a 30 días después de realizarse la inoculación (Sutton, 1973; Saif, 1977), aunque varía según el tipo de planta huésped (Peus, 1958; Rich y Bird, 1974), dándose el caso de plantas en las que las micorrizas se desarrollan cuando éstas están aún en estado de cotiledón (Read *et al.*, 1976).

Fase logarítmica.—Esta fase se puede asociar con la formación de un micelio extenso en el suelo, producido por las sucesivas germinaciones de las esporas existentes en él, puesto de manifiesto por la cantidad de hifas que permanecen adheridas a las raíces durante su cosecha, desde las cuales se producen estructuras de penetración que inician la infección; así como también se puede asociar con los puntos jóvenes de entrada establecidos durante la fase de latencia que se van extendiendo de célula a célula mediante el desarrollo de la hifa, formando gran número de arbuscúlos. Después de 4-8 semanas de crecimiento se forman nuevas esporas en la vecindad de las raíces, las cuales pueden germinar e infectar nuevas raíces, causando, por tanto, la colonización rápida que caracteriza esta fase (Sutton, 1973; Saif, 1977).

Fase de estabilización.—A partir de 30-60 días, según el tipo de planta, se produce una limitación y estabilización del porcentaje de raíces micorrizadas (Peus, 1958; Sutton, 1973; Rich y Bird, 1974; Saif, 1977), las cuales alcanzan normalmente un grado de infección del 50-80 por 100, excediendo rara vez del 80 por 100. Esta estabilización puede deberse a los cambios fisiológicos que se producen en la raíz del huésped, normalmente relacionados con el crecimiento reproductor del mismo, que pueden restringir directa o indirectamente el crecimiento del endofito de la raíz y prevenir nuevas infecciones (Sutton, 1973; Koske *et al.*, 1975; Saif, 1977). Sin embargo, hay algunas plantas en las que no se ha encontrado fase de estabilización (Sutton, 1973; Saif, 1977).

La proporción de arbuscúlos a vesículas también está influenciada por el estado de desarrollo de las plantas. Durante el período de crecimiento activo, la infección es preferentemente arbuscular, debido a la disponibilidad de células corticales jóvenes de las raíces nuevas. Después, en la etapa de floración/fructificación, la producción de arbuscúlos disminuye y la de vesículas se incrementa (Saif, 1977).

La producción de esporas sigue un curso muy similar al desarrollo de la infección (Furlan y Fortin, 1973).

Este modelo se da en el invernadero y en el campo, aunque en este último la intensidad de infección es menor y el desarrollo de las tres fases es más variado, como era de esperar en condiciones más variables y con incidencia de más factores (Sutton, 1973; Rich y Bird, 1974; Khan, 1975 b; Saif, 1977).

Según los datos obtenidos, la evolución de la infección parece depender fundamentalmente del tipo y desarrollo de la planta, pues bajo condiciones más controladas se observa que el desarrollo de la curva de infección depende, entre otros factores, de la luz y de la temperatura, ya que a temperaturas bajas la fase de latencia se alarga (Furlan y Fortín, 1973), y cuando la luz es más intensa y rica en rayos ultravioletas se produce una mayor micorrización (Peyronel, 1940) y, por el contrario, disminuye cuando la intensidad de la luz es muy baja (Redhead, 1975). No obstante, no se sabe si estos factores actúan directamente sobre el hongo o si lo hacen a través de la planta, los cuales, a su vez, repercuten sobre el hongo, ya que Hayman (1974) encuentra que la luz, temperatura y fotoperíodo, aunque afectan de una forma más directa sobre la planta que sobre el hongo en sí, también actúan directamente sobre la interacción entre hongo y huésped, produciéndose una mayor infección en plantas que recibían una intensidad de 25.000 lux y con un fotoperíodo de 12-18 horas y una temperatura de 23° C.

Para estudiar estos procesos han sido necesarias la utilización de una serie de técnicas que permitieran observar y estimar la infección producida por el hongo en el interior de la raíz, las más comunes son la de clarificación y tinción de Phillips y Hayman (1970), combinada con el método de «root slide» de Nicolson (1959). Más recientemente, se han puesto a punto otra serie de técnicas especialmente de tipo colorimétrico, basándose en la producción de un pigmento amarillo por parte de las raíces micorrizadas (Becker y Gerdemann, 1977) o en la producción de un color azul más intenso, basado en la conversión de la quitina fúngica en glucosamina (Hepper, 1977), frente a los controles no micorrizados, pero estas técnicas son útiles sólo en experimentos cortos y realizados bajo condiciones controladas, y, además, no permiten la observación de los distintos componentes fúngicos.

La mayor o menor infección de una planta por micorrizas VA se ha estimado considerando diversos parámetros. Unos autores lo hacen mediante el recuento de raíces o segmentos de raíces infectadas (Johnston, 1949; Peus, 1958; Nicolson, 1960; Daft y Nicolson, 1966, 1972; Mosse y Phillips, 1971), midiendo la longitud de las raíces infectadas (Johnston, 1949; Mosse *et al.*, 1969), o estimando la densidad o intensidad de infección o desarrollo intracelular (Johnston, 1949; Sievers, 1958; Mosse, 1959; Ross y Haper, 1973; Hayman, 1974). Mientras que otros autores se limitan a estimar la proporción de los distintos elementos fúngicos como son el número o abundancia relativa de micelio externo o interno, arbusculos y vesículas (Nicolson, 1960; Koch, 1961; Hayman, 1970; Mosse y Phillips, 1971), o contando el número de puntos de entrada por unidad de longitud de raíz (Mosse, 1959). Finalmente, otros autores miden la infección considerando conjuntamente la densidad e intensidad de infección, abundancia de micelio externo e interno, número de vesículas, de puntos de entrada y proporción de arbusculos, por unidad de longitud de raíz (Ocampo *et al.*, 1980).

EFFECTO SOBRE EL CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS

Las plantas micorrizadas crecen más y mejor que las no micorrizadas, debido a que las micorrizas intervienen en la absorción de elemen-

tos inorgánicos, a partir del suelo, sobre todo fósforo, que favorecen el crecimiento de sus huéspedes (Nicolson, 1967; Gerdemann, 1968, 1970; Harley, 1969), bajo ciertas condiciones (Khan, 1972 a), ya que, por ejemplo, las micorrizas favorecen más a las plantas huéspedes en suelos con poco fósforo disponible (Mosse, 1973 a). Pero, además, en algunos casos no sólo incrementan el crecimiento, sino que influyen en la longevidad de las plantas infectadas (Janos, 1977).

El efecto sobre el crecimiento por micorrizas se han estudiado y se sigue estudiando en muchas especies de plantas, bajo diversas condiciones, en diversos lugares y con diferentes razas de endofitos (Mosse, 1973 a, 1976, 1978; Gerdemann, 1975).

Los métodos de inoculación realizados para estudiar el efecto de las micorrizas VA sobre el crecimiento de las plantas han sido muy diversos. Se han hecho inoculaciones de suelo estéril con una pequeña cantidad de suelo no estéril, donde iban esporas y trozos de raíces infectadas (Asai, 1943; Neil, 1944; Laycock, 1945; Johnston, 1949; Sievers, 1953), o inoculando trozos de raíces micorrizadas obtenidas a partir de plantas infectadas (Peus, 1958; Winter y Meloh, 1958; Meloh, 1963; Murdoch *et al.*, 1967) o bien a partir de un cultivo puro de esporas obtenido en macetas (Gerdemann, 1955), o inoculando trozos de raíces infectadas, lavadas y homogeneizadas, las cuales previamente habían sido esterilizadas con hipoclorito sódico (Koucheki, 1973; Koucheki y Read, 1976). Otro método consiste en trasplantar plantulillas previamente infectadas al suelo en el que se realiza el experimento (Mosse y Hayman, 1971; Khan, 1972 b, 1975 a), o haciendo crecer las plantas en un suelo que ya tiene el hongo VA (Baylis, 1959, 1967). Otros autores colocan esporas, suelo tamizado o raíces infectadas, cerca de las plantulillas (Janos, 1975; Redhead, 1975), o suelo infectado empaquetado junto con las semillas de las plantas en tiras de papel celulósico (Hayman, resultados no publicados), o envuelven las semillas, hasta formar unas esferas, con suelo infectado, fresco (Hattingh y Gerdemann, 1975), o liofilizado (Jackson *et al.*, 1972). Mientras que otros autores utilizan la inoculación sólo de esporas y esporocarpos (Mosse, 1962, 1967; Gerdemann, 1964, 1965; Daft y Nicolson, 1966; Holevas, 1966; Khan, 1972 b, 1975 a).

No obstante, no parece haber diferencias en los resultados de infección usando distintos métodos de inoculación (Gaunt, 1978).

Los estudios sobre el crecimiento de las plantas se han realizado principalmente en invernadero con suelo estéril, y se han obtenido generalmente respuestas positivas, aunque en algunos casos las respuestas han sido negativas o nulas (Mosse, 1973 a, 1976), siendo las especies de plantas y los niveles de fósforo disponibles en el medio los dos factores más importantes que determinaron la respuesta de la planta a las micorrizas.

Con suelo no estéril también se han realizado experimentos, en macetas (Mosse *et al.*, 1969; Hayman y Mosse, 1971; Mosse y Hayman, 1971; Koucheki y Read, 1976; Mosse, 1977) y en largos contenedores (Jackson *et al.*, 1972; Janos, 1975; Redhead, 1975), inoculadas con micorrizas VA, las respuestas obtenidas son menos predecibles y más variables que en suelos estériles (Mosse, 1977). Por otro lado, se han obtenido buenos

resultados plantando plantuillas previamente infectadas con el hongo VA (Mosse *et al.*, 1969; Hayman y Mosse, 1971; Mosse y Hayman, 1971).

En experimentos realizados en el campo las respuestas han sido menos espectaculares que en el invernadero, aunque se han obtenido buenos resultados en suelos previamente fumigados con objeto de eliminar los endofitos indígenas (Ross y Harper, 1970; Ross, 1971; Kleinschmidt y Gerdemann, 1972; Schenck y Hinson, 1973; La Rue *et al.*, 1975). En suelos naturales, no tratados con fumigantes, se han obtenido incrementos en las cosechas de las plantas micorrizadas de trigo y maíz (Khan, 1975 b) y patata (Black y Tinker, 1977), posiblemente debido a que la competición con las micorrizas autóctonas es muy pequeña, ya que en suelos no estériles el nivel de endofitos indígenas más que el fósforo del suelo, parece determinar la respuesta a la inoculación con micorrizas VA (Mosse, 1977), por lo que para que la inoculación en el campo sea efectiva, parece ser necesario el empleo de un hongo efectivo y competitivo (Mosse y Hayman, 1971; Mosse *et al.*, 1976; Mosse, 1977; Powell, 1977; Azcon *et al.*, 1978 a, b; Powell y Daniels, 1978).

En estos últimos años se ha prestado especial atención al efecto de las micorrizas VA sobre las leguminosas, aunque algunos autores ya postularon que las legumbres que crecen tanto en suelos cultivados como en suelos naturales, forman normalmente micorrizas VA (Jones, 1924; Samuel, 1926; Asai, 1944; Strzemska, 1969 a, b, 1970). Asai (1944), demostró que varias legumbres crecen pobremente y no nodulan en suelos esterilizados si no están micorrizadas. Y aunque se ha encontrado que las especies de leguminosas difieren en su respuesta de crecimiento a la infección micorrízica, como el caso de *Lotus pedunculatus* (Crush, 1974), y *Lupinus consentini* (Trinick, 1977), que crecen y nodulan bien en suelos deficientes en fósforo, a pesar de que no se infectan o se infectan muy pobremente, la mayoría de las legumbres no crecen bien y no forman nódulos, a no ser que estén micorrizadas o se les suministre una fuente adecuada de fósforo, como se ha comprobado recientemente (Ross y Harper, 1970; Ross, 1971; Daft y El-Giahmi, 1974, 1975; El-Giahmi, *et al.*, 1976; Mosse, 1977; Khan, 1978).

Los efectos de las micorrizas VA sobre el crecimiento y nodulación de las leguminosas ha sido estudiado en invernadero, en suelos esterilizados y no esterilizados (Mosse *et al.*, 1976; Mosse, 1977). Con suelo no estéril, hay una relación inversa entre el tamaño del incremento de la planta y la extensión de la infección VA producida por el hongo indígena presente en ese suelo. Sin embargo, el endofito introducido incrementa el crecimiento de la planta, pues casi siempre resulta más competitivo.

En el campo, en suelos fumigados, también se han obtenido incrementos en cosecha (Ross y Harper, 1970; Ross, 1971; Schenck y Hinson, 1973). Por el contrario, en suelos naturales no fumigados, Jackson *et al.* (1972) no obtienen incremento en cosecha de soja, mientras que G. de Aguilar *et al.* (1979), observan un aumento en el crecimiento de las plantas de alfalfa inoculadas conjuntamente con endofitos VA y *Rhizobium*, con respecto a los controles.

La acción positiva de las micorrizas VA sobre la nodulación se ha atribuido a una mejor nutrición fosforada del huésped (Crush, 1974;

Daft y El-Giahmi, 1974, 1975). No obstante, en experimentos con guisante, Daft y El-Giahmi (1974) demuestran que las micorrizas provocan nódulos que superaban un 10 por 100 en peso a los obtenidos cuando se añadía fósforo. Esto puede indicar que, aunque el principal efecto de micorrizas sobre las plantas es la captación de fósforo, pueden existir otros factores.

En otro orden de cosas, se ha observado que la respuesta al crecimiento del vegetal está relacionada y sigue un modelo similar al que desarrolla la infección. Inicialmente, no hay diferencias entre plantas micorrizadas y no micorrizadas, pero a medida que aumenta la infección, la velocidad de crecimiento relativa de las plantas micorrizadas también se incrementa a valores muy altos. Si el desarrollo de la infección se retrasa, también lo hace la respuesta de la planta huésped (Sanders y Hayman, 1977).

En el campo esta respuesta del huésped sigue un modelo similar al de invernadero, habiendo una correlación positiva entre infección VA y crecimiento de la planta, aunque sólo puede basarse en una suposición, ya que en el campo no hay controles no micorrizados, a menos que se realicen tratamientos drásticos de esterilización (Hayman, 1970; Sanders y Hayman, 1977).

Esta correlación positiva entre el nivel de infección en la raíz y el incremento en el crecimiento de la planta se ha puesto de manifiesto en experimentos con trigo, maíz (Khan, 1972 b, 1975 a, b), *Liriodendron* (Starkey y Brown, 1977) y algodón (Rich y Bird, 1974). Sin embargo, los datos del porcentaje de la infección pueden llevar a conclusiones erróneas, ya que los beneficios a partir de una raza determinada no están siempre en relación directa con la extensión de la infección de la raíz causada por ésta (Mosse, 1972 a; Meyer, 1973; Sutton, 1973; Powell, 1976; Abbott y Robson, 1977).

Es más significativo relacionar la extensión de la infección con el tamaño del sistema radicular cuando se examinan las respuestas del crecimiento de las plantas (Meyer, 1973; Abbott y Robson, 1977). Sutton (1973) propone que la estimación del grado de micorrización expresada en función del peso seco de raíces micorrizadas y no micorrizadas por planta daría una medida más realista y significativa del nivel de micorrizas en el huésped; de hecho, algunos autores (Azcón-G. de Aguilar y Barea, 1978) utilizan el parámetro de «mg de raíz infectada» como estimación de la micorrización de la planta.

CAPTACIÓN DE OTROS ELEMENTOS

Nitrógeno

Todavía no se han encontrado pruebas claras de que los hongos productores de micorrizas VA sean capaces de fijar N_2 (Gerdemann, 1975), pues los resultados obtenidos son un tanto contradictorios, ya que por un lado, se ha observado que las plantas micorrizadas poseían una concentración de N_2 inferior a las plantas controles no micorrizadas (Baylis, 1959, 1967), mientras que por otro se ha obtenido el caso contrario (Ross y Harper, 1970; Ross, 1971), y finalmente, Schenck y Hinson

(1973) obtienen un incremento mayor en el crecimiento de las plantas micorrizadas, pero, sin embargo, la concentración de N_2 en estas plantas no fue superior a la de las plantas no micorrizadas, concluyendo de esa forma que las micorrizas VA favorecen el crecimiento de las plantas, pero no la fijación de N_2 por éstas.

Agua

Safir *et al.* (1971, 1972), encuentran que las micorrizas mejoran la captación de agua por parte de las plantas, pero más que por un efecto directo parece que lo hacen como consecuencia de la mejor captación de fósforo (Safir *et al.*, 1972).

Otros nutrientes

Se han realizado muchos trabajos para ver la posible influencia de las micorrizas VA sobre la captación de K, Ca, Na, Mg, Fe, Mn, Cu, B, Zn y Al (ver Mosse, 1973 a), pero no encontraron ningún efecto significativo de las micorrizas sobre la captación de esos elementos.

Sin embargo, posteriormente se encuentra que hay una captación significativa por parte de las plantas micorrizadas de: Zn (Bowen *et al.*, 1974; La Rue *et al.*, 1975), S (Gray y Gerdemann, 1973; Rhodes y Gerdemann, 1978 a), Sr (Jackson *et al.*, 1973), K (Powell, 1975), Cu (Mosse, 1973 b), Mn (Daft y Hascakaylo, 1977), Ca (Rhodes y Gerdemann, 1978 b) y Mo (Hayman y Day, 1978). También se ha descrito que las micorrizas pueden facilitar la captación de iones al incrementar la permeabilidad de las membranas celulares de la raíz favoreciendo así el crecimiento de la planta (Ho, 1977). Por lo que el papel de las micorrizas en la captación de otros elementos distintos del fósforo necesita ser estudiado más cuidadosamente. Asimismo, las micorrizas parecen favorecer e incrementar la producción de algunos fitoesteroides tales como colesterol y campesterol, aunque no de stigmasterol y β -sitosterol, los cuales son precursores de hormonas esteroideas (Ho, 1977).

ESPECIFICIDAD

Experimentos de inoculación con esporas, cuya superficie había sido esterilizada previamente, han confirmado que la mayoría de los endofitos son capaces de infectar un espectro muy amplio de huéspedes (Mosse, 1973 a), por lo que se dudaba si tenían algún tipo de especificidad.

En estudios realizados para ver el efecto de diferentes tipos de esporas sobre el crecimiento de las plantas huésped, se encontró que un endofito VA mejoraba el crecimiento de maíz y avena en arena con una solución nutritiva determinada, mientras que con otra lo disminuía (Meloh, 1963). De otro lado, Daft y Nicolson (1966) encontraron que tres tipos de esporas de Endogonáceas diferían muy poco en sus efectos sobre maíz, tomate y tabaco cultivados en arena.

Las primeras indicaciones obtenidas sobre la diferencia de efectos de diferentes endofitos tuvieron lugar al observar que el hongo indígena era siempre menos efectivo que el hongo aislado en el laboratorio (Mosse y Hayman, 1971; Mosse, 1975; Powell, 1976), e incluso se vio que la infección producida por el endofito indígena poseía un aspecto anatómico diferente, con hifas más estrechas (Mosse y Hayman, 1971). Más recientemente se ha puesto de manifiesto que no sólo hay variación entre distintas especies de hongos micorrízicos, sino que dentro de una misma especie hay diferencias en cuanto a su efectividad de germinación y morfología (Carling *et al.*, 1977; Daniels, 1977).

La planta también juega un papel en la especificidad, ya que algunas especies de endofitos son más beneficiosos, para un huésped particular en un suelo dado, que otras (Ramírez *et al.*, 1975; Sanders *et al.*, 1977; Schenck *et al.*, 1977). En algunos casos la especificidad se da incluso entre variedades de plantas, tal como ocurre con algodón, en el cual Metcalf (1977) observa una gran variación en la infección cuando se inoculan con *G. fasciculatus*. Sin embargo, no hay diferencia en la respuesta de distintas variedades de soja (Carling *et al.*, 1977) ni de *Festuca* (Molina *et al.*, 1978) a la infección producida por distintos hongos VA.

No obstante, se ha observado esporas que son independientes del tipo de planta en cuanto a favorecer el crecimiento, longitud de la raíz, captación de fósforo y nitrógeno e intensidad de infección de dichas plantas (Mosse, 1972 a, b; Abbott y Robson, 1977; Hughes *et al.*, 1978; Ocampo *et al.*, 1980). A veces los beneficios de una raza particular no están correlacionados con la extensión de la infección de la raíz causada por ésta (Mosse, 1972 a), tal es lo que sucede, por ejemplo, en plantas de *Coprosma*, en la que las esporas de *Glomus* infectan a la mayoría de las plantas utilizadas, mientras que *Acaulospora* sólo infectaba una cuarta parte de éstas; sin embargo, el nivel de fósforo en la parte aérea de las plantas cosechadas fue similar en las plantas infectadas con *Glomus* que con *Acaulospora*, a pesar del menor nivel de infección producido por esta última, lo que sugiere que *Acaulospora* fue eficiente una vez que se estableció, y que la superioridad de *Glomus* dependió sólo de una infección más rápida.

Por otro lado, parece ser que el suelo juega un papel más determinante que la planta en la efectividad de las esporas (Schenck y Tucker, 1974; Starkey y Brow, 1977), por ejemplo, *G. mosseae* y *G. macrocarpus* var. *Geosporus*, que son independientes del tipo de planta, son dependientes del pH del suelo (Mosse, 1972 b). Por el contrario, hay esporas independientes del tipo de suelo (Mosse, 1972 b).

Estos resultados indican que cierto tipo de especificidad existe en micorrizas VA, y que algunas especies de Endogonáceas son más beneficiosas que otras. Pero aunque la efectividad de una raza parece depender más de un suelo particular que de una planta huésped determinada, los datos que se conocen no permiten establecer todavía una conclusión definitiva sobre qué factores son los determinantes de esta especificidad.

RESUMEN

MICORRIZAS VA. II. EFECTO SOBRE EL CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS

Las micorrizas VA incrementan el crecimiento de las plantas principalmente mediante la captación de P por su micelio externo. En esta revisión se estudia la dinámica y la especificidad de la infección, así como la fisiología de la captación de P en esta asociación simbiótica. También se destaca de forma preferente el efecto de las micorrizas VA en el crecimiento y nutrición de las plantas.

*Estación Experimental del Zaidín. Granada.
Departamento de Microbiología.*

BIBLIOGRAFÍA

- ABBOTT, L. K., & ROBSON, A. D. (1977). Growth stimulation of subterranean clover with vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Aust. J. Agri. Res.* 28, 639-649.
- ASAI, T. (1943). Die bedeutung der mykorrhiza für das pflanzenleben. *Jap. J. Bot.* 12, 359-436.
- ASAI, T. (1944). Über die mykorrhizenbildung der leguminosen pflanzen. *Jap. J. Bot.* 13, 463-485.
- AZCÓN, R.; BAREA, J. M., y MONTOYA, E. (1978 a). Fertilización biológica con micorrizas «VA» y fosfobacterias. I. Efecto de la adición de fosfato sobre el crecimiento y nutrición de *Lavandula spica L.* y establecimiento de la simbiosis «VA». *Ann. Edaf. y Agrobiol.* 37, 92-98.
- AZCÓN, R.; BAREA, J. M., y MONTOYA, E. (1978 b). Fertilización biológica con micorrizas «VA» y fosfobacterias. II. Influencia del estercolado y época de aplicación de fosfato sobre la micorrización de *Lavandula spica L.* en semillero. *Ann. Edaf. y Agrobiol.* 37, 99-104.
- AZCÓN-G. DE AGUILAR, C.; AZCÓN, R., & BAREA, J. M. (1979). Endomycorrhizal fungi and *Rhizobium* as biological fertilisers for *Medicago sativa* in normal cultivation. *Nature.* 279, 325-327.
- AZCÓN-G. AGUILAR, C., & BAREA, J. M. (1978). Effect of interactions between different culture fraction of «phosphobacteria» and *Rhizobium* on mycorrhizal infection, growth and nodulation of *Medicago sativa*. *Can. J. Microbiol.* 24, 520-524.
- BARKOW, N. J.; MALAJCZUK, N., & SHAW, T. C. (1977). A direct test of the ability of vesicular-arbuscular mycorrhiza to help plant take up fixed soil phosphate. *New Phytol.* 78, 269-276.
- BAYLIS, G. T. S. (1959). Effect of vesicular-arbuscular micorrizas on growth of *Griselinia littoralis* (Cornaceae). *New Phytol.* 58, 274-280.
- BAYLIS, G. T. S. (1967). Experiments on the ecological significance of phycomycetous micorrizas. *New Phytol.* 66, 231-243.
- BAYLIS, G. T. S. (1970). Roots hairs and phycomycetous micorrizas in phosphorus-deficient soil. *Plant Soil.* 33, 713-716.
- BECKER, W. N., & GERDEMANN, J. W. (1977). Colorimetric quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in onion. *New Phytol.* 78, 289-295.
- BEVILL, D. I.; BOWEN, C. D., & SKINNER, M. F. (1975). Comparative carbohydrate physiology of ecto and endomycorrhizas. In: *Endomycorrhizas*. Ed. F. E. Sanders, B. Mosse and P. B. Tinker. Academic Press, London, pp. 149-174.

- BIELESKI, R. L. (1973). Phosphate pools, phosphate transport and phosphate availability. *A. Rev. Pl. Physiol.* 24, 225-252.
- BLACK, R. L. B., & TINKER, P. B. (1977). Interaction between effects of vesicular-arbuscular mycorrhiza and fertilizer phosphorus on yields of potatoes in the field. *Nature*, 267, 510-511.
- BOWEN, C. D.; SKINNER, M. F., & BEVEGE, D. J. (1974). Zinc uptake by mycorrhizal and uninfected roots of *Pinus radiata* and *Araucaria cunninghamii*. *Soil Biol. Biochem.* 6, 141-144.
- CALLOW, J. A.; CAPACCIO, L. C. M.; PARISH, G., & TINKER, P. B. (1978). Detection and estimation of polyphosphate in VA mycorrhizas. *New Phytol.* 80, 125-134.
- CARLING, D.-E.; BROWN, R. A.; ROWELL, A. L., & BROWN, M. F. (1977). Comparative studies of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on soybean. Abstracts, Third Amer. Conf. on Mycorrhizae, p. 73.
- CLARKE, C. A., & MOSSE, B. (1978). Recovery of VA mycorrhizal spores after germination. Rothamsted Report for 1977. Part. I, p. 239.
- COOPER, K. M., & LÖSEL, D. M. (1978). Lipid physiology of vesicular-arbuscular mycorrhiza. I. Composition of lipids in roots of onion, clover and rygrass infected with *Glomus mosseae*. *New Phytol.* 80, 143-151.
- COOPER, K. M., & TINKER, P. B. (1978). Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. II. Uptake and translocation of phosphorus, zinc and sulphur. 81, 43-52.
- COX, G., & SANDERS, F. E. (1974). Ultrastructure of the host-fungus interface in a vesicular-arbuscular mycorrhiza. *New Phytol.* 73, 901-912.
- COX, G.; SANDERS, F. E.; TINKER, P. B., & WILD, J. A. (1975). Ultrastructural evidence relating to host-endophyte transfer in a vesicular-arbuscular mycorrhiza. In: *Endomycorrhizas*. Ed. F. E. Sanders, B. Mosse and P. B. Tinker. Academic Press. London, pp. 297-312.
- COX, G., & TINKER, P. B. (1976). Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. I. The arbuscule and phosphorus transfer: A quantitative ultrastructural study. *New Phytol.* 77, 371-378.
- CRUSH, J. R. (1974). Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. VII. Growth and nodulation of some herbage legumes. *New Phytol.* 73, 743-749.
- DAFT, M. J., & EL-GIAHMI, A. A. (1974). Effect of *Endogone* mycorrhiza on plant growth. VII. Influence of infection on the growth and nodulation in French bean (*Phaseolus vulgaris*). *New Phytol.* 73, 1.139-1.147.
- DAFT, M. J., & EL-GIAHMI, A. A. (1975). Effects of *Glomus* infection on three legumes. In: *Endomycorrhizas*. Ed. F. E. Sanders, B. Mosse and P. B. Tinker. Academic Press. London, pp. 582-592.
- DAFT, M. J., & HACSKEYLO, E. (1977). Growth of endomycorrhizal and nonmycorrhizal red maple seedlings in sand and anthracite spoil. *Forest Sci.* 23, 207-216.
- DAFT, M. J., & NICOLSON, T. H. (1966). Effect of *Endogone* mycorrhiza on plant growth. II. Influence of soluble phosphate on endophyte and host in maize. *New Phytol.* 65, 343-350.
- DAFT, M. J., & NICOLSON, T. H. (1972). Effect of *Endogone* mycorrhiza on plant growth. IV. Quantitative relationships between the growth of the host and the development of the endophyte in tomato and maize. *New Phytol.* 71, 287-295.
- DANTELS, B. A. (1977). Spore germination of endomycorrhizal species. Ecotypic variation. Abstracts. Third Amer. Conf. on Mycorrhizae. Georgia, p. 74.
- EL-GIAHMI, A. A.; NICOLSON, T. H., & DAFT, M. J. (1975). Endomycorrhizal fungi from Libyan soil. *Trans. Br. mycol. Soc.* 67, 164-169.

- FURLAN, V., & FORTIN, J. A. (1973). Formation of endomycorrhizae by *Endogone calospora* on *Allium cepa* under three temperature regimenes. *Naturaliste can* 100, 467-477.
- GAUNT, R. E. (1978). Inoculation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on onion and tomato seeds. *New Z. J. Bot.* 16, 69-71.
- GERDEMANN, J. W. (1955). Relation of a large soil-borne spore to phycomycetous mycorrhizal infections. *Mycologia.* 47, 619-632.
- GERDEMANN, J. W. (1964). The effect of mycorrhiza on the growth of maize. *Mycologia.* 56, 342-349.
- GERDEMANN, J. W. (1965). Vesicular-arbuscular mycorrhizae formed on maize and tulip-tree by *Endogone*. *Mycologia.* 57, 562-575.
- GERDEMANN, J. W. (1968). Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. *Ann. Rev. Phytopathol.* 6, 397-418.
- GERDEMANN, J. W. (1970). The significance of vesicular-arbuscular mycorrhiza in plant nutrition. In: *Root Diseases and Soilborne Pathogens*. Ed. T. A. Toussoun, R. V. Bega and P. E. Nelson. U. of Calif. Press. Berkeley. pp. 125-129.
- GERDEMANN, J. W. (1975). Vesicular-arbuscular mycorrhiza. In: *The development and function of root*. Ed. J. G. Torrey and D. T. Clarkson. Academic Press. New York, pp. 575-591.
- GIANINAZZI, S.; GIANINAZZI-PEARSON, V., & DEXHEIMER, J. (1979). Enzymatic studies on the metabolism of vesicular-arbuscular mycorrhiza. III. Ultrastructural localization of acid and alkaline phosphatase in onion roots infected by *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd). *New Phytol.* 8.
- GRAY, L. E., & GERDEMANN, J. (1973). Uptake of sulphur-35 by vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Plant Soil.* 39, 687-689.
- HALL, I. R. (1976). Response of *Coprosma robusta* of endomycorrhizal inoculum. *Trans. Br. mycol. Soc.* 67, 409-411.
- HARLEY, J. L. (1969). *The biology of mycorrhiza*. 2nd ed. Leonard Hill. London.
- HATTINGH, M. J., & GERDEMANN, J. W. (1975). Inoculation of Brazilian sour orange seed with an endomycorrhizal fungus. *Phytopathol.* 65, 1.013-1.016.
- HATTINGH, M. J.; GRAY, L. E., & GERDEMANN, J. W. (1973). Uptake and translocation of ³²P labeled phosphate to onion roots by endomycorrhizal fungi. *Soil Sci.* 116, 383-387.
- HAYMAN, D. S. (1970). *Endogone* spore numbers in soil and vesicular-arbuscular mycorrhiza in wheat as influenced by season and soil treatment. *Trans. Br. mycol. Soc.* 54, 53-63.
- HAYMAN, D. S. (1974). Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. III. Effect of light and temperature. *New Phytol.* 73, 71-80.
- HAYMAN, D. S. (1975). The occurrence of mycorrhiza in crops as affected by soil fertility. In: *Endomycorrhizas*. Ed. F. E. Sanders, B. Mosse and P. B. Tinker. Academic Press. London. pp. 495-509.
- HAYMAN, D. S., & DAY, J. M. (1978). Uptake of molybdenum. *Rothamsted Report for 1977*. Part 1, p. 240.
- HAYMAN, D. S., & MOSSE, B. (1971). Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. I. Growth of *Endogone* inoculated plants in phosphate-deficient soils. *New Phytol.* 70, 19-27.
- HAYMAN, D. S., & MOSSE, B. (1972). Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. III. Increased uptake of labile P from soil. *New Phytol.* 71, 41-47.

- HEPPER, C. M. (1977). A colorimetric method for estimating vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *Soil Biol. Biochem.* 9, 15-18.
- HO, I. (1977). Phytosterols in root systems of mycorrhizal and nonmycorrhizal *Zea mays* L. *Lloydia*. 40, 476-478.
- HO, I., & TRAPPE, J. M. (1973). Translocation of ^{14}C from *Festuca* plants to their endomycorrhizal fungi. *Nature New Biol.* 244, 30-31.
- HOLEVAS, C. D. (1966). The effect of a vesicular-arbuscular mycorrhiza on the uptake of soil phosphorus by strawberry (*Fragaria* sp. var. Cambridge Favorite). *J. Hort. Sci.* 41, 57-64.
- HUGHES, M.; MARTIN, L. W., & BREEN, P. J. (1978). Mycorrhizal influence on the nutrition of strawberries. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 103, 179-181.
- JACKSON, H. E.; MILLER, R. H., & FRANKLIN, R. E. (1973). The influence of vesicular-arbuscular mycorrhiza on uptake of ^{87}Sr from soil by soybeans. *Soil Biol. Biochem.* 5, 205-212.
- JACKSON, N. E.; FRANKLIN, R. E., & MILLER, R. H. (1972). Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on growth and phosphorus content of three agronomic crops. *Soil Sci. Am. Proc.* 36, 64-67.
- JANDS, D. P. (1975). Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizae on lowland tropical rainforest trees. In: *Endomycorrhizas*. Ed. F. E. Sanders, B. Mosse and P. B. Tinker. Academic Press. London, pp. 437-446.
- JANDS, D. P. (1977). Vesicular-arbuscular mycorrhizae affect the growth of *Bacris gasipaes*. *Principes J. Palm. Soc.* 21, 12-18.
- JOHNSTON, A. (1949). Vesicular-arbuscular mycorrhiza in Sea Island cotton and other tropical plants. *Trop. Agric.* 26, 118-121.
- JONES, F. R. (1924). A mycorrhizal fungus in the roots of legumes and some other plants. *J. Agric. Res.* 29, 459-470.
- KHAN, A. G. (1972 a). Mycorrhizae and their significance in plant nutrition. *Biologia*. 42-78.
- KHAN, A. G. (1972 b). The effect of vesicular-arbuscular mycorrhiza on growth of cereals. I. Effects on maize growth. *New Phytol.* 71, 613-619.
- KHAN, A. G. (1975 a). The effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal associations on growth of cereals. II. Effect on wheat growth. *Ann. app. Biol.* 80, 27-36.
- KHAN, A. G. (1975 b). Growth effects of VA mycorrhiza on crops in the field. In: *Endomycorrhizas*. Ed. F. E. Sanders, B. Mosse and P. B. Tinker. Academic Press. London, pp. 419-435.
- KHAN, A. G. (1978). Vesicular-arbuscular mycorrhizas in plants colonizing black wastes from bituminous coal mining in the Illawarra region of New South Wales. *New Phytol.* 8.
- KLEINSCHMIDT, G. D., & GERDEMANN, J. W. (1972). Stunting of citrus seedlings in fumigated nursery soils related to the absence of endomycorrhiza. *Phytopathol.* 62, 1447-1453.
- KOCH, H. (1961). Untersuchungen über die Mykorrhiza der Kulturpflanzen unter besonderer Berücksichtigung von *Althaea officinalis* L., *Atropa belladonna* L., *Helianthus annuus* L. und *Solanum lycopersicum* L. *Gartenbauwiss.* 26, 5-32.
- KORNBERG, A.; KORNBERG, S. R., & SIMS, E. S. (1956). Metaphosphate synthesis by an enzyme from *Escherichia coli*. *Biochem. biophys. Acta.* 20, 215-227.
- KOSKE, R. E.; SUTTON, J. C., & STEFFARD, B. R. (1975). Ecology of *Endogone* in Lake Huron sand dunes. *Can. J. Bot.* 53, 87-93.

- KOUCHER, H. K. (1973). Observations on the etiology of a disease of *Pelargonium hortorum*. Pl. Dis. Repr. 57, 284-292.
- KOUCHER, H. K., & READ, D. J. (1976). Vesicular-arbuscular mycorrhiza in natural vegetation systems. II. The relationships between infection and growth in *Festuca ovina* L. New Phytol. 77, 655-666.
- LA RUE, J. H.; McCLELLAN, W. D., & PEACOCK, W. L. (1975). Mycorrhizal fungi and peach nursery nutrition. Calif. Agr. 29, 6-7.
- LAYCOCK, D. H. (1945). Preliminary investigations into the function of the endotrophic mycorrhiza of *Theobroma cacao* L. Trop. Agr. 22, 77-80.
- MACDONALD, R. M., & LEWIS, M. (1978). The occurrence of some acid phosphatases and dehydrogenases in the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. New Phytol. 80, 135-141.
- MATILE, P. H., & WIDMANN, A. (1976). Interactions between cytoplasm and vacuole. In: Transport in Plants. III, Encyclop. Plant Physiol. (N. S.), 3, 255.
- MELOH, K. A. (1963). Untersuchungen zur biologie der endotrophen mycorrhiza bei *Zea mays* L. und *Avena sativa* L. Arch. Mikrobiol. 46, 369-381.
- METCALF, S. M. (1977). Effects of infection by *Glomus fasciculatus* of different strain of cotton. Abstracts. Third Amer. Conf. on Mycorrhizae, Georgia, p. 83.
- MEYER, F. H. (1973). Distribution of ectomycorrhizae in native and man-made forests. In: Ectomycorrhizae. Ed. G. C. Marks and T. T. Kozlowski, Academic Press, New York, pp. 79-106.
- MOLINA, R. J.; TRAPP, J. M., & STRICKLER, G. S. (1978). Mycorrhizal fungi associated with *Festuca* in the western United States and Canada. Can. J. Bot. 14, 1691-1695.
- MOSSÉ, B. (1959). Observations on the extramatrical mycelium of a vesicular-arbuscular endophyte. Trans. Br. mycol. Soc. 42, 439-448.
- MOSSÉ, B. (1962). The establishment of vesicular-arbuscular mycorrhiza under aseptic conditions. J. Gen. Microbiol. 27, 509-520.
- MOSSÉ, B. (1967). Effects of host nutrient status on mycorrhizal infection. Rothamsted Rep. for 1966, p. 79.
- MOSSÉ, B. (1972 a). Effects of different *Endogone* strains on the growth of *Paspalum notatum*. Nature. London. 239, 221-223.
- MOSSÉ, B. (1972 b). The influence of soil type and *Endogone* strain on the growth of mycorrhizal plants in phosphate deficient soils. Rev. Ecol. Biol. Sol. 9, 529-537.
- MOSSÉ, B. (1975). Specificity and VA mycorrhizas. In: Endomycorrhizas. Ed. F. E. Sanders, B. Mosse and P. B. Tinker, Academic Press, London, pp. 469-484.
- MOSSÉ, B. (1973 a). Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. A. Rev. Phytopath. 11, 171-196.
- MOSSÉ, B. (1973 b). Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. IV. In soil given additional phosphate. New Phytol. 72, 127-136.
- MOSSÉ, B. (1973 c). The role of mycorrhiza in phosphorus solubilization, CIAM-IV. Fourth International Conference. São Paulo, Brasil, pp. 543-561.
- MOSSÉ, B. (1976). The role of mycorrhiza in legume nutrition on marginal soils. Exploiting the legume. In: Rhizobium symbiosis in tropical agriculture. Ed. J. M. Vincent, A. S. Whitney and J. Bose, Coll. Trop. Agric. Univ. Hawaii. Misc. Publ. 145, 275-292.
- MOSSÉ, B. (1977). Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. X. Responses of *Stylisanthes* and maize to inoculation in unsterile soils. New Phytol. 78, 277-288.

- MOSSE, B. (1978). Mycorrhiza and plant growth. In: Structure and functioning of plant populations. Verhanselingen der Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen, Afdeling Natuurkunde, Tweede Reeks, deel 70, 269-298.
- MOSSE, B., & HAYMAN, D. S. (1971). Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. II. In unsterilised field soils. *New Phytol.* 70, 29-34.
- MOSSE, B.; HAYMAN, D. S., & IDE, G. J. (1969). Growth responses of plants in unsterilized soil to inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Nature*, London, 224, 1.031-1.032.
- MOSSE, B., & PHILLIPS, J. M. (1971). The influence of phosphate and other nutrients on the development of vesicular-arbuscular mycorrhiza in culture. *J. gen. Microbiol.* 69, 157-166.
- MOSSE, B.; POWELL, C. LL., & HAYMAN, D. S. (1976). Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. IX. Interactions between VA mycorrhiza rock phosphate and symbiotic nitrogen fixation. *New Phytol.* 76, 331-342.
- MURBOCH, C. L.; JACKOBS, J. A., & GERDEMANN, J. W. (1967). Utilization of phosphorus sources of different availability by mycorrhizal and non-mycorrhizal maize. *Plant Soil*, 27, 329-334.
- NEILL, J. C. (1944). Rhizophagus in citrus. *N. Z. J. Sci. Technol.* 25, 191-201.
- NICOLSON, T. H. (1959). Mycorrhiza in the Gramineae. I. Vesicular-arbuscular endophytes with special reference to external phase. *Trans. Br. mycol. Soc.* 12, 121-138.
- NICOLSON, T. H. (1960). Mycorrhiza in the Gramineae. II. Development in different habitats, particularly sand dunes. *Trans. Br. mycol. Soc.* 43, 132-145.
- NICOLSON, T. H. (1967). Vesicular-arbuscular mycorrhiza a universal plant symbiosis. *Sci. Progr. Oxf.* 55, 561-568.
- NYE, P. H. (1966). The effect of nutrient intensity and buffering power of a soil and the absorbing power, size and root hairs of a root, on nutrient absorption by diffusion. *Plant Soil*, 25, 81-105.
- OCAMPO, J. A.; MARTÍN, J., & HAYMAN, D. S. (1980). Influence of plant interactions on vesicular-arbuscular mycorrhizal infections. I. Host and non-host plant grown together. *New Phytol.* 84, 27-35.
- PEARSON, V., & TINKER, P. B. (1975). Measurement of phosphorus fluxes in the external hyphae of endomycorrhizas. In: *Endomycorrhizas*. Ed. F. E. Sanders, B. Mosse and P. B. Tinker. Academic Press, London, pp. 277-287.
- PREUS, H. (1958). Untersuchungen zur ökologie und bedeutung der tabakmycorrhiza. *Arch. Mikrobiol.* 29, 112-142.
- PEYRONEL, B. (1940). Prime osservazioni sui rapporti tra luce e simbiosi micorrizica. *Ann. 4 Lab. Chanousia bot. alp. dell'ordine Mauriziano al Pic. S. Bernardo*, pp. 1-19.
- 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, 158-161.
- POWELL, C. LL. (1975). Potassium uptake by endotrophic mycorrhiza. In: *Endomycorrhizas*. Ed. F. E. Sanders, B. Mosse and P. B. Tinker. Academic Press, London, pp. 461-468.
- POWELL, C. LL. (1976). Mycorrhizal fungi stimulate clover growth in New Zealand hill country soils. *Nature*, 264, 436-438.
- POWELL, C. LL. (1977). Mycorrhizas in hill country soils III. Effect of inoculation on clover growth in unsterile soils. *N. Z. J. Agr. Res.* 20, 343-348.

- POWELL, C. L., & DANIEL, J. (1978). Mycorrhizal fungi stimulate uptake of soluble and insoluble phosphate fertilizer from a phosphate-deficient soil. *New Phytol.* 80.
- RAMÍREZ, B. N.; MITCHELL, D. J., & SCHENCK, N. C. (1975). Establishment and growth effects of three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on Papaya. *Mycologia*.
- READ, D. J.; KOUCHEKI, H. K., & HODGSON, J. (1976). Vesicular-arbuscular mycorrhiza in natural vegetation systems. I. The occurrence of infection. *New Phytol.* 77, 641-654.
- REDHEAD, J. P. (1975). Endotrophic mycorrhizas in Nigeria: Some aspects of the ecology of endotrophic mycorrhizal association of *Khaya grandifolia* C. De. In: *Endomycorrhizas*. Ed. F. E. Sanders, B. Mosse and P. B. Tinker. Academic Press. London. pp. 448-459.
- RHODES, L. H., & GERDEMANN, J. W. (1975). Phosphate uptake zones of mycorrhizal and non-mycorrhizal onions. *New Phytol.* 75, 555-561.
- RHODES, L. H., & GERDEMANN, J. W. (1978 a). Hyphal translocation and uptake of sulfur by vesicular-arbuscular mycorrhizae of onion. *Soil Biol. Biochem.* 10, 355-360.
- RHODES, L. H., & GERDEMANN, J. W. (1978 b). Translocation of calcium and phosphate by external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Soil Sci.* 126, 125-126.
- RICH, J. R., & BIRD, G. W. (1974). Association of early season vesicular-arbuscular mycorrhizae with increased growth and development of cotton. *Phytopathol.* 64, 1421-1425.
- ROSS, J. P. (1971). Effect of phosphate fertilization on yield of mycorrhizal and non-mycorrhizal soybeans. *Phytopathol.* 61, 1400-1403.
- ROSS, J. P., & GILLIAM, J. W. (1973). Effect of *Endogone* mycorrhiza on phosphorus uptake by soybeans from inorganic phosphates. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 37, 237-239.
- ROSS, J. P., & HARPER, J. A. (1970). Effect of *Endogone* mycorrhiza on soybean yields. *Phytopathol.* 60, 1552-1556.
- ROSS, J. P., & HARPER, J. A. (1973). Host of a vesicular-arbuscular *Endogone* species. *J. Elisha Mitchell Sci. Soc.* 89, 1-3.
- SAMUEL, G. (1926). Note on the distribution of mycorrhiza. *Trans. Proc. Roy. Soc. S. Australia.* 50, 245-246.
- SAFIR, G. R.; BOYER, J. S., & GERDEMANN, J. W. (1971). Mycorrhizal enhancement of water transport in soybean. *Science.* 172, 581-583.
- SAFIR, G. R.; BOYER, J. S., & GERDEMANN, J. W. (1972). Nutrient status and mycorrhizal enhancement of water transport in soybean. *Plant Physiol.* 49, 700-703.
- SAIF, S. R. (1977). The influence of stage of host development on vesicular-arbuscular mycorrhizae and *Endogonaceous* spore population in field-grown vegetable crops. I. Summer-grown crops. *New Phytol.* 79, 341-348.
- SANDERS, F. E., & HAYMAN, D. S. (1977). The agricultural importance of vesicular-arbuscular mycorrhiza. 139 Ann. meeting Br. Asso. Adv. Sci. Univ. Aston.
- SANDERS, F. E., & TINKER, P. B. (1971). Mechanism of absorption of phosphate from soil by *Endogone* mycorrhizas. *Nature.* 233, 278-279.
- SANDERS, F. E., & TINKER, P. B. (1973). Phosphate flow into mycorrhizal roots. *Pestic. Sci.* 4, 385-395.
- SANDERS, F. E.; TINKER, P. B.; BLACK, R. L. B., & PALMERLEY, S. M. (1977). The development of endomycorrhizal root systems. I. Spread of infection and growth promoting effects with four species of vesicular-arbuscular endophyte. *New Phytol.* 78, 257-268.

- SCHENCK, N. C., & HINSON, K. (1973). Response of nodulating and non-nodulating soybeans to a species of *Endogone* mycorrhiza. *Agron. J.* 65, 849-850.
- SCHENCK, N. C.; RIDINGS, W. H., & CORNELL, J. A. (1977). Interaction of two vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and *Phytophthora parasitica* on two citrus root stocks. Abstracts. Third Amer. Conf. on Mycorrhizae, Georgia, p. 9.
- SCHENCK, N. C., & TUCKER, D. P. H. (1974). Endomycorrhizal fungi and the development of citrus seedlings in Florida fumigated soils. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 99, 284-287.
- SCHRADER, R. (1958). Untersuchungen zur biologie der erbsenmycorrhiza. *Arch. Mikrobiol.* 32, 81-114.
- SIEVERS, E. (1953). Untersuchungen über die mycorrhiza von *Allium* und *Solanum*-Arten. *Arch. Mikrobiol.* 18, 289-321.
- SIEVERS, E. (1958). Zur ökologie und morphologie der endotrophen phycomycetoiden mycorrhizen. *Arch. Mikrobiol.* 29, 101-103.
- SMAGREY, D. A., & BROWN, M. F. (1977). Vesicular-arbuscular mycorrhizae of yellow-poplar: Effects of seedling growth in forest nursery soil and in artificial medium. Abstract, Third Amer. Conf. on Mycorrhizae, Georgia, p. 42.
- STOYT, P. R., & OVERSTREET, R. (1950). Soil chemistry in relation to inorganic nutrition of plants. *A. Rev. Plant Physiol.* 1, 305-342.
- STRZEMSKA, J. (1969 a). Mycorrhiza of cultivated plants of the *Papilionaceae* family. Part I. Broad-bean (*Vicia faba* ssp. major) Horse-bean (*Vicia faba* ssp. minor). *Polish J. Soil Sci.* 2, 43-50.
- STRZEMSKA, J. (1969 b). Mycorrhiza of cultivated plants of the *Papilionaceae* family. Part II. Red clover (*Trifolium pratense*) Swedish clover (*Trifolium hybridum*) and white clover (*Trifolium repens*). *Polish J. Soil Sci.* 2, 137-143.
- STRZEMSKA, J. (1970). Mycorrhiza of cultivated plants of the *Papilionaceae* family. Part III. Pea (*Pisum sativum*) and field pea (*Pisum arvense*). *Polish J. Soil Sci.* 3, 25-29.
- SUTTON, J. C. (1973). Development of vesicular-arbuscular mycorrhizae in crop plants. *Can. J. Bot.* 51, 2487-2493.
- TINKER, P. B. (1975). Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on higher plants. *Symp. Soc. exp. Biol.* 29, 325-350.
- TRINICK, J. (1977). Vesicular-arbuscular infection and soil phosphorus utilization in *Lupinus* spp. *New Phytol.* 78, 297-304.
- WINTER, A. G., & MELICH, K. A. (1958). Untersuchungen über der einfluss der endotrophen mycorrhiza auf die entwicklung von *Zea mays* L. *Naturwissenschaften.* 45, 319-325.
- WOOLHOUSE, H. W. (1975). Membrane structure and transport problems considered in relation to phosphorus and carbohydrate movements and the regulation of endotrophic mycorrhizal associations. In: *Endomycorrhizas*. Ed. F. E. Sanders. B. Mosse and P. B. Tinker. Academic Press, London, pp. 209-239.