



UNIVERSIDAD MICHUACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
AGROPECUARIAS Y FORESTALES

PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAESTRÍA
EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

EFFECTO DE LA INTERACCIÓN *Tagetes erecta*-*Glomus intraradices*-N SOBRE EL pH, ACUMULACIÓN DE FÓSFORO y DESARROLLO DEL HUÉSPED BAJO CONDICIONES DE AGOBIO HÍDRICO

TESIS

QUE PRESENTA

Santos Zepeda Guzmán

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIRECTOR DE TESIS: DR. HÉCTOR JAVIER ANSELMO VILLEGAS MORENO
CO-DIRECTOR DE TESIS: DRA. NABANITA DASGUPTA-SCHUBER

MORELIA, MICHUACÁN, MAYO DE 2010

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para la realización de este trabajo de investigación.

Agradezco al Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología (COECyT) por la beca otorgada a través del proyecto “Investigación aplicada a sectores estratégicos para el desarrollo” para la conclusión de esta investigación.

Agradezco al programa de Maestría Institucional en Ciencias Biológicas por la oportunidad brindada para realizar mis estudios de maestría.

Agradezco al Corporativo de Desarrollo Sustentable S.A de C.V por el apoyo financiero otorgado para la terminación de la investigación.

Agradezco a cada uno de los integrantes de mi comité de revisión por su apoyo académico y sus excelentes aportaciones para el desarrollo del trabajo de tesis.

Agradezco en especial al DC. Javier Villegas por su apoyo, aporte de conocimientos y paciencia durante mi formación.

Agradezco a todos mis compañeros del laboratorio en especial a la Bióloga Lorena Carreto y al DC. Enrique Ambriz por su apoyo y consejos. También agradezco a mi familia por su apoyo brindado.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	2
CONTENIDO	3
CONTENIDO DE TABLAS	6
CONTENIDO DE FIGURAS	7
I. RESUMEN GENERAL	8
II. SUMMARY	9
III. INTRODUCCIÓN GENERAL	10
IV. ANTECEDENTES	13
4.1 El agua en las plantas.....	13
4.1.1 Funciones del agua en las plantas	13
4.1.2 Movimiento del agua en las plantas	14
4.1.3 Transporte del agua en las plantas	14
4.2 Agobio hídrico en plantas	15
4.2.1 Agobio hídrico y adquisición de fósforo por las plantas.....	16
4.3 Hongos micorrízicos arbusculares	16
4.3.1 Clasificación de los hongos micorrízicos arbusculares	18
4.3.2 Descripción de <i>Glomus intraradices</i> (Schenck y Smith 1982).....	19
4.3.3 Contribución de los hongos micorrízicos arbusculares sobre la resistencia de las plantas al agobio hídrico	20
4.3.4 Hongos micorrízicos arbusculares y adquisición de nitrógeno	21
4.3.5 Hongos micorrízicos arbusculares y adquisición de fósforo.....	22
4.4 <i>Tagetes erecta</i> L. importancia y clasificación	24
V. JUSTIFICACIÓN	27
VI. HIPÓTESIS.....	28
VII. OBJETIVO GENERAL	29
VIII. OBJETIVOS PARTICULARES	30
IX. RESULTADOS.....	31

9.1 Efecto de la interacción <i>Tagetes erecta</i> - <i>Glomus intraradices</i> -N sobre el pH, acumulación de fósforo y desarrollo del huésped bajo condiciones de agobio hídrico	31
9.2 Resumen	31
9.3 Abstract.....	32
9.4 Introducción	32
9.5 Materiales y métodos.....	34
9.5.1 Desinfección y germinación de las semillas de <i>Tagetes erecta</i> L.	34
9.5.2 Trasplante y establecimiento de las plantas.....	34
9.5.3 Establecimiento del agobio hídrico.....	36
9.5.4 Medición de variables.....	36
9.5.5 Determinaciones de fósforo	36
9.5.6 Análisis estadístico.....	37
9.6 Resultados.....	37
9.6.1 Efecto del agobio hídrico sobre el desarrollo de plantas de <i>Tagetes erecta</i> L. no micorrizadas o micorrizadas fertilizadas con nitrato (NO_3^-) como fuente de nitrógeno	37
9.6.2 Efecto del agobio hídrico sobre el pH de los lixiviados de las plantas no micorrizadas o micorrizadas fertilizadas con (NO_3^-).....	39
9.6.3 Efecto del agobio hídrico sobre la solubilización de fósforo en los lixiados de plantas no micorrizadas o micorrizadas fertilizadas con (NO_3^-)	40
9.6.4 Efecto del agobio hídrico sobre la concentración de fósforo en vástago de plantas de <i>T. erecta</i> L. no micorrizadas o micorrizadas fertilizadas con (NO_3^-).....	41
9.6.5 Efecto del agobio hídrico sobre la concentración de fósforo en raíces de <i>T. erecta</i> L. no micorrizadas o micorrizadas fertilizadas con (NO_3^-).....	42
9.6.6 Efecto del agobio hídrico sobre el desarrollo de las plantas de <i>Tagetes erecta</i> L. no micorrizadas o micorrizadas fertilizadas con amonio (NH_4^+) como fuente de nitrógeno	43
9.6.7 Efecto del agobio hídrico sobre el pH de los lixiviados de las plantas no micorrizadas o micorrizadas fertilizadas con (NH_4^+)	44

9.6.8 Efecto del agobio hídrico sobre la solubilización de fósforo en los lixiados de las plantas no micorrizadas o micorrizadas fertilizadas con (NH ₄ ⁺)	45
9.6.9 Efecto del agobio hídrico sobre la concentración de fósforo en vástago de las plantas de <i>T. erecta</i> L. no micorrizadas o micorrizadas fertilizadas con (NH ₄ ⁺)	46
9.6.10 Efecto del agobio hídrico sobre la concentración de fósforo en raíces de <i>T. erecta</i> L. no micorrizadas o micorrizadas fertilizadas con (NH ₄ ⁺)	47
X. DISCUSIÓN	48
XI. CONCLUSIONES	53
XII. BIBLIOGRAFÍA	54

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación de <i>Tagetes erecta</i> L.	23
Tabla 2 Diseño experimental	34
Tabla 3 Valores promedio obtenidos en el desarrollo de <i>Tagetes erecta</i> L. fertilizado con NO_3^-	36
Tabla 4 Valores promedio obtenidos en el desarrollo de <i>Tagetes erecta</i> L. fertilizado con NH_4^+	42

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 1 Simbiosis micorrizico arbuscular	17
Figura 2 Estructura taxonómica propuesta del phylum glomeromycota en base a las secuencias de la SSU del ARNr 18S	18
Figura 3 Camas de madera para suspender las macetas	34
Figura 4 pH de los lixiviados de <i>Tagetes erecta</i> L. fertilizado con NO_3^-	38
Figura 5 Fósforo soluble (mg mL^{-1}) en los lixiviados de <i>Tagetes erecta</i> L. fertilizado con NO_3^-	39
Figura 6 Concentración de fósforo en el vástago (mg g^{-1}) de <i>Tagetes erecta</i> L. fertilizado con NO_3^-	40
Figura 7 Concentración de fósforo en raíces (mg g^{-1}) de <i>Tagetes erecta</i> L. fertilizado con NO_3^-	41
Figura 8 pH de los lixiviados de <i>Tagetes erecta</i> L. fertilizado con NH_4^+	43
Figura 9 Fósforo soluble (mg mL^{-1}) en los lixiviados de <i>Tagetes erecta</i> L. fertilizado con NH_4^+	44
Figura 10 Concentración de fósforo en el vástago (mg g^{-1}) de <i>Tagetes erecta</i> L. fertilizado con NH_4^+	45
Figura 11 Acumulación de fósforo en raíces (mg g^{-1}) de <i>Tagetes erecta</i> L. fertilizado con NH_4^+	46

I. RESUMEN GENERAL

Las plantas para enfrentarse a los cambios medioambientales han desarrollado numerosas estrategias y una de ellas es la asociación simbiótica con hongos micorrízicos arbusculares. Esta asociación simbiótica, además de contribuir en la nutrición, protege a la planta huésped contra distintos tipos de estrés como es el caso del agobio hídrico. Dicha protección es debida a una mayor toma de nutrimentos, principalmente el fósforo. También se ha documentado que la forma de N bajo condiciones de alta disponibilidad de agua puede influir en la adquisición de P. Sin embargo, la influencia del N sobre la toma de fósforo en condiciones de agobio hídrico ha sido poco estudiada. Por lo tanto, el objetivo de ésta investigación 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. El experimento se estableció en cámara de crecimiento utilizando plantas de cempasúchil (*Tagetes erecta* L.) que fueron inoculadas con *G. intraradices* y fertilizadas con nitrato (NO_3^-) o amonio (NH_4^+) y fósforo insoluble como fuentes de nitrógeno y fósforo respectivamente. Las plantas fueron sometidas a dos periodos de agobio hídrico por medio de la suspensión del riego. En ausencia de la micorriza el agobio hídrico disminuyó la biomasa de las plantas tanto en NO_3^- como en NH_4^+ . El hongo MA *Glomus intraradices* promovió cambios en la rizósfera que favorecieron la solubilización y la concentración de fósforo en las raíces agobiadas fertilizadas con NO_3^- , pero en el caso del vástago la micorriza disminuyó la concentración de P bajo las dos condiciones de fertilización.

II. SUMMARY

The ability of plants to survive under adverse conditions is due to their symbiotic association with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). This association improves plant nutrition and protect to the plants against the abiotic stress such as drought stress. The benefit of AMF under drought is attributed to high uptake of P. Also it has been documented that the nitrogen source plays a key rule on P acquisition. However, the rule of nitrogen source on P acquisition under drought in the mycorrhizal plants has been little documented. Therefore, the aim in this investigation was determined the effect of the interaction of nitrogen source and *Glomus intraradices*-N on soil pH, P uptake and plant growth under drought stress. Plants of *Tagetes erecta* L. were grown in growth chamber and a half of plants were inoculated with *G. intraradices*. The plants were watered with nutrient solution containing ammonium (NH_4^+) or nitrate (NO_3^-) as nitrogen source and phosphorus was applied as insoluble phosphorus. The haft of plants was stressed trough two drought periods. Plant growth was reduced in non-mycorrhizal plants under drought stress with both nitrogen sources. Root P concentration and soluble phosphorus were increased by mycorrhizal fungus under drought stress, using nitrate or with both nitrogen sources respectively. The soil pH was maintained close to 6 in mycorrhizal treatments. Enhancements in root P concentration under drought conditions could be explained in terms of stabilization of soil pH and type of nitrogen source.

III. INTRODUCCIÓN GENERAL

Entre las simbiosis mutualistas que se presentan entre plantas y microorganismos, destaca aquella que se establece en el sistema radicular y un grupo de hongos en particular. Esta asociación simbiótica desarrolla una estructura compleja especializada denominada micorriza, la cual contribuye principalmente en la adaptación y el desarrollo de las especies vegetales (Smith y Douglas 1987; Hudson 1992).

Los hongos micorrizicos arbusculares (MA) cuentan con un amplio espectro en cuanto a plantas hospederas se refiere, abarcando el 95 % de todas las especies de plantas sobre la superficie terrestre. Existen varias formas por las cuales se puede dar el proceso de colonización de las raíces por estos hongos: esporas, micelio externo y segmentos de raíz colonizadas. Los hongos MA al establecerse en la zona cortical del sistema radicular de las plantas, tienen la característica de formar estructuras internas, las cuales favorecen el intercambio de nutrientes y el almacenamiento de reservas (Bolan 1991). Los arbusculos son estructuras fúngicas de tipo de las haustorias, que se generan en el interior de las células de la corteza y cuyo papel es contribuir al incremento de la capacidad de absorción y aprovechamiento de nutrientes por ambos participantes de la simbiosis. Otro tipo de estructuras que son características de estos hongos son las vesículas, cuya función es el almacenamiento de reservas para el hongo. Las esporas son la principal estructura que estos hongos poseen para propagarse.

Azcón *et al.* (1999) mencionan que el hongo coloniza las células de la corteza de la raíz sin causar daño a la planta, llegando a ser fisiológica y morfológicamente parte integrante de dicho órgano. La importancia de los hongos MA en el crecimiento de las plantas ha sido documentada (Bethlenfalvay 1992). Muchos estudios han demostrado el rol principal que juega el micelio extrarradical en diferentes aspectos como: movilización y transferencia de los nutrientes del suelo como son: P, N, Cu,

Fe, K, Zn, Ca y S (Smith y Read 1997), incrementa la fotosíntesis (Marthur y Vyas 1995), además de mantener la estabilidad de los agregados del suelo (Tisdall y Oades 1979; Miller y Jastrow 1992; Tisdall 1994), pero particularmente en situaciones de deficiencia de fósforo (P) en el suelo, las micorrizas pueden incrementar la absorción de éste por las plantas (Tinker 1978).

En el caso particular del nitrógeno (N), es considerado como un factor limitante para la producción de biomasa en ecosistemas naturales, es el principal elemento esencial asociado al crecimiento de la planta (Miller 2004). En el suelo se presenta como iones de amonio (NH_4^+) y de nitrato (NO_3^-), formas que son capaces de absorber la mayoría de las plantas (Tischner 2000). El ion NO_3^- es de alta movilidad, su asimilación requiere de mayor gasto de energía que la asimilación de NH_4^+ sin embargo la forma de NO_3^- es la fuente de N en la mayoría de las tierras de cultivo (Schortermeyer 1993).

El beneficio de los hongos MA es mayor bajo condiciones de estrés (Blee y Anderson 2000; Augé 2001; Jeffries *et al.* 2003), incrementando la tolerancia de las plantas en ambientes estresantes como las heladas (Charest *et al.* 1993), deficiencia de nutrimentos (Reid 1990; Gianinazzi-Pearson 1996), ataque por fitopatógenos (Sharma *et al.* 1992; Linderman 1994), así como a la sequía (Subramanian *et al.* 1995; Al-Karaki 1998; Augé 2001) y salinidad (Al-Karaki 2000).

El agobio hídrico es uno de los factores abiótico que limita la productividad de los cultivos en el mundo (Kramer y Boyer 1995). Ello afecta negativamente el establecimiento exitoso de las plantas. Los hongos MA 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). Los hongos MA influyen en el ambiente edáfico y evitan la formación de claros entre las raíces y el suelo, lo que mantiene la continuidad de agua a través de la interface suelo-raíz. Además, las hifas extrarradiculares incrementan la zona de captación de

agua (Faber *et al.* 1991; Davies *et al.* 1992; Querejeta *et al.* 2003) e incluso pueden tomar agua del suelo cuando está se encuentra con un valor de potencial hídrico no accesible para ser extraída por las raíces de las plantas (Bethlenfalvay 1992).

La asociación micorrízica altera las relaciones hídricas, independientemente del estadio de la planta, se puede decir que es de gran valor ecológico ya que favorece el establecimiento, vigor, productividad y supervivencia de las plantas en medios con condiciones limitadas de agua (Augé 2001). Se ha demostrado que las plantas micorrizadas sometidas a condiciones de déficit de agua se recuperan más rápido cuando éstas se rehidratan y resisten por más tiempo las condiciones de sequía (Azcón-Aguilar y Barea 1997; Augé 2001). Como se ha mencionado los hongos MA estimulan el crecimiento de las plantas, principalmente por el aumento en la toma de nutrimentos del suelo particularmente fósforo, también incrementan la resistencia de la planta hospedera al agobio hídrico ya que favorece el ajuste osmótico en la célula, el cual es un mecanismo importante en la tolerancia a la deshidratación.

El efecto positivo en la toma de fósforo ha sido atribuido a: i) una mayor exploración de volumen de suelo por el micelio extraradicular; ii) el pequeño diámetro de las hifas incrementa el área de superficie de absorción y favorece un mayor flujo de fósforo por unidad de superficie; iii) la formación de polifosfatos (polyP) por el hongo micorrizico; y iv) producción de ácidos orgánicos y fosfatasas que catalizan la liberación de fosfato de los complejos orgánicos (Marschner y Dell 1994; Bucking y Shachar-Hill 2005). Con base a lo anterior el objetivo de este 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.

IV. ANTECEDENTES

4.1 El agua en las plantas

El suministro de agua es fundamental para la producción de cultivos en la agricultura porque el agua por lo general, ocupa más del 90% del peso total de las plantas, es imposible imaginar el proceso de crecimiento de la planta sin tomar en cuenta la absorción de agua en la elongación de las células (Nonami 1998a).

4.1.1 Funciones del agua en las plantas

La importancia del agua en muchas actividades fisiológicas puede resumirse en cuatro funciones principales (Azcón-Bieto y Talón 2000).

- **Constituyente:** el agua es importante cuantitativamente, constituye el 80-90 % del peso fresco de muchas plantas herbáceas y más del 50% del peso fresco de las plantas leñosas. El agua es parte importante del protoplasma, como también de las proteínas y moléculas de lípidos.
- **Solvente:** el agua es el solvente en el cual gases, minerales y otros solutos entran a las células de las plantas y se mueven de célula a célula y de órgano a órgano. La alta permeabilidad de la pared celular y las membranas del protoplasma permiten la formación de una fase líquida, que se extiende a través de la planta, sirviendo de medio para que ocurra la traslocación de los elementos disueltos.
- **Sustrato:** el agua es un reactante o sustrato para muchos procesos importantes, como la fotosíntesis y la hidrólisis del almidón a azúcar en la germinación de semillas.
- **Mantenimiento de la turgencia:** la turgencia es esencial para el crecimiento y alargamiento de la célula. El agua es importante en las vacuolas de las células vegetales, ya que ejerce presión sobre el protoplasma y la pared celular,

manteniendo así la turgencia en hojas, raíces y otros órganos de la planta. La incapacidad para mantener la turgencia resulta en una inmediata reducción en el crecimiento.

4.1.2 Movimiento del agua en las plantas

Existen dos tipos de movimiento del agua en la planta: flujo masivo y de difusión. El flujo masivo es el movimiento de moléculas de agua y solutos de manera conjunta en una dirección debido a diferencias de presión. El flujo de difusión es el movimiento del agua entre o hacia las células o a través del suelo, en este caso las moléculas de agua se mueven en todas direcciones (Azcón-Bieto y Talón 2000). El agua se mueve desde zonas de mayor a otras de menor potencial hídrico ya que el movimiento del agua en la planta se presenta a lo largo de gradientes de disminución de energía libre expresado como potencial hídrico (ψ). En el interior de la planta el potencial hídrico es más elevado que en las raíces, reduciéndose más aun en el tallo y observándose valores más bajos en las células (Hopkins 1995; Azcón-Bieto y Talón 2000). En resumen el movimiento del agua en las plantas está regido por gradientes de potencial hídrico.

4.1.3 Transporte del agua en las plantas

El agua entra en las raíces de las plantas en respuesta a gradientes de potencial en el xilema, establecido por la transpiración ó pérdida de agua en forma de vapor. El agua atraviesa la epidermis e hipodermis y una capa parenquimatosa, después pasa a la endodermis y una vez en el interior se mueve a través del periciclo antes de alcanzar el tejido vascular (Azcón-Bieto y Talón 2000). Existen tres diferentes vías a través de las cuales podría moverse el agua (Sánchez-Díaz y Aguirreolea 2000; Maurel y Chrispeels 2001):

- 1) Apoplasto: transporte de agua a través de tejido muerto rodeando la pared celular.

- 2) Simplasto: el agua atraviesa la pared celular y el plasmalema para luego entrar al citoplasma, donde posteriormente se mueve a través de los plasmodesmos que conectan al citoplasma con las células adyacentes.
- 3) Transcelular: El agua atraviesa por toda la célula ya sea por la membrana o la pared.

4.2 Agobio hídrico en plantas

Jacob Levitt (1972), define al agobio como cualquier alteración de las condiciones ambientales que pueden reducir o influir de manera adversa en el crecimiento y desarrollo de una planta.

De todos los recursos que la planta necesita para crecer y desarrollarse, el agua es uno de los más importantes limitantes. La planta solamente absorbe agua si su potencial hídrico interno es menor que su potencial externo. Si el potencial interno de la planta es igual o mayor que el externo, ya no se absorbe agua y la planta se deshidrata. En plantas sometidas a sequía, el mecanismo más importante es la disminución del potencial osmótico ya sea por la estimulación de la acumulación de iones inorgánicos o por un aumento en los niveles de solutos orgánicos. Este ajuste osmótico puede impedir la pérdida de turgencia de la raíz (Azcón-Bieto y Talón 2000).

El agobio hídrico es uno de los factores que causan reducción en el crecimiento de las plantas. Kerepesi y Galiba (2000) observaron una disminución en la producción de materia seca en cultivares de trigo sometidas a agobio hídrico.

Las plantas pueden experimentar periodos transitorios de estrés hídrico durante el día (Azcón-Bieto y Talón 2000), y altera casi todos los aspectos del crecimiento de las plantas como son su anatomía, morfología, fisiología y bioquímica (Kramer 1983).

4.2.1 Agobio hídrico y adquisición de fósforo por las plantas

Varios estudios han reportado evidencias de la interacción entre el agua y el fósforo en el rendimiento de los cultivos, especialmente en cereales en regiones semi-áridas. En un estudio con plantas de cebada se observó una respuesta en relación a la aplicación de fósforo (27 kg P ha^{-1}), observándose una disminución de éste cuando la precipitación incremento (Matar *et al.* 1992). En otros estudios han encontrado una extensa respuesta relativa a la fertilización con fósforo en los años más secos en plantas de trigo, lenteja y cebada (Jones y Wahbi 1992).

Como la difusión de fósforo tiene lugar solo dentro de unos pocos milímetros alrededor de la raíz, el crecimiento de la raíz es un factor importante en la determinación del volumen en la zona de agotamiento y la cantidad de fósforo absorbido, por lo tanto los efectos de la disponibilidad del agua y el fósforo en el crecimiento de la raíz pueden afectar la difusión del fósforo (Barber 1995). Las micorrizas pueden contribuir en la nutrición por fósforo bajo condiciones de agobio hídrico (Barea 1991). En un estudio con plantas de soya se observó la interacción entre agobio hídrico y la disponibilidad de fósforo y encontraron que los efectos del agobio hídrico fueron muy similares a los causados por el fósforo. En otra trabajo en donde se evaluó las interacción agobio hídrico-fósforo, el agobio hídrico promovió un desarrollo vegetativo lento a concentraciones bajas de fósforo, también redujó la concentración de fósforo en las hojas. Se observaron incrementos en la densidad de la longitud de la raíz a baja disponibilidad de agua, sugiriendo que el agobio hídrico limitó la nutrición por fósforo no por la reducción en el crecimiento de la raíz, sino por la disminución en la difusión de fósforo en el suelo (Gutierrez-Boem y Thomas 1999).

4.3 Hongos micorrízicos arbusculares

Las plantas han desarrollado numerosas estrategias para enfrentarse a los cambios medioambientales y una de las estrategias más exitosas ha sido la asociación de los

sistemas radiculares con hongos MA (Sylvia y William 1992; Entry *et al.* 2002) cuya asociación es conocida como micorriza.

La simbiosis se define como la relación establecida entre dos o más organismos que viven juntos, con base a esto los dos tipos de simbiosis más aceptados son: **parasítica**, en la que un organismo toma de otro los compuestos necesarios para vivir, produciendo daños severos o la muerte del otro organismo y la simbiosis **mutualista**, en la que los organismos involucrados obtienen beneficios mutuos (Alarcón *et al.* 2004).

El término micorriza proviene del latín “mycor” (hongo) y “rhiza” (raíz) que significa hongo de raíz. Otro origen del término micorriza fue empleado por el botánico alemán Albert Frank en 1885, quien observó en raíces de árboles forestales ciertas estructuras peculiares las cuales denominó micorriza del griego “mykes” (hongo) y “rhiza” (raíz). La simbiosis micorrízica arbuscular es una asociación entre un grupo particular de hongos y las raíces de las plantas teniendo como escenario el suelo, donde ambos organismos resultan beneficiados en aspectos fisiológicos y nutrimentales (Figura 1). Un alto porcentaje de las plantas en los ecosistemas están asociadas con hongos MA.

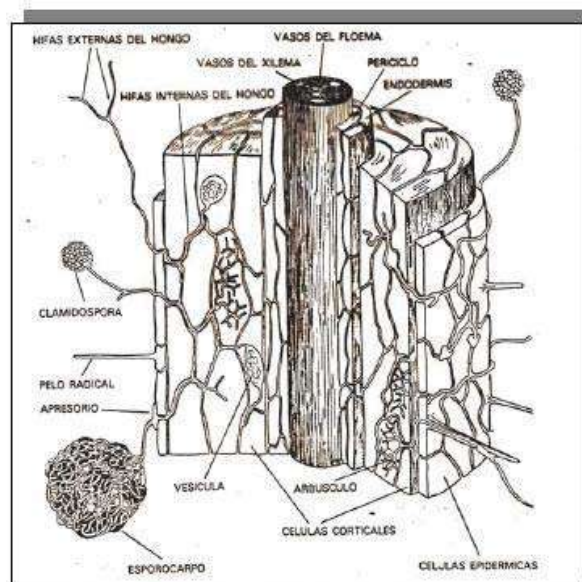


Figura 1. Simbiosis Micorrízico Arbuscular.

4.3.1 Clasificación de los hongos micorrízicos arbusculares

Los hongos formadores de micorrizas arbusculares se consideraban hasta hace muy pocos años incluidos en la familia *Endogonaceae*, dentro del phylum Zygomycota, clasificación que estaba basada fundamentalmente en el análisis de las características morfológicas, estructurales y ontogénicas de las esporas que desarrollan (Gederman y Trappe 1974; Morton y Benny 1990; Redecker *et al.* 2000). De acuerdo con este criterio, las más de 150 especies descritas hasta la fecha, se incluyeron en el orden Glomales. Hasta entonces no se había puesto de manifiesto el posible origen monofilético de estos hongos compartiendo un ancestro común.

El origen monofilético hoy en día se ha podido determinar en base al análisis de la subunidad pequeña del ARNr 18S, agrupándose así en el nuevo phylum *Glomeromycota*. Dicho phylum, se encontraría más próximo de los ascomicetos y basidiomicetos, con los que compartiría un ancestro común con los *Zigomicetos* (Schüßler *et al.* 2001). El phylum *Glomeromycota* compuesto por una sola clase, los *Glomeromycetes*, que a su vez incluye cuatro órdenes: *Glomerales*, *Diversisporales*, *Paraglomerales* y *Archaesporales* (Figura 2).

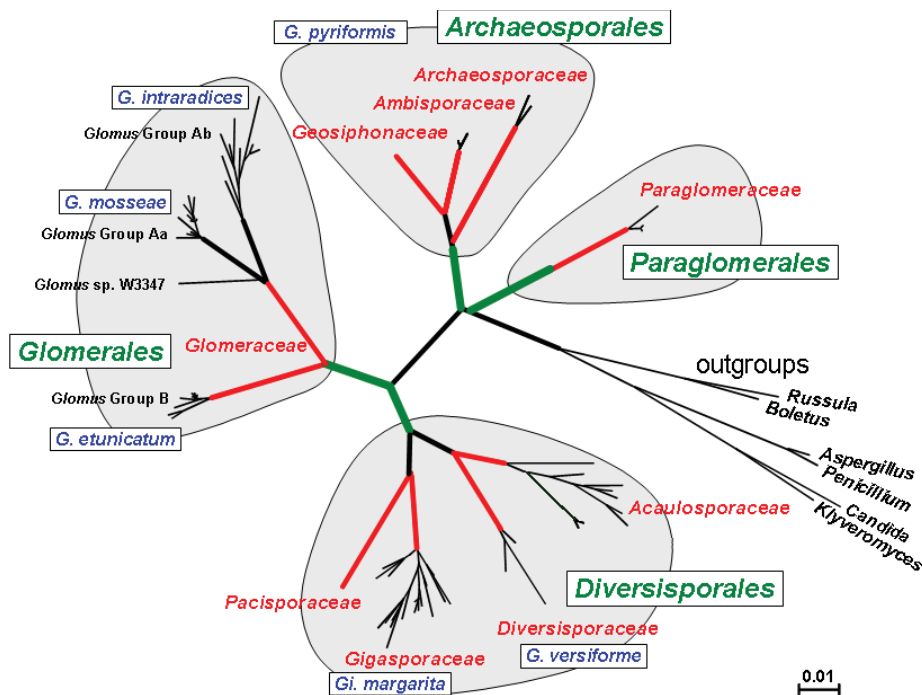


Figura 2. Estructura taxonómica propuesta del Phylum *Glomeromycota* en base a las secuencias de la SSU del ARNr 18S. Tomado de Schüßler *et al.* (2001).

4.3.2 Descripción de *Glomus intraradices* (Schenck y Smith 1982)

Este hongo micorrízico arbuscular forma esporas redondeadas en el interior de las raíces de la planta hospedera. La espora presenta tres capas, una capa externa evanescente y otras dos capas internas laminadas de color oscuro. La pared se extiende hacia el pedúnculo de la espora en forma de tubo. El color de la espora puede variar desde amarillo claro hasta marrón claro, el tamaño promedio de la espora es de 100 μm . En muchos trabajos de investigación se ha documentado el uso de este hongo MA, así como su eficiencia. Los hongos MA además de contribuir en la toma de nutrientes para las plantas, también proporcionan resistencia al hospedero ante situaciones de agobio hídrico (Dell'Amico *et al.* 2002).

4.3.3 Contribución de los hongos micorrízicos arbusculares sobre la resistencia de las plantas al agobio hídrico

Las respuestas de la planta al estrés de salinidad y al déficit hídrico tienen mucho en común, la salinidad reduce la capacidad de la planta para tomar agua y por ende causar reducción en el crecimiento, produciendo cambios metabólicos similares a los causados por el estrés de agua (Munns 2002).

Bajo condiciones de agobio hídrico, la colonización micorrízica mejora las relaciones hídricas de las plantas hospedadas (Goicoechea *et al.* 1998; Augé 2001). Los posibles mecanismos sugeridos han sido el mejoramiento de la conductividad hidráulica (Hardie y Leyton 1981; Augé y Stodola 1990), la reducción de la elasticidad foliar e incremento de la turgencia de las hojas (Augé *et al.* 1987), el incremento de la longitud de la raíz y su efectividad en absorción de nutrimentos y agua (Davies *et al.* 1992; Ruíz-Lozano *et al.* 1995; Ruíz-Lozano y Azcón 1995; Al-Karaki y Clark 1998), regulación de la conductividad estomática en respuesta a señales hormonales (Allen 1982), disminución del potencial osmótico (Augé *et al.* 1986) y acumulación de osmorreguladores (Schellenbaum *et al.* 1998).

La sequía, la salinidad, las temperaturas extremas y la anegación provocan el aumento del potencial hídrico de los tejidos y afectan muchos procesos del crecimiento de las plantas (Kramer 1983), las plantas responden a esas condiciones sintetizando compuestos (osmoprotectores) que actúan como osmolitos facilitando la retención de agua por el citoplasma y reajustando el potencial hídrico intracelular. El ajuste osmótico es un mecanismo importante de tolerancia contra la deshidratación (Rekika *et al.* 1998) y consiste en la disminución del potencial hídrico de la célula por debajo del que presenta el medio externo. Existen estudios que han demostrado el efecto de otros factores ambientales como es el estrés por salinidad. Al-Karaki (2000) estudió la respuesta del crecimiento y la adquisición mineral en plantas de tomate colonizadas por *Glomus mosseae* crecidas en invernadero bajo varios niveles de salinidad, en dicho estudio el área foliar fue mayor en las plantas con micorriza en

comparación con las plantas sin micorriza. En condiciones de suelos salinos, la acumulación de P, Zn, Cu y Fe fue más alta en plantas micorrizadas en comparación a las plantas no micorrizadas crecidas en las mismas condiciones de salinidad. El mejoramiento del crecimiento y la adquisición de nutrimentos en tomate demuestran el potencial de la colonización de hongos micorrízicos arbusculares para la protección de las plantas contra el estrés salino en áreas áridas y semiáridas.

Subramanian *et al.* (1995) estudiaron en plantas de maíz (*Zea mays*) el efecto de la colonización por hongos MA sobre el potencial hídrico, el contenido de azúcares y de fósforo durante un periodo de sequía y rehidratación. Las plantas con micorriza se rehidrataron más rápido que las plantas que crecieron bajo humedad adecuada. En plantas colonizadas, su biomasa y el contenido de fósforo fueron mayores durante la sequía y después de esta. La sequía tuvo un efecto negativo sobre el contenido de azúcares en las plantas no inoculadas en comparación con las plantas inoculadas con hongos MA, ayudando la colonización por hongos a las plantas a resistir el agobio y a su rápida rehidratación.

4.3.4 Hongos micorrízicos arbusculares y adquisición de nitrógeno

Las plantas requieren nitrógeno (N) para su desarrollo y este mineral representa alrededor del 2 % del total de materia seca de la planta y es un componente de proteínas, ácidos nucleicos, coenzimas y numerosos productos secundarios de la planta. El N es cualitativamente el más abundante de los elementos minerales en los tejidos de las plantas y entra en la cadena alimenticia principalmente como nitrato (NO_3^-) o amonio (NH_4^+). La disponibilidad del N para la raíz de la planta es a menudo una importante limitante para el crecimiento de la planta, excepto cuando la raíz desarrolla una simbiosis con microorganismos del suelo como es el caso de los hongos MA (Miller y Cramer 2004).

El papel de los hongos MA en la nutrición mineral de la planta hospedera es bien conocida y su eficiencia en la toma depende en gran medida de la mayor exploración del suelo por parte del micelio externo (Allen *et al.* 2003).

La adquisición del N por parte del micelio externo es aun controversial en relación a si el hongo logra tomarlo en forma de NO_3^- , NH_4^+ o ambas. Se ha observado en sistemas *in vitro* que el micelio externo toma el N en forma de NH_4^+ pero no en forma de NO_3^- (Villegas *et al.* 1996; Toussaint *et al.* 2004), mientras que en un sistema similar se logró observar que el micelio de los hongos MA puede tomar el N en forma de NO_3^- (Bago *et al.* 1996; Govindarajulu *et al.* 2005). Otro sistema utilizado para evaluar la toma de nutrimentos por el micelio externo de hongos micorrízicos es el sistema de compartimentos utilizando diversas especies de plantas. En este tipo de sistema se ha observado que el micelio logra tomar ambas fuentes (Johansen *et al.* 1992; Frey y Schüepp 1993; Johansen *et al.* 1993a; Johansen *et al.* 1993b; Tobar *et al.* 1994). Sin embargo, cuando se aplica NH_4NO_3 , el nitrógeno que se logra observar en el hongo y en la planta hospedera, es de la molécula de NH_4 (Hawkins *et al.* 2000). En el caso del N orgánico se ha observado que el micelio logra tomarlo de manera eficiente (Hodge *et al.* 2001; Hodge 2003).

Después que el N se incorpora en el micelio se ha detectado la actividad de la enzima nitrato reductasa en presencia de NO_3^- , mientras que cuando se aplica NH_4^+ , se ha observado un incremento en la actividad de la enzima glutamina sintasa, lo cual hace suponer que el N se incorpora en aminoácidos para su transporte, independiente de la fuente (Toussaint *et al.* 2004). El aminoácido que sirve como vehículo de transporte de nitrógeno del micelio externo al interno es la arginina (Bago *et al.* 2002). Con la finalidad de obtener conocimiento sobre la transferencia de N al hospedero se estableció un experimento *in vitro*, concluyendo que el N se transfiere a la planta en forma inorgánica (Govindarajulu *et al.* 2005).

4.3.5 Hongos micorrízicos arbusculares y adquisición de fósforo

El fósforo (P) es otro de los elementos esenciales que la planta requiere para su crecimiento (Bielecki 1973; Raghothama 1999). Las plantas solo pueden tomarlo en forma de ortofosfato (H_2PO_4^- y HPO_4^{2-}), y el rango de concentración de P en las plantas rara vez excede a 0.2 %. Este elemento juega un papel importante en muchos procesos incluyendo generación de energía, síntesis de ácidos nucleicos, fotosíntesis, glicólisis, respiración, síntesis y estabilidad de la membrana, activación e inactivación de enzimas, reacciones redox, señalización, metabolismo de carbohidratos y fijación de nitrógeno (Bielecki 1973; Raghothama 1999).

El P limita el crecimiento y desarrollo de las plantas, su falta reduce el crecimiento del vástago, las hojas son más pequeñas, el color más intenso y se acumula glucosa, fructosa y almidón en hojas y raíces. El P no está disponible porque en suelos ácidos forma complejos poco solubles con aluminio y hierro, mientras que en suelos alcalinos se combina con Ca y Mg (López-Bucio *et al.* 2000). Así, aunque esté elemento abunda en el suelo, con frecuencia la forma asimilable no es suficiente para satisfacer las necesidades de las plantas (Grossman y Takahashi 2001). En poco menos de 60 a 80 años la reservas de P pueden ser agotadas, resultando en una crisis potencial de este para la agricultura (Vance 2001).

Las plantas han desarrollado estrategias para la adquisición y uso de P en el ambiente. Aquellas que apuntan a su conservación y uso y aquellas dirigidas a aumentar la adquisición (Lajtha y Harrison 1995; Horst *et al.* 2001; Vance 2001). Pero una de las más importante adaptación evolutiva de las plantas terrestres para la adquisición de P es a través de la simbiosis micorrízica (Koide y Kabir 2000; Smith *et al.* 2000; Burleigh *et al.* 2002; Tibbet y Sanders 2002), por la cual muchas plantas tienen la capacidad de obtener fosfato vía asociación simbiótica con hongos MA y el efecto positivo en la toma de P ha sido atribuido a: i) una mayor exploración de volumen de suelo por el micelio extraradicular, ii) el pequeño diámetro de la hifa para inducir el incremento en la absorción de P comparado con raíces no micorrizadas y una alta velocidad de flujo de P por unidad de superficie, iii) la formación de polifosfatos (Poly P) por los hongos MA y sus bajas concentración internas de P

inorgánico (Pi) y iv) la producción de ácidos orgánicos y fosfatasas que catalizan la liberación de P de compuestos inorgánicos (Marschner y Dell 1994).

Los hongos MA cuentan con la habilidad de tomar P en forma inorgánica y orgánica (Koide y Kabir 2000; Joner *et al.* 2000). El mecanismo que implementa el micelio para acceder al P podría ser a través de la secreción de enzimas. En este sentido, Olsson y colaboradores (2005), detectaron la existencia de fosfatasas ácidas y alcalinas, aplicando una fuente inorgánica de fósforo. La eficiencia de la toma de P por el micelio varía en relación a la forma, siendo la inorgánica la que más rápido se absorbe (Maldonado-Mendoza *et al.* 2001), hasta una diferencia de ocho veces en relación a la forma orgánica (Koide y Kabir 2000; Nielsen *et al.* 2002).

La forma en que el P logra ingresar en el micelio externo es a través de transportadores de fosfato (Harrison y van Buuren 1995; Rosewarne *et al.* 1999; Mendoza-Maldonado *et al.* 2001) y por medio de potencial electroquímico (Ayling *et al.* 2000). Una vez que el P se encuentra en el interior del micelio externo se transforma y se transporta hacia el micelio interno en forma de polifosfatos (Rasmussen *et al.* 2000). Este polifosfato en el micelio interno se hidroliza a través de fosfatasas, liberando P inorgánico (Ezawa *et al.* 2001). Después de que el P está en forma inorgánica, se ha propuesto que la transferencia podría llevarse a cabo con transportadores, debido a que se han encontrado estos elementos en las células con arbusculos (Rausch *et al.* 2001) en la membrana periarbuscular (Harrison *et al.* 2002).

4.4 *Tagetes erecta* L. importancia y clasificación

Las plantas de *Tagetes erecta* L. son cultivadas con fines industriales, ornamentales y religiosos principalmente. Las especies que más se cultivan son *Tagetes patula*, *minuta*, *tenuifolia* y *erecta*, esta última clasificándose taxonómicamente de la siguiente manera (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de *Tagetes erecta* L.

<u>Clasificación científica</u>	
<u>Reino:</u>	<u>Plantae</u>
<u>División:</u>	<u>Magnoliophyta</u>
<u>Clase:</u>	<u>Magnoliopsida</u>
<u>Orden:</u>	<u>Asterales</u>
<u>Familia:</u>	<u>Asteraceae</u>
<u>Género:</u>	<u><i>Tagetes</i></u>
<u>Especie:</u>	<u><i>T. erecta</i> L.</u>

Las plantas de *Tagetes erecta* L. son plantas anuales que tienen una respuesta favorable a la micorrización, beneficiándose de la simbiosis no solo por el aumento en el crecimiento (Linderman y Davis 2004) sino también por incrementar su resistencia a las enfermedades por patógenos (St.-Arnaud *et al.* 1994), incrementar la tolerancia al estrés abiótico (Cantrell y Linderman 2001) u otros cambios fisiológicos (Ianson y Linderman 1993).

Utilizando dos concentraciones de fósforo y plantas de *Tagetes* micorrizadas con el hongo MA *Glomus intraradices*, Abou El Seoud (2008), reporta que *Tagetes* es muy dependiente de los hongos MA para adquirir fósforo y más cuando éste está a bajas concentraciones (40 mg P/kg de suelo), y que en la asociación *Tagetes-G. intraradices* existe una alta eficiencia de fósforo en comparación con plantas no micorrizadas.

Si bien se ha demostrado que en la simbiosis rhizobium/leguminosa, la trehalosa tiene un papel significativo en la protección de la planta contra el agobio de sequía (Müller *et al.* 1995; Farías-Rodríguez *et al.* 1998). Resultados preliminares en nuestro laboratorio, han demostrado que el micelio externo de los hongos MA presenta una estrategia opuesta a la documentada para la simbiosis rhizobium/leguminosa (citado en Cruz-Cruz 2005). En este caso, el micelio extraradicular tiende a acumular trehalosa y otros carbohidratos, impidiendo la exportación de estos a la raíz del hospedero, sugiriendo que la acumulación de carbohidratos por la raíz micorrizada

no es una estrategia clave en la tolerancia de esta simbiosis bajo condiciones de agobio hídrico y salino.

Bücking y Shachar-Hill (2005) documentaron que la capacidad de transporte y transferencia de P del hongo MA *G. intraradices* hacia la planta es estimulada por los incrementos en la acumulación de carbohidratos en el micelio externo. Sin embargo, se desconoce si bajo condiciones de agobio hídrico el incremento en la acumulación de carbono en *Glomus intraradices* está asociado a flujos inversos de transporte y transferencia de P a la planta huésped.

V. JUSTIFICACIÓN

Una de las contribuciones más importantes de la simbiosis micorrízica es la protección de las plantas contra el agobio hídrico. Se ha documentado que la micorriza mejora las relaciones hídricas de las plantas a través de mecanismos diversos y que el beneficio de los hongos MA es mayor bajo condiciones de estrés ya que promueven la acumulación de osmolitos e incrementan la adquisición de fósforo. También se ha observado que este efecto es más pronunciado en presencia de nitrato como fuente de nitrógeno. 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 micelio externo de *G. intraradices* están asociados a una mayor solubilización y acumulación de fósforo. En cultivos *in vitro* se ha observado que los hongos MA modifican el medio, pero en el caso de cultivos *in vivo* se desconoce si estos hongos también son capaces de modificar las propiedades químicas del suelo como respuesta al agobio hídrico.

VI. HIPÓTESIS

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.

VII. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la interacción *Glomus intraradices*-N sobre el pH de la micorrizósfera, concentración de fósforo y el desarrollo de *Tagetes erecta* L. bajo condiciones de agobio hídrico.

VIII. OBJETIVOS PARTICULARES

1. Evaluar el desarrollo de plantas de *Tagetes erecta* L. no micorrizadas o micorrizadas bajo agobio hídrico, fertilizadas con dos formas de nitrógeno NO_3^- y NH_4^+ .
2. Evaluar el pH de los lixiviados obtenidos de plantas de *Tagetes erecta* L. no micorrizadas o micorrizadas bajo agobio hídrico, fertilizadas con dos formas de nitrógeno NO_3^- y NH_4^+ .
3. Determinar la concentración de fósforo en los lixiviados, vástago y raíz de plantas de *Tagetes erecta* L. no micorrizadas o micorrizadas, sujetas a agobio hídrico y fertilizadas con dos formas de nitrógeno NO_3^- y NH_4^+ .

IX. RESULTADOS

9.1 Efecto de la interacción *Tagetes erecta*-*Glomus intraradices*-N sobre el pH, acumulación de fósforo y desarrollo del huésped bajo condiciones de agobio hídrico

9.2 Resumen

Los hongos micorrízicos arbusculares (hongos MA) 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*-N 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 cempasúchil (*Tagetes erecta* L.) no colonizadas y colonizadas con *G. intraradices*, las cuales fueron fertilizadas con nitrato o amonio 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 y se midieron las variables de área foliar, peso fresco y seco del vástago, y volumen, peso fresco y seco de la raíz. Además, se avaluó la concentración de fósforo en el vástago y raíz de las plantas y en los lixiviados recuperados de cada maceta. Los resultados muestran que el agobio hídrico afectó el desarrollo de las plantas no micorrizadas de *Tagetes erecta* L. fertilizadas con nitrato o amonio. *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 y fertilizadas con nitrato. 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. Se observó que la fuente de nitrógeno tuvo un papel clave en la nutrición de fósforo bajo condiciones de agobio hídrico.

9.3 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 ineteraction *Glomus intraradices*-N 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*.—Two different nitrogen sources, ammonium (NH_4^+) or nitrate (NO_3^-) 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. *Glomus intraradices* affected pH of leaching increased the root P concentration under drought stress and fertilized with NO_3^- . In colonized plants the shoot P concentration were decreased in both nitrogen sources. The results suggest that P uptake by plants under drought stress is affected by the interaction between AM fungi and nitrogen source.

9.4 Introducción

El fósforo es uno de los nutrientes 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 del 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 Bucher 2002; Jia *et al.* 2004). También se ha reportado que a través de la simbiosis micorrízica se incrementa la transferencia de nitrógeno del suelo a la planta, ya sea mediante la absorción de amonio (Johansen *et al.* 1992; Frey y Schüepp 1993; Johansen *et al.* 1993), o de 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 nutrimentos minerales por las plantas principalmente fósforo, además de que incrementan la resistencia de las plantas a 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 micorrizicos 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).

Subramanian *et al.* (1995) estudiaron en plantas de maíz (*Zea mays*) el efecto de la colonización por hongos MA sobre el potencial hídrico, el contenido de azúcares y de fósforo durante un periodo de sequía y rehidratación. La biomasa y el contenido de fósforo en las plantas colonizadas fueron mayores durante la sequía y después de esta. La colonización por hongos ayudo a las plantas a resistir el gobio hídrico y su rápida rehidratación.

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 el hongo MA *Glomus 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 *Glomus intraradices*. Bajo el supuesto de que en agobio hídrico el hongo acumula carbohidratos se desconoce si bajo estas mismas condiciones los incrementos en la acumulación del carbono en el micelio externo de *Glomus intraradices* está asociado a un comportamiento inverso que pudiera estimular la solubilización y acumularon de fósforo en la planta hospedera. Nuestra hipótesis fue probar si los hongos micorrízicos arbusculares incrementan la solubilización y la adquisición de fósforo en *Tagetes erecta* L. 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.

9.5 Materiales y métodos

9.5.1 Desinfección y germinación de las semillas de *Tagetes erecta* L.

Para el experimento se utilizaron 120 semillas de cempasúchil (*Tagetes erecta* L.) las cuales fueron desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio al 0.1% (v/v) durante 5 minutos y en agitación constante, lavándose posteriormente con abundante agua destilada. 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.

9.5.2 Trasplante y establecimiento de las plantas

Una vez que las plántulas germinaron se dejaron crecer durante 15 d. La mitad del lote fueron micorrizadas con esporas asépticas de *Glomus intraradices* (50 esporas por planta). Posteriormente, todas las plántulas fueron trasplantadas en contenedores construidos con tubo de policloruro de vinilo (PVC) de 4.5 cm de diámetro y 13 cm de longitud (una planta por contenedor). A cada tubo se le colocó

una malla en un extremo la cual se sujetó con una base removible, esto para poder recuperar los lixiviados. A cada contenedor se le agregaron 30 g del sustrato agrolita-turba previamente esterilizado y se colocaron suspendidas en camas de madera (Figura 3).



Figura 3. Camas de madera para suspender las macetas.

Ocho días después del trasplante se adicionó fósforo insoluble $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (10 ppm) al sustrato contenido en cada una de las macetas. Las plantas fueron fertilizadas cada tercer día con solución nutritiva Hoaglan (citado en Bernal *et al.* 2007) con NO_3^- ó NH_4^+ como fuentes de nitrógeno. Las plantas fueron colocadas en cámara de crecimiento durante seis semanas, las cuales estuvieron bajo condiciones controladas de 25 °C, 75 % de humedad relativa y 14 horas de foto periodo. Se establecieron ocho tratamientos con 15 repeticiones en un diseño al azar (Tabla 2).

Tabla 2. Diseño experimental, plantas no micorrizadas (nM); plantas micorrizadas (M); plantas sin agobio hídrico (-A); plantas con agobio hídrico (+A); plantas fertilizadas con nitrato (NO_3^-) y plantas fertilizadas con amonio (NH_4^+).

Número de tratamiento	Tratamiento
1	nM - A + NO_3^-

Número de tratamiento	Tratamiento
2	nM + A + NO ₃ ⁻
3	M - A + NO ₃ ⁻
4	M + A + NO ₃ ⁻
5	nM - A + NH ₄ ⁺
6	nM + A + NH ₄ ⁺
7	M - A + NH ₄ ⁺
8	M + A + NH ₄ ⁺

9.5.3 Establecimiento del agobio hídrico

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 d y la rehidratación fue durante 2 d.

9.5.4 Medición de variables

Las variables que se consideraron para su evaluación fueron el área foliar (cm²/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 hrs. También se determinó el volumen de la raíz (cm³/raíz) por el método de Arquímedes.

9.5.5 Determinaciones de fósforo

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). Para el análisis de P, se utilizó una muestra vegetal (raíz y vástago) de 70 mg, la cual fue calcinada en una mufla (Felisa, Modelo. FE-340) a 500 °C durante 6 horas. Las

cenizas fueron digeridas en 8 ml de HCL (100 mM), después se filtraron y se dejaron reposar durante 15 min. De los 8 ml de muestra digerida se tomaron 5 ml, los cuales se aforaron a 25 ml con agua des-ionizada (dilución 1:5), de esta dilución se tomaron 12.5 ml y se les adiciono 2.5 ml de ácido nítrico (HNO₃) 2.5 M, metavanadato de amonio y molibdato de amonio, respectivamente. Se preparó un blanco de la misma manera utilizando agua des-ionizada. Para determinar el fósforo en los lixiviados, se realizó el procedimiento antes mencionado y los 5 ml de muestra se toman directamente de los lixiviados. Las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro UV visible (Thermo Scientific. Genesys 10uv. Modelo 335903-000) a una longitud de onda de 465 nm.

9.5.6 Análisis estadístico

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*.

9.6 Resultados

9.6.1 Efecto del agobio hídrico sobre el desarrollo de plantas de *Tagetes erecta* L. no micorrizadas o micorrizadas fertilizadas con nitrato (NO₃⁻) como fuente de nitrógeno

Después de haber transcurrido el agobio hídrico, se evaluaron las variables de crecimiento de las plantas de *Tagetes erecta* L. fertilizadas con nitrato (NO₃⁻) y los valores promedio obtenidos se presentan en la tabla 3. 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).

Tabla 3. Valores promedio obtenidos en el desarrollo de *Tagetes erecta* L. fertilizado con NO₃⁻. 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.

Tratamiento	Nitrato (NO_3^-)					
	AF (cm^2)	PFV (g)	PSV (g)	VR (cm^3)	PFR (g)	PSR (g)
nM-A	219.8ab	25.7 a	1.88 a	0.30 a	3.30 a	0.19 a
nM+A	124.3 b	12.8 b	0.85 b	0.13 b	0.64c	0.05 b
M-A	220.4ab	22.3ab	0.62 b	0.14 b	0.71c	0.03 b
M+A	264.3 a	14.9 b	1.50 ab	0.18 b	1.30 b	0.13 a

Los resultados obtenidos en el contenido de materia fresca (PFV) mostraron que el tratamiento no micorrizado y no agobiado (nM-A) presentó 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.

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. Respecto al peso fresco de raíz (PFR) se observó un incremento en el tratamiento M+A con respecto al tratamiento nM+A bajo fertilización con nitrato. En condiciones adecuadas de riego el peso fresco de las raíces disminuyó en el tratamiento M-A con respecto al tratamiento nM-A. Entre tratamientos micorrizados existió una ganancia en el peso fresco bajo agobio hídrico con respecto a cuando no existió el agobio. En los tratamientos no micorrizados disminuyó el peso fresco de raíz cuando se indujo el agobio nM+A.

Por otra parte, bajo fertilización con nitrato el peso seco de la raíz (PSR) de plantas no micorrizadas y en ausencia de agobio se incrementó 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.

9.6.2 Efecto del agobio hídrico sobre el pH de los lixiviados de las plantas no micorrizadas o micorrizadas fertilizadas con (NO_3^-)

Una vez concluido el periodo del agobio hídrico se evaluaron los lixiviados recuperados de cada repetición en cada uno de los tratamientos. Se determinó el pH de éstos (Figura 4) y se encontró que la presencia de hongos micorrízicos disminuyó el pH de los lixiviados, 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.

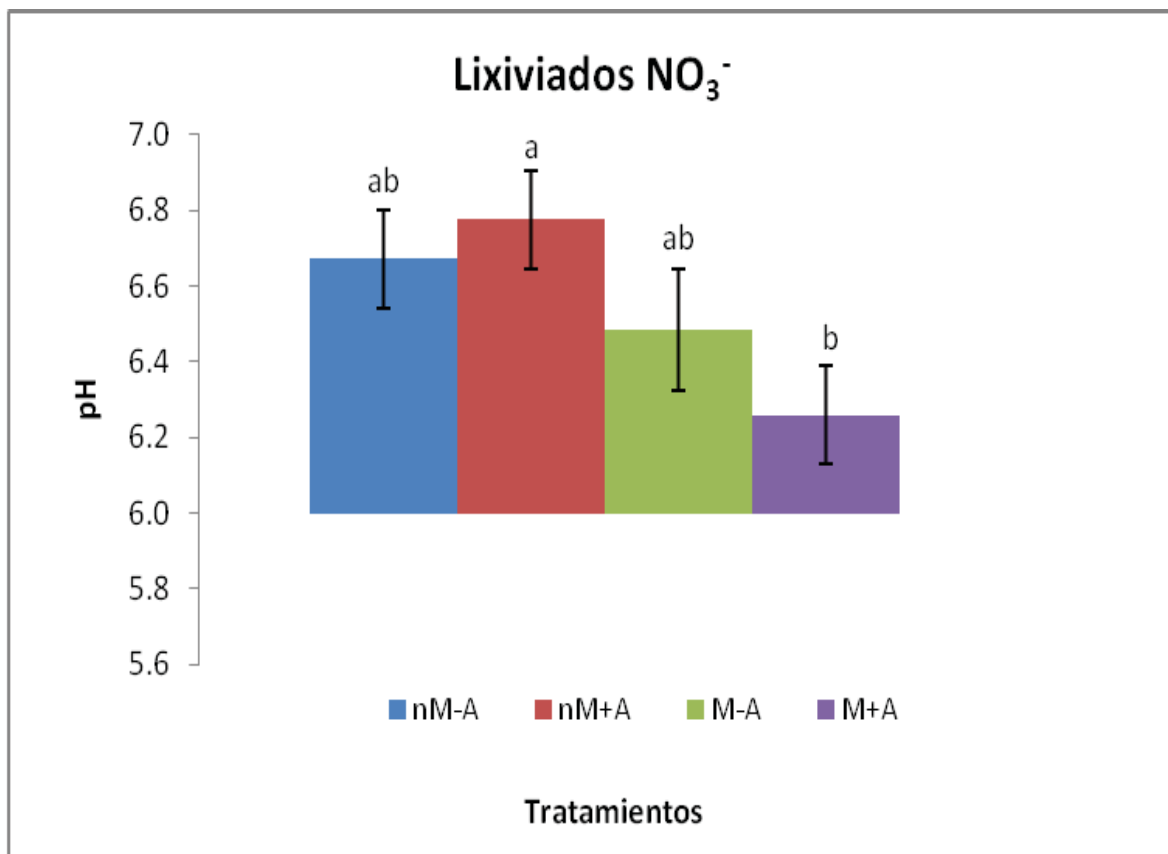


Figura 4. pH de los lixiviados de *T. erecta* L. fertilizadas con NO_3^- . Plantas no micorrizadas sin agobio hídrico (nM-A) y con agobio hídrico (nM+A) plantas micorrizadas sin agobio hídrico (M-A) y con agobio hídrico (M+A). Letras diferentes indican diferencias significativas Tukey ($p < 0.05$).

9.6.3 Efecto del agobio hídrico sobre la solubilización de fósforo en los lixiados de plantas no micorrizadas o micorrizadas fertilizadas con (NO_3^-).

También se determinó la concentración de fósforo (P) soluble en los lixiviados de cada uno de los tratamientos evaluados (Figura 5). Bajo fertilización con NO_3^- los tratamientos M+A y M-A presentaron significativamente mayor concentración de P soluble en los lixiviados en comparación con los tratamientos no micorrizados.

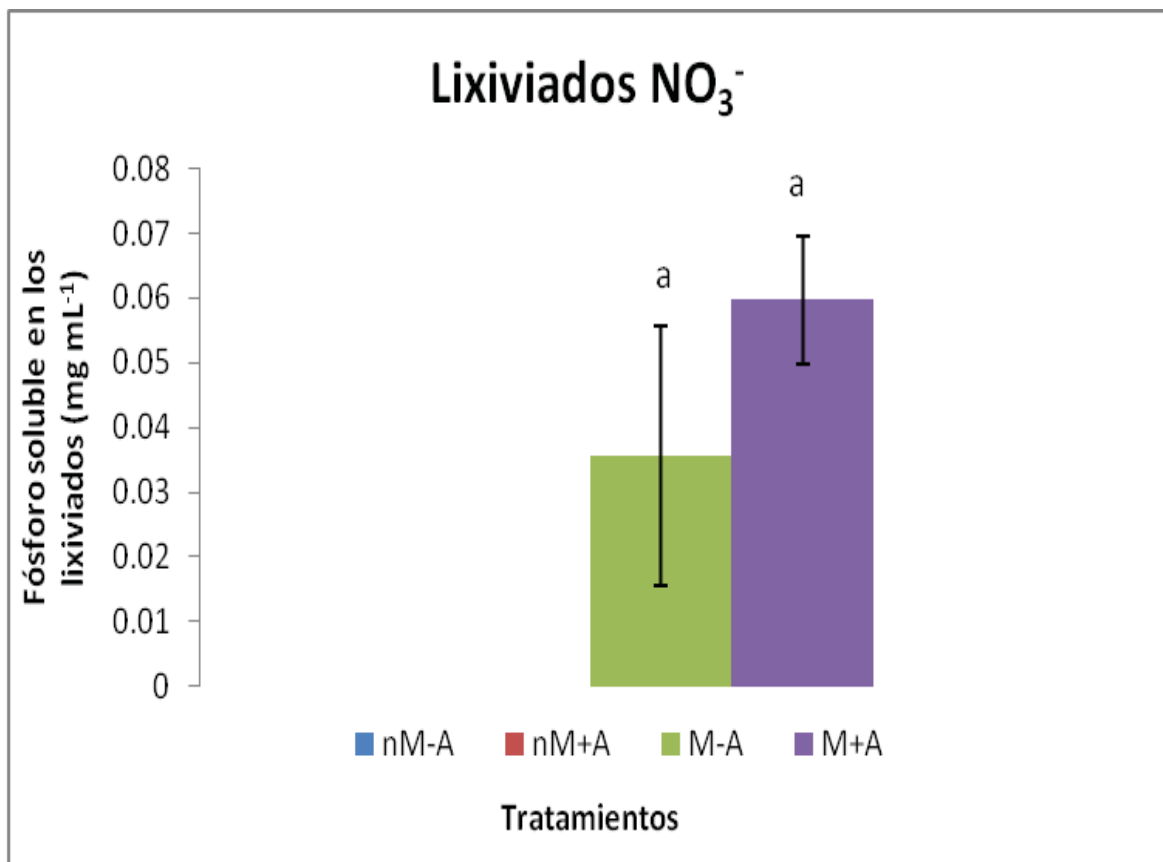


Figura 5. Fósforo soluble (mg mL^{-1}) en lixiviados de *T. erecta* L. fertilizadas con NO_3^- . Plantas no micorrizadas sin agobio hídrico (nM-A) y con agobio hídrico (nM+A)

plantas micorrizadas sin agobio hídrico (M-A) y con agobio (M+A). Letras diferentes indican diferencias significativas Tukey ($p < 0.05$).

9.6.4 Efecto del agobio hídrico sobre la concentración de fósforo en vástago de plantas de *T. erecta* L. no micorrizadas o micorrizadas fertilizadas con (NO_3^-).

Por otra parte, se evaluó la concentración de P en el vástago de *Tagetes erecta* L. (Figura 6), tanto de tratamientos no micorrizados como de tratamientos micorrizados fertilizados con NO_3^- . 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.

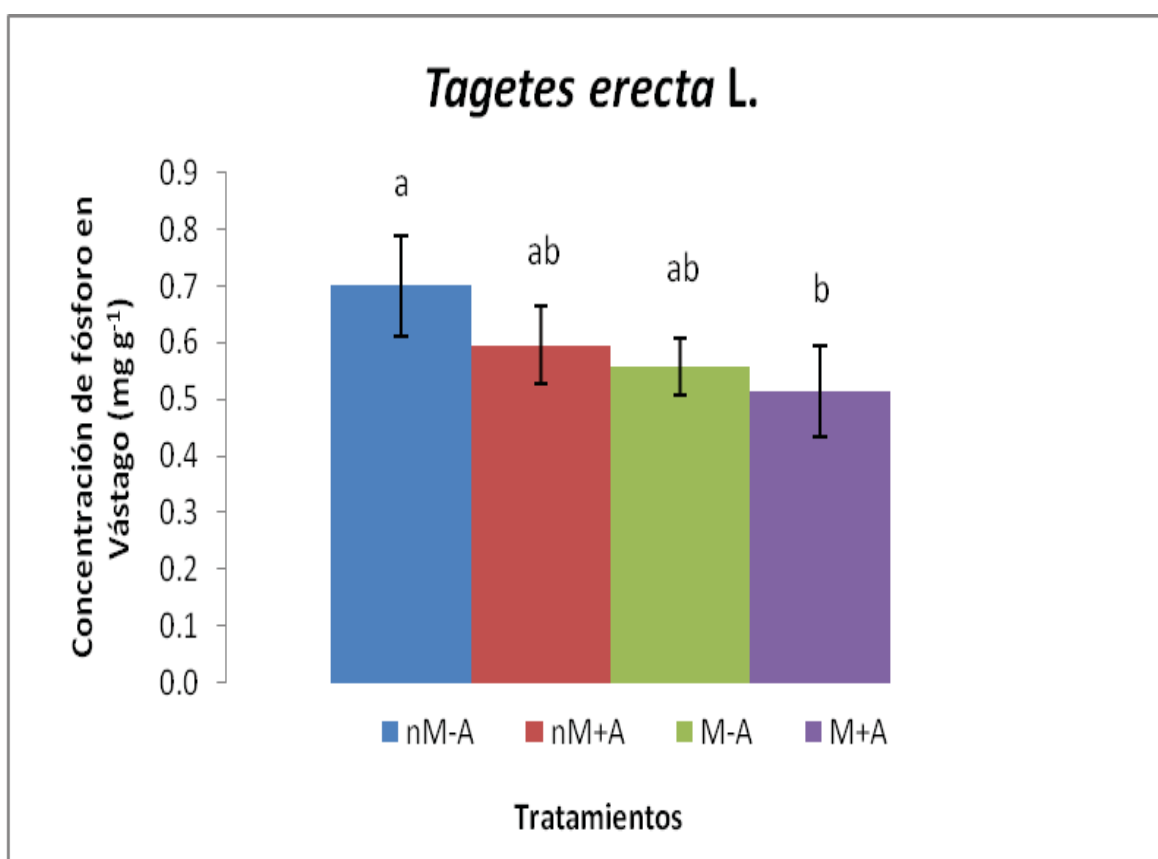


Figura 6. Concentración de fósforo en vástago (mg g^{-1}) de materia seca de *T. erecta* L. fertilizadas con NO_3^- . Plantas no micorrizadas sin agobio hídrico (nM-A) y con

agobio hídrico (nM+A) plantas micorrizadas sin agobio hídrico (M-A) y con agobio (M+A). Letras diferentes indican diferencias significativas Tukey ($p < 0.05$).

9.6.5 Efecto del agobio hídrico sobre la concentración de fósforo en raíces de *T. erecta* L. no micorrizadas o micorrizadas fertilizadas con (NO_3^-).

Se determinó la concentración de P en las raíces de *Tagetes erecta* L. que se fertilizaron con NO_3^- (Figura 7). Los resultados obtenidos indicaron que las raíces del tratamiento M+A presentaron significativamente mayor concentración de P que el resto de los tratamientos evaluados.

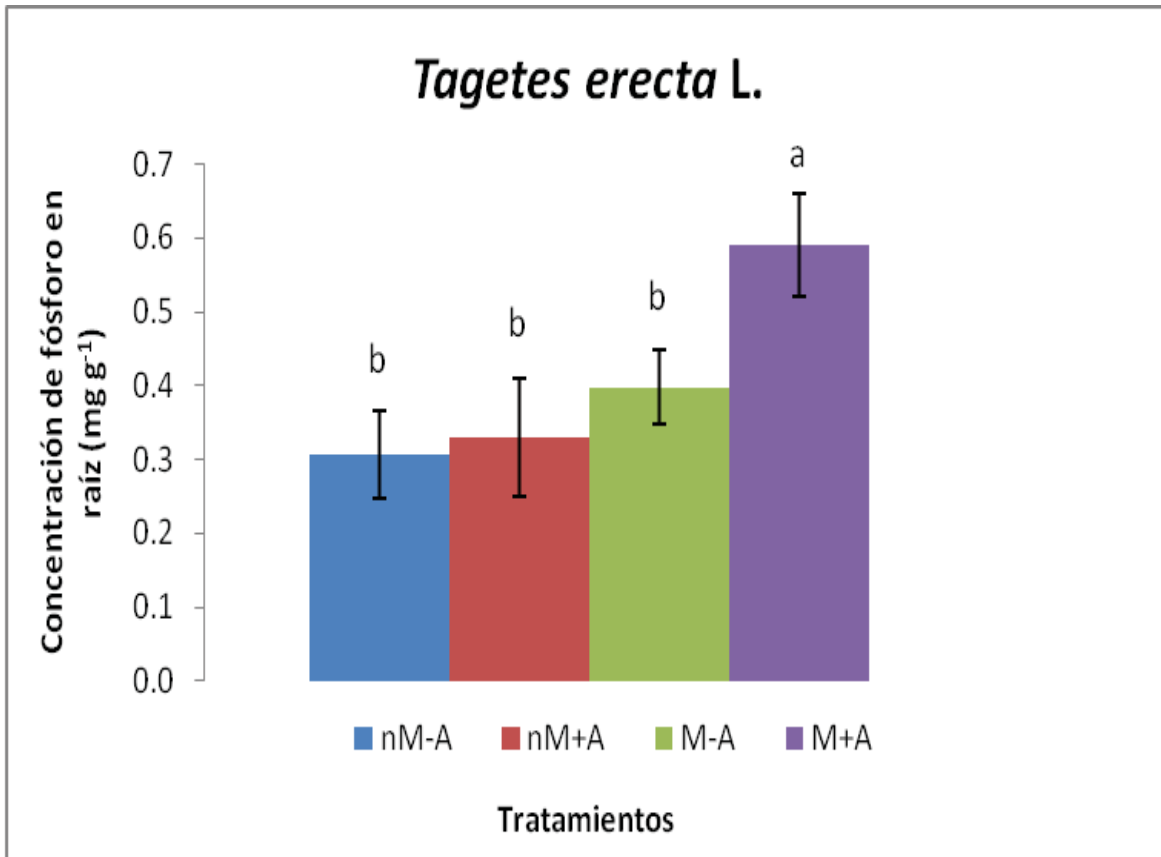


Figura 7. Concentración de fósforo en raíces (mg g^{-1}) de materia seca de *T. erecta* L. fertilizadas con NO_3^- . Plantas no micorrizadas sin agobio hídrico (nM-A) y con agobio hídrico (nM+A) plantas micorrizadas sin agobio hídrico (M-A) y con agobio (M+A). Letras diferentes indican diferencias significativas Tukey ($p < 0.05$).

9.6.6 Efecto del agobio hídrico sobre el desarrollo de las plantas de *Tagetes erecta* L. no micorrizadas o micorrizadas fertilizadas con amonio (NH_4^+) como fuente de nitrógeno

De la misma manera se evaluaron las variables fisiológicas de las plantas de *Tagetes erecta* L. fertilizadas con amonio (NH_4^+) como fuente de nitrógeno y los valores promedio obtenidos se muestran en la tabla 4. Cuando las plantas fueron sometidas a agobio hídrico, se observó un incremento en el área foliar (AF) de las plantas micorrizadas con respecto a las no micorrizadas. Cuando las plantas no estuvieron sometidas a agobio hídrico se observó una disminución en el AF de las plantas micorrizadas con respecto a las no micorrizadas. Entre tratamientos micorrizados el área foliar fue significativamente favorecida en condiciones de agobio hídrico.

Tabla 4. Valores promedio obtenidos en el desarrollo de *Tagetes erecta* L. fertilizado con NH_4^+ . 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.

Tratamiento	Amonio (NH_4^+)					
	AF (cm^2)	PFV (g)	PSV (g)	VR (cm^3)	PFR (g)	PSR (g)
nM-A	126.7 a	16.3 a	1.86 a	0.06 c	0.58 b	0.03 a
nM+A	86.6 b	2.6 b	0.52 b	0.52 a	0.87 ab	0.02 a
M-A	61.4 b	5.9 b	0.48 b	0.15 c	1.92 a	0.02 a
M+A	143.0 a	6.5 b	0.53 b	0.22 b	0.32 b	0.02 a

Cuando se evaluó el peso fresco (PFV) de las plantas se observó un incremento en el tratamiento nM-A con respecto a los demás tratamientos evaluados. En el peso

seco (PSV) de las plantas se observó un efecto similar. En las raíces de las plantas nM+A se observó mayor volumen de raíz (VR) con respecto a las raíces nM-A. Bajo esta fertilización las raíces M-A presentaron un incremento con respecto a las raíces M+A.

El peso fresco de raíz (PFR) se incrementó en el tratamiento M-A con respecto a los tratamientos M+A y nM-A, dicho incremento fue significativo. En el peso seco de raíz (PSR) no se observaron diferencias entre los tratamientos.

9.6.7 Efecto del agobio hídrico sobre el pH de los lixiviados de las plantas no micorrizadas o micorrizadas fertilizadas con (NH₄⁺).

Cuando los lixiviados provinieron del medio al cual se le adicionó la fuente de nitrógeno como es el caso del amonio (NH₄⁺), se observó que el pH del tratamiento nM+A tendió a disminuir con respecto al resto de los tratamientos. En los tratamientos micorrizados el pH tendió a permanecer a un valor cercano a 6, reduciéndose significativamente más en el tratamiento M-A (Figura 8).

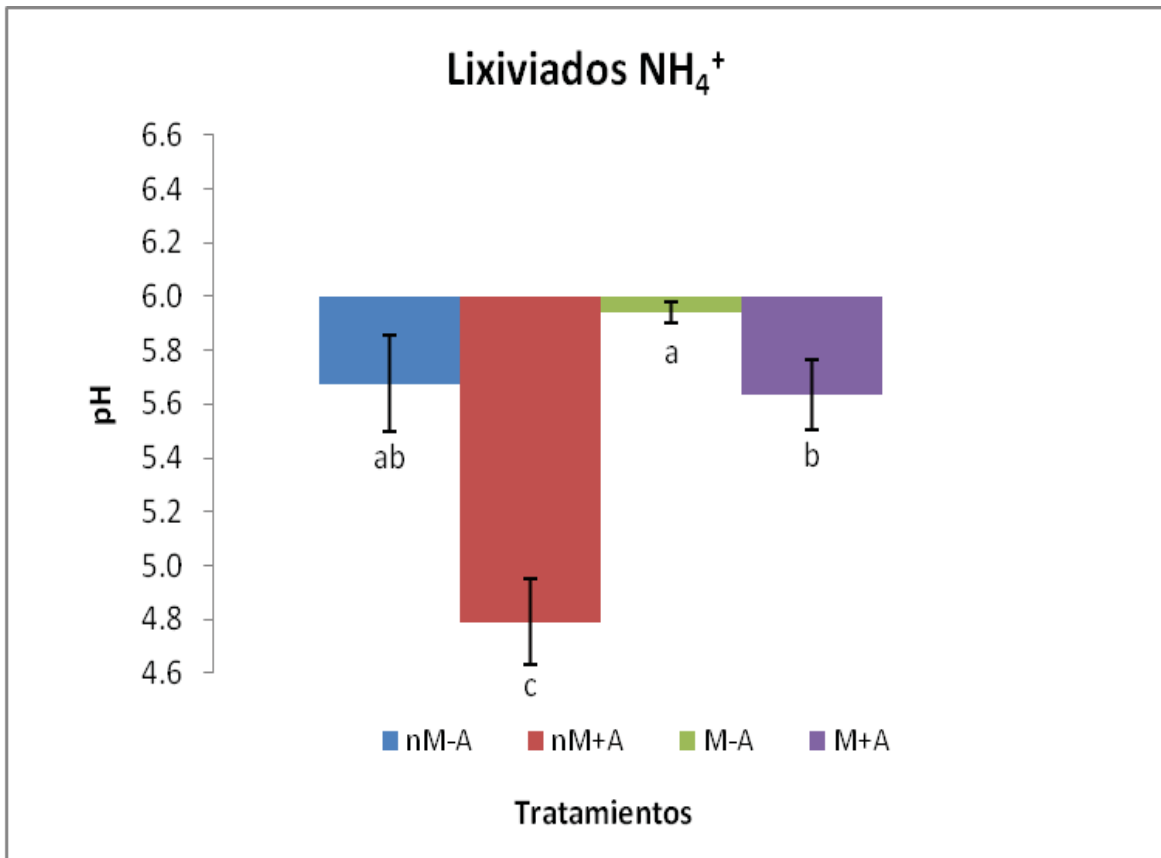


Figura 8. pH de los lixiviados de *T. erecta* L. fertilizadas con NH_4^+ . Plantas no micorrizadas sin agobio hídrico (nM-A) y con agobio hídrico (nM+A) plantas micorrizadas sin agobio hídrico (M-A) y con agobio hídrico (M+A). Letras diferentes indican diferencias significativas Tukey ($p < 0.05$).

9.6.8 Efecto del agobio hídrico sobre la solubilización de fósforo en los lixiados de las plantas no micorrizadas o micorrizadas fertilizadas con (NH_4^+)

Cuando los lixiviados provinieron de los tratamientos micorrizados se encontró una concentración de P significativamente mayor que en los tratamiento no micorrizados, donde no se detectó P. La concentración de P soluble en los lixiviados de los tratamientos micorrizados fue menor cuando se indujo el agobio hídrico con respecto a cuando no existió el agobio hídrico, estas diferencias no fueron significativas (Figura 9).

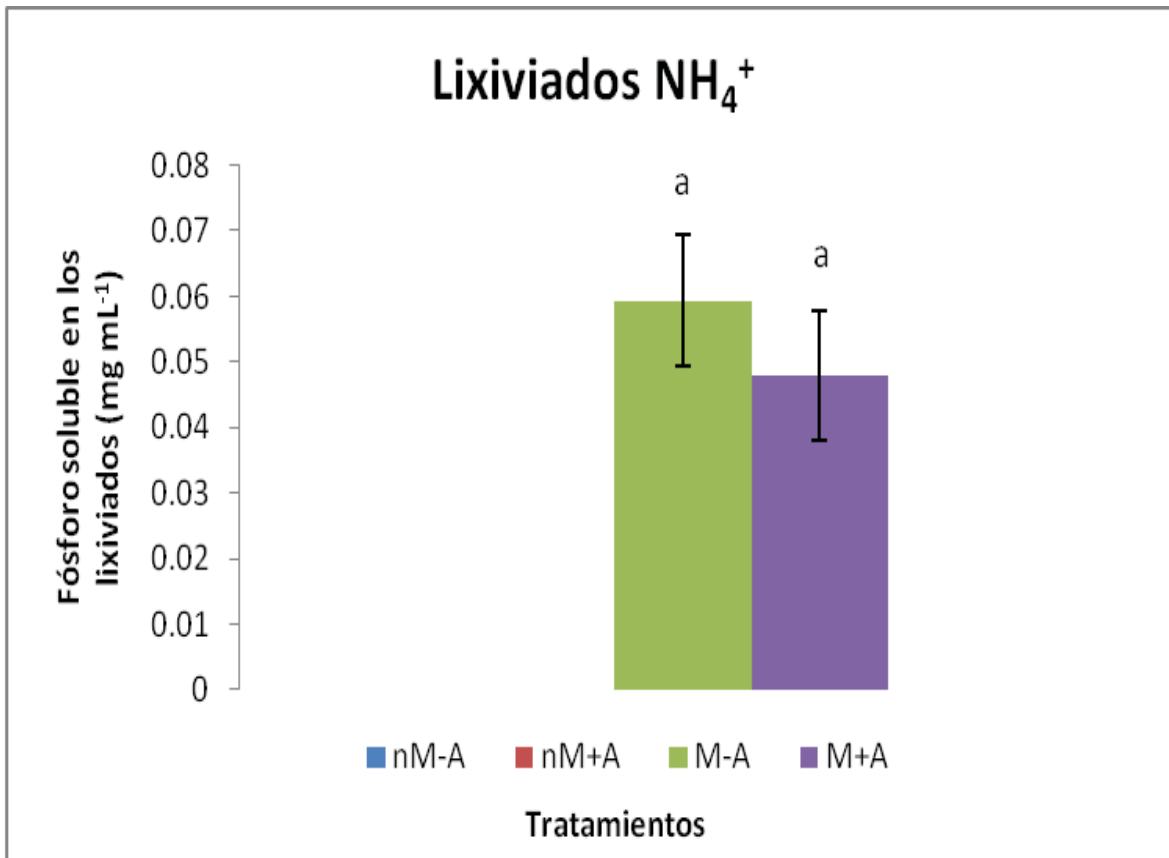


Figura 9. Fósforo soluble (mg mL^{-1}) en los lixiviados de *T. erecta* L. fertilizadas con NH_4^+ . Plantas no micorrizadas sin agobio hídrico (nM-A) y con agobio hídrico (nM+A) plantas micorrizadas sin agobio hídrico (M-A) y con agobio (M+A). Letras diferentes indican diferencias significativas Tukey ($p < 0.05$).

9.6.9 Efecto del agobio hídrico sobre la concentración de fósforo en vástago de las plantas de *T. erecta* L. no micorrizadas o micorrizadas fertilizadas con (NH_4^+)

En la figura 10 se muestra la concentración de fósforo en vástago de las plantas crecidas bajo fertilización con NH_4^+ . En los tratamientos micorrizados agobiados y no agobiados se observó una disminución en el contenido de P respecto a los tratamientos no micorrizados, dichas disminuciones fueron significativas. Entre tratamientos no micorrizados cuando se indujo el agobio se observó

significativamente mayor concentración de P con respecto a cuando no se indujo el agobio.

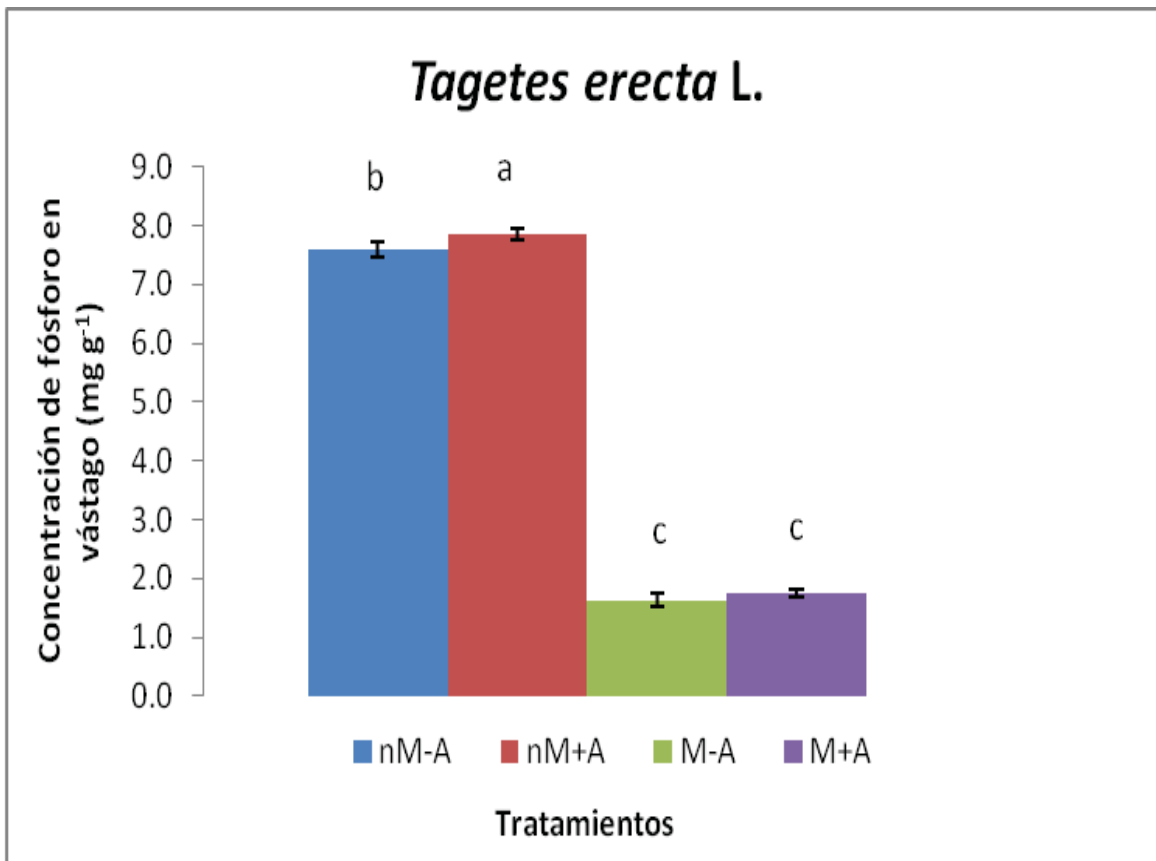


Figura 10. Concentración de fósforo en vástago (mg g^{-1}) de materia seca de *T. erecta* L. fertilizadas con NH_4^+ . Plantas no micorrizadas sin agobio hídrico (nM-A) y con agobio hídrico (nM+A) plantas micorrizadas sin agobio hídrico (M-A) y con agobio (M+A). Letras diferentes indican diferencias significativas Tukey ($p < 0.05$).

9.6.10 Efecto del agobio hídrico sobre la concentración de fósforo en raíces de *T. erecta* L. no micorrizadas o micorrizadas fertilizadas con (NH_4^+)

Bajo fertilización con NH_4^+ la acumulación de fósforo en las raíces del tratamiento nM-A fue mayor comparado con los tratamientos nM+A y M+A (Figura 11).

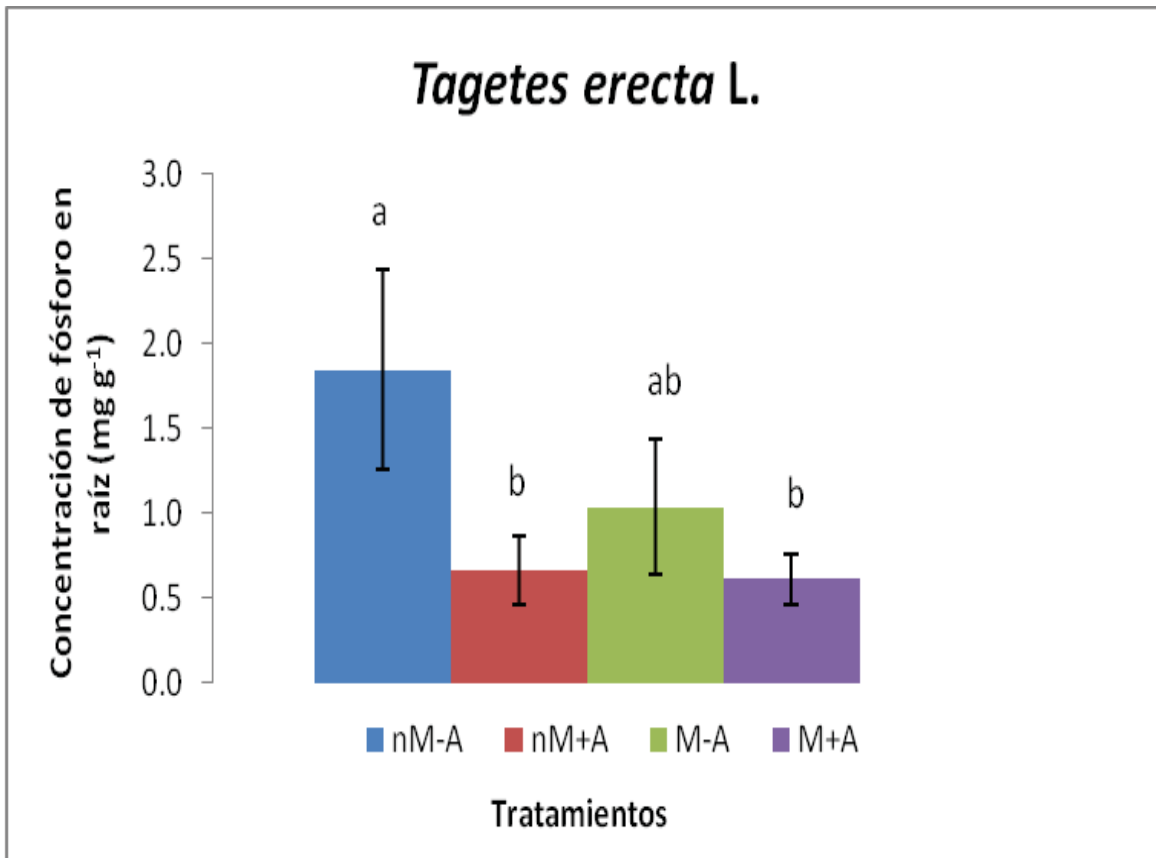


Figura 11. Concentración de fósforo en raíces (mg g⁻¹) de materia seca de *T. erecta* L. fertilizadas con NH₄⁺. Plantas no micorrizadas sin agobio hídrico (nM-A) y con agobio hídrico (nM+A) plantas micorrizadas sin agobio hídrico (M-A) y con agobio (M+A). Letras diferentes indican diferencias significativas Tukey (p<0.05).

X. 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 *Tagetes erecta* L. no micorrizadas bajo fertilización con NO₃⁻ y en presencia del agobio hídrico presentaron una disminución significativa en el crecimiento en comparación con las plantas no agobiadas tal como se ha reportado.

Cuando las plantas fueron micorrizadas y estuvieron en presencia del agobio hídrico (fertilizadas con NO₃⁻) el área foliar, peso fresco y seco del vástago y volumen de raíz presentaron una tendencia a incrementarse, aunque tales incrementos no fueron

significativos con respecto al tratamiento sin agobio. Esto coincide con Subramanian *et al.* (1995) quienes observaron en plantas de maíz micorrizadas bajo sequia, que su biomasa se incrementaba durante y después del agobio hídrico aunque tales incrementos no fueron significativos. Los autores sugieren que estos incrementos de la biomasa fueron debidos al incremento en el contenido de fósforo. En nuestros resultados se observaron incrementos significativos en peso seco y fresco de raíz y de la misma manera, nosotros sugerimos que estos incrementos en el desarrollo de las raíces podrían ser el resultado de un mayor aporte de fósforo por el hongo MA *Glomus intraradices* durante el agobio hídrico.

En el caso de la fertilización con amonio las variables evaluadas de las plantas no micorrizadas y agobiadas presentaron una disminución. Esta disminución del crecimiento está asociada a una disminución del área foliar que trae como consecuencia una disminución en la acumulación de carbón (Anyia y Herzog, 2004). También se pudo observar que el crecimiento de las plantas bajo esta fertilización fue menor comparado con las plantas fertilizadas con nitrato, tanto bajo agobio hídrico como sin el agobio. Por lo tanto, los resultados de esta investigación demuestran claramente que el agobio hídrico inducido disminuyó la disponibilidad de agua para las plantas de *Tagetes erecta* L. independientemente de la fuente de nitrógeno aplicada y que las plantas tienen una mejor eficiencia en la toma de agua en presencia de nitrato (Hogh-Jensen y Schjoerring, 1998).

En los tratamientos micorrizados y fertilizados con amonio el área foliar y el volumen de raíz se incrementaron cuando existió el agobio hídrico. Anteriormente se menciona a que el efecto benéfico que tienen los hongos micorrízicos bajo condiciones de agobio hídrico se debe a un mayor flujo de fósforo del hongo hacia la planta huésped (Subramanian *et al.* 1995). Por otra parte, el crecimiento de plantas micorrizadas y sometidas al agobio hídrico crecidas en un medio con dos diferentes fuentes de nitrógeno inorgánico aun no ha sido bien documentado. Por un lado se ha documentado que las plantas micorrizadas crecen mejor cuando se adiciona amonio (Ortas *et al.* 1996; Yoshida y Allen 2001) y por otro lado se menciona que crecen

mejor cuando se adiciona nitrato (Cuenca y Azcón 1994). Nuestros resultados indican que la biomasa de las plantas de *Tagetes erecta* L. micorrizadas agobiadas es favorecida cuando se fertiliza con nitrato. Este mayor crecimiento de *T. erecta* L. se podría deber a su mayor eficiencia en la toma de agua cuando está presente el nitrato y a la presencia del hongo micorrízico que aumenta la adquisición de fósforo como ha sido documentado por Farahani *et al.* (2008).

Estudios *in vitro* han demostrado que el hongo *Glomus intraradices* presenta un mayor crecimiento del micelio externo cuando se adiciona amonio que cuando se adiciona nitrato (Zepeda-Guzmán, 2007). Nosotros sugerimos que el desarrollo de las plantas pudo haber sido afectado por la demanda del carbón de la planta hacia el hongo por efecto de ese mayor desarrollo del micelio y que a su vez esté tendió a acumular más fósforo en la planta como consecuencia de ese flujo de carbono.

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). Cuando la fertilización de las plantas se llevó a cabo con nitrógeno en forma de nitrato (NO_3^-), el pH se alcalinizó comparado a cuando se adicionó la fuente de amonio (NH_4^+), la cual provocó una acidificación del pH. Estos cambios en el pH coinciden con los reportados por Marschner *et al.* (2003), quienes observaron que con la adición de NH_4^+ el pH disminuye, contrario a cuando se adiciona NO_3^- . En el caso particular de las plantas micorrizadas se observó un efecto estabilizador en el pH cuando estuvo presente el hongo MA *Glomus intraradices* manteniéndolo alrededor de pH 6. Cabe señalar que no se ha documentado que el hongo MA *Glomus intraradices* tenga un efecto estabilizador sobre el pH del suelo, por lo que este es el primer reporte que documenta esta habilidad de los hongos MA.

El pH tiene un importante efecto en la solubilización y adquisición de nutrimentos minerales por las raíces de las plantas, particularmente fósforo (Li *et al.* 1991a, b). Con valores de pH ácidos el fósforo se convierte en un elemento soluble (Hinsinger

et al. 2003), lo cual coincidió con los resultados encontrados en los tratamientos fertilizados con amonio, ya que tanto en raíz como en vástago se incrementó el contenido de fósforo en comparación con los tratamientos fertilizados con nitrato. En algunos estudios se ha observado que la principal contribución de los hongos MA sobre el crecimiento de las plantas está generalmente considerada a la nutrición mineral, principalmente con respecto al fósforo (Khalvati *et al.* 2005). Sin embargo, bajo alta disponibilidad de fósforo la micorriza podría actuar como un regulador de este y con ello seguir obteniendo carbono de la planta, especialmente cuando la disponibilidad de nitrógeno es baja para la planta como fue el caso de la fertilización con amonio. Con los resultados de esta investigación se pudo observar que la concentración de fósforo en los lixiviados provenientes de las plantas micorrizadas se incrementó de forma significativa con respecto a los lixiviados de las plantas no micorrizadas en ambas fuentes de nitrógeno. Este efecto de mayor solubilización está relacionado con el efecto estabilizador del pH obtenido en los lixiviados tanto de NO_3^- como de NH_4^+ . Al mantenerse el pH cercano 6 resulta una mayor solubilización de este nutrimento por el hongo.

Monzón y Azcón (2001) utilizando plantas de *Alnus* colonizadas con el hongo MA *G. intraradices*, bajo condiciones de no agobio, observaron que la colonización micorrízica además de incrementar la biomasa de las plantas, incrementaba la absorción y utilización de P. Zhu *et al.* (2001) también reportaron que la colonización micorrízica incrementó la concentración de P en plantas de trigo. En nuestros resultados se observó una tendencia opuesta a la documentada por estos autores, en plantas no micorrizadas se encontró mayor concentración de P con respecto a las plantas micorrizadas. Los cambios en el pH inducidos por las fuentes inorgánicas de nitrógeno aplicadas provocaron una mayor disponibilidad de fósforo, lo cual pudo haber resultado en un comportamiento similar entre plantas micorrizadas y no micorrizadas no agobiadas.

Por otro lado, Karagiannidis *et al.* (2007) encontraron una mayor concentración de P en plantas cuando fertilizaban con NO_3^- en comparación a cuando fertilizaban con

NH_4^+ . Azcón *et al.* (1992) reportaron una mayor concentración de P y otros macronutrientes en plantas de *Lactuca sativa* L. colonizadas con hongos MA y fertilizadas con NO_3^- . Sin embargo, en nuestros resultados se observó una tendencia totalmente opuesta a la documentada por estos autores. Bajo la fertilización con NH_4^+ se observó mayor concentración de fósforo tanto en el vástago como en la raíz de *Tagetes erecta* L. en comparación con la fuente de NO_3^- . Este efecto de mayor acumulación de fósforo en la planta micorrizada quizás fue debido a un mayor intercambio de carbono de la planta fertilizada con amonio. Bücking y Shachar-Hill (2005) documentaron que la cantidad de fósforo que el hongo le transfiere a la planta es proporcional al carbón destinado de la planta hacia el hongo. Por lo tanto, para la planta bajo fertilización con amonio el gasto de carbón es mayor en comparación con las plantas fertilizadas con nitrato. De alguna manera esto podría explicar el menor crecimiento de las plantas micorrizadas agobiadas y no agobiadas fertilizadas con amonio y que en el intercambio de fósforo y carbón fotoasimilado juega un papel clave la fuente de nitrógeno.

La simbiosis micorrízica contribuye en el crecimiento y absorción de P por las plantas, esta contribución se observa mayormente cuando las plantas son expuestas a la sequía (García Mendoza 2008; Neuman *et al.* 2009). Estos autores documentan que la colonización micorrízica contribuye significativamente en la adquisición de P en plantas de *Ipomoea batata* bajo condiciones de agobio hídrico, además mencionan que la concentración de P disminuye en las raíces no micorrizadas sujetas al agobio hídrico en comparación a las raíces micorrizadas agobiadas. Con lo que respecta a la concentración de P en la raíz, nuestros resultados mostraron la misma tendencia solo en las plantas fertilizadas con nitrato. El hongo acumula el fósforo en la raíz para contrarrestar el agobio hídrico, esto disminuye el potencial hídrico de la célula para soportar la sequía. Con amonio la concentración de P en la raíz fue opuesta a cuando se fertilizó con nitrato, solo se encontraron pequeñas tendencias en la acumulación de fósforo bajo sequía.

XI. CONCLUSIONES

- El agobio hídrico disminuyó el desarrollo de las plantas de *Tagetes erecta* L. no micorrizadas, tanto en fertilización con nitrato como con amonio.
- El hongo MA *Glomus intraradices* contribuyó a incrementar sólo el desarrollo de las raíces de *Tagetes erecta* L. bajo condiciones de agobio hídrico.
- Bajo las dos condiciones de fertilización utilizadas, la presencia de hongos MA tuvo un efecto estabilizador en el pH del medio bajo agobio hídrico, el cual favoreció la solubilización de fósforo.
- La concentración de fósforo fue reducida en el vástago de las plantas micorrizadas y agobiadas y este efecto se presentó en las dos fuentes de nitrógeno.
- En presencia de agobio hídrico y nitrato el hongo MA *Glomus intraradices* incrementó la concentración de fósforo en las raíces de *Tagetes erecta* L.
- En amonio solo se observó una disminución en la concentración de fósforo cuando las raíces de *Tagetes erecta* L. fueron micorrizadas por *Glomus intraradices* bajo condiciones de no agobio hídrico.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Abou El Seoud I.I.A. 2008. Phosphorus Efficiency of Tagetes Plant Inoculated with Two Arbuscular Mycorrhizal Fungi Strains. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 2(2): 234-242.
- Alarcón, A., S. R. Almaraz, M. C. Ferrera-Cerrato, A.M. González-Chavez, E.H. Lara, M. Manjarrez, L. R. Quintero, S.R. Santamaría. 2004. Manual: Tecnología de hongos micorrizicos en la producción de especies vegetales en vivero. 33-73 pp. En Ferrera-Cerrato, A. Alarcón y M. E. Lara (Eds). Colegio de posgraduados, montecillo. SAMARNAT-PRONARE. México 98 pp.
- Al-Karaki G. N. 1998. Benefit, cost and water-use efficiency of arbuscular mycorrhizal durum wheat grown under drought stress. *Mycorrhiza*. 8: 41-45.
- Al-Karaki, G. N. Y R. B. Clark. 1998. Growth, mineral acquisition, and water use by mycorrhizal wheat grown under water stress. *Journal of Plant nutrition*. 21:263-276.
- Al-Karaki G.N. 2000. Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. *Mycorrhiza*. 10: 51-54.
- Allen, M.F., W. Swenson, J.I. Querejeta, L.M. Egerton-Warburton, K.K. Tresender. 2003. Ecology of mycorrhizae: A conceptual framework from complex interactions among plant and fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.* 41:271-303.
- Allen M. F. 1982. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizal on water movement through *Bouteloua gracilis*(H.B.K.) Lag ex Stued. *New Phytologist*. 104: 559-571.
- Anyia A. O. y H. Herzog. 2004. Water-use efficiency, leaf area and leaf gas exchange of cowpeas under midseason drought. *Eur J Agron.* 20:327–339.
- Augé, R. M., K. A. Schekel, y R. L. Wample. 1987. Leaf water and carbohydrate status of VA mycorrhizal rose exposed to drought stress. *Plant and soil*. 99: 292-302.

- Augé, R. M. y A. J. W. Stodola. 1990. An apparent increase in symplastic water contributes to greater turgor in mycorrhizal roots of drought rosa plant. *New Phytologist*. 115: 285-295.
- Augé R.M. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*. 11: 3-42.
- Aylin, S. M., S. E. Smith, F.A. Smith. 2000. Transmembrane electric potential difference of germ tubes of arbuscular mycorrhiza fungi responds to external stimuli. *New Phytologist*. 147: 631-639.
- Azcón, R., M. Gomez, R. Tobar.1992. Effects of nitrogen source on growth, nutrition, photosynthetic rate and nitrogen metabolism of mycorrhizal and phosphorus-fertilized plants of *Lactuca sativa* L. *New Phytol*. 121:227–234.
- Azcón-Aguilar, R. y J. Barea. 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.
- Azcón – Aguilar, C., J. Palenzuela, L. García, J. M. Barea. 1999. Aplicación de las micorrizas en hortofruticultura. *Phytoma España*.110(6). 46-56.
- Azcón-Bieto, J. y M. Talón. 2000. Fundamentos de fisiología vegetal. Editorial Mc Graw-Hill-interamericana. Edición Universidad de Barcelona, Barcelona, España. pp.481-497.
- Bago, B., H. Vierheilig, Y. Piche, C. Azcón-Aguilar. 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., C. Azcón-Aguilar, y Y. Piché. 1998a. Architecture and developmental dynamics of the external mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* grown under monoxenic conditions. *Mycologia*. 90:52-62.
- Bago, B., C. Azcón-Aguilar, A. Goulet, y Y. Piché. 1998b. Branched absorbing structures (BAS): a feature of the extraradical mycelium of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 139:375-388.

- Bago, B., W. Zipfel, R. M. Williams, J. Jun, R. Arreola, P. J. Lammers, P. E. Pfeffer, Y. Shachar-Hill. 2002. Translocation and utilization of fungal storage lipid in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant Physiology*. 128: 108-124.
- Barber S. A. 1995. Soil nutrient bioavailability. A mechanistic approach. John Wiley and Sons, New York.
- Barea J. M. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhizae as modifiers of soil fertility. *Adv. Soil Sci.* 15, 1–40.
- Becard, G. y J. A. Fortín. 1988. Early events of vesicular-arbuscular mycorrhizal formation on Ri T-DNA transformed roots. *New Phytologist*. 108:211-218.
- Bécard, G.L., W. Doner, D.B. Rolin, D.D. Douds, D.E. Pfeffer. 1991. Identification and quantification of trehalose in vesicular-arbuscular fungi by *in vivo* ¹³C NMR and HPLC analyses. *New Phytologist* 118:547-552.
- Bernal, L., P. Coello, J. Acosta, y E. Martínez-Barajas. 2005. Efecto de la deficiencia de fósforo en el metabolismo de carbono de plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris*). *Plant Physiol.* 162: 970-976.
- Bethenfalvay G. J. 1992. Mycorrhizae and crop productivity. En. *Micorrhyzae in Sustainable Agriculture*. (G. J. Bethenfalvay y R. G. Liderman, Eds.) ASA special publication. No. 54, Madison, Wisc., p. 1-28.
- Bethenfalvay G. J. 1992. Mycorrhizae in the agricultural plant-Soil system. *Symbiosis*. 14: 413-425.
- Bielecki R. L. 1973. Phosphate pool, phosphate transport, and phosphate availability. *Annual review of Plant Physiology* 24: 225-252.
- Blee, K. A. y A.J. Anderson. 2000. Defense responses in plants to arbuscular mycorrhizal fungi. In *Current advanced in mycorrhizae research*. Edited by Podila G. K. and Douds Jr. D.D. APS Press, U.S.A. pp. 27-44, ISBN 0-89054-245-7.
- 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. y Y. Shachar-Hill. 2005. Phosphate uptake, transport and transfer by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* is stimulated by increased carbohydrate availability. *New Phytol.* 165(3):899–912.

- Burleigh, S. H., T. Cavagnaro, I. Jakobsen. 2002. Functional diversity of arbuscular mycorrhizas extend to the expression of plant genes involved in P nutrition. *Journal of Experimental Botany*. 53: 1593-1601.
- Cantrell, I. C. y R. G. Linderman, 2001. Preinoculation of lettuce and onion with VA mycorrhizal fungi reduces deleterious effects of soil salinity. *Plant Soil*. 233, 269–281.
- Charest, C., Y. Dalpé, y A. Brown. 1993. The effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae and chilling on two maize hybrids of maize. *Mycorrhiza*. 4: 89-92.
- Cordier, C-, M. Pozo, J. Barea, S. Gianinazzi, V. Gianinazzi-Pearson. 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 C. A. 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. y R. Azcón. 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.
- Davies, F. T., J. R. Potter, y R. G. Linderman. 1992. Mycorrhiza and repeated drought exposure affect drought resistance and extraradical hyphae development of pepper plant independent of plant size and nutrient content. *Journal of Plant Physiology*. 139: 189-294.
- Dell'Amico, J., A. Torrecillas, P. Rodriguez, A. Morte, M.J. Sánchez Blanco. 2002. Water and growth parameter responses of tomato plants associated with arbuscularmycorrhizae during drought and recovery. EEUU. *Journal of Agricultural Sciences* 138: 387-393.
- Ezawa, T., S. E. Smith, F. A. Smith, 2001. Differentiation of polyphosphate metabolism between the extra- and intraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*. 149: 555-563.

- Entry, J. A., P. T. Rygielwicz, L.S. Watrud, P.K. Donnelly. 2002. Influence of adverse soil conditions on the formation and function of arbuscular mycorrhizas. *Adv Environ Res.* 7:123–138.
- Faber, B. A., R. J. Zasoski, D. N. Munns, K. Shackel. 1991. A method for measuring hyphal nutrient and water uptake in mycorrhizal plants. *Canadian Journal of Botany.* 69: 87-94.
- Farahani, H. A., M. H. Labaschi, A. Hamidi. 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.
- Farías-Rodríguez, R., R.B. Mellor, C. Arias. y J.J. Peña-Cabriales. 1998. The accumulation of trehalose in nodules of several cultivars of common bean (*Phaseolus vulgaris*) and its correlation with resistance to drought stress. *Physiologia Plantarum* 102:353-359.
- Frey, B. y H. Schuepp. 1993. Acquisition of nitrogen by external hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Zea mays* L. *New Phytologist.* 124:221-230.
- Garcia Mendoza R. 2008. Deficit and excess of soil water impact on plant growth of *Lotus tenuis* by affecting nutrient uptake and arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant Soil.* 304. 117-131.
- Gederman, J. W. y J. M. Trappe. 1974. The Endogonaceae in the pacific northwest. *Mycologia*, memoir No. 5.
- George, E., K. Haussler, G. Vetterlein, E. Gorgus, H. Marschner. 1992. Water and nutrient translocation by hyphae of *Glomus mosseae*. *Can J Bot* 70: 2130-2137.
- Gianinazzi-Pearson V. 1996. Plant cell responses to arbuscular mycorrhizal fungi: getting to the roots of the symbiosis. *The Plant Cell.* 8:1871-1883.
- Govindarajulu, M., P. E. Pfeffer, H. Jin, J. Abubaker, D. D. Douds, J. W. Allen, H. Bücking, P. J. Lammers, Y. Shachar-Hill. 2005. Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Nature.* 435:819-823.
- Godbold, D. L., M. R. Hoosbeek, M. Lukac, M. F. Cotrufo, I. A. Janssens, R. Ceulemans, A. Polle, E. J. Velthorst, G. Scarascia-Mugnozza, P. de Angelis, F. Miglietta, A. Peressotti. 2006. Mycorrhizal Hyphae turnover as a dominant process for carbon input into soil organic matter. *Plant and Soil.* 281:15-24.

- Goicoechea, N., G. Szalai, M. C. Antolin, M. Sánchez-Díaz, Y E. Paldi. 1998. Influence of arbuscular mycorrhizae and *Rhizobium* on free polyamines and proline levels in water-stressed alfalfa. *Journal of plant Physiology*. 153:706-711.
- Grossman, A. y H. Takahashi. 2001. Macronutrient utilization by photosynthetic eukariotes and the fabric of interactions. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52: 163-210.
- Gutierrez-Boem, F. H. y W. Grant. 1999. Thomas. Phosphorus nutrition and water deficits in field-grown soybeans. *Plant and Soil* 207: 87–96.
- Hardie, K. y L. Leyton. 1981. The influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on growth and water relation on red clover. In Phosphate-deficient soil. *New Phytologist*. 89: 599-608.
- Harrison, M. J. y M. L. Van Buuren. 1995. A phosphate transporter from the mycorrhiza fungus *Glomus versiforme*. *Nature*. 378: 626-629.
- Harrison, M. J., G. R. Dewbre, J. Liu. 2002. A phosphate transporter from *Medicago truncatula* involved in the adquisition of phosphate released by arbuscular mycorrhizal fungi. *The Plant Cell*. 14: 2413-2429.
- Hawkins, H.J., A. Johansen, E. George. 2000. Uptake of organic and inorganic nitrogen by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*. 226:275-285.
- Hinsinger P. C. Plassard. C. X. Tang. B. Jaillard. 2003. Origins of root-mediated pH changes in the rhizosphere and their responses to environmental constraints: A review. *Plant Soil*. 248:43–59.
- Hodge A. 2003. N capture by *Plantago lanceolata* and *Brassica napus* from organic material: the influence of spatial dispersion, plant competition and an arbuscular mycorrhizal fungus. *Journal of Experimental Botany*. 54:2331-2342.
- Hogh-Jensen H. y J. K. Schjoerring. 1998. Interactions between white clover and ryegrass under contrasting nitrogen availability: [N.sub.2]-fixation, N fertilizer recovery, N transfer and water use efficiency. *Plant and Soil* 197, 187-199.
- Hopkins W. G. 1995. Introduction to plant physiology. Jhon Wiley and sons, Inc. USD. 464 pp.
- Horst, W. J., M. Kamh, J. M. Jibrin, V. A. Chude. 2001. Agronomic measures for increasing P availability to crops, *Plant and Soil*. 237: 211-233.

- Hudson H. 1992. Fungal biology. Cambridge University Press. Great Britain.
- Ianson, D. C. y R.G. Linderman. 1993. Variation in the response of nodulating pigeonpea (*Cajanus cajan*) to different isolates of mycorrhizal fungi. *Symbiosis*. 15, 105–119.
- Jakobsen, I. y L. Rosendahl. 1990. Carbon flow into soil and external hyphae from roots of mycorrhizal cucumbers plants. *New Phytologist*. 115:77-83.
- Jeffries, P., S. Gianinazzi, S. Perotto, K. Turnau, y J. M. Barea. 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biology Fertilizer soil*. 37: 1-16.
- Jia, Y., V. M. Gray, C. J. Straker. 2004. The influence of *Rhizobium* and arbuscular mycorrhizal fungi on nitrogen and phosphorus accumulation by *Vicia faba*. *Ann Bot*. 94: 251-258.
- Johansen, A., I. Jakobsen, E. S. Jensen. 1992. Hyphal transport of ¹⁵N-labelled nitrogen by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and its effect on depletion of organic soil N. *New Phytologist*. 47: 281-288.
- Johansen, A., L. Jakonsen, E. S. Jensen. 1993a. Hyphal transport by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus of N applied to the soil as ammonium or nitrate. *Biology and fertility of soils*. 16:66-70.
- Johansen, A., L. Jakonsen, E.S. Jensen. 1993b. External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. Hyphal transport ³²P and ¹⁵N. *New Phytologist*. 124:61-68.
- Joner, E., S. Ravnskov, I. Jakobsen. 2000. Arbuscular mycorrhizal phosphate transport under monoxenic conditions using radio-labelled inorganic and organic phosphate. *Biotechnology letters*. 22: 1705-1708.
- Jones, M. J. y A. Wahbi. 1992 Site-factor influence on barley response to fertilizer in on-farm trials in northern Syria: Descriptive and predictive models. *Exp. Agric*. 28, 63–87.
- Karagiannidis, N., N. Nikolaou, I. Ipsilantis, y E. Zioziou. 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. y G. Galiba. 2000. Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings. *Crop Science*. 40: 482-487.
- Khalvati M.A. A. Mozafar and U. Schmidhalter. 2005. Quantification of Water Uptake by Arbuscular Mycorrhizal Hyphae and its Significance for Leaf Growth, Water Relations, and Gas Exchange of Barley Subjected to Drought Stress. *Plant Biology –Stuttgart*. 7(6): 706-712.
- Koide, R. T. y Z. Kabir. 2000. Extraradical Hyphae of the Mycorrhizal fungus, *Glomus intraradices* can hydrolyse organic phosphate. *New Phytologist*. 148: 511-517.
- Kramer P.J. 1983. Water relations of plant. *Academic press Inc*. U.K. p. 489, ISBN 0-12-425040-8.
- Kramer, P. J. y J. S. Boyer. 1995. Water relations of plants and soils. Academic Press, San Diego.
- Lajtha, K, y A. F. Harrison. 1995. Strategies of phosphorus acquisition and conservation by plant species and communities. In: Tiessen H, ed. *Phosphorus in the Global environment*. Chichester, UK: John Wiley Sons Ltd, 140-147.
- Lea, P. J., D. Blackwell, F. Chen, U. Hecht. 1990. Enzymes of ammonia assimilation: In: Lea PJ (ed) *Methods in plant biochemistry*, vol 3. Academic Press, London, pp 257–276.
- Linderman R. G. 1994. Role of VAM fungi in biocontrol. En: *Mycorrhizae and plant health*. Eds. F.L. Pfeleger y R.G. Linderman. APS Press. Minnesota. 1-25.
- Linderman, R. G. y E. A. Davis. 2001. Varied response of marigold (*Tagetes* spp.) genotypes to inoculation with different arbuscular mycorrhizal fungi. *Scientia Horticulturae* 99: 67–78.
- Li, X-L., E. George, H. Marschner. 1991a. Acquisition of phosphorus and copper by VA-mycorrhizal hyphae and root-to-shoot transport in white clover. *Plant Soil*. 136:49–57.
- Li, X-L., G. E. Eckhard, H. Marschner. 1991b. Phosphorus depletion and pH decrease at the root-soil and hyphae-soil interfaces of VA mycorrhizal white clover fertilized with ammonium. *New Phytol*. 119:397–404.

- López-Bucio, J.O., A. Martínez-de la Vega, Guevara-García y L. Herrera-Estrella. 2000. Enhanced phosphorus uptake in transgenic tobacco plants that overproduce citrate. *Nature Biotech.* 18: 450- 453.
- Maldonado-Mendoza, I. E., G. R. Dewbre, M. J. Harrison. 2001. A phosphate transporter gene from the extra-radical mycelium of an arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* is regulated in response to phosphate in the environment. *Molecular Plant-Microbe Interactions.* 14:1140-1148.
- Marschner, H. y B. Dell. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil* 159: 89-102.
- Marschner H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Second edition, Academic Press, London.
- Marschner, H., L. Sas, V. Römheld, S. Mercik. 2003. Effect of nitrogen forms on growth and chemical changes in the rhizosphere of strawberry plants. *Physiologiae Plantarum.* 25: 241-247.
- Marthur, N. y A. Vyas. 1995. Influence of VA mycorrhizae on net photosynthesis and transpiration of *Ziziphus mauritiana*. *Journal of plant Physiology.* 147: 328-330.
- Matar, A., J. Torrent y J. Ryan. 1992. Soil and fertilizer phosphorus and crop responses in the dryland mediterranean zone. *Adv. Soil Sci.* 18, 81–146.
- Maurel, C. y M. J. Chrispeels. 2001. Aquaporins. A molecular entry into plant water relations. *Plant Physiology.* 125: 135-138.
- McLaughlin, M. J., I. R. Fillery, y A. R. Till. 1991. Operation of the phosphorus, sulphur and nitrogen cycles. *In Australia's Renewable Resources: Sustainability and Global Change.* Eds. Gifford R M and Barson M M. pp 67–116. Bureau of Rural Resources, Canberra, Australia.
- Miller, R. M, y J. D. Jastrow. 1992. Extraradical hyphal development of vesicular-arbuscular Mycorrhizal fungi in a chronosequence of prairie restoration. En: D.J. Read, D.H. Lewis, A.H. fitter e I.J. Alexander (Eds). *Mycorrhizas in ecosystems* (Pp 171-176). Cambridge (uk): CAB international.
- Miller, A. J. y M. D. Cramer. 2004. Root nitrogen acquisition and assimilation. *Plant and Soil.* 274: 1–36.

- Morton, J. M. y J. L. Benny. 1990. Revised of clasification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glominae and Gigasporinae, and two new families, acaulosporaceae, with an inmendation of glomaceae. *Mycotaxon*. 37: 471-491.
- Monzón, A. y R. Azcón. 2001. Growth responses and N and P use efficiency of three *Alnus* species as affected by arbuscular-mycorrhizal colonization. *Plant Growth Regulation*. 35: 97-104.
- Mugnier. J. y B. Mosse. 1987. Vesicular-arbuscular infection in Ri T-DNA transformed roots grown axenically. *Phytopathology*. 77:1045-1050.
- Müller, J., T. Boller, y A. Wiemken. 1995. Trehalose and trehalasae in plants: recent developments. *Plant Science*. 112:1-9.
- Munns R. (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ* 25:239–250.
- Neumann, E., B. Schmid, V. Romheld, E. George. 2009. Extraradical development and contribution to plant performance of an arbuscular mycorrhizal symbiosis exposed to complete or partial rootzone drying. *Mycorrhiza*. 20: 13-23.
- Nielsen, J. S., E. J. Jøner, S. Declerck, S. Olsson, I. Jakobsen. 2002. Phospho-imaging as a tool for visualization and noninvasive measurement of P transport dynamics in arbuscular mycorrhizas. *New Phytologist*. 154:809-819.
- Olsson, P. A., S. H. Burleigh, I. M. Van Aarle. 2005. The influence of external nitrogen on carbon allocation to *Glomus* intraradices in monoxenic arbuscular mycorrhiza. *New Phytologist*. 168:677-686.
- Ortas, I., P. J. Harris y D. L. Rowell. 1996. Enhanced uptake of phosphorus by mycorrhizal shorgum plants as influenced by forms of nitrogen. *Plant and Soil*. 184: 255-264.
- Raghothama K. G. 1999. Phosphate acquisition. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 50: 665-693.
- Rasmussen, N., D. C. Lloyd, R. G. Ratcliffe, P. E. Hansen, I. Jakobsen. 2000. ³¹P NMR for the study of P metabolism and translocation in arbuscular mycorrhiza fungi. *Plant and Soil*. 226: 245-253.

- Rausch, C., P. Daram, S. Brunner, J. Jansa, M. Laloi, G. Leggewie, N. Amrhein, M. Bucher. 2001. A phosphate transporter expressed in arbuscule containing cell in potato. *Nature*. 414: 462-470.
- Rausch, C. y M. Baucher. 2002. Molecular mechanisms of phosphate transport in plants. *Plant*. 216: 23-37.
- Redecker, D., R. Kodner, L. E. Graham. 2000. Glomalean fungi from the ordovician. *Science*. 289: 1920-1921.
- Reid C. P. 1990. Mycorrhizal. En: The rhizosphere .Ed. Lynch. J.M. John Wiley and Sons, New York, USA.
- Rekika, D., M. M. Nachit, J. L. Araus y P. Monneveux. 1998. Effect of water deficit on Photosynthetic rate and osmotic adjustment in tetraploid wheats. *Photosynthetica*. 35: 129-138.
- Richardson, A. E., J. M. Barea, A. M. McNeill, C. Prigent-Combaret. 2009. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant Soil*. 321:305–339.
- Rosewarne, G. M., S. J. Barker, S. E. Smith, F. A. Smith, D. P. Schachtman. 1999. A *Lycopersicon Esculentum* Phosphate transporter (LePt1) Involved in phosphorus uptake from a Vesicular-Arbuscular mycorrhizal Fungus. *New Phytologist*. 144: 507-516.
- Ruiz-Lozano, J. M. y R. Azcón. 1995. Hyphal contribution to water uptake in mycorrhizal plant as affected by the fungal species and water status. *Physiologia Plantarum*. 95: 472-478.
- Ruiz-Lozano, J. M., R. Azcón y M. Gómez. 1995. Effect of arbuscular-mycorrhizal *Glomus* species on drought tolerance: physiological and nutritional plant responses. *Applied and Environmental Microbiology*. 61: 456-460.
- Sánchez-Díaz, M. y J. Aguirreolea. 2000. Transporte de agua y balance hídrico e la planta. En : Fundamentos de fisiología vegetal. McGraw-Hill interamericana. España. p.45-64.
- Schellembaum, L., J. Müller, T. Boller, A. Wiemkem, y H. Schüpp. 1998. Effect of drought on non-mycorrhizal and mycorrhizal maize: changes in the pools non-

- structural carbohydrates, in the activities of invertase and trehalase, and in the pools of aminoacids and iminoacids. *New Phytologist*. 138: 59-66.
- Schortemeyer, M., B. Feil, y P. Stamp. 1993. Root morphology and nitrogen uptake of maize simultaneously with ammonium and nitrate in a split-root system. *Annals of Botany*. 72: 107-115.
- Schüßler, A., D. Schwarzott y C. Walker. 2001. A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. *Mycological Research*. 105: 1413-1421.
- Sharma, A. K., B. N. Johri y S. Gianinazzi. 1992. VAM in relation to plant disease. *World Journal and Microbiology and Biotechnology*. 8: 559-563.
- Smith, D. C. y A. E. Douglas. 1987. The biology of simbiosis. Edward Arnold publishers. London.
- Smith, S. E. y D. J. Read. 1997. Mycorrhizal symbiosis. London, UK: Academic Press.
- Smith, F. W., A. L. Rae, M. J. Hawkesford. 2000. Molecular mechanism of phosphate and sulfate transport in plant. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1465: 236-245.
- Smith, S. E., F. A. Smith, I. Jakobsen. 2003. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. *Plant physiol*. 133: 16-20.
- Staddon, P. L., C. B. Ramsey, N. Ostle, P. Ineson, A. H. Fitter. 2003. Rapid turnover of hyphae of mycorrhizal fungi determined by AMS microanalysis of ¹⁴C. *Science*. 300:1138-1140.
- St.-Arnaud, M., C. Hamel, J. A. Fortin. 1994. Inhibition of *Pythium ultimum* in roots and growth substrate of mycorrhizal *Tagetes patula* colonized with *Glomus intraradices*. *Can. J. Plant Pathol*. 16, 187–194.
- St-Arnaud, M., C. Hamel, B. Vimard, M. Caron y J. A. Fortin. 1996. Altered growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Chrysanthemi* in an *in vitro* dual culture system with the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* growing on *Daucus carota* transformed roots. *Mycorrhiza*. 5:431-438.
- Subramanian, K. S., C. Charest, L. M. Dwyer y R. I. Hamilton. 1995. Arbuscular mycorrhizas and water relations in maize under drought stress at tasselling. *New Phytologist*. 129: 643-650.

- Sylvia, D. M. y S. E. Williams. 1992. Vesicular–arbuscular mycorrhizae and environmental stresses. In: Bethlenfalvay GJ, Linderman RG (eds) *Mycorrhizae in Sustainable Agriculture*. ASA Spec. Publ. No. 54. Madison, pp 101–124.
- Szaboles I. 1991. Desertification and salinization. In: Choukr-Allah R (ed). *Plant Salinity Research New Challenges*. pp 3–18.
- Tibbet, M. y F. E. Sanders. 2002. Ectomycorrhizal symbiosis can enhance plant nutrition through improved access to discrete organic nutrient patches of high resource quality. *Annals of Botany*. 89: 783-789.
- Tinker P. B. 1978. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on plant nutrition and plant growth. *Physiol. Veg.* 16: 743-751.
- Tischner R. 2000. Nitrate uptake and reduction in higher and lower plants. *Plant Cell and Environmental*. 23: 1005-1024.
- Tisdall J. M. 1994. Possible role of soil microorganisms in aggregation in soils. *Plant and soil*. 159: 115-121.
- Tisdall, J.M Y Oades J.M. 1979. Stabilization of soil aggregates by the root segments of ryegrass. *Australian Journal of Soil Research* 17: 429-441.
- Toussaint, J. P., M. St-Arnaud, C. Charest. 2004. Nitrogen transfer and assimilation between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* Schenck and Smith and Ri T-DNA roots of *Daucus carota* L. in an in vitro compartmented system. *Canadian Journal of Microbiology*. 50:251-260.
- Tobar, R., R. Azcón, J. M. Barea. 1994. Improved nitrogen uptake and transport from ¹⁵N-labelled nitrate by external hyphae of arbuscular mycorrhizal under water-stressed conditions. 1994. *New Phytologist*. 126:119-122.
- Vance C. P. 2001. Cymbiotic nitrogen fixation and phosphorus acquisition in a world of declining renewable resources. *Plant Physiology*. 127: 390-397.
- Villegas, J., R. D. Williams, L. Nantais, A. Archambault y J. A. Fortin. 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. y J. A. Fortin. 2001. P solubilization and pH changes as a result of the specific interactions between soil bacteria and AM fungi, on a medium containing NH₄⁺ as N source. *Canadian Journal of Botany*. 79:865-870.

- Villegas, J. y J. A. Fortin. 2002. P solubilization and pH changes as a result of the specific interactions between soil bacteria and AM fungi, on a medium containing NO₃- as N source. *Canadian Journal of Botany*. 80:571-576.
- Vogel's 2000. Textbook of Quantitative Chemical Analysis. Sixth Edition. Prentice Hall. Greenwich, London. 805 pp.
- Yoshida, L. C. y E. B. Allen. 2001. Response to ammonium and nitrate by a mycorrhizal annual invasive grass and native shrub in southern California. *Am J Bot*. 88:1430–1436.
- Zhu, Y. G y S. E. Smith. 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.