

Efecto de diferentes niveles de fósforo en aguacate inoculado con hongos micorrízicos arbusculares*

Effect of different phosphorus levels on avocado inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi

Jacob Bañuelos¹, Wendy Sangabriel Conde¹, Mayra E. Gavito², Dora Trejo Aguilar^{1§}, Samuel Camara¹, Rosario Medel Ortíz¹ y Yazmin Carreon Abud³

¹Universidad Veracruzana-Facultad de Ciencias Agrícolas. Circuito Gonzalo Aguirre Beltrán s/n, Zona Universitaria Xalapa, Veracruz. CP 91000. México. Tel. (228) 8421700, ext. 11621. (llacoob@gmail.com; wsangabriel@gmail.com; samuel.agro@hotmail.com; ycabud@gmail.com). ²Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad-Universidad Nacional Autónoma de México. Antigua Carretera a Pátzcuaro núm.8701, Morelia, Michoacán. (mgavito@cieco.unam.mx). ³Facultad de Biología-Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Ciudad Universitaria, Morelia, Michoacán. [§]Autora para correspondencia: doratrejo@gmail.com.

Resumen

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son una alternativa biológica para aumentar la absorción del fósforo y reducir el uso excesivo de fertilizantes fosfatados. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de diferentes concentraciones de fertilización fosforada en plantas de aguacate con y sin micorriza. Para el experimento se utilizó un diseño factorial con dos factores: inoculante micorrízico (con tres niveles: Rizofermic-UV, *Pacispora scintillans* y sin inocular) y fertilización con fósforo (con cinco niveles: sin fertilizante, 20, 40, 80 y 160 ppm; utilizando H₂PO₄ como fuente de fertilizante), cada tratamiento con cuatro repeticiones. A 401 días después de la inoculación se evaluó altura, diámetro, número de hojas, área foliar, tasa de crecimiento, peso fresco y seco y porcentaje de colonización micorrízica. Las variables se analizaron con una prueba de Fisher, considerando significativo un valor de $p < 0.05$. El tratamiento con 160 ppm causó la muerte de las plantas a los 150 días, mientras que plántulas inoculadas más 20 ppm mostraron un incremento en variables de crecimiento significativo ($p < 0.05$) con respecto al testigo. Tanto plantas inoculadas con Rizofermic-UV como con *P. scintillans*

Abstract

The arbuscular mycorrhizal fungi (HMA) are a biological alternative to increase the absorption of phosphorus and reduce the excessive use of phosphate fertilizers. The objective of this work was to evaluate the effect of different concentrations of phosphorus fertilization on avocado plants with and without mycorrhiza. A factorial design was used with two factors: mycorrhizal inoculant (with three levels: Rizofermic-UV, *Pacispora scintillans* and uninoculated) and fertilization with phosphorus (with five levels: without fertilizer, 20, 40, 80 and 160 ppm; using H₂PO₄ as fertilizer source), each treatment with four replicates. 401 days after inoculation, height, diameter, number of leaves, leaf area, growth rate, fresh and dry weight and percentage of mycorrhizal colonization were evaluated. Variables were analyzed using a Fisher's test, with a significance level of $p < 0.05$. being considered significant. The treatment with 160 ppm caused the death of the plants at 150 days, while inoculated seedlings plus 20 ppm showed an increase in significant growth variables ($p < 0.05$) with respect to the control. Both plants inoculated with Rizofermic-UV and *P. scintillans* showed a significant increase in growth

* Recibido: julio de 2017
Aceptado: agosto de 2017

mostraron un incremento significativo en variables de crecimiento con respecto al testigo ($p < 0.05$). Las plantas inoculadas con *P. scintillans* y además con un tratamiento de 20 ppm de fósforo, promueven el mayor incremento en las variables de crecimiento. La micorrización tuvo efectos positivos y significativos sobre el desarrollo de las plantas inoculadas respecto de las plantas control.

Palabra clave: inoculante, fertilización, fósforo, micorriza.

Introducción

El fósforo (P) es uno de los nutrientes limitantes en el suelo, debido a su baja disponibilidad y por presentar una baja tasa de movilidad entre los macro nutrientes (Souchie *et al.*, 2006). En la planta, el fósforo es requerido en la formación de ácidos nucleicos, fosfatos de azúcares y membranas, síntesis de proteínas y formación del nuevo protoplasma, por lo que es necesario un adecuado abastecimiento de este elemento en el suelo (Condrón y Tiessen, 2005). La absorción de P en plantas se realiza a través de iones diácido o monoácido del sustrato, debido a la baja solubilidad de los compuestos fosfatados, se presenta una tendencia de desplazamiento del equilibrio hacia la fase sólida, por lo que la concentración de P en solución en un tiempo específico puede llegar a ser muy baja (0.02 a $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) (Chesworth, 2008).

Estas características han propiciado que las plantas desarrollen distintos mecanismos fisiológicos (acumulación de carbohidratos en la raíz) y bioquímicos (exudados radiculares) para aumentar la adquisición de nutrientes, de P. Uno de esos mecanismos es la formación de la asociación simbiótica con hongos micorrízico arbusculares (HMA; Smith y Smith, 2011), pues se sabe que las plantas pueden adquirir P por: 1) absorción directa que ocurre a través de transportadores en la epidermis de la raíz; y 2) absorción micorrízica que transloca P desde las hifas extra radicales de los hongos hasta el interior de la raíz (Smith *et al.*, 2004). En suelos con limitado contenido de fósforo las plantas pueden depender completamente de la asociación micorrízica para adquirir dicho nutriente (Smith *et al.*, 2003).

Las micorrizas arbusculares son asociaciones del tipo mutualista entre plantas y una gran variedad de hongos (Smith y Read, 2008); los HMA son organismos del suelo que forman simbiosis con 80% de las plantas terrestres (Smith *et al.*, 2004). Esta asociación beneficia a la planta al

variables with respect to the control ($p < 0.05$). The plants inoculated with *P. scintillans* and also with a treatment of 20 ppm of phosphorus, promote the greatest increase in growth variables. Mycorrhization had positive and significant effects on the development of the inoculated plants compared to the control plants.

Keyword: inoculant, fertilization, phosphorus, mycorrhiza.

Introduction

The phosphorus (P) is one of the limiting nutrients in the soil due to its low availability and low mobility among macro nutrients (Souchie *et al.*, 2006). In the plant, phosphorus is required in the formation of nucleic acids, phosphates of sugars and membranes, protein synthesis and formation of the new protoplasm, so an adequate supply of this element in the soil is necessary (Condrón and Tiessen, 2005). The absorption of P in plants is carried out through diacid or monoacid ions of the substrate, due to the low solubility of the phosphate compounds, there is a tendency of displacement of the equilibrium towards the solid phase, so that the concentration of P in solution at a specific time can become very low (0.02 to $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) (Chesworth, 2008).

These characteristics have led the plants to develop different physiological mechanisms (accumulation of carbohydrates in the root) and biochemical (root exudates) to increase the acquisition of nutrients, especially P. One such mechanism is the formation of the symbiotic association with arbuscular mycorrhizal fungi (HMA; Smith and Smith, 2011), because it is known that plants can acquire P by (1) direct absorption that occurs through transporters in the epidermis of the root and (2) mycorrhizal absorption translocating P from the extra radical hyphae of the fungi to the interior of the root (Smith *et al.*, 2004). In soils with limited phosphorus content, plants can completely depend on the mycorrhizal association to acquire this nutrient (Smith *et al.*, 2003).

Arbuscular mycorrhizae are associations of the mutualistic type between plants and a great variety of fungi (Smith and Read, 2008); the HMA are soil organisms that form symbiosis with 80% of terrestrial plants (Smith *et al.*, 2004). This association benefits the plant by increasing the availability of nutrients with low availability or low soil mobility, has biocontrol effects against some pathogenic microorganisms, increasing nutritional status, tolerance to

incrementar la toma de nutrientes de baja disponibilidad o de poca movilidad en el suelo, tiene efectos de biocontrol contra algunos microorganismos patógenos, aumentando el status nutricional, tolerancia al estrés hídrico, entre otros beneficios (Smith *et al.*, 2011) al mismo tiempo dicha asociación desempeña un papel importante sobre las características físicas del suelo, al incrementar la agregación de partículas y estabilidad del suelo (Khan, 2006).

En numerosos estudios se ha demostrado las ventajas de la inoculación con hongos micorrízicos arbusculares en suelos de baja fertilidad (Herrmann *et al.*, 2015). El efecto más importante que producen los HMA en los cultivos es un incremento en la absorción y traslocación de nutrimentos del suelo como N, P, K, Ca, y Mg (Säle *et al.*, 2015) que se traduce en un mayor crecimiento y desarrollo de las plantas, así como un mayor porcentaje de sobrevivencia al trasplante (Rodríguez *et al.*, 2017).

Bajo esquemas convencionales de producción el desarrollo óptimo de cultivos demanda una elevada aplicación de fertilizantes minerales y plaguicidas (Weih *et al.*, 2011). Algunas veces, la aplicación de fertilizantes fosfatados es superior a las necesidades de dichos cultivos, lo que da como resultado la acumulación excesiva de fósforo fácilmente disponible en el suelo (Withers *et al.*, 2001). Por ello, es necesario conocer la dosis de fósforo óptimo para que la planta y la asociación micorrízica puedan desarrollarse de manera eficiente, de tal manera que se obtengan los beneficios que dicha simbiosis aporta (Taffouo *et al.*, 2014).

México es el centro de origen del aguacate (*Persea americana* Mill; Gutiérrez *et al.*, 2010) con una gran diversidad de especies, se han reportado hasta 20 diferentes y tres razas: mexicana, antillana y la guatemalteca (Chen *et al.*, 2009). Ha sido documentado que el aguacate es un cultivo micotrófico que responde favorablemente a la inoculación micorrízica (Bárceñas *et al.*, 2007; Bañuelos *et al.*, 2013). Sin embargo, se sabe que existe una gran diversidad genética y funcional de especies de HMA (Helgason y Fitter, 2009), y que los géneros de HMA asociados a una misma especie de hospedero presentan diferencias en relación al nivel y capacidad de esporulación (Bever, 2002), habilidad para colonizar las raíces (Klironomos y Hart, 2002) y para adquirir fósforo (Smith *et al.*, 2000).

Además, también las variedades de una misma planta pueden presentar diferencias en su respuesta a la micorrización. En trigo la colonización por *Glomus intraradices* varía entre

water stress, and other benefits (Smith *et al.*, 2011). At the same time, this association plays an important role on soil physical characteristics, increasing particle aggregation and soil stability (Khan, 2006).

Numerous studies have demonstrated the advantages of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi in low fertility soils (Herrmann *et al.*, 2015). The most important effect of HMA on crops is an increase in the uptake and translocation of soil nutrients such as N, P, K, Ca, and Mg (Säle *et al.*, 2015), which translates into higher growth and development of plants, as well as a higher percentage of transplant survival (Rodríguez *et al.*, 2017).

Under conventional production schemes optimum crop development demands high application of mineral fertilizers and pesticides (Weih *et al.*, 2011). Phosphate fertilizer application is sometimes superior to the needs of such crops, resulting in excessive accumulation of readily available phosphorus in the soil (Withers *et al.*, 2001). Therefore, it is necessary to know the optimum phosphorus dose so that the plant and the mycorrhizal association can be efficiently developed, so that the benefits that this symbiosis can be obtained (Taffouo *et al.*, 2014).

Mexico is the center of origin of avocado (*Persea americana* Mill; Gutiérrez *et al.*, 2010) with a great diversity of species, up to 20 different and three races have been reported: Mexican, West Indian and Guatemalan (Chen *et al.*, 2009). It has been documented that avocado is a myotrophic culture that responds favorably to mycorrhizal inoculation (Bárceñas *et al.*, 2007; Bañuelos *et al.*, 2013). However, it is known that there is a great genetic and functional diversity of HMA species (Helgason and Fitter, 2009), and that the genera of HMA associated to the same host species present differences in relation to the level and capacity of sporulation (Bever, 2002), ability to colonize roots (Klironomos and Hart, 2002) and to acquire phosphorus (Smith *et al.*, 2000).

In addition, varieties of the same plant may also differ in their response to mycorrhization. In wheat, colonization by *Glomus intraradices* varied between 16 and 37% between cultivars (Zhu *et al.*, 2001) and in barley, two varieties inoculated with *G. intraradices* differed in more than 100% in acquisition of inorganic phosphorus (Pi) (Zhu *et al.*, 2003).

In avocado cultivation the results may be compelling, for example, in a study to evaluate the functional differences between arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus intraradices*,

16 y 37% entre cultivares (Zhu *et al.*, 2001) y en cebada, dos variedades inoculadas con *G. intraradices* difirieron en más de 100% en adquisición de fósforo inorgánico (Pi) (Zhu *et al.*, 2003).

En el aguacate los resultados pueden ser contrastantes; por ejemplo, en un estudio realizado para evaluar las diferencias funcionales entre los hongos micorrízicos arbusculares *Glomus intraradices*, *Scutellopora heterogama* y su efecto en plantas de aguacate (*Persea americana*) se encontró que la inoculación conjunta con *G. intraradices* y *S. heterogama* redujo las tasas de crecimiento de las plantas y la absorción de P, zinc (Zn) y hierro (Fe) en relación con plantas inoculadas sólo con *G. intraradices*, evidenciando en este caso la ausencia de complementariedad funcional (Violi *et al.*, 2008).

De manera contraria a estos resultados, la inoculación con consorcios de especies de HMA (*Glomus fasciculatum*, *Glomus constrictum*, *Glomus tortuosum*, *Glomus geosporum*, *Acaulospora scrobiculata* *Glomus mosseae* y *Glomus cubense*) propiciaron un mayor desarrollo en plantas de aguacate criollo mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*) respecto a las plantas testigo, incrementando la altura de planta hasta 54%, diámetro del tallo (hasta 36%), número y longitud de hojas (48% y 40% respectivamente), así como peso fresco de la raíz (hasta 85%) (Castro *et al.*, 2013).

Se sabe que el cultivo de aguacate es susceptible al ataque causado por patógenos de la raíz, y que en la etapa de vivero generalmente se realiza la esterilización del suelo previo a la siembra, eliminando con ello todo tipo de microorganismos, por lo que la reintroducción de microorganismos benéficos como los hongos micorrízicos arbusculares puede jugar un papel importante en la producción de esta planta. Debido a lo anterior, el presente trabajo tiene como objetivo: evaluar el efecto de diferentes concentraciones de fertilización fosforada, en el desarrollo de plantas de aguacate con y sin inoculante micorrízico, expresado en variables de crecimiento.

Materiales y métodos

Material vegetativo

Se pre germinaron semillas de aguacate criollo (*Persea americana*) en arena estéril, en charolas con capacidad de 8 L.

Scutellopora heterogama and their effect on avocado plants (*Persea americana*), it was found that the joint inoculation with *G. intraradices* and *S. heterogama* reduced plant growth rates and the absorption of P, zinc (Zn) and iron (Fe) in relation to plants inoculated with *G. intraradices*, evidencing in this case the absence of functional complementarity (Violi *et al.*, 2008).

In contrast to these results, inoculation with consortia of HMA species (*Glomus fasciculatum*, *Glomus constrictum*, *Glomus tortuosum*, *Glomus geosporum*, *Acaulospora scrobiculata* *Glomus mosseae* and *Glomus cubense*) favored a greater development in Mexican creole avocado plants (*Persea americana* var. *drymifolia*) with respect to control plants, increasing plant height up to 54%, stem diameter (up to 36%), number and leaf length (48% and 40% respectively), as well as fresh root weight up to 85%) (Castro *et al.*, 2013).

It is known that avocado cultivation is susceptible to attack caused by root pathogens, and that in the nursery stage the soil is sterilized prior to planting, thereby eliminating all types of microorganisms, so that reintroduction of beneficial microorganisms such as arbuscular mycorrhizal fungi may play an important role in the production of this plant. Due to the above, the present work has as objective: to evaluate the effect of different concentrations of phosphorus fertilization, in the development of avocado plants with and without mycorrhizal inoculant, expressed in growth variables.

Materials and methods

Vegetative material

The Creole avocado seeds (*Persea americana*) were pre-germinated in sterile sand, in trays with a capacity of 8 L.

Inoculant

Two inocula were used; the Rizofermic-UV consortium containing twelve species of arbuscular mycorrhizal fungi (*Acaulospora morrowiae*, *Acaulospora scrobiculata*, *Acaulospora spinosa*, *Claroideoglomus etunicatum*, *Funneliformis geosporus*, *Funneliformis mosseae*, *Gigaspora decipiens*, *Gigaspora rosea*, *Glomus aggregatum*, *Glomus macrocarpum*, *Rizhophagus intraradices*, and *Scutellopora pellucida*) produced by the laboratory of

Inoculante

Se utilizaron dos inóculos; el consorcio Rizofermic-UV que contiene doce especies de hongos micorrízicos arbusculares (*Acaulospora morrowiae*, *Acaulospora scrobiculata*, *Acaulospora spinosa*, *Claroideoglosum etunicatum*, *Funneliformis geosporus*, *Funneliformis mosseae*, *Gigaspora decipiens*, *Gigaspora rosea*, *Glomus aggregatum*, *Glomus macrocarpum*, *Rizhophagus intraradices*, y *Scutellospora pellucida*) producido por el laboratorio de organismos benéficos, FCAUV y *Pacispora scintillans*, producido, en el laboratorio de interacciones planta-microbio-ambiente del IIES, UNAM).

El aislado para ambos inóculos se obtuvo a partir de esporas extraídas del suelo cultivado con maíz. Se propagó en macetas con suelo andosol autoclavado y arena autoclavada 1:1 con alfalfa como planta hospedera durante ocho semanas, cuando presentó colonización de más de 50% se dejó secar y se almacenó a temperatura ambiente, ambos inóculos contenían esporas, micelio y fragmentos de raíz colonizada.

Esterilización del sustrato

Se utilizó un sustrato compuesto por arena, suelo y tepetzil (liparita) en proporción (25:50:25), esterilizado en autoclave a 120 °C (14 - 15 lb pulg⁻² de presión de vapor) durante 1 h por tres días consecutivos.

Trasplante e inoculación

Se seleccionaron plantas de 15 cm de altura (30 días de germinación), se trasplantaron a contenedores de 2 L y se agregaron 10 g de los inóculos micorrízicos.

Descripción de los tratamientos

El experimento tuvo un diseño factorial completamente al azar; con dos factores. El primero: inoculante micorrízico con tres niveles (Rizofermic-UV, *P. scintillans* y sin inocular) y el segundo fertilización con fósforo, con cinco niveles (sin fertilizante, 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm, 160 ppm), cada tratamiento con cinco repeticiones.

Fertilización

La fertilización se realizó a partir de un stock de ácido fosfórico H₃PO₄ al 85%, donde 26% es fósforo (P), mezclado con agua destilada para obtener las distintas

beneficial organisms, FCAUV and *Pacispora scintillans*, produced in the plant-microbial-environment interactions laboratory of IIES, UNAM.

The isolate for both inocula was obtained from spores directly extracted from soil cultivated with maize. It was propagated in pots with autoclaved and autoclaved and 1:1 autoclaved soil with alfalfa as host plant for eight weeks, when colonization of more than 50% was allowed to dry and stored at room temperature, both inocula containing spores, mycelium and fragments of colonized root.

Sterilization of the substrate

A substrate composed of sand, soil and tepetzil (liparite) in proportion (25:50:25), sterilized by autoclaving at 120 °C (14-15 lb in⁻² vapor pressure) for 1 h, for three days consecutive.

Transplantation and inoculation

The plants 15 cm (30 days of germination) were selected were transplanted to containers 2 L and 10 g of the mycorrhizal inocula were added.

Description of treatments

The experiment had a completely random factorial design; with two factors. The first: mycorrhizal inoculant with three levels (Rizofermic-UV, *P. scintillans* and uninoculated) and the second fertilization with phosphorus, with five levels (without fertilizer, 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm, 160 ppm), each treatment with five repetitions.

Fertilizing

The fertilization was carried out from 85% H₃PO₄ phosphoric acid stock, where 26% was phosphorus (P), mixed with distilled water to obtain the different concentrations that were applied to the seedlings (20, 40, 80, 160 ppm). The application of the fertilizer was done every 8 days, starting the application once the mycorrhizal colonization was established, and 3 mL of the phosphorus fertilizer were applied per plant.

Growing conditions

The experiment was carried out under greenhouse conditions, irrigated with running water at field capacity, and performed this activity daily for the first four months after that date until the experiment was concluded every third day.

concentraciones que se aplicaron a las plántulas (20, 40, 80, 160 ppm). La aplicación del fertilizante se realizó cada ocho días, iniciando la aplicación una vez establecida la colonización micorrízica, y se aplicaron 3 mL del fertilizante fosforado por planta.

Condiciones de crecimiento

El desarrollo del experimento se realizó bajo condiciones de invernadero, fueron irrigadas con agua corriente a capacidad de campo, realizando esta actividad diariamente por los primeros cuatro meses posteriormente de esa fecha hasta concluir el experimento cada tercer día.

Características del suelo

El suelo utilizado, según la Norma Oficial Mexicana 021 RECNAT 2000, presenta las siguientes propiedades físico-químicas: migajón-arenoso con los siguientes valores arena (73.2%), arcilla (6.8%), limo (20%), pH 6.04 y materia orgánica 5.93%, N orgánico 22 ppm, P 4.4 ppm, K 885 ppm, Ca 13,575 ppm, Mg 237 ppm, Fe 6.7 ppm, Cu 0.5 ppm, Zn 1.2 ppm y Mn 3.9 ppm. Acorde con la NOM 021 RECNAT 2000 as-09 el suelo se clasificó como migajón arenoso.

Transcurridos 401 días después de la inoculación se realizó la medición de las variables evaluadas: altura, diámetro, número de hojas y área foliar por medio del programa adobe photoshop CS4 Extended versión 11 y un escáner HP Scanjet 5590, además se midió peso fresco y seco de parte aérea y raíz (las muestras se secaron a 70 °C hasta obtener peso constante), y tasa de crecimiento con la técnica de Gujarati (2004) que consiste en utilizar los valores iniciales y finales de la serie de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$r = \left(\frac{VF}{Vi} \right)^{\frac{1}{n-1}} - 1$$

Donde: r= es la tasa de crecimiento; Vf= valor final de la serie; Vi= valor inicial de la serie; n= número de repeticiones.

Muestras frescas de las raíces cosechadas (las más delgadas de cada sistema radical), se lavaron y cortaron en fragmentos de 2 cm. Antes de teñirse, las raíces se clarificaron en una solución de KOH al 10% durante 10 minutos a 120°C,

Soil characteristics

The soil used, according to Official Mexican Norm 021 RECNAT 2000, has the following physico-chemical properties: sand-sandy with the following sand (73.2%), clay (6.8%), silt (20%), pH 6.04 organic matter 5.93%, organic N 22 ppm, P 4.4 ppm, K 885 ppm, Ca 13.575 ppm, Mg 237 ppm, Fe 6.7 ppm, Cu 0.5 ppm, Zn 1.2 ppm and Mn 3.9 ppm. In accordance with NOM 021 RECNAT 2000 as-09 the soil was classified as sandy grit.

After 401 days after inoculation measuring the evaluated variables was performed: height, diameter, leaf number and leaf area through the program Adobe Photoshop CS4 Extended version 11 and an HP Scanjet 5590 also fresh and dry weight was measured of aerial part and root (the samples were dried at 70 °C until obtaining constant weight), and growth rate with Gujarati's technique (2004) that consists of using the initial and final values of the series according to the following equation: record the number of grains.

$$r = \left(\frac{VF}{Vi} \right)^{\frac{1}{n-1}} - 1$$

Where: r= is the rate of growth; Vf= final value of the series; Vi= initial value of the series; n= number of repetitions.

Fresh samples of harvested roots (the thinnest of each root system) were washed and cut into 2 cm fragments. Before staining the roots were clarified in a 10% KOH solution for 10 minutes at 120 °C, followed by acidification with 1% HCl for 1 min at room temperature. The roots were stained in a 0.05% trypan blue solution for 5 min at 120 °C (Phillips and Hayman 1970).

Subsequently, they were placed in lactoglycerol and first observed in an optical microscope (100x magnification, Nikon PFX Optiphot-2) to verify the presence of AMF structures, and later on a stereoscopic microscope (60x magnification, Nikon SMZ645) to determine the percentage of colonization by the intersection gradient technique (Giovannetti and Mosse 1980). The presence of any internal fungal structure in the root was considered as colonization (arbores, vesicles or hyphae).

seguido por la acidificación con HCl al 1% durante 1 min a temperatura ambiente. Las raíces se tiñeron en una solución de azul de tripano al 0.05% durante 5 min a 120 °C (Phillips y Hayman 1970).

Posteriormente, se colocaron en lactoglicerol y se observaron primero en un microscopio óptico (100x magnificación, Nikon PFX Optiphot-2) para verificar la presencia de estructuras de HMA, y posteriormente en un microscopio estereoscópico (60x magnificación, Nikon SMZ645) para determinar el porcentaje de colonización mediante la técnica del gradiente de intersección (Giovannetti y Mosse 1980). Se consideró como colonización la presencia de cualquier estructura fúngica interna en la raíz (arbusculos, vesículas o hifas).

Análisis estadístico

Se utilizó una prueba estadística ANOVA multifactorial y se realizó una comparación de diferencia mínima de medias (Fisher LSD), entre inoculantes y entre niveles de fósforo. El análisis se realizó con el software estadístico Statgraphics (Centurion XVI) para Windows.

Resultados y discusión

Los inoculantes micorrízicos tuvieron efectos significativos, así como los distintos niveles de fósforo en variables medidas y sólo se encontró un efecto por interacción de ambos factores en altura y tasa de crecimiento (Cuadro 1).

Cuando no se adicionó fósforo, el inoculante Rizofermic-UV, mostró el mayor número de hojas y área foliar. Plantas inoculadas con *P. scintillans* tuvieron un incremento en el diámetro, altura, y área foliar a 20 ppm, en comparación con los demás tratamientos. Ambos inoculantes incrementaron el número de hojas, peso fresco de la parte aérea y tasa de crecimiento a 20 ppm, en comparación con el tratamiento no inoculado, aunque este efecto ya fue observado en dosis mayores de fósforo. En general, al comparar el efecto en el incremento de las variables medidas entre los inoculantes a distintas dosis de fósforo, el efecto de *P. scintillans* fue más notorio a 20 ppm, y el efecto de Rizofermic-UV, sucedía a 40 ppm (Cuadro 2).

Statistical analysis

A multivariate ANOVA statistical test was used and a comparison of minimum difference of means (Fisher LSD) between inoculants and between levels of phosphorus was performed. The analysis was performed using the statistical software Statgraphics (Centurion XVI) for Windows.

Results and discussion

The mycorrhizal inoculants had significant effects, as well as the different levels of phosphorus in measured variables and only one effect was found by interaction of both factors in height and growth rate (Table 1).

Cuadro 1. ANOVA multifactorial para cada variable de crecimiento.

Table 1. Multivariate ANOVA for each growth variable.

Factor	HMA	Nivel de fósforo	Interacción
Altura	***	*	*
Diámetro	*	***	ns
Número de hojas	ns	**	ns
Área foliar	**	**	ns
PF-A	*	*	ns
PF-R	ns	*	ns
PS-A	*	*	ns
PS-R	ns	ns	ns
Tasa de crecimiento	ns	ns	*

ns= no significativo; * = $p \leq 0.05$; ** = $p \leq 0.01$; *** = $p \leq 0.001$; PF-A= peso fresco parte aérea; PF-R= peso fresco raíz; PS-A= peso seco parte aérea; PS-R= peso seco raíz; n= 4.

When phosphorus was not added, Rizofermic-UV inoculant showed the highest number of leaves and leaf area. Plants inoculated with *P. scintillans* had an increase in diameter, height, and leaf area at 20 ppm, compared to the other treatments. Both inoculants increased leaf number, fresh shoot weight, and growth rate at 20 ppm, compared to uninoculated treatment, although this effect was already observed at higher doses of phosphorus. In general, when comparing the effect on the increase of the measured variables between inoculants at different doses of phosphorus, the effect of *P. scintillans* was more noticeable at 20 ppm, and the effect of Rizofermic-UV occurred at 40 ppm (Table 2).

Cuadro 2. Análisis de comparación de medias del efecto de la interacción de dos inoculantes micorrizicos y la aplicación de cuatro dosis de fósforo en el desarrollo de plantas de aguacate.
Table 2. Comparative analysis of the effect of the interaction of two mycorrhizal inoculants and the application of four doses of phosphorus in the development of avocado plants.

Inoculo	0 ppm		20 ppm		40 ppm		80 ppm	
	(-)	<i>Pacispora Rizofermic-scintillans</i> UV	(-)	<i>Pacispora Rizofermic-scintillans</i> UV	(-)	<i>Pacispora Rizofermic-scintillans</i> UV	(-)	<i>Pacispora Rizofermic-scintillans</i> UV
Altura (cm)	30.51 ±6.4	34.97 ±2.8 + 36.63 ±10.1 ††	27.64 c ±2.7	56.09 a ±3.3 † 43.25 b ±3.9 ††	33.07 b ±2.4	46.29 a ±7.8 ††	34.88 ±16.8	39.59 ±9 †* 29.03 ±12.9 †
Diámetro (cm)	6.03 ±0.6 ††	7.05 ±1.6 † 5.58 ±1.4 +	7.93 b ±1.3 †	9.8 a ±1 † 8.05 b ±0.7 ††	6.88 ±1.6 ††	7.875 ±1.1 ††	5.08 ±2.1 †	6.4 ±0.8 † 5.95 ±2.2 +†
Número de hojas	15.25 b ±1.7 †	11.75 b ±5.9 † 24.25 a ±6.9	23.75 b ±3 ††	35 a ±2.7 † 32 a ±5.2	29.75 ±5.7 ††	32.25 ±8.7 †	39.25 ±30.2 †	34.5 ±7.2 † 26.75 ±7
Área foliar (cm ²)	284.1 b ±78	276.58 b ±201 + 826.64 a ±42	604.52 c ±126	1619.48 a ±191 † 1131.82 b ±19	785.75 ±192	1171.68 ±510 ††	786.25 ±726	1013.62 ±412 † 1014.9 ±695
PF-A (g)	8.23 ±1.9	12.50 ±7.3 † 22.38 ±15	17.03 b ±4.9 †	38.85 a ±9.7 32.53 a ±7.8	21.6 ±5.7	38.3 ±19.6 †	24.33 ±18.7	26.9 ±13.4 †† 25.68 ±19.2
PF-R (g)	13.88 ±5.4	20.4 ±8.3 24.53 ±9.7	36.21 ±15.8	24.58 ±11.1 31.53 ±9.6	23.7 ±5.5	29.08 ±9.5	18.25 ±12.5	14.45 ±10.1 18.95 ±14.2
PS-A (g)	2.8 ±0.4	4.49 ±2.7 † 8.25 ±5.5	6.44 ±2.1	12.57 ±3.9 † 10.72 ±2.8	7.32 ±2.1	12.54 ±6.4 †	6.81 ±6.5	8.77 ±4.5 †† 10.23 ±6.2
PS-R (g)	3.69 ±1.7	6.11 ±4.1 7.57 ±4.3	11.48 ±7.2	6.36 ±2.9 10 ±3.3	5.91 ±1.9	7.46 ±3.1	6.04 ±5.8	4.67 ±4.1 5.85 ±4.4
Tasa de crecimiento relativa	0.41 ±0.1	0.4 ±0.1 † 0.55 †† ±0.2	0.33 b ±0.03	0.67 a ±0.05 † 0.56 a ±0.1 ††	0.51 ±0.1	0.53 ±0.1 ††	0.53 ±0.3	0.56 ±0.1 †† 0.38 ±0.2 †

±= indica desviación estándar; PF-A= peso fresco parte aérea; PF-R= peso fresco raíz; PS-A= peso seco parte aérea; PS-R= peso seco raíz; n=4. Letras distintas muestran diferencias estadísticas entre inóculos por nivel de fertilizante (Fischer, $p \leq 0.05$); †, **, †, *, * = muestra diferencias entre los niveles de fósforo por inoculante.

Se encontró que la colonización micorrízica disminuye con la adición de dosis P para ambos inoculantes. Se observaron diferencias estadísticas ($p < 0.05$) entre los inóculos para esta variable. Tanto el consorcio Rizofermic-UV y *P. scintillans* tuvieron una disminución significativa de la colonización micorrízica a partir de 80 ppm, siendo Rizofermic-UV el inoculante presentó los porcentajes más elevados de colonización radical a 20 ppm (78.34%) (Figura 1).

Discusión

De acuerdo a los resultados observados en este experimento, las altas dosis de P (160 ppm) provocaron el deceso de las plantas. Se ha reportado que la disponibilidad alta de P puede dar lugar a la depresión del crecimiento vegetal (Jiménez y Fernández, 2016). En este sentido, Marschner (2008) plantea que altos niveles de P producen toxicidad en la planta alterando la absorción de Zn y Fe. Por su parte, Li *et al.* (2004) indican que las deficiencias de Zn o de Fe son más frecuentes cuando existen altas concentraciones de P en el suelo, de este modo, es probable que estudios que han descrito deficiencias de micronutrientes sean en realidad, un reflejo de síntomas de toxicidad debido a altos niveles de P (Shane *et al.*, 2003).

Se encontró que la adición de P y la micorrización promovieron el crecimiento vegetal. Dentro de las distintas dosis de P probadas, la dosis de 20 ppm de P tuvo un efecto en el incremento de la biomasa, coincidiendo con lo encontrado por Montoya (2007). De los dos inóculos de HMA probados, las plantas inoculadas con el consorcio Rizofermic-UV mostraron una tendencia en el incremento de las variables de crecimiento, esencialmente en área foliar ($p < 0.05$), a diferencia de *Pacispora scintillans*, la cual no tuvo un crecimiento en comparación del testigo.

Las diferencias de efectos entre las cepas de HMA probadas en las plántulas de aguacate, especialmente en el caso de área foliar pudiera deberse a que exista complementariedad funcional entre las distintas especies dentro del consorcio Rizofermic-UV y aguacate. Se sabe que las especies de HMA difieren ampliamente en sus estrategias para adquirir P y promover el desarrollo de la planta hospedera (Thonar *et al.*, 2011). En este sentido Jaizme y Azcón (1995) no encontraron diferencias de complementariedad entre especies de HMA asociadas a plantas de aguacate.

It was found that mycorrhizal colonization decreased with the addition of P doses for both inoculants. Statistical differences ($p < 0.05$) were observed among the inoculate for this variable. Both the Rizofermic-UV and *P. scintillans* consortium had a significant decrease in mycorrhizal colonization from 80 ppm, with Rizofermic-UV the inoculant having the highest percentages of root colonization at 20 ppm (78.34%) (Figure 1).

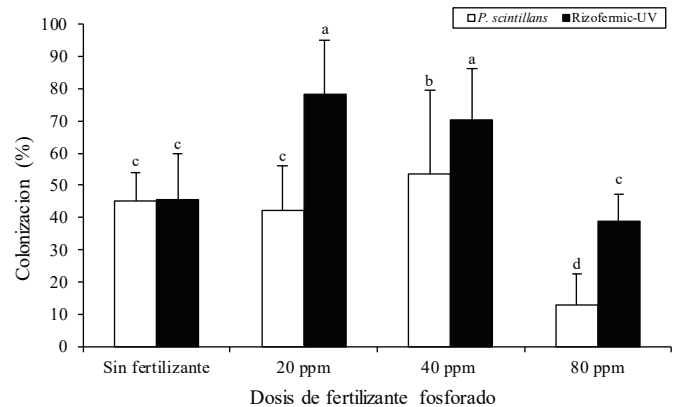


Figura 1. Porcentajes de colonización de distintos inoculantes a raíces de aguacate (*Persea americana*). Letras diferentes indican diferencias comparativas entre todos los tratamientos en diferentes concentraciones de fósforo y HMA. $n = 4$, \pm indica desviación estándar.

Figure 1. Colonization percentages of various inoculants avocado roots (*Persea americana*). Different letters indicate comparative differences between all treatments at different concentrations of phosphorus and HMA. $n = 4$ indicates \pm standard deviation

Discussion

According to the results observed in this experiment, the high doses of P (160 ppm) caused the plants to die. It has been reported that high P availability may lead to plant growth depression (Jiménez and Fernández, 2016). In this sense, Marschner (2008) states that high levels of P produce toxicity in the plant by altering the absorption of Zn and Fe. On the other hand, Li *et al.* (2004) indicate that Zn or Fe deficiencies are more frequent when there are high concentrations of P in the soil, so it is likely that studies that have described micronutrient deficiencies are in fact a reflection of toxicity symptoms due to high levels of P (Shane *et al.*, 2003).

Algunos estudios reportan que incrementos en el nivel de P reducen el desarrollo de la simbiosis micorrízica; sin embargo, los niveles a los cuales dicha reducción ocurre son variables (Almaca y Ortas, 2010) y están en función de la identidad de las especies de HMA y el genotipo de la planta (Lacerda *et al.*, 2011). En este caso, las interacciones entre la inoculación micorrízica y la adición de fertilizante fosfatado mostraron efectos distintos. Por ejemplo, el tratamiento *P. scintillans* más 20 ppm de P, incrementó las variables de crecimiento más que los tratamientos de manera individual, resultados similares ha sido reportados por (Dutt *et al.*, 2013). En este sentido, la adición de *P. scintillans* podría hacer más eficiente el uso de fertilizante y representar un avance en la reducción de las dosis actuales de fertilizante utilizadas para el cultivo de aguacate.

Se sabe que la colonización micorrízica empieza a darse a los tres días después de la inoculación y afianzarse desde los 21 días (Mustafa *et al.*, 2010); sin embargo, ambos estudios concluyen que la inoculación micorrízica necesita tiempo para mostrar su efecto benéfico. Dado que las plantas de aguacate tienen una reserva rica en nutrientes, es posible que los beneficios de la asociación micorrízica no se manifiesten en una etapa temprana de inoculación (Osorio *et al.*, 2012), por lo que la inclusión de estos simbioses debe darse en un momento clave de baja lignificación (Leskovar *et al.*, 1991) y alta susceptibilidad (Afek *et al.*, 1990) de la planta.

Conclusiones

En el presente trabajo y bajo las condiciones experimentales aquí presentadas, se sugiere la fertilización con una mínima dosis de fósforo en interacción con HMA, ya que en los resultados aquí obtenidos fue la concentración donde se observó un incremento significativo en las variables y donde hubo un incremento en la altura y área foliar relativamente mayor.

El presente estudio expuso que la inoculación con los HMA, esencialmente con la cepa *Pascispora scintillans*, promueve un mayor crecimiento en plántulas de aguacate, cuando estas están fertilizadas con 20 ppm de fósforo.

It was found that the addition of P and mycorrhization promoted plant growth. Within the different doses of P tested, the dose of 20 ppm of P had an effect on the increase of biomass, coinciding with that found by Montoya (2007). Of the two HMA inoculums tested, the plants inoculated with the Rizofermic-UV consortium showed a tendency in the increase of the growth variables, essentially in leaf area ($p < 0.05$), unlike *Pacispora scintillans*, which did not have a growth compared to the control.

The differences in effects between HMA strains tested on avocado seedlings, especially in the case of leaf area could be due to functional complementarity between the different species within the Rizofermic-UV consortium and avocado. It is known that HMA species differ widely in their strategies for acquiring P and promoting host plant development (Thonar *et al.*, 2011). In this sense Jaizme and Azcón (1995) found differences of complementarity among HMA species associated with avocado plants.

Some studies report that increases in P levels reduce the development of mycorrhizal symbiosis; However, the levels at which such a reduction occurs are variable (Almaca and Ortas, 2010) and are based on the identity of the HMA species and the plant genotype (Lacerda *et al.*, 2011). In this case, the interactions between mycorrhizal inoculation and the addition of phosphate fertilizer showed different effects. For example, *P. scintillans* treatment plus 20 ppm of P increased growth variables more than treatments individually, similar results have been reported by (Dutt *et al.*, 2013). In this sense, the addition of *P. scintillans* could make fertilizer use more efficient and represent a step forward in reducing the current fertilizer doses used for avocado cultivation.

It is known that mycorrhizal colonization begins to occur at three days after inoculation and strengthened from 21 days (Mustafa *et al.*, 2010); however, both studies conclude that mycorrhizal inoculation needs time to show its beneficial effect. Since avocado plants have a rich nutrient reserve, it is possible that the benefits of the mycorrhizal association do not manifest themselves at an early stage of inoculation (Osorio *et al.*, 2012), so the inclusion of these symbionts must occur at a key low lignification stage (Leskovar *et al.*, 1991) and high susceptibility (Afek *et al.*, 1990) of the plant.

Para el peso fresco y seco la interacción de los HMA con el P fueron los que tuvieron mayor relevancia. *P. scintillans* promovió que las plantas tuvieran mayor crecimiento en comparación con las plantas inoculadas con el consorcio Rizofermic-UV y con las plantas control.

Literatura citada

- Afek, U.; Rinaldelli, E.; Menge, J. A.; Johnson, E. L. V. and Pond, E. 1990. Mycorrhizal species, root age, and position of mycorrhizal inoculum influence colonization of cotton, onion, and pepper seedlings. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 115(6): 938-942.
- Almacá, A. and Ortas, I. 2010. Growth response of maize plants (*Zea mays* L.) to wheat and lentil pre-cropping and to indigenous mycorrhizae in field soil. *Spanish J. Agric. Res.* 8(S1): 131-136.
- Bañuelos, J.; Trejo, D.; Lara, L.; Gavito, M. and Carreón, Y. 2013. Effects of seven different mycorrhizal inoculum in *Persea americana* in sterile and non-sterile soil. *Trop. Subtrop. Agroecos.* 16(3):423-429.
- Bárcenas, A.; Almaraz, C.; Reyes, L.; Varela, L.; Lara, B.; Guillén, A.; Carreón, Y.; Aguirre, S. y Chávez, A. 2007. Diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares en huertos de aguacate de Michoacán. *In: VI congreso mundial del aguacate.* Viña del Mar, Chile. 1 p.
- Bever, J. D. 2002. Negative feedback within a mutualism: host-specific growth of mycorrhizal fungi reduces plant benefit. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biol. Sci.* 269(1509):2595-2601.
- Castro, A. E.; Chávez, B. A.; García, S. P. A.; Reyes, R. L. and Bárcenas, O. E. A. 2013. Effect of mycorrhizal inoculants in the development of Mexican landrace avocado rootstocks. *Trop. Subtrop. Agroecos.* 16(3):407-413.
- Chen, H.; Morrell, P. L.; Ashworth, V. E. T. M.; Cruz, M. and Clegg, M. T. 2009. Tracing the geographic origins of major avocado cultivars. *J. Heredity.* 100(1):56-65.
- Chesworth, W. 2008. *Encyclopedia of soil science.* Encyclopedia of earth sciences series. Springer Firm. 1923 p.
- Condrón, L. M. and Tiessen, H. 2005. Interactions of organic phosphorus in terrestrial ecosystems. *In: B. L.; Turner, B. L.; Frossard, E.; Baldwin, D. S. (Eds.). Organic phosphorus in the environment.* Cabi Publ., Cambridge, MA. EUA. 295-308 p.
- Dutt, S.; Sharma, S. D. and Kumar, P. 2013. Inoculation of apricot seedlings with indigenous arbuscular mycorrhizal fungi in optimum phosphorus fertilization for quality growth attributes. *J. Plant Nutr.* 36(1):15-31.
- Giovannetti, M. and Mosse, B. 1980. Evaluation of the techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infections in roots. *New Phytol.* 84(3):489-500.
- Gujarati, D. N. 2004. *Basic econometrics.* 4th edition. McGraw Hill: New York. 1032 p.
- Gutiérrez, C. M.; Lara, M. B. N.; Guillén, A. H. and Chávez, B. A. T. 2010. Agroecología de la franja aguacatera en Michoacán. *México. Interciencia.* 35(9): 647-653.
- Helgason, T. and Fitter, A. H. 2009. Natural selection and the evolutionary ecology of the arbuscular mycorrhizal fungi (*Phylum Glomeromycota*). *J. Exp. Bot.* 60(9):2465-2480.

Conclusions

In the present work and under the experimental conditions presented here, it is suggested the fertilization with a minimum dose of phosphorus in interaction with HMA, since in the results obtained here was the concentration where a significant increase in the variables was observed and where there was a increase in height and relatively greater leaf area.

The present study showed that inoculation with HMA, essentially with the strain *Pascispora scintillans*, promotes greater growth in avocado seedlings when they are fertilized with 20 ppm of phosphorus.

For the fresh and dry weight the interaction of the HMA with the P were those that had more relevance. *P. scintillans* promoted higher growth in plants compared to plants inoculated with the Rizofermic-UV consortium and control plants.

End of the English version



- Herrmann, L.; Bräu, L.; Robin, A.; Robain, H.; Wiriyaakitnateekul, W. and Lesueur, D. 2015. High colonization by native arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) of rubber trees in small-holder plantations on low fertility soils in North East Thailand. *Archives Agron. Soil Sci.* 62(7):1041-1048.
- Jiménez, M. M. J. and Fernández, E. R. 2016. Response of young olive plants (*Olea europaea*) to phosphorus application. *HortSci.* 51(9):1167-1170.
- Khan, A. G. 2006. Mycorrhizoremediation an enhanced form of phytoremediation. *J. Zhejiang University SCIENCE B.* 7(7):503-514.
- Klironomos, J. N. and Hart, M. M. 2002. Colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi using different sources of inoculum. *Mycorrhiza.* 12(4):181-184.
- Lacerda, K. A. P.; Silva, M. M. D. S.; Carneiro, M. A. C.; Reis, E. F. D. e Saggin, O. J. 2011. Fungos micorrízicos arbusculares e adubação fosfatada no crescimento inicial de seis espécies arbóreas do cerrado. *CERNE [online].* 17(3):377-386.
- Leskovar, D. I.; Cantliffe, D. J. and Stoffella, P. J. 1991. Growth and yield of tomato plants in response to age of transplants. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 116(3): 416-420.
- Li, L.; Tang, C.; Rengel, Z. and Zhang, F. S. 2004. Calcium, magnesium and microelement uptake as affected by phosphorus sources and interspecific root interactions between wheat and chickpea. *Plant and Soil.* 261(1-2): 29-37.
- Marschner, P. 2008. The role of rhizosphere microorganisms in relation to P uptake by plants. *In: White, P. J. y Hammond, J. P. (Eds.). The ecophysiology of plant-phosphorus interactions.* Springer Sci. 296 p.

- Montoya, A. S. 2007. El modelo agrícola colombiano y los alimentos en la globalización. Ediciones Aurora. Bogotá, Colombia. 221 p.
- Mustafa, A. A. A.; Othman, R.; Zinal-Abidin, M. A. and Ganesan, V. 2010. Growth response of sweet corn (*Zea mays*) to *Glomus mosseae* inoculation over different plant ages. Asian J. Plant Sci. 9(6):337-343.
- Osorio, N. W.; Sandra, L. S. G. and Montoya, R. B. E. 2012. Use of soil microorganisms as a biotechnological strategy to enhance avocado (*Persea americana*) plant phosphate uptake and growth/uso de microorganismos del suelo como estrategia biotecnologica para mejorar la absorción de fósforo y el crecimiento. Rev. Facultad Nacional Agron. Medellín. 65 pp.
- Phillips, J. M. and Hayman, D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc. 55(1):158-161.
- Rodríguez, C. G.; Caravaca, F.; Fernández, G. A. J.; Alguacil, M. M.; Fernández, L. M. and Roldán, A. 2017. Arbuscular mycorrhizal fungi inoculation mediated changes in rhizosphere bacterial community structure while promoting revegetation in a semiarid ecosystem. Sci. Total Environ. 584(585): 838-848.
- Säle, V.; Aguilera, P.; Laczko, E.; Mäder, P.; Berner, A.; Zihlmann, U.; Van der Heijden, M. G. A. and Oehl, F. 2015. Impact of conservation tillage and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Biol. Biochem. 84: 38-52.
- Shane, S. A. 2003. A general theory of entrepreneurship: the individual-opportunity nexus. Edward Elgar Publishing Ltd. Cheltenham, UK. 352 p.
- Smith, S. E. and Read, D. J. 2008. Micorrhizal Symbiosis. Academic Press 605. San Diego CA, USA. 800 p.
- Smith, S. E.; Smith, F. A., and Jakobsen, I. 2003. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. Plant Physiol. 133(1):16-20.
- Smith, S. E.; Smith, F. A. and Jakobsen, I. 2004. Functional diversity in arbuscular mycorrhizal (AM) symbioses: the contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlated with mycorrhizal responses in growth or total P uptake. New Phytol. 162(2): 511-524.
- Smith, F. A.; Jakobsen, I. and Smith, S. E. 2000. Spatial differences in acquisition of soil phosphate between two arbuscular mycorrhizal fungi in symbiosis with *Medicago trunculata*. New Phytol. 147(2):357-366.
- Smith, S. E. and Smith, F. A. 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales. Ann. Rev. Plant Biol. 62 (2011):227-250.
- Smith, S. E.; Jakobsen, I.; Grønlund, M. and Smith, F. A. 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant phosphorus nutrition: interactions between pathways of phosphorus uptake in arbuscular mycorrhizal roots have important implications for understanding and manipulating plant phosphorus acquisition. Plant Physiol. 156(3):1050-1057.
- Souchie, E. L. R.; Azcón, J. M.; Barea, O. J.; Saggin-Júnior and Ribeiro da Silva, E. M. 2006. Phosphate solubilizing and arbuscular mycorrhizal fungi. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 41(9):1405-1411.
- Taffouo, V. D.; Ngwene, B.; Akoa, A. and Franken, P. 2014. Influence of phosphorus application and arbuscular mycorrhizal inoculation on growth, foliar nitrogen mobilization, and phosphorus partitioning in cowpea plants. Mycorrhiza. 24(5):361-368.
- Thonar, C.; Schnepf, A.; Frossard, E.; Roose, T. and Jansa, J. 2011. Traits related to differences in function among three arbuscular mycorrhizal fungi. Plant Soil. 339(1-2):231-245.
- Violi, H. A.; Barrientos P. A. F.; Wright, S. F.; Escamilla, P. E.; Morton, J. B.; Menge, J. A. and Lovatt, C. J. 2008. Disturbance changes arbuscular mycorrhizal fungal phenology and soil glomalin concentrations but not fungal spore composition in montane rainforests in Veracruz and Chiapas, Mexico. Forest Ecol. Manag. 254(2):276-290.
- Weih, M.; Asplund, L. and Bergkvist, G. 2011. Assessment of nutrient use in annual and perennial crops: a functional concept for analyzing nitrogen use efficiency. Plant Soil. 339(1-2):513-520.
- Withers, P. J. A.; Edwards, A. C. and Foy, R. H. 2001. Phosphorus cycling in UK agriculture and implications for phosphorus loss from soil. Soil Use Manage. 17(3):139-149.
- Zhu, Y. G.; Cavagnaro, T. R.; Smith, S. E. and Dickson, S. 2001. Backseat driving? Accessing phosphate beyond the rhizosphere-depletion zone. Trends in Plant Sci. 6(5): 194-195.
- Zhu, Y. G.; Smith, A. F. and Smith, S. E. 2003. Phosphorus efficiencies and responses of barley (*Hordeum vulgare* L.) to arbuscular mycorrhizal fungi grown in highly calcareous soil. Mycorrhiza. 13(2):93-100.