根の研究(Root Research)15(1):11-17(2006)
ミニレビュー

植物とＶＡ菌根菌の窒素をめぐる駆け引き

矢野勝也
名古屋大学大学院生命農学研究科

要　旨：陸上植物の根は，むき出しの「根」で存在するよりも，共生微生物の菌根菌が共生した状態の「菌根」で存在しているのが普通である．最も普遍的にみられるのがVA菌根であり，この菌根が形成されると宿主植物のリン獲得能が向上することはよく知られている．しかし，多くの生態系で植物の成長を律速しているのはリンよりもむしろ窒素であるが，VA菌根菌が宿主植物の窒素栄養に関与しているかどうかは議論が続いてきた．私たちは最近，アンモニアを吸収したVA菌根菌は速やかに宿主にその窒素を提供するのに，硝酸を吸収した場合には自らが利用するだけで宿主に受け渡さない，という選択的な窒素供給現象を見いだした．本稿では，VA菌根菌が宿主植物の窒素栄養にどのように関与するのかについて，私たちの研究を紹介しつつ，過去の研究の問題点について議論する．
キーワード：共生，菌根，菌糸細胞壁，硝化，窒素，リン

The tactics for nitrogen acquisition between plants and VAM fungi：Katsuya YANO (*Graduate School of Bioagriculture, Nagoya University*)

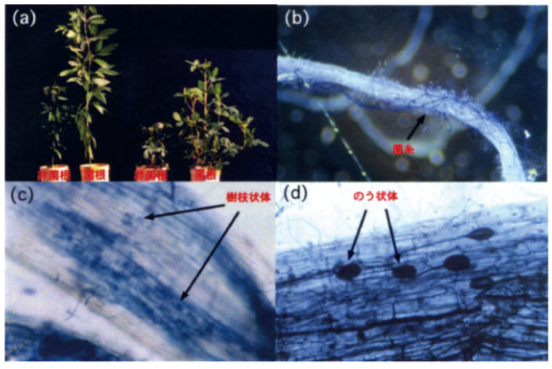
Abstract:　It is unusual that roots of terrestrial plants are in bare, but they normaly form symbiotic associations with mycorrhizal fungi. The most common association is vesicular-arbuscular (VA) mycorrhiza, and it is well known that forming VA mycorrhiza can improve phosphorus (P) acquisition by the host plants. However, as for nitrogen (N) nutrition, it is still debatable whether the mycorrhizal fungi are involved or not, althhough the availability of N rather than P limits plant growth in many ecosystems. Recently, we have found that N delivery via the mycorrhizal hyphae depends on the form of N supplied; while the fungus fed with ammonium can rapidly deliver N to the host plants, the fungus fed with nitrate scarcely delivers N despite of that nitrate is metabolized by the fungus. On the basis of this finding, I discuss the involvement of the mycorrhizal symbiosis in plant N nutrition with critical review for the previous studies.
Keywords:　hyphal cell wall, mycorrhiza, nitrification, nitrogen, phosphorus, symbiosis

１．はじめに

陸上植物の根は菌根菌と共生している場合が多い．言い換えると，土壌の中の植物根は，むき出しの「根」で存在しているのは稀で，むしろ第１図のような「菌根」という共生体で存在しているのが普通である．だから，植物の真の姿を把握するには，裸の「根」だけではなく「菌根」そのものを知る必要がある，というのは菌根研究者の主張したいところである．

菌根には，宿主植物と菌根菌との組み合わせによって，いくつかの種類がある．農作物をはじめ多くの植物種で見いだされるのがVA菌根（最近の文献ではアーバスキュラー菌根と呼ばれる場合が多い）である．この共生系の起源は古く，現存するVA菌根に類似した構造物が約４億年前の化石で発見されている．陸上植物種のほとんどがVA菌根菌という糸状菌と共生関係を築くことができるのも，おそらくは植物種が分化する以前からの古い関係であるためと思われる．

VA菌根の機能としては，宿主植物のリン獲



第１図　(a) リン欠乏土壌におけるキマメ（左）とラッカセイ（右）に対するVA菌根菌の接種効果．(b) VA菌根菌の菌糸．(c)，(d) トウモロコシの根内部で発達した菌根菌の菌糸．（矢野　原図）

2006年2月15日受付
＊連絡先　〒464-8601　名古屋市千種区不老町
Fax:052-789-5558　E-mail:kyano@agr.nagoya-u.ac.jp

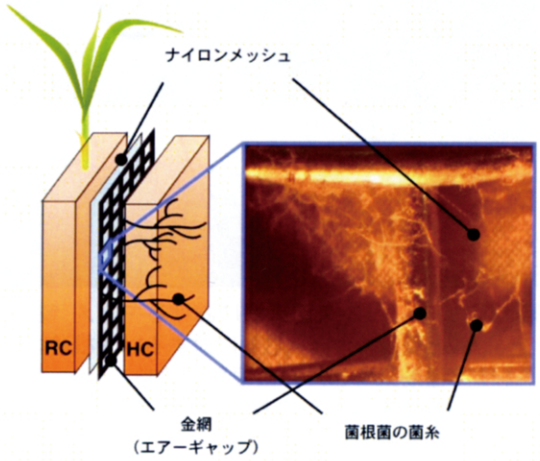
得能が向上することは広く認識されている（Bolan, 1991; Clark and Zeto, 2000; Shibata and Yano, 2003）．ところが窒素獲得能に関しては，多くの研究が行われてきたにもかかわらず，研究者間で見解が分かれていた（なお，VA 菌根菌とは異なって，ツツジに共生する菌根菌は有機物を分解して積極的に窒素を宿主に輸送するのは知られていた）．例えば，Horst Marschner の大著 Mineral Nutrition of Higher Plants, 2nd ed. (1995) では次のような記述が見られる．

“Compared with phosphorus, there is little information on the role of VAM in nitrogen acquisition –at least in nonlegumes– although both natural and agricultural ecosystems are often limited by nitrogen, rather than phosphorus”

最近，宿主植物の窒素栄養に関わる VA 菌根菌の役割や機能について理解が進んできている．VA 菌根菌が宿主植物の窒素栄養にどのように関与するのかについて，私たちの研究を紹介しつつ，過去の研究の問題点についても考察する．

2．菌根菌の窒素輸送における供与形態依存性

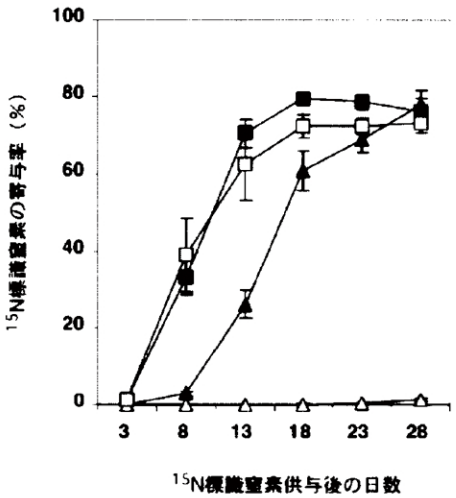
まず，VA 菌根菌が宿主植物に窒素を供給するかどうかは，その菌糸が吸収した窒素の形態（アンモニア態窒素あるいは硝酸態窒素）に依存している可能性（Tanaka and Yano, 2005）を紹介する．この研究では第２図のようなコンパートシステムを用いた．土壌を充填した２つの容器（RC, root compartment; HC, hyphal compartment）の間に 50μm の孔をもつナイロンメッシュをはさんで密着させたものである．菌根菌の菌糸はこのメッシュを通過できるのだが，植物の根は通過できない．過去の研究でも，このようなメッシュがよく利用されてきた．このメッシュに加えて，私たちはさらに厚さ 1.5mm の金網を RC と HC の間に挟み込んだ．この金網がエアーギャップとなり，RC と HC の間での窒素を含めた溶質の移動を防止するためである．ただし，第２図の写真でも確認できるように，メッシュを通過した菌糸はこのエアーギャップ（金網）を超えて HC にも侵入できる．



第２図　コンパートメントシステムの概略（Tanaka and Yano, 2005を改変）．

このような条件で RC にトウモロコシを栽培し，その最上位葉の ^{15}N 濃度を経時的に調査した．葉内窒素の何%が HC に与えた ^{15}N 標識窒素に由来するものかを示したのが第３図である．エアーギャップを設けたとき，葉に含まれる HC 由来窒素の割合は供与窒素形態によって全く異なっている．すなわち，アンモニア態窒素を与えた場合では８日目以降に急激に増加するのに対して，硝酸態窒素を与えた場合には 30 日を経過しても ^{15}N はほとんど検出されなかった．一方，ギャップを設けない場合には，いずれの窒素源でも同様に 3 日目以降から急激に ^{15}N が増加し 18 日目以降はほぼ一定となった．

標識窒素を与えてから 30 日後のトウモロコシの成長量，窒素含有量とその内の標識窒素割合を第１表に示した．エアーギャップを設けて硝酸態窒素を供与すると，窒素含有量が大きく低下して明らかに成長も抑制された．そして，地上部窒素に占める標識窒素の割合が無視できるほど小さいことから，窒素含有量の低下が HC からの標識窒素供給不足に起因するのは明らかである．すなわちこの結果は，菌根菌が宿主植物に硝酸態窒素を輸送しないことを示唆している．



第３図　トウモロコシ最上位展開葉の窒素に含まれる^{15}N標識窒素の割合の推移（Tanaka and Yano, 2005を改変）．

△：硝酸態N（エアーギャップ有）　▲：アンモニア態N（エアーギャップ有）
□：硝酸態N（エアーギャップ無）　■：アンモニア態N（エアーギャップ無）

菌根菌が硝酸態窒素の輸送に関与しない原因には，1）硝酸態窒素を吸収しない，あるいは，2）吸収した硝酸態窒素を宿主に渡さない，の2つの可能性が想定される．植物とは異なり，菌根菌の菌糸細胞壁はキチンやキトサンという窒素化合物からできており，乾物ベースで約6%のNを含有している（Leake and Read, 1990）．根内部に発育した菌糸の細胞壁に ^{15}N が検出されれば，少なくともこの菌根菌がHCに与えた ^{15}N を吸収し，なおかつその ^{15}N を根の内部まで輸送して自らの菌糸細胞壁の構築に利用したことになる．上記のいずれに原因があるのかを知るために，RCにあるトウモロコシの根内部で発育した菌根菌菌糸の細胞壁に ^{15}N が検出されるかを調べてみた．

まず，強アルカリ溶液で細胞質を溶かしだし，さらにセルラーゼ等の酵素処理でトウモロコシの細胞壁を分解除去することで，根細胞間隙で発達していた菌糸構造物を取り出した(第4図)．その ^{15}N 濃度から菌糸細胞壁に含まれるHC由来窒素の割合を示したのが第5図である．アンモニア態窒素を与えたときよりは低いが，硝酸態窒素を与えたときでも明らかに高い濃度の ^{15}N が検出された．したがって，上記1）の可能性は否定され，菌根菌は硝酸態窒素を吸収しても自らの代謝に利用するだけで宿主植物にはその窒素を渡さない可能性が高い．

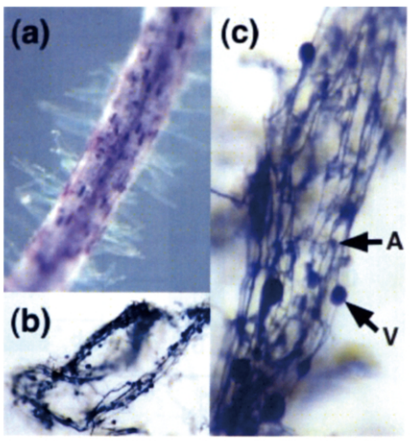
第1表を見ると，エアーギャップのある条件で硝酸態窒素を供与したとき（菌根菌の菌糸だけがHCの硝酸態窒素にアクセスできるとき）だけ，HC由来窒素の割合が地上部よりも根で高く，他の3処理区は全て地上部の割合の方が高くなっている．このような結果が生じるのも，HCから吸収した硝酸態窒素が根の中にいる菌糸には利用されたが，宿主植物へは積極的に受け渡されていないためと考えれば，うまく説明できそうである．

一方，第3図の経時変化を踏まえると，菌根

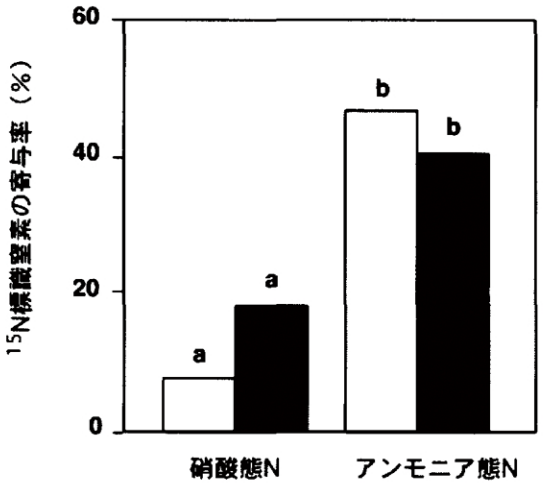
第1表　^{15}N標識窒素供与後30日目におけるトウモロコシの菌根形成率、乾物重および標識窒素の寄与率（Tanaka and Yano, 2005を改変）.

^{15}N供与形態	エアーギャップ	菌根形成率 (%)	乾物重 (g 個体$^{-1}$)		窒素含有量 (mg 個体$^{-1}$)		標識窒素寄与率 (%)	
			地上部	地下部	地上部	地下部	地上部	地下部
硝酸態	有	64.0 a	1.48 a	0.81 a	13.0 a	5.2 a	2.9 a	8.2 a
	無	61.2 a	2.23 b	1.01 b	50.2 b	14.3 b	73.1 b	66.9 b
アンモニア態	有	73.6 ab	2.17 b	0.98 b	48.2 b	12.3 b	74.0 b	65.8 b
	無	77.6 b	2.17 b	0.93 ab	63.5 b	18.9 c	80.2 c	75.0 c
ANOVA					*P* 値			
^{15}N供与形態		0.0101	0.1195	0.4526	0.0004	0.0002	< 0.0001	< 0.0001
エアーギャップ		0.8947	0.0668	0.2033	0.0002	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
交互作用		0.4569	0.0690	0.0392	0.0613	0.3393	< 0.0001	< 0.0001

同一アルファベットの平均値間には有意差はない．



第4図　(a) トウモロコシの菌根．(b) 酵素処理でトウモロコシ根を分解して露出させた菌根菌の菌糸．(c) 根内部で発達した菌根菌の菌糸．根内菌糸に時的な構造物であるのう状体（V）や樹枝状体（A）が観察される（Tanaka and Yano, 2005を改変）.



第5図　トウモロコシ根内の菌糸細胞壁窒素に含まれる15N標識窒素の割合（Tanaka and Yano, 2005を改変）．同一アルファベットの平均値間には有意差はない．

□：エアーギャップ有　■：エアーギャップ無

菌のアンモニア態窒素の輸送能はリンに匹敵するほど早い速度である．しかも，根と菌糸の両方が標識窒素にアクセス可能な場合（ギャップ無し）の７割の標識窒素を，菌糸単独（ギャップ有り）でまかなったことになる（第６図）．また，あらかじめ窒素を過剰量与えて窒素濃度を高くしたトウモロコシに対しても，菌糸はアンモニア態窒素をトウモロコシへと供給した（データ省略）ことから，この供給能は宿主の窒素栄養状態に依存しない可能性も想定される．

以上の結果を要約すると，次の４つがポイントとなる．

1）菌根菌は，アンモニア態および硝酸態のいずれの窒素源も自らの代謝に利用できる．
2）菌根菌は，硝酸態窒素を吸収しても自らに利用するだけで，それを宿主に供給しない．
3）菌根菌は，アンモニア態窒素を積極的に供給して，宿主の窒素栄養を向上させる．
4）アンモニア態窒素の供給は，宿主の窒素栄養が十分満たされた状態でも起きる．

３．これまでの関連研究の問題点

Smith and Read (1997) による菌根専門書 Mycorrhizal Symbiosis, 2nd ed. の VA 菌根・窒素栄養の章では，次のような記述がみられる．

"Preliminary results on N uptake and transfer were somewhat inconclusive"

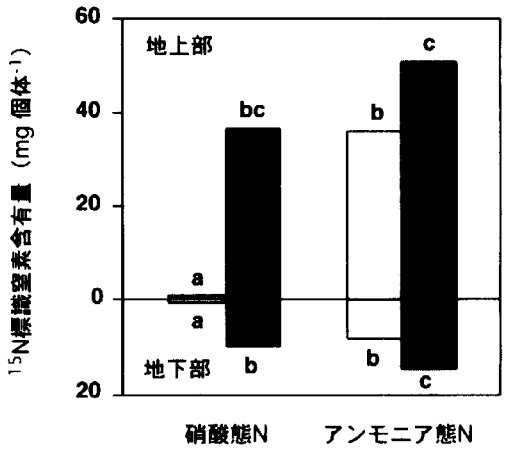
"The picture is now clearer and again the use of mesh-compartmented systems has played an important part. Ames et al. (1983), supplied $(^{15}NH_4)_2SO_4$ to the HC of such a system and observed considerable ^{15}N transfer to the mycorrhizal plants"

"A similar approach has now been used with different plant-fungus combinations and the data have confirmed hyphal ^{15}N transfer to mycorrhizal *Cucumis sativus*, *Trifolium subterraneum* and *Zea mays* when $^{15}NH_4$ was supplied in the HC colonized by hyphae of *Glomus intraradices* (Frey and Schüepp, 1992; Johansen et al., 1992, 1993). In two of these investigations the ^{15}N in the HC was significantly depleted in the hyphal compartment. However, none of these demonstrations of N translocation and transfer have been associated with increased plant N content or growth"

すなわち，菌根菌の菌糸を介した窒素の吸収や転移について，かつては決着がつきにくかったが，今ではメッシュ・コンパートメントシステムの利用によってより明確となってきた，例えば Ames et al. (1983) はコンパートメントシステムを用いて，HC にアンモニア態窒素を与えると宿主植物にもある程度の ^{15}N が転移することを示した，とある．なお，ここで述べられたコンパートメントシステムにはエアーギャップが設けられていないので，対照の菌根非形成植物においても無視できない ^{15}N が検出されている．

ところが A similar 以降の文章はわかりにくい．続けて，今では同様のコンパートメントシステムが利用され，他の宿主植物でも菌糸による ^{15}N の転移（transfer）が確認されているとあり，３つの引用文献の２つでは HC で有意に ^{15}N が減少していた旨述べられている．つまり，菌糸が HC の ^{15}N を吸収したことを意味しているのだが，However 以降の記述は，窒素の移動（translocation）や転移を実証したこれら３つの文献のいずれにおいても，宿主植物の窒素含量の増加や成長促進が認められなかった旨が述べられている．おそらく，多くの読者は菌糸に吸収されて移動した窒素はどこにいったのだろうと不思議に思うに違いないが，このような疑問に応える記述はその後も見あたらない．

もし，私たちが見いだした形態選択的な窒素供給現象が，広く VA 菌根菌に普遍的な性質であるならば，この疑問をうまく解消できるのではないだろうか．つまり，菌根菌は土壌中の硝酸態窒素を吸収しても，自らの代謝には利用するが宿主植物にはその窒素を供給しないので，土壌窒素が減少したにもかかわらず宿主植物の窒素含量は増加しなかったのかもしれない．菌



第６図　トウモロコシの^{15}N標識窒素含有量（Tanaka and Yano, 2005を改変）．同一アルファベットの平均値間には有意差はない．

□：エアーギャップ有　■：エアーギャップ無

根菌の窒素吸収と宿主植物への窒素供給は別問題と考えるべきで，宿主へ窒素が供給されたかを確認するには，菌根菌が感染した根で ^{15}N を検出するのではなく，地上部あるいは導管液など菌根菌から独立した植物組織に ^{15}N が検出されるかを注目する必要がある．

菌根菌の菌糸を介した窒素移動を評価する試みはこれまでにもなされてきたのだが，上記のような混乱があった．これまでの研究と私たちの研究を比較すると，実験上の２つの問題点が浮かび上がる．そのひとつが，窒素化合形態の変化である．植物が直接利用可能な土壌窒素は NO_3^- と NH_4^+ の２種類があり，これらはVA菌根菌も利用する窒素源である（Bago et al., 1996; Johansen et al., 1996）．NO_3^- は土壌にほとんど吸着されないために，水の流れにのって土壌中を長い距離でも移動することができる．一方，NH_4^+ はマイナスに帯電した土壌表面に吸着されるので，NO_3^- のようには自由に移動することができない．菌根菌が宿主植物のリン獲得能を向上させるのは，リンが土壌を移動する速度よりも菌糸をバイパスにして移動する方が早いためである．逆に，NO_3^- のように土壌に吸着されない溶質は，菌糸を経由するよりも直接土壌中を移動する方が早い．

だから，素早く移動する NO_3^- に対して菌根の機能は現れにくいが，相対的に移動速度の低い NH_4^+ に対しては菌根が有効に機能するだろう．このような考えが，菌根研究者の間では支配的であったように思われる．ところが，NH_4^+ は水田土壌のように嫌気的な環境では安定的に存在できるが，好気的な畑土壌では微生物によって速やかに NO_3^- へと酸化されてしまう．つまり，研究者がアンモニア態窒素を与えたつもりでも，土の中では速やかに硝酸態窒素に変化してしまっていて，うまく制御されていなかった可能性が想定される．

アンモニア態窒素の硝化を抑制するために，硝化抑制剤の併用も試みられてきた（Johansen et al., 1992, 1993, 1994）．しかし，その結果としての菌糸のアンモニア態窒素輸送能の評価は，無視できる（Johansen et al., 1992）からある程度の輸送能（Johansen et al., 1994）までと，同一研究者内でも評価が定まっていない．これに対して私たちは，緩効性被覆尿素（LPコート）あるいはHCに土壌を充填する代わりに寒天ゲルを用いることで，微生物によってアンモニア態窒素が硝化される速度を抑制し，上記のような結果が得られている．

もうひとつの問題点は，コンパートメント間の溶質移動の制御である．これまでの研究でも第２図のようなコンパートシステムが利用されてきた．ただし，私たちとは異なるのはエアーギャップが存在しないことである．そして，RCに生育する植物に対して，菌根を形成させたものと形成させなかったものを用意し，この両者の比較から菌根菌の菌糸を介した窒素移動を評価するのが定石であった．リンのように土壌中をほとんど移動できない溶質ならば問題は小さいのだが，窒素はリンよりも移動しやすいので，RC 植物体が含有する標識窒素量は菌根菌菌糸以外の要因にも影響されてしまう．

例えば，菌根形成は植物のリン栄養を改善するのが一般的で，葉面積や根長など植物体のサイズが大きくなって蒸散量も増加しやすい（Augé, 2000）．それに伴って根が吸収する水の量も増加し，移動しやすい窒素をそれだけたくさん吸収してしまいかねない．たとえ地上部が等しくても，菌根形成は側根の発生や伸長を局所的にも促進するので（Yano et al., 1996），それに応じて窒素吸収能も増加する可能性もある．だから，移動性の大きい窒素の菌糸を介した移動を評価するには，菌根形成植物と非形成植物の比較だけでは困難であり，エアーギャップのように溶質移動を制御する工夫が不可欠と思われる．さらにいえば，そのような工夫がなされていない研究の結果を解釈する際には，菌糸以外の要因で移動した可能性を念頭におくべきであろう．

４．VA菌根形成と植物窒素栄養

以上述べてきたように，菌根形成によって宿主植物の窒素栄養が改善するかどうかは，アンモニア態窒素の存在に強く依存すると考えられる．菌根菌が好む好気的な土壌では，微生物によって NH_4^+ は速やかに NO_3^- にまで酸化されるので，アンモニア態窒素は安定して存在できない．しかし，徐々に分解する土壌中の有機物からは，絶えずアンモニア態窒素が供給されている．Hodge et al.（2001）はVA菌根菌の窒素吸収能が大きく，土壌に遊離する窒素を大幅に減少させる結果，有機物の分解を促すことを報告している．私たちの研究では緩効性尿素を用いたのだが，これは土壌有機物が徐々に放出するアンモニア態窒素に似せて設計されたものであり，このような窒素の獲得と輸送に有効であることを示している．実際に，有機物含量の高い土壌において，菌根形成が土壌由来窒素の獲得能を向上させる結果，成長を促進する結果も得られている．

逆に，有機物に乏しい砂質土壌では，アンモニア態窒素の供給が乏しいので，菌根の機能は期待できないばかりか，菌根形成がかえって植物の成長を抑制する可能性もある．例えば，窒素とリンの両方が欠乏した壌質砂土にトウモロコシと数種のマメ科植物を共存させた条件でVA 菌根菌を接種すると，マメ科植物の成長量は増加するのにトウモロコシの成長量は低下し，特に２個体のトウモロコシを共存させたときには接種しなかった場合の７割程度の成長まで落ち込んだ．つまり，菌根菌はマメ科植物に対しては相利共生的に，トウモロコシに対してはむしろ寄生的に振る舞っている．

マメ科植物は自前で窒素固定を行うことが可能なので，窒素が不足した土壌でも窒素欠乏に陥ることはない．しかし，この窒素固定には多くのリンを必要とする．だから，リン栄養を改善する菌根形成は窒素固定能を向上させ，その結果窒素含有量も増加したことで生育も促進されたと推測できる．一方，窒素固定能のないトウモロコシにとっては，いくら菌根菌からリンを供給されても，窒素栄養は改善されないので成長促進が起きない．それればかりか，制限因子ではないリンを輸送する菌根菌にも，その対価として植物は炭水化物を与えなければならない．だから，菌根菌との共生関係がかえって炭水化物の浪費を招き，結果的に成長が抑制されるのだと考えられる．

最近，Govindarajulu et al. (2005) は ^{13}C および ^{15}N 標識化合物を利用して，吸収した無機態窒素が菌糸内でアルギニンに同化されて移動し，それが宿主植物の細胞に渡される際には炭素骨格を含まない無機態となるモデルを提案した．このモデルでは，菌根菌がアンモニア態窒素同様に硝酸態窒素も同化して宿主へ供給すると説明されており，私たちの主張とは異なっている．しかし，その根拠となる実験はニンジン毛状根を用いた in vitro な培養系におけるもので，菌根菌が住み着いた根を分析した結果である．このような食い違いが菌根菌の種間差による可能性（彼らの用いた菌は *Glomus intraradices* で私たちの用いた菌は *Glomus aggregatum*）も現段階では否定できない．しかし，すでに指摘したように，宿主に窒素が供給されたかを評価するには，菌根菌から独立した植物組織に ^{15}N が検出されるかが重要であることには変わりはない．

VA 菌根共生系における窒素関連の認識は，ところどころに大きな穴の空いた未完成のジクソーパズルのような状態にある．硝酸態窒素の輸送に菌根が有効でないのは土壌中で素早く移動するためで，移動速度が低下する乾燥土壌では菌根がうまく機能すると予想されていた（Tobar et al., 1994; Smith and Read, 1997; Subramanian and Charest, 1999; Clark and Zeto, 2000）．しかし，硝酸態窒素を吸収しても宿主植物にはそれを供給しない現象が VA 菌根菌に普遍的な性質であるならば，土壌中での移動速度とは無関係である．毒性の強いアンモニアとは異なり，植物の細胞は液胞に硝酸態窒素を過剰に蓄積することが可能である．同様に，菌根菌も液胞に硝酸態窒素を自らの資源として蓄積し，窒素が欠乏するかもしれない未来に備えているような気がする．形態選択的な窒素供給現象が，パズルの穴を埋めるピースとなることを期待していている．

５．引用文献

Ames, R.N., Reid, C.P.P., Porter, L.K., Cambardella, C. 1983. Hyphal uptake and transport of nitrogen from two ^{15}N-labelled sources by *Glomus mosseae*, a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. New Phytol. 95: 381-396.

Augé, R.M. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza 11: 3-42.

Bago, B., Vierheilig, H., Piché Y., Azcon-Aguilar, C. 1996. Nitrate depletion and pH changes induced by the extraradical mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* grown in monoxenic culture. New Phytol. 133: 273-280.

Bolan, N.S. 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. Plant Soil 134: 189-207.

Clark, R.B., Zeto, S.K. 2000. Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. J. Plant Nutri. 23: 867-902.

Frey, B., Schüepp, H. 1993. Acquisition of nitrogen by external hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Zea mays* L. New Phytol. 124: 221-230.

Govindarajulu, M., Pfeffer, P.E., Jin, H., Abubaker, J., Douds, D.D., Allen, J.W., Bücking, H., Lammers P.J., Shachar-Hill, Y. 2005. Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. Nature 435: 819-823.

Hodge, A., Campbell, C.D., Fitter A.H. 2001. An arbucular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material. Nature 413: 297-299.

Johansen, A., Finlay, R.D., Olsson, P.A. 1996. Nitrogen

metabolism of external hyphae of arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. New Phytol. 133: 705–712.

Johansen, A., Jakobsen, I., Jensen, E.S. 1992. Hyphal transport of ^{15}N-labelled nitrogen by a vesicular–arbuscular mycorrhizal fungus and its effect on depletion of inorganic soil N. New Phytol. 122: 281–288.

Johansen, A., Jakobsen, I., Jensen, E.S. 1993. External hyphae of vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. New Phytol. 124: 61–68.

Johansen, A., Jakobsen, I., Jensen, E.S. 1994. Hyphal N transport by a vesicular–arbuscular mycorrhizal fungus associated with cucumber grown at three nitrogen levels. Plant Soil 160: 1–9.

Leake, J.R., Read, D.J. 1990. Chitin as a nitrogen source for mycorrhizal fungi. Mycol. Res. 94: 993–995.

Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Second edition. Academic Press, London, UK.

Smith, S.E., Read, D.J. 1997. Mycorrhizal Symbiosis. Second edition. Academic Press, San Diego, USA.

Shibata, R., Yano, K. 2003. Phosphorus acquisition from non-labile sources in peanut and pigeonpea with mycorrhizal interaction. Appl. Soil Ecol. 24: 133–141.

Subramanian, K.S., Charest, C. 1999. Acquisition of N by external hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus and its impact on physiological responses in maize under drought-stressed and well-watered conditions. Mycorrhiza 9: 69–75.

Tanaka, Y., Yano, K. 2005. Nitrogen delivery to maize via mycorrhizal hyphae depends on the form of N supplied. Plant Cell Environ. 28: 1247–1254.

Tobar, R., Azcon, R., Barea, J.M. 1994. Improved nitrogen uptake and transport from ^{15}N-labelled nitrate by external hyphae of arbuscular mycorrhiza under water-stressed conditions. New Phytol. 126: 119–122.

Yano, K., Yamauchi, A., Kono, Y. 1996. Localized alteration in lateral root development in roots colonized by an arbuscular mycorrhizal fungus. Mycorrhiza 6: 409–415.