

MICORRIZACION VESICULO ARBUSCULAR ESPONTANEA EN TRIGO EN FUNCION DE LA DISPONIBILIDAD DE FOSFORO

F COVACEVICH, H E ECHEVERRIA, Y E ANDREOLI

Unidad Integrada EEA INTA Balcarce-FCA UNMdP. CC 276 (7620) Balcarce, Argentina

SPONTANEOUS VESICULAR ARBUSCULAR MICORRHIZATION OF WHEAT IN RELATION TO PHOSPHORUS AVAILABILITY

Biological soil processes contribution to wheat phosphorus (P) nutrition in the Southeastern Buenos Aires Province (Argentina) is unknown, despite its soils high biological activity. It has been reported that vesicular arbuscular micorrhizae (MVA) could improve P uptake by crops. The objective of this experiment was to measure the degree of spontaneous MVA of continuous spring wheat (*Triticum aestivum* L.) under different situations of soil phosphorus (P) availability and to evaluate its relation to the available soil P and to crop dry matter accumulation and total P absorbed. Degree of micorrhization was quantified through the Giovanetti and Mosse method on samples taken in 1993 from some treatments of a field experiment comprising different levels of P fertilization: 0, 11 and 22 kg P ha⁻¹ applied annually and 164 kg P ha⁻¹ applied once at the beginning of the experiment. Higher levels of P fertilization increased total dry matter, grain production and total P absorbed by wheat. No direct evidence was found to support that spontaneous infection with MVA contribute to improve neither P uptake by wheat nor its grain yield. Increased application of P fertilizer reduced micorrhization percentage, whereas the 0 kg P ha⁻¹ treatment showed the highest levels of micorrhizal infection. From the first sampling at harvest, this treatment showed a linear pattern of fungal structure development while the others showed a sigmoidal one. Treatment 164 kg P ha⁻¹ presented high levels of P availability (Bray-P) and also high MVA infection percentage. This could be an evidence of the existence of MVA adaptation mechanisms to some high Bray-P conditions.

Key words: Wheat - Vesicular arbuscular micorrhizae - Phosphate fertilization

INTRODUCCION

Las raíces de las plantas y algunos hongos microscópicos del suelo asociados a éstas (las micorrizas) han coevolucionado a través del tiempo (Wagner, Taylor 1981). El desarrollo de la infección en el interior de la corteza está acompañado por un crecimiento exterior de hifas, que se extienden en el suelo varios centímetros dando lugar al micelio externo que constituye el sistema de absorción de nutrientes y agua (Newman, Eason 1989). Las micorrizas mejoran así la captación por la planta del fósforo (P) ya existente en el suelo, por un mecanismo físico ya que se incrementan los sitios de absorción de P (Barea 1991). En nuestro país los primeros trabajos que describieron la presencia de hongos micorríticos vesículo arbusculares (MVA) en cereales fueron realizados por Delorenzini *et al.* (1978), y para el Sudeste Bonaerense por Picón (1984) en especies silvestres y cultivadas. Los suelos del Sudeste Bonaerense presentan un bajo nivel de P inorgánico y disponible (Darwich 1983, Echeverría, Ferrari 1993), por lo que dicho nutriente es una limitante de importancia para los cultivos en general y para el trigo en particular. Se han informado importantes incrementos

en los rendimientos de trigo por el agregado de P, por lo que la práctica de la fertilización fosfatada se ha difundido ampliamente en dicha región (Berardo *et al.* 1993).

La disponibilidad del fertilizante para los vegetales depende de transformaciones de naturaleza química y biológica (Barrow 1983). Berardo *et al.* (1993) han determinado una baja velocidad en los procesos de fijación e inmovilización de los fertilizantes fosfatados. Estos resultados han sido parcialmente explicados mediante la determinación de incrementos en las fracciones lábiles del P del suelo posteriores a la fertilización (Mestelan, Culot 1993). En cuanto a las transformaciones biológicas, las MVA podrían jugar un rol trascendente favoreciendo la absorción de P por la planta (Barea 1991). Los suelos del Sudeste Bonaerense poseen un elevado contenido de materia orgánica y una activa biomasa microbiana (Echeverría *et al.* 1992), lo que haría suponer que este mecanismo alternativo de absorción de P por parte de los vegetales sería relevante. Sin embargo, para estas condiciones se desconoce cómo evoluciona en el tiempo el grado de micorrización y la existencia de relaciones entre éste y el crecimiento del cultivo.

Los objetivos del presente trabajo fueron evaluar el grado de micorrización vesículo arbuscular espontánea durante el ciclo de crecimiento de un cultivo de trigo, con distintas dosis de fertilización fosfatada y su relación con la producción de materia seca, la acumulación de P en los tejidos y el P disponible en el suelo.

MATERIALES Y METODOS

La experiencia se realizó sobre un ensayo de larga duración conducido por el grupo de Fertilidad de Suelos de la Unidad Integrada INTA-FCA Balcarce, sobre un suelo Argiudol típico, franco, illítico, térmico representativo del Sudeste Bonaerense, con un contenido de materia orgánica del 6,2% y pH 5,7. La misma comenzó en el año 1988 y los tratamientos consistieron en 4 niveles de fertilización fosfatada aplicados por única vez (0, 44, 88 y 164 kg Pha^{-1}) y dos niveles de refertilización todos los años (11 y 22 kg Pha^{-1} , denominados 11 r y 22 r, respectivamente) como superfosfato triple de calcio. El diseño experimental fue en bloques completos aleatorizados con tres repeticiones y con un tamaño de parcela de 400 m² (Berardo *et al.* 1993). Para la realización del presente trabajo se efectuó el seguimiento del cultivo durante el año 1993 de los cuatro tratamientos mas contrastantes: 0, 11 r, 22 r y 164 kg Pha^{-1} .

La preparación de la cama de siembra se efectuó con herramientas de tipo convencional. La siembra se efectuó el 24 de julio a razón de 450 plm⁻² de la variedad PROINTA Federal. En todos los tratamientos se aplicó a la siembra 120 kg de N bajo la forma de urea. Se realizaron en cada parcela 4 muestreos de raíces y parte aérea a los 25, 69, 90 y 119 días después de la emergencia (DDE) que corresponden a los estadios fenológicos de principio de macollaje, antésis, madurez acuosa y madurez fisiológica, respectivamente. Los muestreos de raíces se realizaron descalzando las mismas con pala a 15 cm de profundidad. Las muestras de la parte aérea del cultivo fueron de 0,25 m². La tinción de las raíces se llevó a cabo según la técnica de Phillips y Hayman (1970) y la cuantificación del grado de micorrización por el método de la cuadrícula de Giovanetti y Mosse (1980).

Se realizaron tres observaciones de cada tratamiento, correspondiendo a cada una de ellas un promedio de 177 intersecciones, registrándose para cada observación el número de intersecciones en las cuales no se encontraron estructuras fúngicas, se encontraron solo hifas, arbusculos con o sin vesículas o hifas y vesículas con o sin hifas. Con los datos registrados se calculó: el porcentaje de segmentos infectados (se consideraron segmentos infectados la suma de los segmentos con hifas, arbusculos y vesículas), porcentaje de segmentos con arbusculos y porcentaje de segmentos con vesículas. Se determinó el contenido en materia seca (MS) y de P total (Blanchar *et al.* 1965) en la parte aérea, y el contenido de P extractable en el suelo en la siembra y en el momento del último muestreo (Bray, Kurtz I 1945). Las precipitaciones mensuales del año 1993 y la mediana entre los años 1928-1993 fueron provistos por la Estación Agrometeorológica, perteneciente a la EEA-Balcarce. Los resultados obtenidos fueron sometidos a análisis de correlación, regresión y de varianza. Cuando las diferencias entre tratamientos fueron significativas se compararon las medias de los tratamientos aplicando el test de Duncan (SAS 1988 GLM Procedure).

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 puede observarse que durante los meses previos a la siembra (abril-mayo-junio), las lluvias supe-

raron largamente las medianas registradas entre los años 1928-1993. Por el contrario, entre los meses de julio (siembra) a septiembre (emergencia), los niveles de precipitación fueron los más bajos del año y muy inferiores a los registrados en los últimos 66 años. Esta situación de déficit de precipitaciones se prolongó hasta mediados de octubre para luego normalizarse hacia el final del ciclo del cultivo.

El contenido de P extractable en el suelo determinado por el método de Bray, Kurtz I se presenta en la Tabla 2. En el momento de la siembra el tratamiento 164, a pesar de no recibir aportes de P en los últimos seis años, fue considerablemente superior a los tratamientos 0 y 11 r, y muy similar al tratamiento 22 r. Esto puede deberse al elevado efecto residual del P en este suelo, lo que concuerda con los resultados obtenidos con anterioridad en esta misma experiencia (Berardo *et al.* 1993). En todos los tratamientos se registraron incrementos de importancia en el contenido de P en el suelo a la cosecha, aún en los tratamientos que no recibieron fertilizante, hecho que podría explicarse por el aporte de P por mineralización desde la fracción orgánica en respuesta al aumento de la temperatura hacia fin de año (Echeverría *et al.* 1979).

La Figura 1 A muestra la evolución del peso seco de la parte aérea en el ciclo del cultivo. La materia seca aumentó desde el primer al último muestreo siguiendo la típica curva sigmoideal de acumulación de MS. La mayor producción de MS se obtuvo con el agregado de 22 kg de Pha^{-1} , la menor contenido con el testigo, y los tratamientos 11 r y 164 se ubicaron en una posición intermedia. El P absorbido por el cultivo (Figura 1 B) manifestó un ordenamiento similar al de MS, pero se diferenció en que para algunos tratamientos, la acumulación de P fue prácticamente lineal. Un ordenamiento de los tratamientos similar al mencionado para MS se observó en el rendimiento en grano (Tabla 3). En resumen, a pesar de las características del año en estudio, se determinó una respuesta positiva en la producción de MS, concentración de P, P absorbido y rendimiento en grano por el agregado de fósforo.

La Figura 2 presenta los resultados de la evolución del porcentaje de segmentos de raíz infectados con MVA, arbusculos y vesículas. En los tratamientos con fertilización fosfatada se observó un aumento gradual de las estructuras fúngicas hasta los 69 DDE para llegar a un máximo a los 90 días y luego disminuir en madurez fisiológica. No ocurrió lo mismo en el testigo, el que continuó siendo colonizado hasta los 120 DDE en forma lineal. Los patrones de desarrollo no coinciden con los señalados por Tinker (1975) y por Mc. Gonigly y Miller (1993). Estos describen una curva de colonización sigmoideal, con una fase de latencia corta (15-19 días después de plantación) seguida por una rápida colonización radical, (con el

Tabla 1. Precipitaciones mensuales (mm) registradas en 1993 y mediana de precipitaciones mensuales (mm) registradas entre los años 1928-1993

Mes	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
Año									
1993	143,3	147,3	140,4	15,4	2,5	4,3	41,2	141,9	90,5
1928-93	57,7	56,8	43,0	51,0	36,0	55,5	75,0	62,6	80,4

Tabla 2. Contenido de P extractable por el método de Bray Kurtz I al comienzo y fin del ciclo del cultivo de trigo

Tratamiento	Siembra (mg kg ⁻¹)	Cosecha (mg kg ⁻¹)
0	6,5(±1,4)	9,7(±2,1)
11r	11,0(±0,5)	15,2(±3,0)
22r	16,9(±1,1)	23,5(±1,2)
164	16,0(±0,3)	20,7(±1,5)

Valores entre paréntesis corresponden a desvíos estandar

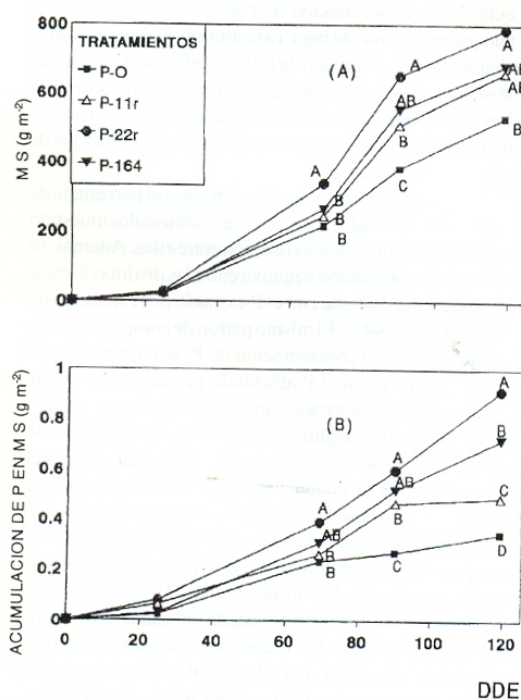


Figura 1: Producción de materia seca (A) y acumulación de P (B) en la materia seca aérea del trigo en función del tiempo frente a distintas dosis de P. Puntos con letras iguales no presentan diferencias significativas ($P < 0,05$) de acuerdo a la prueba de Duncan. DDE: Días después de la emergencia. MS: Materia seca. P: Fósforo.

Tabla 3. Rendimiento en grano (kg ha⁻¹) para el cultivo de trigo en función de distintas dosis de P

Tratamientos	0	11r	22r	164
Rendimiento (kg grano ha ⁻¹)	1732	2638	3478	2837
	(c)	(b)	(a)	(b)

Letras distintas difieren significativamente ($P < 0,05$) de acuerdo a la prueba de Duncan

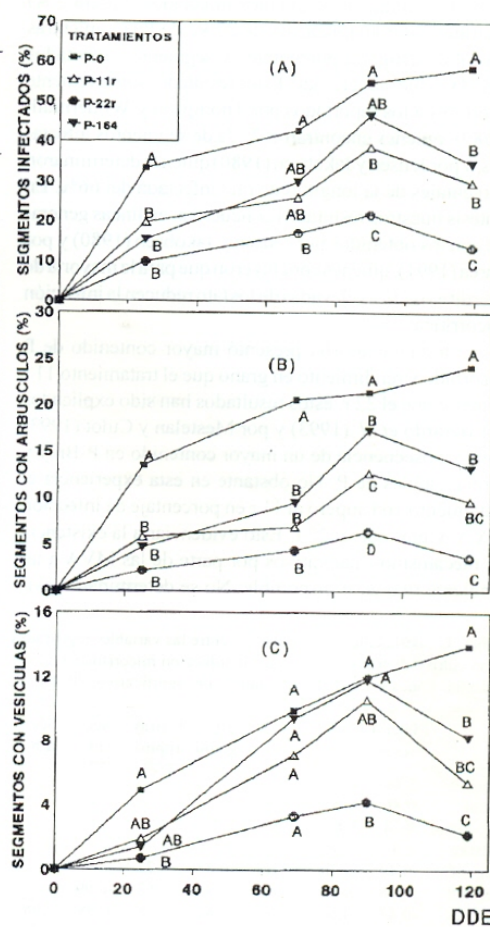


Figura 2: Porcentaje (%) de segmentos infectados (A), con arbusculos (B) y con vesículas (C), en función del tiempo. Puntos con letras iguales no presentan diferencias significativas ($P < 0,05$) de acuerdo a la prueba de Duncan. DDE: Días después de la emergencia. P: Fósforo

máximo antes de los 50 días después de plantación) para finalizar en una fase estacionaria o decaer lentamente hacia la madurez del cultivo. Las modalidades de desarrollo de las estructuras fúngicas encontradas en este trabajo, probablemente sean consecuencia de las características climáticas del ciclo en estudio, en el que se registró un fuerte estrés hídrico durante los primeros estadios de crecimiento del cultivo. A pesar de que las MVA aumentan la tolerancia de las plantas al estrés hídrico, el óptimo para que se desarrolle la micorrización coincide con el óptimo para el crecimiento de la planta (Azcón-Aguilar *et al.* 1985).

El porcentaje de segmentos infectados (Figura 2 A) disminuyó por la aplicación de 22 kg de Pha¹, mientras que en el testigo el porcentaje de segmentos infectados con MVA fue más elevado. Estos resultados son levemente inferiores a los reportados por Thompson y Wildermuth (1989), quienes encontraron 71 % de segmentos infectados, y por Jensen y Jakobsen (1980) quienes determinaron porcentajes de la longitud de raíz infectada del 66%. En síntesis nuestros resultados concuerdan en líneas generales con los obtenidos por Jensen y Jakobsen (1980) y por Barea (1991), quienes concluyeron que para la mayoría de los cultivos, dosis elevadas de fosfato reducen la infección micorrítica.

El tratamiento 164 presentó mayor contenido de P absorbido y rendimiento en grano que el tratamiento 11 r y menor que el 22 r, estos resultados han sido explicados por Berardo *et al.* (1993) y por Mestelan y Culot (1993) como consecuencia de un mayor contenido en P-Bray y formas lábiles de P. No obstante en esta experiencia el tratamiento 164 superó al 11 r en porcentaje de infección MVA, y mas aún al 22 r. Esto evidenciaría la existencia de mecanismos adaptativos por parte de las MVA a un ambiente rico en P disponible. No se determinaron evi-

dencias directas de que las MVA mejoren el rendimiento y/o la captación de P por el cultivo. Sin embargo, el hecho de que las MVA toleren altos niveles de P constituye el primer paso tendiente a permitir la existencia de una asociación mutualística que contribuya ciertamente a la nutrición del cultivo.

El porcentaje de segmentos con arbusculos (Figura 2 B) y con vesículas (Figura 2 C) presentó un modelo similar al descrito para el de segmentos infectados, con la diferencia de que los mismos fueron considerablemente inferiores para todos los tratamientos.

Los valores relativamente bajos de infección obtenidos, podrían ser explicados en parte por el agregado de fertilizantes nitrogenados en todos los tratamientos. Baltruschat y Dehne (1988) determinaron que en el monocultivo de trigo cantidades de N aplicados como fertilizante de 100 y 200 kg ha⁻¹, provocaron una considerable disminución de la infectividad micorrítica del suelo.

En la Tabla 4 se presentan los coeficientes de correlación entre las variables registradas en el cultivo de trigo y las formas de infección MVA a la cosecha. La relación entre MS y concentración de P en el suelo fue positiva, aunque relativamente baja. Esta última se relacionó estrechamente con la cantidad de P absorbido por el cultivo, de la misma manera, aunque menos estrechamente lo hizo la MS acumulada. Las tres variables anteriormente mencionadas se relacionaron con similar ajuste a la producción de grano a la cosecha.

Los coeficientes de correlación entre el porcentaje de segmentos infectados con vesículas y arbusculos muestran una directa y muy estrecha relación entre ellos. Además, se determinó una relación negativa entre las distintas formas de infección estudiada con el P extraído por el método de Bray y Kurtz (1945). El mismo patrón de comportamiento se observó con la concentración de P, el rendimiento en grano, la MS y con el P absorbido por la planta, lo que concuerda con lo señalado para cultivos de trigo por Baon *et al.* (1992). Para algunos autores (Azcón-Aguilar *et al.* 1985), el nivel de P en la planta más que el del suelo es el que controlaría el establecimiento y funcionamiento de las micorrizas y sostienen que un elevado contenido de P en la planta disminuye la infección MVA. Las relaciones inversas mencionadas sugieren la existencia de un mecanismo de represión de la infección con MVA en presencia de un estado de nutrición fosfatada adecuada como consecuencia de niveles de P extractable elevados. Concuerda con esto lo señalado por Abbott y Robson (1982) y por Barea (1991) e implicaría que el aporte efectuado por las MVA a la nutrición fosfatada solo sería significativo a muy bajos niveles de fósforo disponible para los vegetales o en presencia de moderados contenidos de formas menos lábiles de P (tratamiento 164).

Tabla 4. Coeficientes de correlación entre las variables registradas en el cultivo de trigo y las formas de infección micorrítica a la cosecha. Todos los valores reportados son significativos ($P < 0,05$)

	Materia seca	Conc. P	P-abs.	Rto. grano	P-Bray (ppm)	Seg. inf.	Seg. arb.
Conc. P	0,66	---					
P-abs	0,86	0,94	---				
Rto. grano	0,74	0,85	0,86	---			
P-Bray	0,57	0,69	0,67	0,76	---		
Seg. inf	-0,49	-0,70	-0,65	-0,88	-0,72	---	
Seg. arb	-0,46	-0,66	-0,61	-0,85	-0,68	-0,99	---
Seg. ves	-0,45	-0,60	-0,57	-0,81	-0,68	0,98	0,98

Conc. P = concentración de P en planta (%)

P-abs = P absorbido por el cultivo a la cosecha (g m⁻²)

Seg. inf = Porcentaje de segmentos de raíz infectado

Seg. arb = Porcentaje de segmentos de raíz infectado con arbusculos

Seg. ves = Porcentaje de segmentos de raíz infectado con vesículas

ERENCIAS

- ot L K, Robson A D. 1982. The role of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture and the selection of fungi for inoculation. *Aust.Jour.Agr. Res.* 33:389-408
- con-Aguilar C, Barea J M, Roldan-Fajardo B E. 1985. Avances recientes en el estudio de las micorrizas V.A. II Factores que afectan su formación y función, y aplicaciones prácticas en agricultura. Comunicación U.E. de Microbiología. Estación Experimental de Zaidín C.S.I.C. Granada. España. pp.30
- Saltruschat H, Dehne H W. 1988. The occurrence of vesicular arbuscular mycorrhiza in agro-ecosystems. *Plant and Soil.* 107:279-284
- Baon J B, Smith S E, Alston A M, Wheeler R D. 1992. Phosphorus efficiency of three cereals as related to indigenous Mycorrhizal infection. *Aust.J.Agric. Res.* 43:479-491
- Barea J M. 1991. Vesicular arbuscular mycorrhizae as modifiers of soil fertility. *Advances in Soil Science* 15:1-40
- Barrow N J. 1983. A mechanistic model for describing the sorption and desorption of phosphate by soil. *Jour. of Soil Sci.* 34:733-750
- Berardo A, Gratone F, Rizalli R. 1993. Evaluación del efecto residual del fósforo en un Argiudol típico bajo dos secuencias de cultivo. XIV Reunión Argentina de la ciencia del suelo: pp.145-146
- Blanchar R W, Rehm G, Caldwell A C. 1965. Sulfur in plant materials with digestion with nitric and perchloric acid. *Soil Sci.Soc.Am.* 29:71-72
- Bray R H, Kurtz L T. 1945. Determination of total, organic and available form of phosphorus in soil. *Soil Science* 59:360-361
- Darwich N. 1983. Niveles de fósforo asimilable en los suelos pampeanos. *IDIA.* 1-5:409-412
- Delorenzini C, Monzon de Asconegui M A, Amor Asuncion M J. 1978. Presencia de micorrizas V.A. en plantas cultivadas en la República Argentina. VIII Reunión Argentina de la Ciencia del Suelo: 29
- Echeverría H E, Ferrari J. 1993. Relevamiento de algunas características de los suelos agrícolas del Sudeste Bonaerense. *Boletín técnico N° 11 INTA-EERA.* Balcarce
- Echeverría H E, Iglesias M, Navarro C. 1979. Evidencias de la mineralización del fósforo orgánico. En: *informes de actividades del departamento de Agronomía.* Año 1978/79:43-45. Balcarce.INTA 10/79
- Echeverría H E, Bergonzi R, Ferrari J. 1992. Carbono y nitrógeno en la biomasa microbial de suelos del sudeste bonaerense. *Ciencia del suelo.* 10/11:36-41
- Giovanetti M, Mosse B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist.* 84:489-500
- Jensen A, Jakobsen I. 1980. The occurrence of vesicular arbuscular mycorrhiza in barley and wheat grown in some Danish soils with different fertilizer treatments. *Plant and Soil* 55:403-414
- Mc Gonigle T P, Miller M H. 1993. Mycorrhizal development and phosphorus absorption in maize under conventional and reduced tillage. *Soil Sci.Soc. Am. J.* 57:1002-1006
- Mestelan S A, Culot J Ph. 1993. Evolución de distintas fracciones del fósforo en un suelo sometido a fertilización fosfatada. XIV Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo: 229-230
- Newman E I, Eason W R. 1989. Cycling of nutrients from dying roots to living plants, including the role of mycorrhizas. *Ecology of arable Land* 133-137
- Phillips J M, Hayman D S. 1970. Improves procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infection. *Trans.Br.Mycol.Soc.* 55:158-161
- Picon M G. 1984. Relevamiento de micorrizas vesículo arbusculares en especies silvestres del Partido de Balcarce. Efecto del agregado de fósforo sobre el grado de micorrización espontánea de *Lolium perenne*. Tesis Lic. Cs.Biológicas. Fac.Cs.Ex.y Nat., Biblioteca UNMdP 45pp.
- SAS 1988 Institute Inc. SAS/STAT. REG and GLM Procedures. User's Guide, Release 6.03 Edition. Cary, NC: SAS Institute Inc., 1028 pp.
- Thompson J P, Wildermuth G B. 1989. Colonization of crop and pasture species with vesicular arbuscular mycorrhizal fungi and a negative correlation with root infection by *Bipolaris sorokiana*. *Can J.Bot.* 67:687-693
- Tinker P B. 1975. Soil chemistry of phosphorus and mycorrhizal effects on plant growth. In:pp. 353-371. F E Sanders, B Mosse, and P B Thinker (eds), *Endomycorrhizas.* Academic Press, London
- Wagner C A, Taylor T N 1981. Evidence for endomycorrhizae in Pennsylvanian Age Plant fossils Science. 212:562-563