

Efecto del fósforo disponible en el suelo sobre la micorrización en trébol blanco *

Sánchez, Cecilia**; Benintende, María**; Benintende, Silvia **

Introducción

La utilización de micorrizas vesículo arbusculares (MVA) tiene como uno de los objetivos principales el de mejorar el rendimiento de las cosechas agrícolas, con el consiguiente ahorro de fertilizantes químicos (Azcón de Aguilar, 1980).

Muchos trabajos han puntualizado la importancia de estos hongos en el crecimiento y la estimulación en la absorción de fósforo, sobre todo en cultivos de interés agronómico, por lo que el conocimiento de los efectos que las mismas tienen sobre la nutrición y fisiología de la planta posibilitaría la explotación efectiva de sus propiedades (Hayman, 1983).

En la mayoría de los suelos naturales existe un bajo contenido de fósforo asimilable, ya que gran parte del mismo se encuentra en forma insoluble. Además el ritmo de absorción de los iones fosfato por la planta es superior al de desplazamiento de los mismos desde el suelo no rizosférico al órgano de absorción, lo que determina que se forme una zona de agotamiento alrededor del mismo (Ocampo, 1980; Tinker, 1980; Harley y Smith, 1983).

El mecanismo que explica la mayor capacidad de captación de fósforo por plantas micorrizadas está basado en el fenómeno físico de incremento de los sitios de absorción de dicho elemento, ya que las hifas exploran un volumen de suelo que se encuentra más allá de la zona de depresión del fosfato, utilizando la misma fuente de fósforo que una planta no micorrizada (Hayman, 1983; Covacevich y col., 1995).

*) Producido en el marco de la Cátedra Microbiología Agrícola, Fac. de Cs. Agropecuarias, UNER, CC 24, (3100) Paraná (Entre Ríos).

Sin embargo, existe una serie de factores ecológicos que tienen incidencia directa sobre la población micorrizica y el desarrollo de la infección. Los factores más estudiados son aquellos relacionados a las condiciones del suelo, ya que se ha demostrado que el tipo de suelo y las poblaciones de endófitos nativos tienen un considerable efecto en la repuesta de la planta a la simbiosis micorrizica, especialmente en suelos disturbados (Diaz y col., 1995).

Se puede generalizar diciendo que la infección micorrizica es favorecida por una baja a moderada fertilidad fosfórica (Tinker, 1980; Ocampo, 1980; Azcón de Aguilar, 1980). Existen experimentos que demuestran lo contrario, encontrándose altos porcentajes de infección en plantas crecidas en suelos donde la concentración de fósforo era muy elevada (Hayman y col., citado por Ocampo, op.cit.).

El objetivo de este trabajo es cuantificar la relación que existe entre el grado de micorrización y el nivel de fósforo disponible en el suelo.

Materiales y Métodos

Se realizó un ensayo en macetas en invernáculo, en un diseño en bloques completos aleatorizados, con cinco repeticiones establecidas según condiciones de iluminación del invernáculo.

Se utilizó como soporte de crecimiento de las plantas fue arena sin esterilizar con pH igual a 6.7 y 4 ppm de fósforo extractable.

Los tratamientos fueron combinaciones de niveles de fósforo con inóculo de micorrizas y sin él.

Los niveles de fósforo se establecieron tratando de simular situaciones de baja, moderada y alta fertilidad utilizándose el fosfato monocalcico [(H₂PO₄)₂Ca], que se mezcló con el soporte.

El inóculo consistió en mezcla de esporas de distintas especies del endófito suministrado por el Departamento de Microbiología y Zoología Agrícola del INTA Castelar. Los tratamientos fueron:

1. Tratamiento testigo sin micorrizas y sin fósforo.
2. Tratamiento sin inocular y 0.1 gr de (H₂PO₄)₂Ca.
3. Tratamiento inocular y 0.1 gr de (H₂PO₄)₂Ca.
4. Tratamiento inocular y 0.5 gr de (H₂PO₄)₂Ca.

5. Tratamiento inocular y 1.0 gr de (H₂PO₄)₂Ca.

La especie vegetal usada fue trébol blanco (*Trifolium repens*), seleccionado por su sistema radicular que facilita su manipuleo en maceta. La inoculación con el endófito se realizó en el momento de la siembra. Los nutrientes necesarios para el crecimiento de las plantas se suministraron a través de riegos periódicos con solución de Hoanglands y Amon sin fósforo.

Cuando las plantas alcanzaron la etapa de floración, aproximadamente a los 90 días de la siembra, se procedió al corte de las mismas. Se separó la parte aérea de la raíz y se evaluó:

1. *Grado de micorrización*: el sistema radicular se lavó convenientemente y se colocó en solución de formalin aceto alcohol para su conservación.

Para la observación de micorrizas se utilizó la técnica de coloración de Phillips y Hayman (1970), que consiste en la tinción selectiva del endófito por la acción del colorante azul de tripán en solución de lactofenol.

La evaluación del porcentaje de micorrización se hizo utilizando el método de la cuadrícula de Giovanetti y Mosse (1980).

Para obtener una buena aproximación del valor promedio, de cada muestra de raíces se hicieron 3 observaciones y se realizaron no menos de 200 por caja. El grado de infección quedó determinado por la proporción de raíces positivas infectadas sobre el total de raíces observadas. Los resultados se expresaron en porcentaje.

2. *Producción de materia seca*: medido al momento de corte de la parte aérea. Expresado en gramos por maceta (gr MS/maceta).

3. *Contenido de fósforo en planta*: La determinación se hizo por la técnica de calcinación directa a 500 °C por 4 horas (Jones and Case, 1990). Los resultados se expresaron en porcentaje de fósforo (%P).

Realizándose el producto entre los valores promedios de fósforo en el vegetal y la materia seca se calcula el fósforo absorbido por maceta. Los resultados se expresaron en miligramos de fósforo absorbido por maceta (mg P/maceta).

Para realizar el análisis estadístico, los valores de porcentaje de micorrización fueron transformados por el método de transformación angular. Todas las variables fueron sometidas a análisis de varianza. La compa-

vegetal ensayada.

En el tratamiento 3 se observó respecto del tratamiento 2 un leve incremento en el porcentaje de micorrización, (7%), que no alcanzó a ser estadísticamente significativo. Esto se tradujo en una diferencia del 40% en el contenido de fósforo vegetal y del 38% en la materia seca producida.

Del análisis general surge que las plantas respondieron mas a la fertilización que a la inoculación.

No se encontró correlación significativa entre el porcentaje de micorrización y el fósforo en el suelo para los niveles ensayados, tampoco entre la micorrización y el contenido de fósforo en el vegetal, ni entre el grado de micorrización y la materia seca producida.

Varios autores (Azcón de Aguilár 1980; Ocampo, 1980; Safrir 1980; Frioni, 1990) coinciden en que el crecimiento de las plantas micorrizadas es favorecido en suelos de moderada a baja fertilidad, y encontraron respuestas inversamente correlacionadas entre el grado de micorrización y el contenido de fósforo disponible en el suelo, lo cual no se verificó en el ensayo realizado, y cuando el nivel del nutriente se encontraba en cantidad suficiente se eliminaba parte o todas las ventajas de la asociación.

Mosse (1973, citado por Azcón de Aguilár, 1980), encontró que, alcanzado el punto crítico de concentración fósforo en el vegetal, las adiciones de fósforo provocan un efecto negativo en el crecimiento de la planta. Otros trabajos hacen referencia a que el contenido del ion en la planta tiene más influencia en la reducción de la infección que el contenido de fósforo en el suelo (Sanders, 1975; Menge, 1978; citados por Azcón de Aguilár, 1980).

Sin embargo la bibliografía también indica que a tal generalización existen numerosas excepciones (Kluckelmann, 1975; citado por Azcón de Aguilár, 1980). En algunos casos aún trabajando con suelo esterilizado las respuestas han sido negativas o nulas (Mosse, 1973 y 1976; citado por Ocampo, 1980). Con soporte no esterilizado y trabajando con mace-tas e inoculando el mismo, se ha verificado que las respuestas son menos predecibles aún (Mosse, 1977; citado por Ocampo, 1980).

En este ensayo se utilizó un sustrato no esterilizado, por lo tanto, con la introducción de endófitos por inoculación podría darse una competencia

SAO-HEZ, C. y col.

ración entre medias de tratamientos se hizo por el test LSD (Least Significant Difference Test) ($p < 0.05$). Para establecer el grado de asociación entre las variables estudiadas se hizo un análisis de correlación lineal simple (coeficiente de correlación para la comparación $r = 0.48$).

Resultados y Discusión

El Cuadro N° 1 muestra los resultados promedios para las variables evaluadas.

Cuadro N° 1: Porcentaje de micorrización, fósforo vegetal, materia seca producida y Fósforo absorbido.

Treatment	Micorrización (%)	Fósforo vegetal (mg/g)	Materia seca (g/g)	Fósforo absorbido (mg/g)
1: sm y sp	86.46 a	0.12 b	0.72 a	86
2: sm y 0.1 gr	77.65 a	0.17 ab	1.12 ab	190.4
3: cm y 0.1 gr	83.14 a	0.24 abc	1.54 ab	370
4: cm y 0.5 gr	79.43 a	0.38 bc	2.14 b	813
5: cm y 1.0 gr	84.45 a	0.71 c	2.13 b	1576

Nota: letras distintas difieren significativamente.

- 1: sm y sp: Tratamiento sin micorrizas y sin fósforo.
 2: sm y 0.1 gr: Trat. sin micorrizas y con 0.1 gr. de $(H_2PO_4)_2$ Ca/Kg de soporte
 3: cm y 0.1 gr: Trat. con micorrizas y con 0.1 gr. de $(H_2PO_4)_2$ Ca/Kg de soporte
 4: cm y 0.5 gr: Trat. con micorrizas y con 0.5 gr. de $(H_2PO_4)_2$ Ca/Kg de soporte
 5: cm y 1.0 gr: Trat. con micorrizas y con 1.0 gr. de $(H_2PO_4)_2$ Ca/Kg de soporte

El análisis de varianza muestra que no existe efecto de los niveles de fósforo respecto del grado de micorrización.

Todos los tratamientos se caracterizan por tener valores de porcentaje de micorrización elevados, que varían entre el 77 y 86 % en promedio. No se observa efecto inhibitorio de la colonización por las concentraciones de P evaluadas. Esto coincide con resultados encontrados por algunos investigadores presentados por Tinker (1980). Se determinó que la micorrización cesaba a niveles de P entre 0.1 y 1.6 $\mu g P ml^{-1}$, dependiendo de la especie

con los nativos, haciendo que los beneficios a partir de la inoculación con hongos seleccionados dependa de la interacción con la microflora nativa. Díaz et al. (1992) encontró que la absorción de fósforo parece estar en función del hongo ensayado y es independiente del contenido del nutriente en el suelo.

Otro estudio (Díaz et al., 1995), revela que las poblaciones de endófitos nativos tienen un considerable efecto en la respuesta de la planta a la simbiosis micorrizica afectando directamente al crecimiento de la planta. La introducción de hongos seleccionados fue efectiva en sustratos esterilizados, aunque estos hongos elegidos por el alto grado de infectividad y efectividad fueron incapaces de mantener estos beneficios en suelos no esterilizados. Sus resultados también revelan la existencia de mecanismos adaptativos por parte de MVA a un ambiente rico en fósforo disponible.

Existe cierta dificultad, bajo determinadas condiciones, de correlacionar los parámetros de infección con los incrementos en el estado nutricional y crecimiento de las plantas micorrizadas (Safir, 1980). No haber utilizado el parámetro conveniente que muestre el comportamiento de las variables, en las condiciones ensayadas, puede ser una de las causas de la falta de correlación.

Los datos de porcentaje de micorrización pueden llevar a conclusiones erróneas, ya que los beneficios a partir de una raza determinada de hongo micorrizico no están siempre en relación directa con la extensión de raíz infectada (Mosse, 1972; Meyer, 1973; Sutton, 1983; Powell, 1976; Abot y Robson, 1977; citados por Ocampo, 1980), ya que se ha sugerido que distintas especies de MVA pueden tener diferente capacidad de absorción y traslocación.

Esto concuerda con Mosse (1982) que concluye que la eficiencia del endófito puede, en algunos casos, depender de la extensión de la infección o el desarrollo del micelio en el suelo. Como ejemplo, menciona que a veces solamente un 10% de infección puede mejorar en forma notable el crecimiento de las plantas, al tiempo que similares porcentajes de infección por parte de otros endófitos pueden no tener necesariamente el mismo efecto en el crecimiento.

La primera situación se ve reflejada en los resultados obtenidos en el

ensayo donde una diferencia en el porcentaje de infección del 7% entre los tratamientos 2 y 3 se tradujo en un aumento de la cantidad de fósforo extraída por las plantas de 190 a 370 mg de fósforo por maceta.

Fritoni (1990), indica que las hifas externas se consideran análogas a pelos radiculares y, cuando crecen juntas en maceas, las zonas de agotamiento de fósforo alrededor de la raíz se superponen, lo que determina falta de respuesta del crecimiento a la infección.

Conclusiones

* La micorrización no se vio afectada por los distintos niveles de fósforo en el suelo ensayados y no estuvo correlacionada con el fósforo vegetal ni con la materia seca producida.

* El aumento en porcentaje de raíces infectadas, como resultado de la inoculación endófito (7%), no resulta estadísticamente significativo, aunque se traduce en un aumento del 40% del fósforo en planta y 37% de la materia seca producida.

* A niveles bajos de fertilidad fosfatada el aumento de micorrización producida por inoculación se tradujo en una duplicación de fósforo absorbido por la planta.

Bibliografía

- AZCÓN GONZÁLEZ DE AGUILAR, C. "Fertilizantes microbianos. Interacciones de Rhizobium y hongos de las micorrizas VA en la formación y eficacia de sus respectivas simbiosis con leguminosas." Tesis Doctoral. Granada, España, 1980.
- BRAY, R. H.; KURTZ, L. T. "Determination of total, organic and available form of phosphorus in soil". En *Soil Science*, 59: 360 - 361, 1945.
- COVACEVICH, F. y col. "Micorrización vesicular arbuscular espontánea en trigo en función de la disponibilidad de fósforo". En: *Ciencia del Suelo*, 13: 47-51, 1995.
- DÍAZ, G.; A. ROLDÁN y col. "Influencia del tipo de suelo sobre las pautas de colonización y eficiencia en la simbiosis micorrizica de seis especies de Glomus". En: *Cryptogamie, Mycol.* 13 (1): 47-56, 1992.
- DÍAZ, G.; HONRUBIA, M. "Effect of native and introduced arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrient uptake of *Lygeum spartum* and *Anthyllus cyathoides*". En: *Biologia Plantarum*, 37 (1): 121 - 129, 1995.