

Efecto de la incubación de fósforo en el suelo sobre el crecimiento y la infección con micorrizas vesículo-arbusculares en *Lotus glaber* y *L. corniculatus*

E. CICCOROSI, E. PAGANI, S. GIGLI & R. MENDOZA

Centro de Ecofisiología Vegetal. (CONICET). Serrano 669. 1414 Bs. As. Argentina
E-mail: emendoza@mail.retina.ar

CICCOROSI E., E. PAGANI, S. GIGLI & R. MENDOZA. 1999. Efecto de la incubación de fósforo en el suelo sobre el crecimiento y la infección con micorrizas vesículo-arbusculares en *Lotus glaber* y *L. corniculatus*. Rev. Fac. Agron., La Plata 104 (1): 17-23.

Se investigó el efecto de la incubación de distintas dosis de fósforo (P) con un suelo Natraquol Típico, sobre el crecimiento y la absorción de P en *Lotus glaber* Mill. (syn. *L. tenuis* Waldst. et. Kit.) y *Lotus corniculatus* L., y su relación con la infección de micorrizas vesículo-arbusculares (VAM). Un primer grupo de muestras de suelo fue fertilizado con KH_2PO_4 (0-400 $\mu\text{gP/g}$ suelo) y luego incubado a 30 °C durante 34 días. El segundo grupo (control) se incubó en las mismas condiciones, pero recibió las mismas dosis de P una vez finalizada la incubación y antes de la siembra. Plantas de *L. glaber* y *L. corniculatus* fueron cultivadas por separado en un invernáculo durante 47 días. Se determinó el peso seco y el contenido de P en la parte aérea y el porcentaje de raíz infectada por VAM. La materia seca aérea aumentó, en ambas especies, con las dosis crecientes de P aplicado al suelo. La incubación del P con el suelo disminuyó el crecimiento en ambas especies, mientras que la materia seca aérea por unidad de P absorbido no se modificó. Las diferencias de crecimiento, entre los tratamientos de suelos incubados y no incubados con P, se debieron a diferencias en la absorción del P, más que a diferencias en la utilización del P dentro de la planta. La micorrización mostró un pico máximo en valores bajos de P aplicado al suelo. Este valor máximo fue menor para el tratamiento en donde el P fue incubado con el suelo.

Palabras clave: *Lotus* spp., P en suelo, P absorbido, micorrizas, crecimiento.

CICCOROSI E., E. PAGANI, S. GIGLI & R. MENDOZA. 1999. Effect of the incubation of the phosphorus on the soil on growth and vesicular arbuscular micorrhizal infection in *Lotus glaber* and *L. corniculatus*. Rev. Fac. Agron., La Plata 104 (1): 17-23.

The effect of the incubation of different concentrations of phosphorus (P), incubated in a Typic Natraquol soil, on plant growth and P uptake, and their relationship with VA-micorrhizal (VAM) infection in *Lotus glaber* (syn. *L. tenuis* Waldst. et Kit.) and *Lotus corniculatus* L. was investigated. A group of soil samples were fertilized with KH_2PO_4 (0-400 $\mu\text{g P/g}$ soil) and then incubated at 30 °C during 34 days. Another group of soil samples (control) were incubated under the same conditions, but they received the levels of P after the incubation and before sowing. Plants of *L. glaber* and *L. corniculatus* were grown separately in glasshouse conditions during 47 days. The yield of tops and P content as well as the root length infected by VAM were determined. The yield of tops increased with the level of added P in both species. P previously incubated in the soil decreased plant growth, but the yield of tops per unit of P uptake did not differ between incubated soil-P and non-incubated soil-P treatments. Thus, differences in growth between treatments were due to differences in P uptake rather than its utilization within the plant. Micorrhizal infection was maximum at lower levels of added P. This value was lower for the treatment at which the P was incubated with the soil. This effect suggests that the incubation of the P with the soil may depress the infectivity of the inoculum of VAM present in the soil.

Key words: *Lotus* spp., soil P, P uptake, micorrhizas, plant growth.

INTRODUCCIÓN

Los suelos de la Cuenca del Río Salado poseen una generalizada deficiencia de P y, en consecuencia, el crecimiento vegetal responde a su agregado (Gardner *et al.*, 1970; Cauhepé *et al.*, 1971). Aunque el P como fertilizante ha adquirido una gran difusión en los últimos años, poco se conoce del efecto de la disminución en la disponibilidad de P a través del tiempo, sobre el crecimiento vegetal. La disminución de la disponibilidad con el tiempo es consecuencia de las continuas reacciones entre el P y el suelo que reducen la eficiencia del P aplicado para el crecimiento. Factores tales como el tiempo y la temperatura de incubación del P con el suelo, la cantidad de P nativo, la cantidad de P agregado y la capacidad del suelo para retener P, definen en parte el alcance de la disminución en la oferta de P para las plantas (Mendoza & Barrow, 1987; Mendoza, 1989).

En situaciones de deficiencia de P en el suelo, las micorrizas vesículo-arbusculares (VAM) pueden incrementar la absorción de P por las plantas (Tinker, 1978). El crecimiento de las VAM se encuentra regulado por la concentración de P en el suelo en forma indirecta a través de la planta. Esta vía de regulación tiene relación con la concentración interna de P en el vegetal, cuyo incremento reduce la eficiencia de infección (Abbott & Robson, 1977; Jasper *et al.*, 1979). Sin embargo, también se pudo observar que el agregado de P al suelo reduce la germinación de esporas y el crecimiento de las hifas disminuyendo en consecuencia la infección potencial (Miranda & Harris (1994). Por otra parte, se conoce que *L. glaber* posee una alta dependencia de las VAM en suelos deficientes en P (Mendoza & Paganí, 1997).

Sobre la base de los estudios anteriores es posible postular que el aumento del período de contacto entre el P y el suelo, podría disminuir la disponibilidad de P, reducir la germinación de esporas de VAM, y de aquí afec-

tar la magnitud de la infección al reducir la eficiencia de la simbiosis en términos de absorción de P por la planta.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la incubación de distintas dosis de P con el suelo sobre el crecimiento, la absorción de P y el alcance de la infección por VAM en raíces de dos especies de *Lotus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Suelo utilizado

El suelo utilizado fue un Natraquol Típico proveniente de Chascomús (Pcia. de Bs. As), cuyas características más importantes son: pH (0,01 M en Cl_2Ca), 5,2; materia orgánica, 4%; nitrógeno total, 0,25%; cationes de intercambio: Ca, 12,4; Mg, 2,5; K, 0,6; Na, 1,0 cmol/kg; capacidad relativa de adsorción de P, 37 $\mu\text{g/g}$ (Mendoza & Barrow, 1987).

Incubación del suelo con el P y ensayo de invernáculo

Una serie de muestras de suelo (300 g) fue fertilizada con distintas concentraciones de KH_2PO_4 (0-400 $\mu\text{g P/g}$ suelo). Un grupo control fue hidratado con agua desionizada a fin de alcanzar el mismo volumen de solución recibido por el suelo fertilizado. Ambas series de muestras fueron incubadas a 30 °C durante 34 días, al cabo de los cuales se fertilizaron los controles con las mismas dosis de P que el primer grupo.

El suelo fue distribuido en macetas no drenadas de 1,6 l de capacidad, que contenían una cantidad de arena (0,7 kg) previamente fertilizada con una dosis basal de nutrientes excluyendo al P (Mendoza & Gigli, 1995). En ellas se cultivaron 6 plantas de *L. glaber* y *L. corniculatus* en cada maceta por separado, que se mantuvieron a capacidad de campo durante 47 días al cabo de los cuales se cosecharon las raíces y los vástagos.

Respuesta del Crecimiento al P

La parte aérea fue secada en estufa a 75 °C durante 48 h y pesada para su posterior cuantificación del contenido de P por el método de amarillo de vanadomolibdofosfórico en medio nítrico (Jackson, 1970).

El efecto del agregado de P al suelo en los tratamientos incubados con y sin P sobre la materia seca producida fue descrito por Mendoza & Gigli (1995) mediante la ecuación de Mitscherlich:

$$Y = A - B \text{ EXP } [-(C_1 X_1 + C_2 X_2)] \quad (1)$$

donde **Y** es la materia seca aérea (g/maceta), **A** es la producción de materia seca, **A-B** es el valor de **Y** en ausencia de P agregado al suelo, **C** es un coeficiente de curvatura de la relación y **X** es la concentración de P aplicado al suelo. Los subíndices identifican a los tratamientos donde en suelo no fue incubado e incubado con P, respectivamente. La relación C_2/C_1 determina el valor residual del P aplicado para el crecimiento, que varía entre 0 y 1.

La relación entre la materia seca aérea y su contenido de P se describió mediante la siguiente ecuación de Mitscherlich modificada por Barrow & Mendoza (1990), que incluye un coeficiente que describe la tendencia sigmoidea de la relación:

$$Y = a [1 - \text{EXP } (-c x^n)] \quad (2)$$

donde **a** es la máxima producción de materia seca, **c** es el coeficiente de curvatura de la relación con un significado similar al de la ecuación (1) y, **x** es el contenido de P en la parte aérea. El coeficiente **n**, exponente de **x**, determina la tendencia de la relación a ser sigmoidea. A medida que el valor de **n** se hace mayor que la unidad, se incrementa la tendencia de la relación a ser sigmoidea.

Descripción de la Infección por VAM

Las raíces se mantuvieron en estado fresco para la medición de la infección por VAM y luego se tiñeron con azul tripán según la técnica de Giovannetti & Mosse (1980) para su posterior lectura. El largo de raíz infectada se determinó por el método de la intercepción de línea de Newman (1966).

La relación entre el porcentaje de raíz infectada por micorrizas y el P agregado fue descrita por funciones polinómicas de tercer grado obtenidas de un programa de ajuste de ecuaciones (TableCurve, 1991), que resultaron apropiadas para describir los máximos picos de micorrización.

Inicialmente, y para cada especie en particular, los datos para los dos tratamientos incubado y no incubado con P, se describieron en forma conjunta con una sola curva de ajuste. Luego se ajustaron dos curvas por separado correspondientes a cada uno de los tratamientos incubado y no incubado con P. La comparación entre ambos ajustes se realizó tomando en cuenta el número de coeficientes utilizados en cada uno de los ajustes y se evaluó la significancia ($p < 0,05$) de la diferencia entre los mínimos cuadrados residuales de ambos ajustes. Para el ajuste de los datos se utilizó el método Simplex (Nelder & Mead, 1965) que minimiza las sumas de cuadrados residuales a través de modificaciones en el valor de los coeficientes de las ecuaciones utilizadas.

RESULTADOS

La materia seca aérea aumentó en ambas especies con las dosis crecientes de P aplicado al suelo (Fig. 1). Las diferencias observadas entre las curvas para el P incubado con el suelo, y su aplicación en fresco, no incubado y agregado antes de la siembra resultaron significativas ($p < 0,05$). En el rango de concentraciones de P agregado al suelo donde no se alcanzó la biomasa aérea máxima,

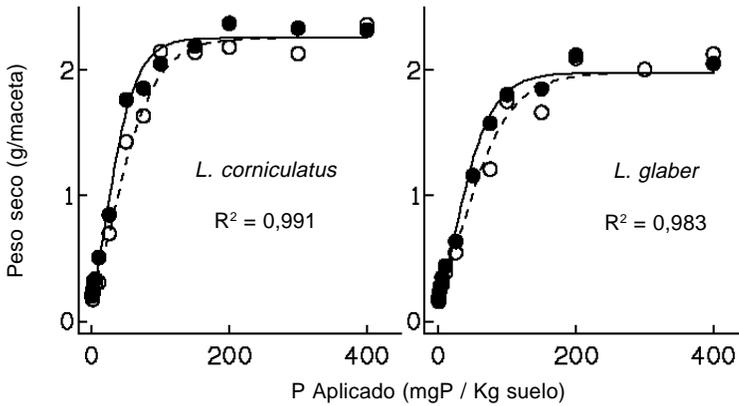


Figura 1. Efecto de la aplicación de fósforo sobre la producción de materia seca aérea en *L. corniculatus* y *L. glaber*. (●) P no incubado con el suelo, (○) P incubado con el suelo.

Effect of phosphorus application on the production of biomass in *L. corniculatus* and *L. glaber*. (●) P non-incubated with the soil, (○) P incubated with the soil.

L. corniculatus, $\ln Y = 0.814 - 2.375 \text{ EXP} (- (0.0412 X_1 + 0.0282 X_2))$. *L. glaber*, $\ln Y = 0.682 - 2.314 \text{ EXP} (- (0.0334 X_1 + 0.0249 X_2))$.

las plantas crecidas en suelos incubados con P mostraron una menor materia seca aérea con respecto a las crecidas en aquellos que recibieron P fresco (Fig. 1).

Al analizar la relación entre la materia seca

aérea y su contenido en P, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos incubado y no incubado con P, para cada una de las especies en particular (Fig. 2). Sin embargo, se observaron diferencias entre las

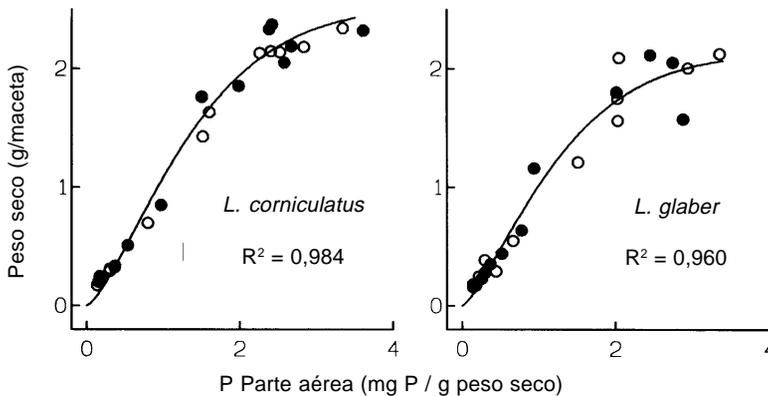


Figura 2. Efecto de la aplicación de fósforo sobre la producción de materia seca aérea y su contenido de P en *L. corniculatus* y *L. glaber*. (●) P no incubado con el suelo, (○) P incubado con el suelo

Effect of phosphorus application on the production of aerial biomass and its P content *L. corniculatus* and *L. glaber*. (●) P non-incubated with the soil, (○) P incubated with the soil.

L. corniculatus, $Y = 2.532 (1 - \text{EXP} (-0.561 x^{1.383}))$. *L. glaber*, $Y = 2.149 (1 - \text{EXP} (-0.638 x^{1.342}))$.

curvas de las dos especies que se atribuyeron a un mayor valor de máxima producción de materia seca aérea por unidad de P absorbido en favor de *L. corniculatus* (Fig. 2).

El porcentaje del largo de raíz infectada con VAM en función de las dosis crecientes de P aplicado al suelo, mostró un incremento inicial y luego una consistente disminución hasta valores de micorrización muy bajos (Fig. 3). Los modelos polinómicos utilizados describieron adecuadamente los valores experimentales para ambas especies, y a la vez permitieron analizar la diferencia significativa existente al ajustar una o dos curvas por separado (Fig. 3). Fue así que, el pico de infección alcanzado en las plantas crecidas en suelos incubados con P fue inferior que en aquellas crecidas en los que recibieron P fresco. Este efecto fue significativo en *L. corniculatus* ($p < 0,05$), y permitió justificar el empleo de dos curvas por separado para cada tratamiento. Sin embargo, en el caso de *L. glaber*, a pesar de que los valores de máxima infección entre los tratamientos incubado y no incubado con P se diferenciaron claramente en la figura 3, no fue posible justificar estadísticamente el empleo de dos curvas por separado para cada tratamiento.

DISCUSIÓN

Los resultados permitieron establecer que el período de incubación, de 34 días a 30 °C, entre el P y el suelo afectó el crecimiento de la planta y la infección de las raíces con VAM en ambas especies de *Lotus*.

En el caso de la producción de materia seca aérea, las diferencias entre los tratamientos incubado con P y aplicación fresca se atribuyeron a la continua reacción entre el P y el suelo que determina una disminución de su disponibilidad con el tiempo. Para el suelo utilizado en este trabajo, la capacidad relativa de adsorción del P se calculó en 79,91 µg/g durante 34 días de incubación a 30 °C (Mendoza & Barrow, 1987). Este valor resulta significativo como para disminuir la disponibilidad de P en el suelo y afectar el crecimiento de la planta.

Una de las formas de definir una eficiencia de utilización del P dentro de la planta es medir la cantidad de materia seca aérea producida por unidad de P contenido en ella (Mendoza, 1981). Esta eficiencia no se modificó por los efectos de la incubación del P con el suelo. Es así que, las diferencias encontradas entre tratamientos para un mismo nivel

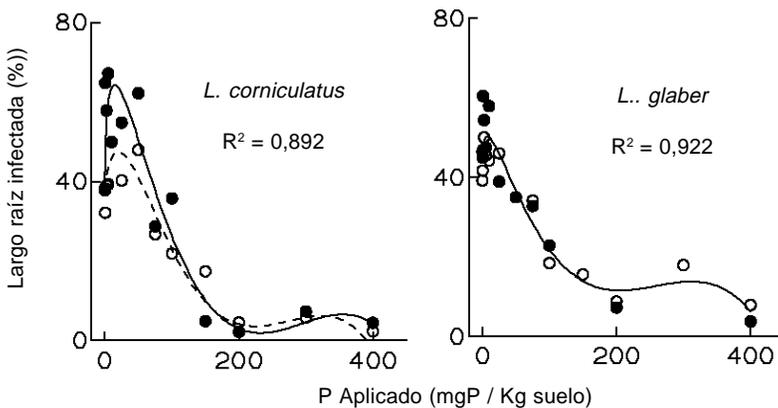


Figura 3. Efecto de la aplicación de fósforo sobre la micorrización en *L. corniculatus* y *L. glaber*. (●) P no incubado con el suelo, (○) P incubado con el suelo

Effect of the phosphorus application on the mycorrhizal infection in *L. corniculatus* and *L. glaber*. (●) P non-incubated with the soil, (○) P incubated with the soil.

de P agregado se deberían a diferencias en la absorción de P más que a una utilización diferencial del nutriente por ambas especies. Mendoza & Pagani (1997) encontraron resultados consistentes con los presentes en *L. glaber*.

La infección con VAM tuvo distinta respuesta al agregado de P, en función de la incubación y de los niveles de aplicación de P en el suelo. El aumento en la infección, observado a niveles bajos y crecientes de P, tiene relación con el hecho que el crecimiento de las VAM está limitado a bajas concentraciones de P en suelo (Same *et al.*, 1983). Sin embargo tanto el incremento inicial como el máximo de infección fueron menores para el tratamiento incubado con P que aquel que recibió una aplicación fresca, inmediatamente antes de la siembra. Por otra parte es aceptado que la reducción de la colonización por VAM frente al agregado de P se debe a un incremento del nivel de P dentro de la planta, más que a un aumento de la concentración de P en la solución del suelo (Jasper *et al.*, 1979).

Sobre la base de estos trabajos, deberíamos esperar que un menor contenido de P en la planta promueva un mayor nivel de infección en las raíces. En este trabajo, de las figuras 1 y 2 se desprende que al incubar el P con el suelo disminuye la absorción de P por la planta y sin embargo el porcentaje de infección fue menor que al no incubar el P con el suelo (Fig. 3). Esto se contrapone a lo manifestado por Jasper *et al.*, (1979), y permitiría pensar que además de la existencia de la concentración de P en la planta como reguladora de la infección por VAM, podría existir también algún efecto directo del P del suelo que deprima la infección. En este sentido existen trabajos de Miranda & Harris (1989, 1994) que observaron una disminución en la germinación de esporas y en el crecimiento de las hifas con niveles crecientes de P agregado al suelo. Por otra parte, Daniels & Trappe (1980) registraron una disminución de la viabilidad de esporas en niveles crecientes de P aplicado al suelo; y también Jensen & Jakobsen (1980)

observaron una menor infección a mayores niveles de P nativo en el suelo.

Los resultados permitirían concluir que, en invernáculo, las aplicaciones tempranas de fertilizantes fosforados al lecho de siembra, disminuyen la disponibilidad de P en el suelo, deprimen la magnitud de la infección con VAM en las raíces y reducen la biomasa aérea. En contrapartida una aplicación de P tardía, en el momento de la siembra o mejor aún con posterioridad a la germinación ofrecería mejores condiciones para una mayor infección y una mayor biomasa aérea.

REFERENCIAS

- Abbott, L. K. & A. D. Robson.** 1977. Growth stimulation of subterranean clover with vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Aust. J. Agric. Res.* 28: 639-649.
- Barrow, N. J. & R. E. Mendoza.** 1990. Equations for describing sigmoid yield responses and their application to some phosphate responses by lupins and by subterranean clover. *Fert Res.* 22: 181-188.
- Cauhepé, M. A., et al.** 1971. Fertilización de pasturas y mejoramiento de campo natural. EERA INTA Balcarce, Depto Producción Animal. Informe de Actividades (1970/1971): 78-80.
- Daniels, B. A. & J. M. Trappe.** 1980. Factors affecting spore germination of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus epigaeus*. *Mycologia* 72: 457-471.
- Gardner, M. A. et al.** 1970. Fertilización de pasturas cultivadas y anuales. EERA INTA Balcarce, Depto Producción Animal. Informe de Actividades (1968/1970): 119-122.
- Giovannetti, M. & B. Mosse.** 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.* 84: 489-500.
- Jackson, M. L.** 1970. Análisis químico de suelos. 2da. ed. Ed. Omega. Barcelona. 662 pp.
- Jasper, D. A. et al.** 1979. Phosphorus and the formation of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Soil Biol. Biochem.* 11: 501-505.
- Jensen, A. & I. Jakobsen.** 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.

- Mendoza, R. E.** 1981. Eficiencia en la utilización de fósforo de tres leguminosas forrajeras. *Phyton* 41: 33-44.
- Mendoza, R. E.** 1989. Different performances of soil phosphate tests reflecting the effects of buffering capacity on uptake of native phosphate with time. *Plant and Soil* 113: 13-19.
- Mendoza, R. E. & N.J. Barrow.** 1987. Characterizing the rate of reaction of some Argentinian soils with phosphate. *Soil Sci.* 143: 105-112.
- Mendoza, R. E. & S. Gigli.** 1995. Relative effectiveness of phosphorus on narrow-leaf and broadleaf birds foot trefoil growth and the effect of added phosphorus on vesicular mycorrhizal infection. *Journal of Plant Nutrition* 18: 1483-1494.
- Mendoza, R. E. & E. A. Pagani.** 1996. The influence of phosphorus nutrition on mycorrhizal growth response and morphology of mycorrhizae in *Lotus glaber*. *Journal of Plant Nutrition* 20 (6): 625-639.
- Miranda, J. C. C. de & P.J. Harris.** 1994. Effects of soil phosphorus on spore germination and hyphal growth of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 128: 103-108.
- Nelder, J. A. & R. Mead.** 1965. A simplex method for function minimization. *Comp. J.* 7: 308-313.
- Newman, E. I.** 1966. A method of estimating the total length of root in a sample. *Journal of Applied Ecology* 3: 139-146.
- Same, B. I. et al.** 1983. Phosphorus soluble carbohydrates and endomycorrhizal infection. *Soil Biology & Biochemistry* 15: 593-597.
- TableCurve.** 1991. Curve Fitting Software. Jandel Scientific. Version 3.0. Corte Madera CA. USA.
- Tinker, P. B.** 1978. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on plant nutrition and plant growth. *Physiol. Veg.* 16: 743-751.