

EL USO RACIONAL DEL FERTILIZANTE FOSFORADO PERMITE CONSERVAR LA INFECTIVIDAD MICORRÍZICA DE UN SUELO DEFICIENTE EN P DE LA CUENCA DEL RÍO SALADO

Tomás Chippano e Ileana García

CONICET, Museo Argentino de Ciencias Naturales 'Bernardino Rivadavia' (MACN), Buenos Aires, Argentina

E-mail: tchippano@macn.gov.ar

Recibido: 15/10/2021
Aceptado: 20/02/2022

RESUMEN

Reducir la dosis de fertilizante fosforado permitiría incrementar la producción de forraje con un bajo impacto sobre la infectividad micorrízica del suelo y, por lo tanto, sobre la comunidad de hongos micorrízicos arbusculares (MA). El presente trabajo evaluó el efecto de la fertilización fosforada sobre la infectividad micorrízica de un suelo de la Cuenca del Río Salado deficiente en fósforo (P) (6,27 mg P kg⁻¹ disponible). Se estimó la infectividad micorrízica utilizando *Lotus tenuis* Waldst. & Kit. ex Willd como planta test, realizando siembras en macetas (cuatro réplicas por tratamiento) que contenían diferentes concentraciones de suelo como inóculo de hongos MA (1, 5, 10, 20, 30 y 100 g 100 g⁻¹ de suelo seco), con y sin agregado de 15 mg P kg⁻¹ (usando KH₂PO₄). Como sustrato diluyente se utilizó el mismo suelo esterilizado. Veinte días después de la siembra se determinó el peso seco (PS) del vástago y el peso fresco (PF) radical de las plantas. Se calculó el porcentaje de plantas colonizadas y la unidad de infectividad micorrízica del suelo (IMS₅₀). El porcentaje de plantas colonizadas aumentó con concentraciones crecientes de inóculo. El porcentaje de plantas colonizadas disminuyó tres veces en el tratamiento fertilizado a una concentración de inóculo del 10%. No hubo diferencias entre 20%, 30% y 100% de suelo para los tratamientos con y sin fertilización. En general, el PS del vástago y el PF radical disminuyeron al aumentar la concentración de suelo en los tratamientos fertilizados, con valores relativamente constantes. El IMS₅₀ fue 16,87 g y 19,23 g para los tratamientos sin y con fertilización, respectivamente. Esto indica que en el tratamiento fertilizado fue necesario 13,98% más de suelo para colonizar el 50% de las plantas. La dosis de P aplicada resultó conservativa de los hongos MA ya que no afectó la infectividad micorrízica ante el incremento de la concentración de suelo.

Palabras clave: hongos micorrízicos arbusculares, fósforo, *Lotus tenuis*, leguminosa forrajera, infectividad micorrízica.

THE RATIONAL USE OF PHOSPHOROUS FERTILIZER ALLOW TO MAINTAINING MYCORRHIZAL INFECTIVITY IN A P DEFICIENT SOIL OF THE SALADO RIVER BASIN

SUMMARY

The decrease of P fertilizer dose could increase forage production with a low impact on mycorrhizal infectivity and then, on the community of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in soil. The present work evaluated the effect of phosphorous (P) fertilization on mycorrhizal infectivity of a P deficient soil (6.27 mg P kg⁻¹) of the Salado River Basin. Mycorrhizal infectivity was estimated through in *Lotus tenuis* Waldst. & Kit. ex Willd as tests plant, sown in pots (four replicates per treatment) containing different concentrations of soil as native AM inoculum (1, 5, 10, 20, 30 and 100 g 100 g⁻¹ dry soil), with and without 15 mg P Kg⁻¹ (as KH₂PO₄). The same soil previously sterilized was used as diluent substrate. The shoot dry weight (DW) and root fresh weight (FW) of plants was determined 20 days after sowing. The percentage of mycorrhizal plants and mycorrhizal soil infectivity (MSI₅₀) were calculated. The percentage of mycorrhizal plants increased as increases soil concentration and decreased three times by P fertilization in 10% of soil concentration treatment, while there were no differences between fertilized and non-fertilized treatments in 20%, 30% and 100% of soil concentration. In general, shoot DW and root FW decreased with the increase of soil concentration in fertilized treatments and showed relatively constant values. The MSI₅₀ was 16.87 g and 19.23 g without and with P fertilization, respectively, showing that in fertilized treatment was required 13.98% more soil as AM inoculum to colonize the 50% of plants. The applied P dose was conservative of AM fungi since it did not affect mycorrhizal infectivity as soil concentration increased.

Key words: arbuscular mycorrhizal fungi, phosphorus, *Lotus tenuis*, forage legume, mycorrhizal infectivity.

INTRODUCCIÓN

Los hongos micorrícicos arbusculares (MA) se encuentran presentes en la mayoría de los suelos del mundo y se asocian con más del 80% de las plantas terrestres. La principal estructura de resistencia de este grupo fúngico son las esporas que contienen grandes cantidades de lípidos y azúcares, y entre 800 a 35.000 núcleos, dependiendo de la especie. Cuando las esporas germinan y las hifas toman contacto con las raíces de las plantas se establece un intercambio de señales químicas que puede dar inicio a una nueva colonización (Smith y Read, 2008; Parihar *et al.*, 2020). El inicio de esta colonización depende de factores ambientales, la disponibilidad de fósforo (P) en el suelo y la especie de planta hospedante, entre otros.

El recuento de esporas y el estudio de su viabilidad pueden ser usados como indicadores del impacto de prácticas agrícolas sobre las comunidades de hongos MA, entre otras variables de este grupo fúngico (Castillo *et al.*, 2006; Druille *et al.*, 2013; Fornara *et al.*, 2020). El inóculo de hongos MA en el suelo también está conformado por fragmentos de raíces colonizadas y micelio capaces de iniciar nuevas unidades de colonización (Scullion *et al.*, 1998; Hart y Reader, 2005). Al no contemplar la capacidad infectiva de los fragmentos de raíces colonizadas y el micelio extrarradical, el recuento de esporas totales no es suficiente para evaluar la infectividad del inóculo MA en el suelo. En este sentido, Ohtomo *et al.* (2018) destacan el recuento de unidades de inicio de colonización como un mejor indicador para evaluar los propágulos de hongos MA en el suelo. Plenchette *et al.* (1989) adaptaron el concepto de infectividad, ampliamente utilizado para el estudio de microorganismos patógenos, con el objetivo de evaluar la infectividad de un inóculo de hongos MA a través de bioensayos. Además, esta técnica puede utilizarse para comparar la infectividad micorrícica arbuscular de distintos suelos o bien condiciones ambientales que puedan afectarlo, como es el caso de las prácticas agrícolas y, en particular, la fertilización fosforada.

Diversos trabajos han reportado que las prácticas agrícolas disminuyen la biodiversidad y el nivel de colonización de hongos MA (Sanaullah *et al.*, 2020), como así también el nivel de propágulos en el suelo, su capacidad de colonización (Powell, 1980; Castillo *et al.*, 2006; Druille *et al.*, 2013) y su abundancia en el suelo (Fornara *et al.*, 2020). En particular, la fertilización fosforada constituye una de las principales prácticas que afecta el nivel de propágulos de hongos MA en el suelo

(Scullion *et al.*, 1998; Covacevich *et al.*, 2006). Esto se debe a que el agregado de P puede provocar la inhibición de la germinación de las esporas y de la extensión del micelio en el suelo (Grant *et al.*, 2005; Gryndler *et al.*, 2006). Por otro lado, se ha reportado que el agregado de fertilizante fosforado no produce un efecto inhibitorio sobre la germinación de esporas (Tawaraya *et al.*, 1996; Rubio *et al.*, 2003) pero sí un retraso del inicio de la colonización radical (Thompson, 1987). Algunos trabajos concuerdan que la fertilización fosforada disminuye la colonización MA; la magnitud de dicha disminución depende del P disponible en el suelo, de la dosis de P agregada y del metabolismo carbonado de la especie hospedante (Hill *et al.*, 2010; Chippiano *et al.*, 2020; 2021). Conocer el efecto de la fertilización fosforada sobre los primeros estadios del desarrollo de la simbiosis entre especies de interés agronómico y las comunidades nativas de hongos MA constituye una herramienta que permite evaluar el impacto del incremento de la disponibilidad de P en el medio ambiente edáfico sobre la infectividad micorrícica de ese suelo.

Lotus tenuis Waldst. & Kit. ex Willd, es una leguminosa forrajera que ocupa un rol central en los pastizales y pasturas de la Cuenca del Río Salado, la principal región ganadera de Argentina (Cahuépe, 2004). Su principal estrategia para crecer en los suelos deficientes en P de la región es la asociación con hongos MA (Chippiano *et al.*, 2021). Estudios previos han reportado que *L. tenuis* es capaz de conservar altos niveles de colonización MA en sus raíces y mantener una respuesta micorrícica positiva ante la aplicación de dosis bajas a moderadas (5-15 mg P kg⁻¹) de fertilizante fosforado (Chippiano *et al.*, 2020; 2021). Incluso, en suelos con marcada deficiencia de P (3,5-6,5 mg P kg⁻¹ Bray), la aplicación de una dosis baja a moderada de fertilizante fosforado (5-15 mg P kg⁻¹ aplicado como KH₂PO₄) incrementa el porcentaje de colonización MA en raíces de *L. tenuis* (Mendoza, 2001; Chippiano *et al.*, 2020). La disminución de la dosis de P aplicada permitiría una mayor conservación de la infectividad MA del suelo rizosférico de *L. tenuis*.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de una dosis baja de fertilizante fosforado KH₂PO₄ (15 mg P kg⁻¹) sobre la infectividad del inóculo MA nativo de un suelo de la Cuenca del Río Salado deficiente en P (6,27 mg P kg⁻¹ disponible). La hipótesis de este trabajo es que la aplicación de una dosis baja de fertilizante fosforado permite incrementar la producción de biomasa aérea de plantas de *L. tenuis* sin afectar la infectividad micorrícica del suelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental

Se llevó a cabo un bioensayo en invernáculo según una modificación de la técnica propuesta por Plenchette *et al.* (1989). El suelo fue tamizado por una malla de 2 mm y homogeneizado (mayores detalles fueron descritos en Chippiano *et al.*, 2020). Las macetas (150 cm³ de capacidad) se llenaron con 130 g de suelo. El suelo como inóculo se diluyó con el mismo suelo previamente esterilizado en microondas durante 10 min a potencia máxima. Se ensayaron seis diluciones: 1%, 5%, 10%, 20%, 30% y 100% de suelo como inóculo. Cuatro macetas de cada dilución se fertilizaron previo a la siembra, con una dosis de 15 mg P kg⁻¹ como KH₂PO₄. El P se aplicó al suelo en 5 ml de solución y luego se homogeneizó. La dosis de P se seleccionó a partir de un ensayo previo (Chippiano *et al.*, 2020). El tratamiento sin fertilizar consistió en cuatro macetas de cada dilución sin el agregado de P, en las cuales se adicionaron 5 ml de agua destilada de igual forma que en el tratamiento con P. Cada combinación de dilución de suelo y fertilización contó con cuatro repeticiones.

El recuento de esporas totales se realizó a través de una modificación de la técnica propuesta por Daniels y Skipper (1982) y la viabilidad se estimó a través de la metodología propuesta por An y Hendrix (1988). La densidad de esporas fue 25 esporas g⁻¹ suelo seco y la viabilidad fue 15,96%. El porcentaje de esporas viables en el suelo esterilizado fue cero.

Se sembraron seis semillas por maceta de la leguminosa *L. tenuis*. Las semillas fueron previamente esterilizadas y pre-germinadas en condiciones estériles. Las macetas fueron regadas diariamente con agua desionizada a fin de mantener la humedad cercana al 80% de la capacidad de campo.

Producción de biomasa y colonización MA

Veinte días después de la siembra se cosechó el material vegetal. La finalización del bioensayo se determinó por la aparición de unidades primarias de colonización MA. Para ello, se realizaron cosechas destructivas cada tres días de plantas de *L. tenuis* crecidas en suelo sin diluir a fin de observar la aparición de unidades primarias de colonización MA. La biomasa del vástago se secó en estufa a 70 °C durante 48 h y luego se pesó a fin de obtener el peso seco. Se cuantificó el peso fresco de cada sistema radical y luego se tiñeron con azul de Tripán (Phillips y Hayman, 1970) a fin de observar la colonización MA. Se determinó el porcentaje de plantas

colonizadas por hongos MA como la cantidad de plantas positivas sobre el total de plantas en la maceta multiplicado por 100. Las plantas positivas fueron aquellas en las que se observó el inicio de, al menos, una unidad de colonización MA. El porcentaje de plantas colonizadas por maceta se graficó en función del logaritmo₁₀ de la concentración de suelo como inóculo para cada tratamiento con y sin agregado de P. Se calculó la unidad de infectividad micorrícica del suelo (IMS₅₀) como la cantidad de suelo mínima necesaria para colonizar el 50% de las plantas (Plenchette *et al.*, 1989). Dicho parámetro fue determinado a partir de las curvas de regresión no lineal. Se calculó la respuesta al P (RP%) mediante la Ecuación 1, según Fontanetto *et al.* (2006).

$$RP\% = \frac{PS \text{ aéreo} + P - \text{promedio} (PS \text{ aéreo} - P)}{\text{promedio} (PS \text{ aéreo} - P)}$$

[Ecuación 1]

donde RP es la respuesta al fósforo, PS refiere a peso seco y P a la dosis de fósforo.

Análisis estadístico

Se realizaron regresiones no lineales simples con 24 observaciones para cada tratamiento a fin de describir las relaciones entre el porcentaje de plantas colonizadas con y sin agregado de fertilizante fosforado y la respuesta al agregado de P (RP%) en función de la dilución del suelo como inóculo MA. El porcentaje de plantas colonizadas ante el agregado de P y la respuesta del vástago al agregado de P fue descrita a través de la Ecuación 2 de Mitscherlich utilizada por Barrow y Mendoza (1990). El porcentaje de plantas colonizadas sin agregado de P fue descrita a través de la Ecuación 3 usada en un experimento previo (Mendoza, 2001).

$$Y = A - B \exp(-CX)$$

[Ecuación 2]

donde, Y es el porcentaje de plantas colonizadas o la respuesta del vástago al agregado de P, en cualquier nivel de concentración de suelo como inóculo (X), A es el máximo porcentaje de plantas colonizadas o máximo porcentaje de respuesta del vástago al agregado de P y C es una constante de curvatura.

$$R = \frac{Z}{1 + [(X^n - D) / E]^2}$$

[Ecuación 3]

donde, el coeficiente Z representa el valor máximo del porcentaje de plantas colonizadas sin agregado de P (R)

alcanzado cuando el nivel de concentración de suelo como inóculo (X) elevado a la potencia n es igual a D. Como la proporción de suelo como inóculo aumenta, el valor de R aumenta a una tasa controlada por coeficiente E.

El peso seco (PS) del vástago y el peso fresco (PF) radical se analizaron en forma independiente para los tratamientos con y sin fertilizante P a través de ANOVA de una vía con la dilución del suelo como factor. Las medias se compararon a través de la prueba de Tukey con un nivel de significancia menor a 0,05. La normalidad y homogeneidad de la varianza se verificaron previamente. Para cada dilución en particular se analizó el efecto de la fertilización P a través de la prueba T. Se utilizó el programa Infostat 2018 (Di Rienzo *et al.*, 2019) y GraphPad Prism 8.

RESULTADOS

El porcentaje de plantas colonizadas se incrementó ante el aumento de la concentración de suelo como inóculo, independientemente del agregado de fertilizante fosforado. En las diluciones 1% y 5% no se encontraron plantas colonizadas con o sin agregado de P. En la dilución del 10% sin fertilizar se encontró un mayor porcentaje de plantas colonizadas en comparación con el mismo tratamiento fertilizado (Figura 1, Cuadro 1). La unidad de infectividad micorrícica del suelo (IMS_{50}) fue 16,87 g y 19,23 g para los tratamientos sin y con agregado de fertilizante fosforado, respectivamente.

Al comparar las distintas diluciones de suelo ensayadas sin el agregado de P, el PS del vástago y el PF radical mostraron una tendencia similar ante el incremento de

la concentración de suelo, registrándose para ambas variables valores relativamente constantes y un incremento de dichos valores en la concentración de 30% (Figura 2). Con el agregado de P, los valores de PS del vástago y PF radical fueron mayores en la concentración del 5% y dichas variables tendieron a disminuir ante el incremento de la concentración de suelo (Figura 2). Dentro de cada dilución, el PS del vástago y PF radical aumentaron en respuesta al agregado de P en todas las concentraciones de suelo como inóculo ensayadas, excepto en 30% para el PS del vástago (Figura 2a) y en 10% y 100% para PF radical (Figura 2b).

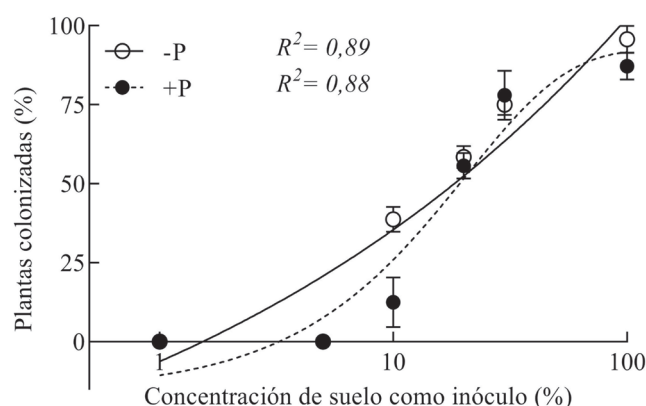


Figura 1. Porcentaje de plantas de *Lotus tenuis* colonizadas en función de la concentración de suelo como inóculo de hongos micorrícicos arbusculares (MA) nativos, luego de 20 días de cultivo sin (círculo vacío; -P) y con (círculo lleno; +P) el agregado de fósforo (P).

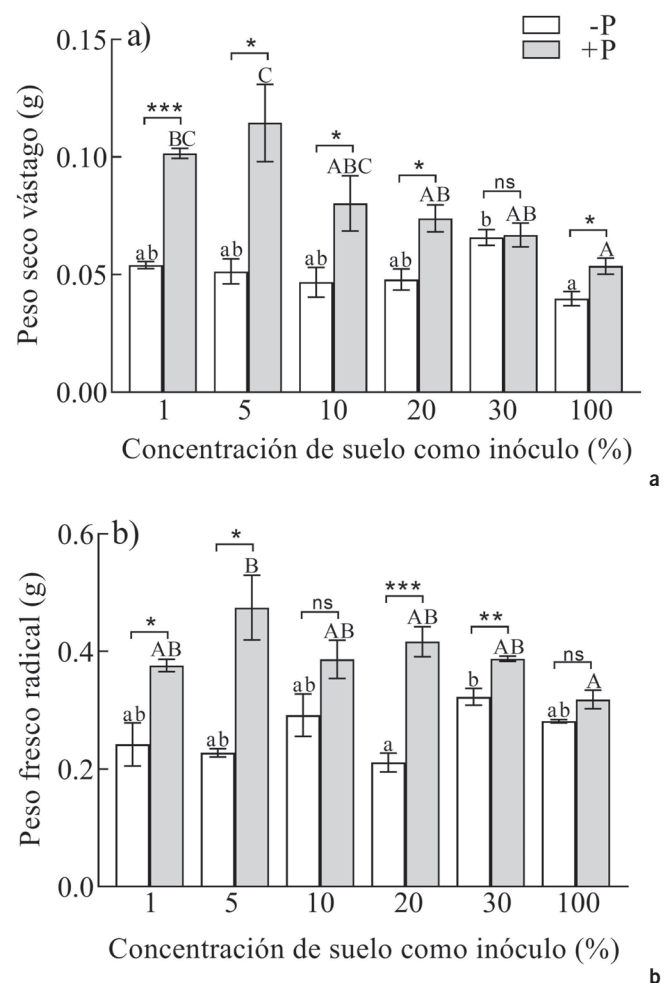


Figura 2. (a) Peso seco del vástago y (b) peso fresco radical de plantas de *Lotus tenuis* en función de la concentración de suelo como inóculo de hongos micorrícicos arbusculares (MA) nativos luego de 20 días de cultivo sin (blanco) y con (gris) el agregado de fósforo. Los valores representan la media $\pm$ error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0,05$) acordes con el test de Tukey. Letras minúsculas corresponden al ANOVA de una vía para las diluciones sin agregado de fósforo (-P) y letras mayúsculas para las diluciones con agregado de fósforo (+P). Los asteriscos corresponden a la prueba de T con el agregado de fósforo como factor para cada dilución en particular. Los efectos estadísticamente significativos se muestran en el gráfico, * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; ns= no significativo.

La respuesta del vástago al agregado de P disminuyó ante el incremento de la concentración del inóculo en el suelo. A partir de la dilución 30% de inóculo la respuesta fue cercana a cero (Figura 3, Cuadro 1).

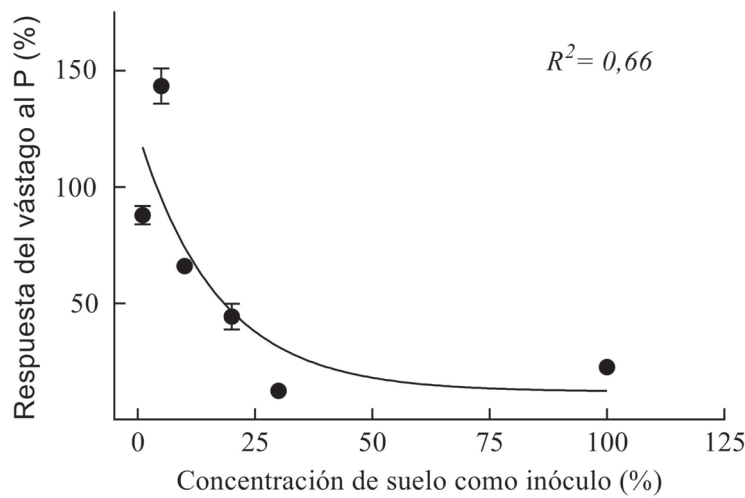


Figura 3. Respuesta del crecimiento del vástago de plantas de *Lotus tenuis* al agregado de fósforo en función de la concentración de suelo como inóculo de hongos micorrícicos arbusculares (MA) nativos luego de 20 días de cultivo.

Cuadro 1. Resultados estadísticos de las ecuaciones ajustadas para describir las relaciones de la dilución del suelo como inóculo de hongos micorrícicos arbusculares (MA) con el porcentaje de plantas colonizadas y la respuesta del vástago al agregado de fósforo en plantas de *Lotus tenuis*.

		R²	Ecuación	P
Plantas colonizadas	-P	0,89	$R = (-9758) / 1 + \{[X^{(0,2044)} - (-280)] / (2,846)\}^2$	<0,0001
	+P	0,88	$Y = (92,56) - (108,4) \exp(-0,0486X)$	<0,0001
Respuesta al fósforo		0,66	$Y = (0,119) - (-1,115) \exp(-0,0586X)$	<0,0001

DISCUSIÓN

Los resultados del presente trabajo muestran que la disminución de la cantidad de inóculo de hongos MA en el suelo produce un descenso marcado de la cantidad de plantas de *L. tenuis* colonizadas, independientemente del nivel de P en el suelo, de igual forma que ha sido reportado por Plenchette *et al.* (1989). Incluso, las plantas de *L. tenuis* crecidas ante una disminución drástica del inóculo (diluciones 1% y 5% con y sin agregado de P) no presentaron colonización radical, lo cual puede asociarse con la menor cantidad de esporas, fragmentos de raíces colonizadas y micelio extra-radical, que minimiza las posibilidades de tomar contacto con el sistema radical a fin de iniciar nuevas unidades de colonización. Trabajos previos indican que el agregado de P actúa en detrimento de la comunidad de hongos MA debido a que el incremento de la disponibilidad de P en el medio ambiente edáfico puede provocar la disminución de la germinación de esporas y también de la extensión del

micelio fúngico en el suelo (Grant *et al.*, 2005; Gryndler *et al.*, 2006). En el presente ensayo, la dosis de P agregada, sumado a una baja proporción del inóculo de hongos MA (dilución de 10%) disminuyó la infectividad micorrícica ya que minimizó la probabilidad de que la comunidad de hongos MA tomara contacto con el sistema radical de *L. tenuis* y se inicie la colonización. Cuando la proporción del inóculo fue de 20% o mayor, el efecto negativo de la fertilización fosforada sobre la comunidad de hongos MA no modificó el porcentaje de plantas colonizadas. Estos resultados se encuentran en concordancia con los valores de IMS₅₀ obtenidos, los cuales indican que el agregado de 15 mg P kg⁻¹ en un suelo deficiente en P (6,27 mg P kg⁻¹) no afecta su infectividad micorrícica. Estos resultados sugieren que una mayor cantidad de inóculo podría atenuar el efecto negativo del P sobre algunas especies de hongos MA más sensibles y de esta manera alcanzar porcentajes de plantas colonizadas semejantes a los registrados cuando

la cantidad de inóculo es menor sin agregado de fertilizante. Además, estos resultados se encuentran en línea con aquellos reportados por De Miranda y Harris (1994), quienes informaron que una dosis de 12,5 mg P kg⁻¹ en un suelo deficiente (2,2 mg P kg⁻¹ disponible) no afectó negativamente la germinación de esporas, la cual incluso aumentó. Más estudios son necesarios para evaluar la disminución de la cantidad de plantas colonizadas y el retraso en el inicio de la colonización causado por una disminución de la cantidad de propágulos de hongos MA en el suelo podrían afectar la producción de biomasa de especies altamente dependientes de la simbiosis MA para crecer en suelos deficientes en P como es el caso de *L. tenuis* (García *et al.*, 2008; Chippano *et al.*, 2021).

En general, el peso seco del vástago y el peso fresco de la raíz de las plantas sin fertilizar no fueron afectados ante el incremento de la proporción de suelo como inóculo. En este sentido, la duración del bioensayo puede haber sido el motivo por el cual no se logró un gran desarrollo de la simbiosis MA a fin de observar diferencias en el crecimiento de las plantas. Además, la respuesta al agregado de P fue mayor ante la disminución de la proporción de suelo como inóculo. Esto podría atribuirse a que, ante la baja presencia de microorganismos en el suelo relacionado con la menor concentración de suelo, las plantas de *L. tenuis* tendrían disponible la mayor parte del P agregado de forma inmediata pudiendo así incrementar su crecimiento. Sin embargo, cuando la presencia de microorganismos en el suelo aumentó, correspondiente a las concentraciones mayores de suelo, gran parte del P agregado podría haber sido inmovilizado por los microorganismos y por lo tanto haber estado menos disponible para las plantas. En este sentido, Bünemann *et al.* (2012) encontraron que en suelos de pastizales deficientes en P (0,4 mg P kg⁻¹ disponible

extractable en agua), el P agregado (17 kg P ha⁻¹ año⁻¹) fue inmovilizado rápidamente por los microorganismos (32 días). Además, Heuck *et al.* (2015) mostraron que la comunidad microbiana fue más susceptible al agregado de fertilizante en suelos deficientes en comparación con suelos bien provistos de P. Si bien, luego de un período de inmovilización por los microorganismos, el P comienza a ser mineralizado, en general este proceso requiere de un tiempo mayor a la duración del presente ensayo (Bünemann *et al.*, 2012), por lo cual podría no haberse visto reflejado en el crecimiento de las plantas. La hipótesis planteada es aceptada dado que la dosis de P aplicada permitió incrementar la producción de biomasa y conservar la infectividad del inóculo de hongos MA.

CONCLUSIONES

La dosis de fósforo aplicada resultó conservativa de la capacidad de los hongos micorrícicos arbusculares (MA) para iniciar la colonización radical de plantas de *Lotus tenuis*. La fertilización afectó la infectividad micorrícica cuando la concentración de suelo disminuyó hasta 10%, mientras que a concentraciones mayores la colonización no fue afectada. A partir de los resultados obtenidos se puede establecer que la aplicación de dosis consideradas bajas a moderadas (~15 mg P kg⁻¹) en un suelo deficiente en fósforo de la Cuenca del Río Salado (5-10 mg P kg⁻¹ disponible) podría aumentar la producción de biomasa vegetal sin disminuir significativamente la infectividad micorrícica.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el financiamiento del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) (PIP 0950).

BIBLIOGRAFÍA

- An, Z-Q. y Hendrix, J. W. (1988). Determining viability of endogonaceous spores with a vital stain. *Mycologia*, 80: 259-261.
- Barrow, N. J. y Mendoza, R. E. (1990). Equations for describing sigmoid yield responses and their application to some phosphate responses by lupins and by subterranean clover. *Fertilizer Research*, 22(3): 181-188.
- Bünemann, E. K., Oberson, A., Liebisch, F., Keller, F., Annaheim, K. E., Huguenin-Elie, O. y Frossard, E. (2012). Rapid microbial phosphorus immobilization dominates gross phosphorus fluxes in a grassland soil with low inorganic phosphorus availability. *Soil Biology and Biochemistry*, 51: 84-95.
- Cahuépe, M. (2004). Does *Lotus glaber* improve beef production at the Flooding pampas? *Lotus Newsletter*, 34:38-43.
- Castillo, C. G., Rubio, R., Rouanet, J. L. y Borie, F. (2006). Early effects of tillage and crop rotation on arbuscular mycorrhizal fungal propagules in an Ultisol. *Biology and Fertility of Soils*, 43(1): 83-92.
- Chippano, T., García, I., Cofré, N. y Mendoza, R. (2020). Forage biomass yield and arbuscular mycorrhizal symbiosis in a legume and C3 and C4 grasses under increasing soil phosphorus availability. *Crop and Pasture Science*, 71(10): 907-915.
- Chippano, T., Mendoza, R., Cofré, N. y García, I. (2021). Divergent root P uptake strategies of three temperate grassland forage species. *Rhizosphere*, 17: 100312.
- Covacevich, F., Marino, M. A. y Echeverría, H. E. (2006). The phosphorus source determines the arbuscular mycorrhizal potential and the native mycorrhizal colonization of tall fescue and wheatgrass. *European Journal of Soil Biology*, 42(3): 127-138.

- Daniels, N. y Skipper, H. (1982) Methods for the recovery and quantitative estimation of propagules from soil. En: Schenck, N. C. (Ed.). *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*. (pp. 29-35). St. Paul, MI, Estados Unidos: American Phytopathology Society.
- De Miranda, J. C. C. y Harris, P. J. (1994). Effects of soil phosphorus on spore germination and hyphal growth of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 128(1): 103-108.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., González, L., Tablada, M. y Robledo, C. W. (2019). InfoStat Versión 2019. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Recuperado de: <http://www.infostat.com.ar>
- Druille, M., Cabello, M. N., Omacini, M. y Golluscio, R. A. (2013). Glyphosate reduces spore viability and root colonization of arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied Soil Ecology*, 64: 99-103.
- Fontanetto, H., Keller, O. y Vivas, H. S. (2006). La fertilización de la alfalfa en el área central de Santa Fe. *Revista técnica de la Asociación Argentina de Productores en Siembra Directa*, 84-95.
- Fornara, D. A., Flynn, D. y Caruso, T. (2020). Improving phosphorus sustainability in intensively managed grasslands: The potential role of arbuscular mycorrhizal fungi. *Science of The Total Environment*, 706: 135744.
- García, I. V. y Mendoza, R. E. (2008). Relationships among soil properties, plant nutrition and arbuscular mycorrhizal fungi in a temperate grassland along hydrologic, saline and sodic gradients. *FEMS Microbiology Ecology*, 63(3): 359-371.
- Grant, C., Bittman, S., Montreal, M., Plenchette, C. y Morel, C. (2005). Soil and fertilizer phosphorus: Effects on plant P supply and mycorrhizal development. *Canadian Journal of Plant Science*, 85(1): 3-14.
- Gryndler, M., Larsen, J., Hřelová, H., Řezáčová, V., Gryndlerová, H. y Kubát, J. (2006). Organic and mineral fertilization, respectively, increase and decrease the development of external mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi in a long-term field experiment. *Mycorrhiza*, 16(3): 159-166.
- Hart, M. M. y Reader, R. J. (2005). The role of the external mycelium in early colonization for three arbuscular mycorrhizal fungal species with different colonization strategies. *Pedobiologia*, 49(3): 269-279.
- Heuck, C., Weig, A. y Spohn, M. (2015). Soil microbial biomass C: N: P stoichiometry and microbial use of organic phosphorus. *Soil Biology and Biochemistry*, 85: 119-129.
- Hill, J., Simpson, R., Ryan, M. y Chapman, D. (2010) Root hair morphology and mycorrhizal colonisation of pasture species in response to phosphorus and nitrogen nutrition. *Crop and Pasture Science*, 61: 122-131.
- Mendoza, R. (2001) Phosphorus nutrition and mycorrhizal growth response of broadleaf and narrowleaf birdsfoot trefoils. *Journal of Plant Nutrition*, 24: 203-214.
- Ohtomo, R., Kobae, Y., Morimoto, S. y Oka, N. (2018). Infection unit density as an index of infection potential of arbuscular mycorrhizal fungi. *Microbes and Environments*, 33(1): 34-39.
- Parihar, M., Chitara, M., Khati, P., Kumari, A., Mishra, P. K., Rakshit, A. y Jatav, S. S. (2020). Arbuscular mycorrhizal fungi: abundance, interaction with plants and potential biological applications. En: *Advances in Plant Microbiome and Sustainable Agriculture*. (pp. 105-143). Singapore: Springer.
- Philips, J. M. y Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55: 156-161.
- Plenchette, C., Perrin, R. y Duvert, P. (1989). The concept of soil infectivity and a method for its determination as applied to endomycorrhizas. *Canadian Journal of Botany*, 67(1): 112-115.
- Powell, C. L. (1980). Mycorrhizal infectivity of eroded soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 12(3): 247-250.
- Rubio, R., Borie, F., Schalchli, C., Castillo, C. y Azcón, R. (2003). Occurrence and effect of arbuscular mycorrhizal propagules in wheat as affected by the source and amount of phosphorus fertilizer and fungal inoculation. *Applied Soil Ecology*, 23(3): 245-255.
- Sanaullah, M., Usman, M., Wakeel, A., Cheema, S. A., Ashraf, I. y Farooq, M. (2020). Terrestrial ecosystem functioning affected by agricultural management systems: A review. *Soil and Tillage Research*, 196, 104464.
- Scullion, J., Eason, W. R. y Scott, E. P. (1998). The effectivity of arbuscular mycorrhizal fungi from high input conventional and organic grassland and grass-arable rotations. *Plant and Soil*, 204(2): 243-254.
- Smith, S. E. y Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis*. Amsterdam, Países Bajos: Elsevier.
- Tawaray, K., Saito, C., Morioka, M. y Wagatsuma, T. (1996). Effect of concentration of phosphate on spore germination and hyphal growth of arbuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita* Becker y Hall. *Soil Science and Plant Nutrition*, 42(3): 667-671.
- Thompson, J. P. (1987). Decline of vesicular-arbuscular mycorrhizae in long fallow disorder of field crops and its expression in phosphorus deficiency of sunflower. *Australian Journal of Agricultural Research*, 38(5): 847-867.