

MICORRIZAS ARBUSCULARES Y ACTIVIDAD FOSFATÁSICA DE DIEZ CULTIVARES DE TRIGO¹

Arbuscular mycorrhizae and phosphatase activity of ten wheat cultivars

Fernando Borie B.², Rosa Rubio H.² y Carlos Schalchli O.²

S U M M A R Y

Among the mechanisms involved in an enhanced phosphorus acquisition the association of root plants with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and the excretion of root phosphatases can be viewed as important strategies developed by plants growing in soils having high P-fixation capacity as Andisols. Consequently, in spite of the high levels of P contents, especially under organic P compounds or associated to soil organic matter, available P is generally low in this soils. The objective of this work was to evaluate under glasshouse conditions mycorrhizal dependency and root phosphatase shown by ten spring wheat cultivars.

Data obtained show that eight cultivars were significantly dependent of native AMF and all cultivars studied showed a significantly increase in shoot yield with the inoculation of *Glomus etunicatum* CH-110, specially Taita and Paleta cultivars. Root phosphatase activity was higher in plants growing without mycorrhizae, native or inoculated, and correlated well with soil phosphatase, reinforcing the suggestion that P-uptake by mycorrhizal fungi could be a complementary mechanism to root phosphatase activity.

Key words: wheat, arbuscular mycorrhiza, phosphatase activity.

INTRODUCCIÓN

Los suelos derivados de cenizas volcánicas son deficitarios en fósforo (P) disponible como consecuencia de su alta capacidad de fijación de fosfato. Por lo anterior, para obtener buenos rendimientos en los cultivos se requiere la aplicación de fertilizantes fosfatados y, en lo posible, el uso de variedades eficientes en la captación y translocación del P en la planta. Entre los mecanismos o estrategias que utilizan las plantas en la captación de este elemento, especialmente en condiciones

de estrés, se pueden mencionar: a) geometría y longitud radical (Helal y Sauerbeck, 1984); b) exudación radical de sustancias ácidas y/o quelantes (Gardner *et al.*, 1983; Gerke *et al.*, 1994; Stange *et al.*, 1995; Vásquez, 1997); c) exudación de fosfatasa (Dodd *et al.*, 1987; Rubio *et al.*, 1990; Borie, 1990); d) asociación con microorganismos, sean éstos de vida libre (Kucey *et al.*, 1989) o simbióticos del tipo hongos micorrizógenos arbusculares (MA).

Si bien todos estos mecanismos pueden aportar P al vegetal, la incidencia en dicho aporte es diferente para cada especie e incluso cultivares dentro de una misma especie. Así por ejemplo, Azcón *et al.* (1987) encontraron que la actividad fosfatásica de las raíces de lavanda era comple-

¹Recepción de originales: 2 de diciembre de 1997.

²Universidad de la Frontera, Casilla 54-D, Temuco.

mentaria a la micorrización, efecto que también encontraron Rubio *et al.* (1990) en cuatro cultivares de trigo que eran habitualmente utilizados en la agricultura del sur de Chile, en aquella época. Si bien los hongos MA colonizan las raíces de sus plantas hospedadoras, la efectividad de dicha colonización es diferente para cada cultivar. Así, para el caso de trigo, Azcón y Ocampo (1981) informan diversos grados de dependencia a los hongos MA en 13 cultivares, sugiriendo que tal dependencia sería consecuencia de una mayor o menor exudación radical de carbohidratos.

Varios experimentos han demostrado que la efectividad de las MA es dependiente de una serie de factores siendo los más importantes, entre otros, la fertilidad inicial del suelo, su contenido en materia orgánica, el grado de dependencia de la especie y/o cultivar (Johnson y Pflieger, 1992) e incluso el contenido de aluminio (Al) y de bases del suelo (Koslowsky y Boerner, 1989; Maddox y Soileau, 1991) o de la solución nutritiva (Mendoza, 1997).

El objetivo del trabajo consistió en determinar, bajo condiciones de invernadero, el efecto de hongos MA, tanto nativos como inoculados, sobre el crecimiento de 10 cultivares de trigo y correlacionar dicho efecto con la liberación de fosfatasa radical de los mismos cultivares.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó bajo condiciones de invernadero, en macetas de 700 g de capacidad utilizando un Andisol ácido de la serie Gorbea (pH 5,1; M.O. 11%; P-Olsen 20 ug g⁻¹; P total 3.230 ug g⁻¹; P orgánico 2.015 ug g⁻¹, CICE 2,94 cmol (+) kg⁻¹; saturación de Al 12,8%). Los hongos MA nativos, se eliminaron mediante esterilización del suelo a un 70% de capacidad de campo en horno microondas durante cuatro minutos por tres días consecutivos. Este sistema de esterilización, rápido y eficiente, ha demostrado producir cambios mínimos en las características físico-químicas de suelos de origen volcáni-

co, una vez que éstos se airean durante dos semanas, después del tratamiento (Rubio *et al.*, 1994). Como planta hospedadora se utilizaron diez cultivares de trigo, siete de ellos de origen nacional y de uso habitual en la agricultura del sur del país (Pankul, Crac, Paleta, Paillaco, Taita, Metrenco, Chascón) y tres de origen francés, en etapa de experimentación (Soisson, Barouder y Bon Pain): Las semillas fueron esterilizadas con Cloramina T antes de la siembra. Después de su emergencia se dejaron sólo dos plantas por maceta.

Los tratamientos utilizados fueron: Suelo estéril (-M), suelo no-estéril con la micorriza nativa (Mn) y suelo estéril inoculado (+M) con 50 g de *Glomus etunicatum* CH 110 (Morton y Bentivenga), todos adicionados con 43 mg de P maceta⁻¹ (equivalente a 65 kg de P ha⁻¹) bajo la forma de superfosfato triple. Se agregó esta dosis intermedia de P dado que en los suelos con elevados contenidos de Al de intercambio se ha observado una estimulación en la colonización con hongos MA. Se utilizó en cuadruplicado, un diseño experimental factorial 3 x 10. Después de la siembra se agregó a cada maceta 15 mL de KNO₃ conteniendo 12,5 mg de N mL⁻¹. En el tratamiento (-M) se agregaron 10 mL de un filtrado del mismo suelo a fin de reponer la microflora de vida libre.

Las plantas se hicieron crecer en invernadero durante dos meses, desde octubre hasta diciembre de 1996. Al término de ese período se analizó peso seco de la parte aérea y raíz, porcentaje de colonización por hongos MA, actividad fosfática radical y nivel de enzima remanente en el suelo rizosférico (P-asa). La colonización radical se determinó por análisis microscópico de las raíces previa tinción con Azul de Tripán (Phillips y Hayman, 1970) y su cuantificación de acuerdo al método del intercepto de líneas (Giovanetti y Mosse, 1980). La cuantificación de la P-asa radical se realizó mediante la técnica de McLachlan (1980) y la del suelo de acuerdo a Tabatabai y Bremner (1969), ambas utilizando p-nitrofenilfosfato como sustrato y cuantificación espectrofotométrica del p-nitrofenol (PNF) liberado.

En el tratamiento estadístico de los datos, se verificó normalidad, transformando los valores en arcoseno, luego se efectuó un análisis de varianza y, finalmente, se aplicó la prueba de comparación múltiple de Duncan ($P \leq 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se puede apreciar el efecto beneficioso en la producción de materia seca por los hongos MA. Al comparar dicha producción obtenida en el suelo estéril (-M) con los de la micorriza nativa (Mn), todos los cultivares, a excepción de Bon Pain y Chascón que no presentaron diferencias, aparecen siendo dependientes de las MA, aunque Pankul, Crac y Taita lo fueron en menor grado. Adicionalmente, la inoculación

con *Glomus etunicatum* CH-110, una cepa nativa presente en todos los Andisoles del sur del país y que ha demostrado ser eficiente sobre muchas especies, tales como tomate y lechuga (Rubio *et al.*, 1994), ají y pimiento (Rubio *et al.*, 1997) y cebada (Mendoza y Borie, 1998) produjo un gran aumento de la producción de los diez cultivares de trigo, destacándose Paleta y Taita. Dos de los tres cultivares de origen foráneo, Barouder y Soissons, incrementaron sustantivamente el peso radical con la inoculación.

La relación parte aérea/raíz (S/R) entrega una aproximación de la eficiencia de los hongos MA, siendo más eficientes aquéllos con mayores relaciones S/R (Kothari *et al.*, 1990). Desde este punto de vista, Bon Pain, Metrenco y Paillaco

tuvieron las relaciones mayores (Cuadro 1) lo que significa un mayor beneficio producido por la inoculación con los hongos de las MA. Por su parte, los cultivares Barouder y Soissons, aunque presentaron un aumento significativo de la producción de materia seca de la parte aérea, también aumentaron el crecimiento radical; sin embargo, las tres variedades de origen francés, de diferente afinidad con los hongos MA inoculados, no lograron superar la producción de ninguna de las variedades nacionales en el suelo utilizado y en las condiciones del experimento.

Todos los cultivares ensayados, a excepción de Paillaco, tuvieron una mayor colonización de sus raíces por parte de (+M) en comparación con la producida por (Mn) (Figura 2), siendo el cultivar Taita el que presentó la máxima colonización por los hongos MA inoculados concordando con la mayor producción obtenida. Del mismo modo, los cultivares Taita y Crac fue-

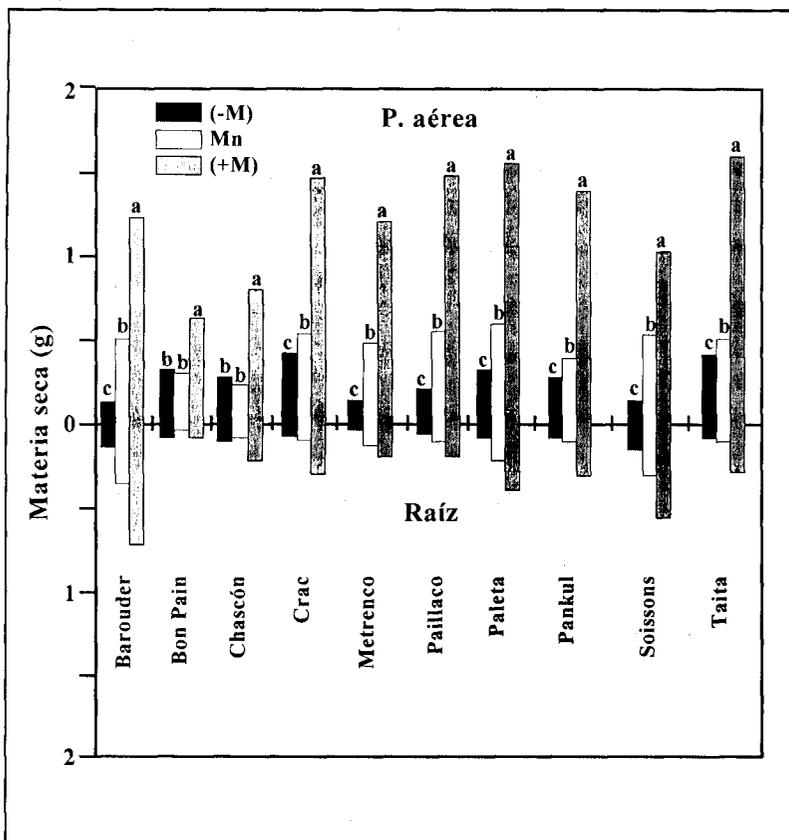


Figura 1. Efecto de la micorriza nativa (Mn) e inoculada (+M) sobre la producción de raíz y parte aérea de diez cultivares de trigo.

Figure 1. Effect of native mycorrhizae (Mn) and inoculated (+M) on the yield of shoots and roots of ten wheat cultivars.

*Para cada cultivar, letras distintas indican diferencias estadísticas significativas según Duncan ($P \leq 0,05$).

Cuadro 1. Relación parte aérea/raíz (S/R) de diez cultivares de trigo en ausencia de micorriza (-M) y en presencia de micorriza nativa (Mn) e inoculada (+M)

Table 1. Shoot/root (S/R) ratio of ten wheat cultivars without mycorrhiza (-M) and native (Mn) or inoculated mycorrhiza (+M).

	Barouder*	Bon Pain*	Chascón	Crac	Metrenco	Paillaco	Paleta	Pankul	Soissons*	Taita
-M	1,05	4,35	2,67	3,93	2,13	3,00	3,07	2,67	0,89	4,00
Mn	1,55	7,50	2,33	4,57	3,75	4,42	2,57	3,33	1,60	5,33
+M	1,69	10,0	3,43	5,00	6,33	7,67	4,04	4,30	1,78	5,68

*Variedades de origen francés.

ron los que presentaron la mayor colonización con los hongos MA nativos (Mn). La colonización de las raíces de plantas varía en función de la estacionalidad y de la planta hospedadora (Giovanetti, 1985) e incluso del período de crecimiento en que ésta se encuentre, tal como lo han demostrado recientemente en trigo Rubio *et al.* (1990) y Cade-Menun *et al.* (1991).

Siete de los diez cultivares presentaron la mayor P-asa radical (Figura 3) en ausencia de micorri-

zas arbusculares confirmando lo postulado por Azcón *et al.* (1987) y Rubio *et al.* (1990) quienes sugieren que la actividad P-asa radical en trigo podría ser un mecanismo complementario a la micorrización, aunque recientemente se ha informado de la capacidad de utilizar fosfatos orgánicos por parte de los hongos MA (Tarafdar y Marschner, 1994).

Los efectos beneficiosos de las MA en suelos del sur del país con niveles cercanos a 20 ppm han sido

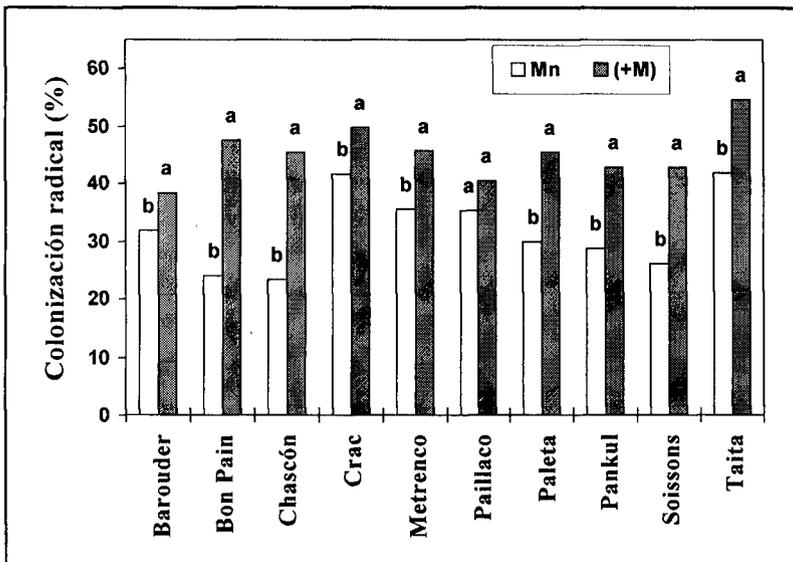


Figura 2. Colonización radical (%) por hongos MA en diez cultivares de trigo producida por la micorriza nativa (Mn) e inoculada (+M).
Figure 2. Root colonization (%) by arbuscular mycorrhizal fungi of ten wheat cultivars produced with native (Mn) or inoculated mycorrhizae (+M).

*Para cada cultivar, letras distintas indican diferencias estadísticas significativas según Duncan ($P \leq 0,05$).

reportados previamente (Rubio *et al.*, 1994; 1997) probablemente como consecuencia de que P neutraliza la fitotoxicidad por Al en dichos suelos ácidos, lo que sucedería en este caso. Por su parte, Abbott y Robson (1991) y Johnson y Pflieger (1992) concuerdan que el efecto positivo de las MA en suelos con suficiente P depende de la calidad de los suelos y de la dependencia de especies y cultivares utilizados.

Sólo la raíz del cultivar Chascón presentó una actividad P-asa radical mayor cuando ésta es colonizada con Mn. Por su parte, la inoculación con *Glomus* provocó un aumento de la P-asa solamente en el cultivar Paillaco. En ausencia de hongos MA, la exudación de fosfatasas y la excreción de ácidos

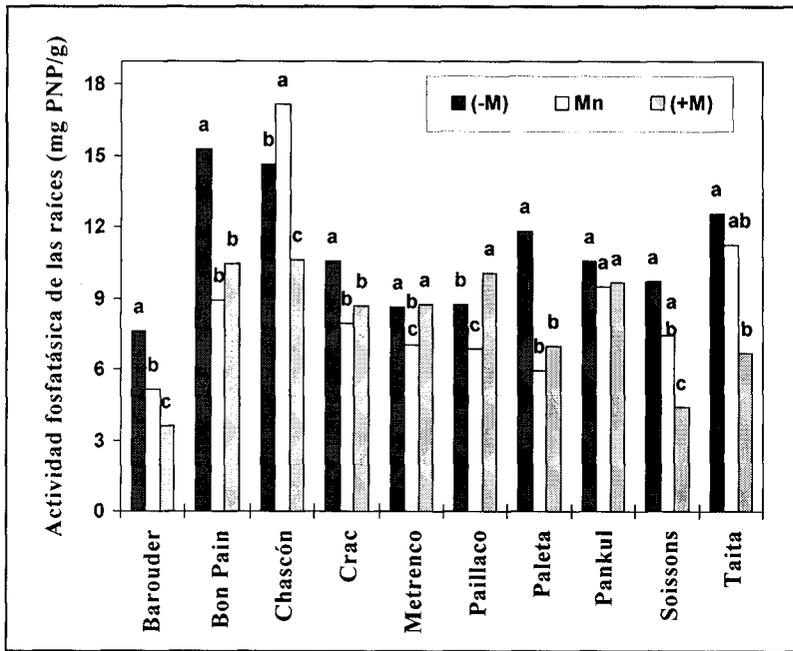


Figure 3. Actividad fosfatásica de las raíces de diez cultivares de trigo en ausencia (-M) y en presencia de micorriza nativa (Mn) e inoculada (+M).

Figure 3. Phosphatase activity of roots from ten wheat cultivars without (-M) or with native (Mn) and inoculated (+M) mycorrhiza.

*Para cada cultivar, letras distintas indican diferencias estadísticas significativas según Duncan ($P \leq 0,05$).

orgánicos con capacidad quelante serían las únicas estrategias para captar una mayor cantidad de P. De acuerdo a Mc Lachlan (1980) las variedades con menor actividad P-asa serían las que producirían mayor rendimiento y captación de P, hecho que no concuerda con lo obtenido con Barouder, cultivar que presentó la menor actividad enzimática pero no la mayor producción.

La actividad P-asa del suelo representa la enzima que ha sido excretada por la raíz y estabilizada en el suelo a través de interacciones con la materia orgánica y/o arcillas. De los diez cultivares en estudio, en el suelo de seis de ellos se observó una actividad P-asa mayor con el tratamiento (-M) (Figura 4), lo que confirmaría el postulado

de que ambos mecanismos son complementarios (Azcón *et al.*, 1987; Rubio *et al.*, 1990). Si bien, la P-asa radical es una enzima preferentemente de superficie en el caso del trigo (Rubio *et al.*, 1990), la exudación de ésta y su estabilización en el suelo podría estar indicando un beneficio mayor en la captación del P liberado más allá de la zona de depleción de la raíz, en especial cuando ésta forma simbiosis con los hongos MA. Lo anterior indicaría que a menor relación P-asa radical/P-asa del suelo mayor sería la exudación de la enzima y por tanto, mayor posibilidad de una mayor hidrólisis de P orgánico, en especial en estos suelos donde predominan dichas formas de P (Borie y Barea, 1983). De acuerdo al Cuadro 2 la mayor exudación se produciría en los cultivares Barouder, Metrenco y Paillaco con la micorrización nativa y en Soissons con la inoculación

con *Glomus*. Lo anterior es importante pues aquel cultivar que deje más enzima en el suelo pudiera ser el más beneficioso para el cultivo que le sigue en la rotación.

Si bien el conocer la interacción micorrizas-actividad fosfatasa es de suma importancia para entender con mayor profundidad los mecanismos de captación de P por parte de los cereales que crecen en los Andisoles y por tanto determinar su mayor o menor eficiencia, se necesita mayor información, en especial en condiciones de campo como para obtener conclusiones más definitivas, aspectos que continúan siendo estudiados por los autores de este trabajo (Borie *et al.*, 1998).

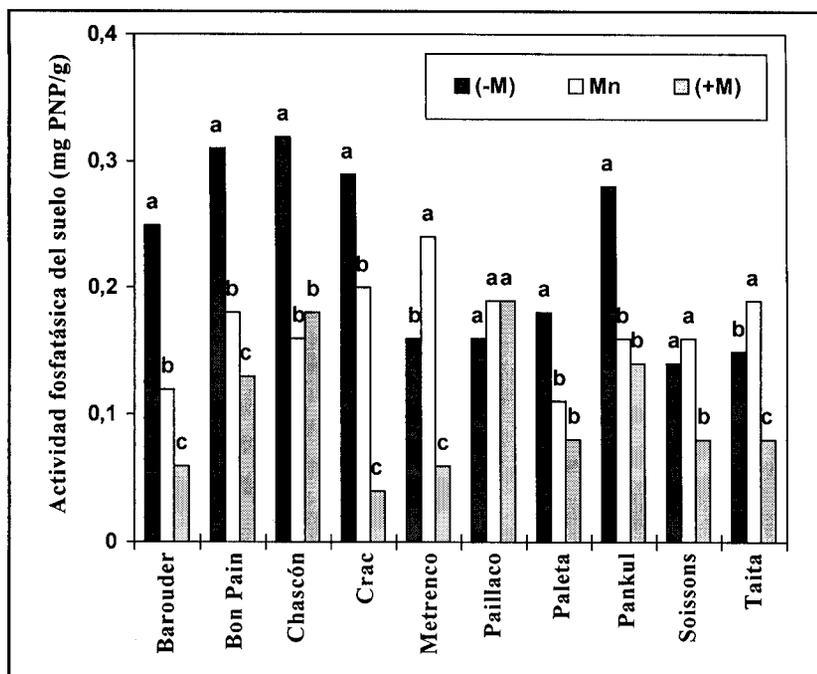


Figura 4. Actividad fosfatásica del suelo rizosférico proveniente de diez cultivares de trigo en ausencia (-M) y en presencia de micorriza nativa (Mn) e inoculada (+M).

Figure 4. Phosphatase activity of soil from the rhizosphere of ten wheat cultivars without (-M) or with native (Mn) and inoculated (+M) mycorrhiza.

*Para cada cultivar, letras distintas indican diferencias estadísticas significativas según Duncan ($P \leq 0,05$).

Cuadro 2. Relación P-asa radical/P-asa del suelo en diez cultivares de trigo en ausencia de micorriza (-M) y en presencia de micorriza nativa (Mn) e inoculada (+M)

Table 2. Root P-ase/Soil P-ase in ten wheat cultivars without mycorrhiza (-M) and native (Mn) or inoculated mycorrhiza (+M)

	Barouder	Bon Pain	Chascón	Crac	Metrenco	Paillaco	Paleta	Pankul	Soissons	Taita
-M	31,2	48,4	43,9	37,2	53,1	53,7	63,2	38,6	71,4	82,0
Mn	41,7	48,9	108,8	40,0	28,0	28,0	54,5	61,3	46,3	59,5
+M	58,3	80,8	59,4	217,5	146,7	146,7	90,9	69,3	50,0	72,8

CONCLUSIONES

De los 10 cultivares de trigo utilizados, ocho de ellos fueron significativamente dependientes de la micorrización nativa al presentar aumentos de su producción, en comparación con el testigo.

La inoculación de *Glomus etunicatum* CH-110, una cepa efectiva en los suelos volcánicos, produjo un significativo aumento en la producción de los 10 cultivares, destacándose los cultivares Taita y Paleta.

En todos los cultivares, a excepción de Paillaco, la colonización de sus raíces fue mayor con la cepa inoculada frente a la nativa.

En general, se observó mayor actividad fosfatásica en las raíces de las plantas sembradas en el suelo exento de hongos MA, lo que también se

vio reflejado en la actividad enzimática del suelo corroborando observaciones anteriores, realizadas por los mismos autores, quienes señalan que la actividad enzimática sería un mecanismo complementario a la micorrización, en cuanto a la captación de P por parte de trigo.

RESUMEN

Entre los mecanismos involucrados en la mayor captación de fósforo, la asociación de las raíces con hongos de las micorrizas arbusculares y la excreción de fosfatasas pueden ser visualizados como importantes adaptaciones desarrolladas por las plantas en suelos con alta capacidad de fijación de P, como son los Andisoles. Consecuentemente, a pesar de poseer altos niveles de P total, especialmente bajo formas orgánicas o asociadas a la materia orgánica, el P disponible es bajo en estos suelos. El objetivo de este trabajo consistió en evaluar, bajo condiciones de invernadero, la dependencia a las micorrizas y la excreción de fosfatasas, por parte de diez cultivares de trigo de hábito primaveral.

Se observó que ocho cultivares fueron significativamente dependientes de los hongos MA nativos y los diez cultivares mostraron un significativo incremento en la producción cuando fueron inoculados con *Glomus etunicatum* CH-110, en especial los cultivares Taita y Paleta. La actividad fosfatásica radical fue mayor en plantas creciendo sin micorrizas, sean éstas nativas o inoculadas, correlacionando con la actividad fosfatásica del suelo, lo que refuerza la hipótesis de que en la captación de P la micorrización sería un mecanismo complementario a la actividad fosfatásica.

Palabras claves: trigo, micorrizas arbusculares, actividad fosfatásica.

LITERATURA CITADA

- ABBOTT, L.K. AND ROBSON, A.D. 1991. Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Agriculture, Ecosystems and Environments* 35: 121-150.
- AZCÓN, R. AND OCAMPO, J.A. 1981. Factors affecting the vesicular-arbuscular infection and mycorrhizal dependency of thirteen wheat cultivars. *New Phytologist* 87: 677-685.
- AZCÓN, R.; BORIE, F. AND BAREA, J.M. 1987. Exocellular acid phosphatase activity of lavender and wheat roots as affected by phytate and mycorrhizal inoculation. *Les Colloques de l'INRA* 13: 83-85.
- BORIE, F. Y BAREA, J.M. 1983. Fósforo orgánico en suelos volcánicos de Chile. *Agricultura Técnica (Chile)* 43(3): 239-248.
- BORIE, F. 1990. Phosphorus. *In: Von Baer, Dietrich (ed.). Proceeding 6th International Lupin Conference. Asociación Chilena del Lupino. Pucón, Chile. pp. 192-200.*
- BORIE, F.; RUBIO, R.; ROUANET, J.L. Y GARCÍA, J.C. 1998. Efecto del manejo agronómico de las micorrizas arbusculares y actividad fosfatásica en suelos de origen volcánico. *Ciencia e Investigación Agraria (En prensa).*

- CADE-MENUM, B.J.; BERSCH, S.M. AND BOMKE, A.A. 1991. Seasonal colonization of winter wheat in South Coastal British Columbia by vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. *Canadian Journal Botany* 69: 78-86.
- DODD, J.C.; BURTON, C.C.; BURNS, R.G. AND JEFFRIES, P. 1987. Phosphatase activity associated with the roots and the rhizosphere of plants infected with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 107: 163-172.
- HELAL, H.M. AND SAUERBECK, D. 1984. Influence of plant roots on C and P metabolism in soil. *Plant and Soil* 76: 175-182.
- GARDNER, W.K.; BARBER, D.A. AND PARBERY, D.G. 1983. The acquisition of phosphorus by *Lupinus albus*. The probable mechanism by which movement in the soil/root interface is enhanced. *Plant and Soil* 70: 107-124.
- GERKE, J.; RÖMER, W. AND JUNK, A. 1994. The excretion of citric and malic acids by proteoid roots of *Lupinus albus*: effects on soil solution concentrations of phosphate, iron and aluminum in the proteoid rhizosphere in samples of an oxisol and a luvisol. *Z. Pflanzenernaehr Bodendk* 157: 289-298.
- GIOVANETTI, M. AND MOSSE, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* 84: 489-500.
- GIOVANETTI, M. 1985. Seasonal variation of vesicular-arbuscular mycorrhizas and endogonaceous spores in a maritime sand dune. *Transactions British Mycology Society* 84: 679-684.
- JOHNSON, N.C. AND PFLEGER, F.L. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and cultural stresses. *In: Bethlenfalvay, G.J. and Linderman, R-G. (Eds.). Mycorrhizae in Sustainable Agriculture. Chapter 4, ASA Special Publication* 54: 71-99.
- KHOTARI, S.K.; MARSCHNER, H. AND GEORGE, E. 1990. Effect of VA mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms on root and shoot morphology, growth and water relations in maize. *New Phytologist* 116: 303-311.
- KOSLOWSKY, S.D. AND BOERNER, R.E.J. 1989. Interactive effects of aluminum phosphorus and mycorrhizae on growth and nutrient uptake of *Panicum virgatum* L. (Poaceae). *Environmental Pollution* 61: 107-125.
- KUCEY, R.M.; JANZEN, H.H. AND LEGGET, M.E. 1989. Microbially mediated increases in plant available phosphorus. *Advances in Agronomy* 42: 129-227.
- MADDOX, J.J. AND SOILEAU, J.M. 1991. Effects of phosphate fertilization, lime amendments and inoculation with VA mycorrhizal fungi in soybeans in an acid soil. *Plant and Soil* 134: 83-93.
- MCLACHLAN, K.D. 1980. Acid phosphatase activity of intact roots and phosphorus nutrition in plants. I. Assay conditions and phosphatase activity. *Australian Journal of Agricultural Research* 31: 441-451.
- MENDOZA, J. 1997. Efecto de la acidez, aluminio y manganeso de suelos alofánicos sobre las micorrizas arbusculares. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. 200 p.
- MENDOZA, J. AND BORIE, F. 1998. The effect of *Glomus etunicatum* inoculation on aluminum, phosphorus, calcium and magnesium uptake of two barley genotypes with different aluminum tolerance. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* (in press).
- PHILLIPS, J.M. AND HAYMAN, D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of British Mycology Society* 55: 158-161.

- RUBIO, R.; MORAGA, E. AND BORIE, F. 1990. Acid phosphatase activity and vesicular-arbuscular mycorrhizal infection associated with roots of four wheat cultivars. *Journal of Plant Nutrition* 13: 593-595.
- RUBIO, R.; URIBE, R.; BORIE, F.; MORAGA, E. Y CONTRERAS, A. 1994. Micorrizas VA en horticultura. Velocidad de infección en lechuga y tomate y su incidencia sobre el desarrollo del cultivo. *Agricultura Técnica (Chile)* 54: 7-14.
- RUBIO, R.; CEPEDA, M.; BORIE, F. Y CONTRERAS, A. 1997. Efecto de hongos micorrizógenos VA en el crecimiento de algunas hortalizas en almácigo y posterior trasplante. *Agricultura Técnica (Chile)* 57 (3): 161-168.
- STANGE, B.; BERATTO, E.; MONTENEGRO, A.; PEYRELONGE, A. Y BORIE, F. 1995. Efecto de la fuente nitrogenada sobre el crecimiento de cebada en un suelo con alto contenido de aluminio. *Agricultura Técnica (Chile)* 55(2): 118-126.
- TABATABAI, M.A AND BREMNER, I.M. 1969. Use of p-nitrophenil phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry* 1: 301-305.
- TARAFDAR, J.C. AND MARSCHNER, H. 1994. Efficiency of VAM hyphae in utilization of organic phosphorus by wheat plants. *Soil Science and Plant Nutrition* 40: 593-600.
- VÁSQUEZ, J. 1997. Efecto de la fertilización fosfatada sobre la exudación y contenido mineral de *Lupinus albus* y *Lupinus angustifolius*. Tesis para optar al título de Ing. Agrónomo. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales. Universidad de La Frontera. 86 p.