

# Mycorrhizal fungi and phosphate fertilization in the formation of seedlings of vine rootstock 'IAC-766' Campinas

## Hongos micorrízicos y fertilización fosfatada en la preparación de plántulas de portainjertos de vid 'IAC-766' Campinas

Carlos Vilcatoma-Medina<sup>1\*</sup>; Marcos A. Dolinski<sup>2</sup>; Juan W. Mendoza-Cortez<sup>3</sup>; Amaro A. Campos-de Azeredo<sup>1</sup>; Luiz A. Biasi<sup>1</sup>; Mauro B. Dias-Tofaneli<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Federal University of Paraná, Post-Graduate Program in Agronomy-Plant Production, Dept. of Crop Production, Rua dos Funcionários, 1540 Bairro, Juvevê, Curitiba, Paraná, C. P. 80210-170, BRAZIL.

<sup>2</sup>Tuiuti University of Paraná, Program in Agronomy. Rua Sydnei Antonio Rangel Santos, 238 - Santo Inacio, Curitiba, Paraná, C. P. 82010-330, BRAZIL.

<sup>3</sup>Nacional Agraria La Molina, Faculty of Agronomy. Av. La Universidad s/n, La Molina, Apartado 456, Lima, C. P. 12, PERÚ.

\*Corresponding author: catomedina101@gmail.com, tel. +55 41 996105589.

### Abstract

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are beneficial microorganisms that form symbioses with vines, showing improvements favorably in the growth and nutrition of seedlings after rooting them. This work aimed to evaluate the effects of AMF species inoculation and phosphate fertilization on rooted cuttings of vine rootstocks in a greenhouse. Woody rootstock cuttings from 'IAC 766' Campinas vines were prepared to promote rooting. After 45 days, the cuttings were transplanted and subjected to treatments that consisted of the inoculation of different species of AMF and fertilization with two doses of phosphorus (simple superphosphate) plus the control. The treatments were randomly assigned following a completely randomized design with eight replications for each treatment. After 90 days, growth parameters, macro and micronutrient content (shoot and root), root colonization and mycorrhizal effect of the extracted nutrients were evaluated. The inoculation with AMF species influenced the growth parameters, root colonization and extraction of macro and micronutrients from the cuttings of the 'IAC 766' rootstock, highlighting the inoculation with species of the genus *Acaulospora*, either individually or associated. Phosphorous fertilization affected growth parameters and extraction of macro and micronutrients, but these were to a lesser degree compared to that verified by the inoculation of AMF species.

**Keywords:** cuttings, microorganisms, inoculation, nutrients, growth.

### Resumen

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son microorganismos benéficos que forman simbiosis con la vid, al mostrar mejoras favorables en el crecimiento y nutrición de las plántulas tras su enraizamiento. El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de la inoculación de especies de HMA y de la fertilización fosfatada sobre estacas enraizadas de portainjertos de vid en invernadero. Se prepararon estacas leñosas de portainjertos de vid 'IAC-766' Campinas para promover el enraizamiento. Después de 45 días, las estacas se trasplantaron y se sometieron a diferentes tratamientos que consistieron en la inoculación de especies de HMA y la fertilización con dos dosis de fósforo (superfosfato simple), más el testigo. Los tratamientos se distribuyeron de acuerdo con un diseño completamente al azar con ocho repeticiones por cada tratamiento. Después de 90 días, se evaluaron los parámetros de crecimiento, el contenido de macro- y micronutrientes (brote y raíz), la colonización de las raíces y el efecto micorrízico de los nutrientes extraídos. La inoculación con especies de HMA influyó en los parámetros de crecimiento, la colonización radicular, y la extracción de macro- y micronutrientes de las estacas de portainjertos 'IAC-766', especialmente la inoculación con especies del género *Acaulospora*, ya sea individualmente o asociadas. La fertilización fosfatada afectó a los parámetros de crecimiento y a la extracción de macro- y micronutrientes, pero en menor medida que la observada con la inoculación de especies de HMA.

**Palabras clave:** varetas, microorganismos, inoculación, nutrientes, crecimiento.



## Introduction

Grape vines form symbiosis with microorganisms known as arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) (Eftekhari, Alizadeh, Mashayekhi, Asghari, & Kamkar, 2010; Trouvelot et al., 2015), which are beneficial for the development and health of plants (Bhat et al., 2017). These microorganisms favor the absorption of water and mineral nutrients from the soil by the plant and this, in turn, provides carbon and other essential substances to them (Ortas, Rowell, & Harris, 2004; Roupael et al., 2015; Begum et al., 2019).

In Brazilian viticulture, the 'IAC 766' (*Ripária do Traviú x Vitis caribaea*) rootstock, also known as 'Campinas', is the most widely used because it adapts to different environmental conditions, is pest-resistant and diseases, has a good rate of fruit set and high vegetative vigor (Souza, Mota, Cardozo, Pimentel, & Regina, 2015; Silva et al., 2019; Cardoso-Campos et al., 2020), in addition to having excellent yield and grape quality (Nuzzo & Mathews, 2006).

Recently, the propagation method of vine rootstocks using woody cuttings in containers has increased significantly, to obtain grafted seedlings in less time for subsequent transplantation in the definitive field (Ollat et al., 2016; Grohs, Almança, Fajardo, Halleen, & Miele, 2017).

The rootstock greatly influences the nutritional status of the vine in relation to factors such as soil structure and nutritional requirements (Trouvelot et al., 2015; Zhang, Marguerit-Jacob, Rossdeutsch, Ollat, & Gambetta, 2016), in addition to affecting the high absorption capacity and the possibility of reduced nutrient application (Keller, Kummer, & Vasconcelos, 2001). In this sense, the colonization of roots of plants in full growth by AMF, mainly in soils with low fertility levels, significantly favors the absorption of nutrients such as phosphorus (P) (Smith & Read, 2008; Chatterjee & Franzen, 2020). Likewise, it is important to inoculate with AMF at the beginning of seedling formation, to ensure the benefits of symbiosis at this stage and during the acclimatization period (Silva, Melo, & Yano-Melo, 2017; Begum et al., 2019; Diagne et al., 2020). Also, soils with a significant presence of P can favor the quantity and diversity of AMF species (Mahecha-Vásquez, Sierrab, & Posada, 2007; Vilcatoma-Medina et al., 2021).

The formation of AMF-inoculated rootstocks, in addition to balanced P fertilization in the greenhouse, can be a viable and profitable alternative for the production of good quality grapevine seedlings. Therefore, this study aimed to evaluate the effect of inoculation of AMF species and phosphorous

## Introducción

La vid forma simbiosis con microorganismos conocidos como hongos micorrízicos arbusculares (HMA) (Eftekhari, Alizadeh, Mashayekhi, Asghari, & Kamkar, 2010; Trouvelot et al., 2015), que son benéficos para el desarrollo y la salud de las plantas (Bhat et al., 2017). Estos microorganismos favorecen la absorción de agua y nutrientes minerales del suelo por parte de la planta y esto, a su vez, les proporciona carbono y otras sustancias esenciales (Ortas, Rowell, & Harris, 2004; Roupael et al., 2015; Begum et al., 2019).

En la viticultura brasileña, el portainjertos 'IAC-766' (*Ripária do Traviú x Vitis caribaea*), también conocido como 'Campinas', es el más utilizado, ya que se adapta a diferentes condiciones ambientales, es resistente a plagas y enfermedades, tiene buena tasa de cuajado de fruto y alto vigor vegetativo (Souza, Mota, Cardozo, Pimentel, & Regina, 2015; Silva et al., 2019; Cardoso-Campos et al., 2020), además de presentar excelente rendimiento y calidad de la uva (Nuzzo & Mathews, 2006).

En años recientes, ha incrementado notablemente el método de propagación de portainjertos de vid mediante estacas leñosas en contenedores, para obtener plántulas injertadas en menor tiempo para su posterior trasplante en campo definitivo (Ollat et al., 2016; Grohs, Almança, Fajardo, Halleen, & Miele, 2017).

El portainjertos influye, en gran medida, en el estado nutricional de la vid en relación con factores como la estructura del suelo y las necesidades nutricionales (Trouvelot et al., 2015; Zhang, Marguerit-Jacob, Rossdeutsch, Ollat, & Gambetta, 2016); además, afecta la alta capacidad de absorción y la posibilidad de reducir la aplicación de nutrientes (Keller, Kummer, & Vasconcelos, 2001). En este sentido, la colonización de las raíces de plantas en pleno crecimiento con HMA, principalmente en suelos con bajos niveles de fertilidad, favorece significativamente la absorción de nutrientes como el fósforo (P) (Smith & Read, 2008; Chatterjee & Franzen, 2020). De igual manera, es importante inocular con HMA al inicio de la preparación de plántulas, para asegurar los beneficios de la simbiosis en esta etapa y durante el periodo de aclimatación (Silva, Melo, & Yano-Melo, 2017; Begum et al., 2019; Diagne et al., 2020). Asimismo, los suelos con presencia significativa de P pueden favorecer la cantidad y diversidad de especies de HMA (Mahecha-Vásquez, Sierrab, & Posada, 2007; Vilcatoma-Medina et al., 2021).

La preparación de portainjertos inoculados con HMA, aunado a una fertilización equilibrada con P en invernadero, puede ser una alternativa viable y rentable para la producción de plántulas de vid de buena calidad. Por lo tanto, el objetivo de este estudio

fertilization on rooted cuttings of 'IAC 766' grapevine rootstocks in a greenhouse.

## Material and methods

This study was conducted in a greenhouse located in the Agricultural Sciences Sector of the Federal University of Paraná - UFPR, Curitiba-PR (25° 25' 47" S and 49° 16' 19" W, at 950 m a. s. l.).

On November 15, 2018, woody cuttings 15 to 20 cm long and 5.8 mm in diameter were collected from four-year-old Campinas grapevine 'IAC 766' rootstocks at the Canguiri Station Experimental Center of the UFPR (Pinhais -PR) (25° 23' 42" S and 49° 08' 12" W, at 950 m a. s. l.), which were subsequently placed in 133 cm<sup>3</sup> plastic tubes containing a medium-textured vermiculite substrate to promote rooting. The rootstocks were kept for 45 days in a greenhouse with manual irrigation every 24 h. After rooting, the rootstocks were transplanted into 3 L plastic bags containing a mixture of a commercial substrate based on biostabilized pine bark (Mecplant Brasil) + washed sand (1:1) for the application of the treatments.

A completely randomized design was used, with eight repetitions per treatment, totaling 80 plastic bags. The treatments consisted of incorporating and mixing 30 g of material with different AMF species (*Gigaspora margarita*; *Gigaspora margarita* + *Dentiscutata heterogama*; *Dentiscutata heterogama*; *Rhizophagus intraradices*; *Acaulospora colombiana*; *Acaulospora colombiana* + *Acaulospora scrobiculata*; and *Acaulospora scrobiculata*), two doses of fertilization phosphated (12.5 and 25 mg·kg<sup>-1</sup> of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) using commercial simple superphosphate, and the control.

Inoculum of AMF species were multiplied on *Brachiaria* (*Brachiaria decumbens*) in 5 L pots at the DFF greenhouse condition, with manual irrigation every 48 h. The substrate used was a mixture of washed sand and medium texture vermiculite (1:1), previously sterilized in an autoclave at 120 °C for two periods of 1 h at an interval of 24 h.

After 90 days of inoculation and fertilization of the rootstock cuttings, the following characteristics were evaluated: seedling height (H), basal stem diameter 5 cm from the substrate surface (D), length of the largest root (RL), shoot (SFW) and roots fresh weight (RFW), and shoot (SDW) and roots dry weight (RDW).

The analysis of macro and micronutrients was carried out in the Plant Nutrition Laboratory, in the Department of Soils and Agricultural Engineering of UFPR, according to the methodology adapted from Martins and Reissmann (2007). Approximately 0.5 g of material was used and incinerated in porcelain

fue evaluar el efecto de la inoculación de especies de HMA y la fertilización con fósforo en estacas enraizadas de portainjertos de vid 'IAC-766' en invernadero.

## Materiales y métodos

El estudio se realizó en un invernadero ubicado en el Sector de Ciencias Agrícolas de la Universidad Federal de Paraná - UFPR, Curitiba-PR (25° 25' 47" S y 49° 16' 19" O, a 950 m s. n. m.).

El 15 de noviembre de 2018 se recolectaron estacas leñosas de 15 a 20 cm de longitud y 5.8 mm de diámetro, a partir de portainjertos de vid 'IAC-766' Campinas de cuatro años, en el Centro Experimental Estación Canguiri de la UFPR (Pinhais -PR) (25° 23' 42" S y 49° 08' 12" O, a 950 m s. n. m.). Las estacas se colocaron en tubos de plástico de 133 cm<sup>3</sup>, los cuales contenían un sustrato de vermiculita de textura media para promover el enraizamiento. Los portainjertos se mantuvieron durante 45 días en invernadero con riego manual cada 24 h. Tras el enraizamiento, los portainjertos se trasplantaron a bolsas de plástico de 3 L que contenían una mezcla de sustrato comercial basado en corteza de pino bioestabilizada (Mecplant Brasil) + arena lavada (1:1), para la aplicación de los tratamientos.

Se utilizó un diseño completamente al azar con ocho repeticiones por tratamiento, lo cual dio un total de 80 bolsas de plástico. Los tratamientos consistieron en incorporar y mezclar 30 g de material con diferentes especies de HMA (*Gigaspora margarita*, *Gigaspora margarita* + *Dentiscutata heterogama*, *Dentiscutata heterogama*, *Rhizophagus intraradices*, *Acaulospora colombiana*, *Acaulospora colombiana* + *Acaulospora scrobiculata* y *Acaulospora scrobiculata*), dos dosis de fertilización fosfatada (12.5 y 25 mg·kg<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, superfosfato comercial simple) y el testigo.

Se multiplicaron inóculos de especies de HMA sobre *Brachiaria* (*Brachiaria decumbens*) en macetas de 5 L, bajo las condiciones del invernadero DFF y con riego manual cada 48 h. El sustrato utilizado fue una mezcla de arena lavada y vermiculita de textura media (1:1), previamente esterilizada en autoclave a 120 °C durante dos periodos de 1 h, con un intervalo de 24 h.

Después de 90 días de inoculación y fertilización de las estacas de portainjertos, se evaluó la altura de la plántula (A), el diámetro del tallo basal a 5 cm de la superficie del sustrato (D), la longitud de la raíz más grande (LR), el peso fresco de brotes (PFB) y raíces (PFR), y el peso seco de brotes (PSB) y raíces (PSR).

El análisis de macro- y micronutrientes se realizó en el Laboratorio de Nutrición Vegetal, en el Departamento de Suelos e Ingeniería Agrícola de la UFPR, conforme a la metodología adaptada de Martins y Reissmann (2007).

crucibles in a muffle furnace at 500 °C for 4 h. Then, 10 mL of 3 mol·L<sup>-1</sup> HCl was added and the crucibles were left for 10 min on a heating plate at 70 °C. After this period, the digestion solutions were filtered through filter paper (pore diameter 8 µm) and the extracts collected in 50 mL volumetric flasks. To measure the volumetric flasks, deionized water was used. In the obtained extracts, the following were determined: P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn, and Zn using an inductively coupled plasma-optical emission spectrometer (ICP-OES), (720-ES, Varian, USA).

To evaluate mycorrhizal colonization, the thinnest roots were selected and kept in 10 % KOH for 24 h, after being treated in a water bath at 80 °C for 1 h. Next, they were bleached by adding H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, then washed and stained with blue ballpoint ink and kept again in a water bath for 5 min more, when lactoglycerol was applied. For the counting of mycorrhizal colonization, the roots were placed in a 1x1 cm square plate using a stereoscopic microscope, according to the methodology described by Giovanetti and Mosse (1980).

The variables evaluated (growth parameters, macro and micronutrients and the percentage of root colonization) were subjected to analysis of variance and, when there was a significant effect, the means were compared using the Tukey ( $P \leq 0.05$ ). These explanatory variables were also subjected to correlation and principal component analyzes (PCA), using the statistical software R (R Core Team, 2018).

## Results and discussion

According to the results in Table 1, most of the growth parameters of the 'IAC 766' rootstock showed significant differences when inoculated with AMF species and fertilized with P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Only the stem diameter was not influenced by the treatments.

Height showed significant differences between the treatments, with the species *A. scrobiculata* (96.0 cm) and *A. colombiana* + *A. scrobiculata* (89.4 cm) standing out, but without differing in relation to *A. colombiana*. Also, the RL showed significant differences, highlighting the same species, *A. scrobiculata* (58.8 cm) and *A. colombiana* + *A. scrobiculata* (56.6 cm). Regarding FW and DW, of shoot (S) and root (R), *A. scrobiculata* presented the highest values, except for RFW where the same species (34.0 g) did not differ from *A. colombiana* + *A. scrobiculata* (32.2 g) (Table 1).

The inoculation of AMF species and phosphate fertilization favored the growth of rooted cuttings of the rootstock 'IAC 766', differing from the control in terms of growth parameters, presence of macro and micronutrients and root colonization when inoculated

Se utilizaron aproximadamente 0.5 g de material y se incineraron en crisoles de porcelana en una mufla a 500 °C durante 4 h. Posteriormente, se añadieron 10 mL de HCl 3 mol·L<sup>-1</sup> y los crisoles se dejaron durante 10 min en una parrilla a 70 °C. Transcurrido este tiempo, las soluciones de digestión se pasaron por un papel filtro (con diámetro de poro de 8 µm) y los extractos se recogieron en matraces de 50 mL. Para aforar los matraces se utilizó agua desionizada. En los extractos obtenidos se determinó P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn y Zn, mediante un espectrofotómetro de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES, por sus siglas en inglés) (720-ES, Varian, EUA).

Para evaluar la colonización micorrízica, se seleccionaron las raíces más delgadas y se mantuvieron en KOH al 10 % durante 24 h, después de ser tratadas en baño María a 80 °C durante 1 h. Posteriormente, se blanquearon añadiendo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, se lavaron y se tiñeron con tinta de bolígrafo azul y se mantuvieron de nuevo en un baño María durante 5 min más, momento en el que se aplicó lactoglicerol. Para el recuento de la colonización micorrízica, las raíces se colocaron en una placa cuadrada de 1x1 cm con ayuda de un microscopio estereoscópico, según la metodología descrita por Giovanetti y Mosse (1980).

Las variables evaluadas (parámetros de crecimiento, macro- y micronutrientes, y el porcentaje de colonización radicular) se sometieron a un análisis de varianza y, cuando hubo un efecto significativo, una comparación de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). Estas variables explicativas también se sometieron a análisis de correlación y de componentes principales (ACP), mediante el programa estadístico R (R Core Team, 2018).

## Resultados y discusión

De acuerdo con los resultados del Cuadro 1, la mayoría de los parámetros de crecimiento del portainjertos 'IAC-766' mostraron diferencias significativas cuando las raíces se inocularon con HMA y se fertilizaron con P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Únicamente el diámetro del tallo no se vio influido por los tratamientos.

La altura presentó diferencias significativas entre los tratamientos, donde sobresalieron los tratamientos con *A. scrobiculata* (96.0 cm) y *A. colombiana* + *A. scrobiculata* (89.4 cm), aunque sin diferencias respecto a *A. colombiana*. Asimismo, la LR mostró diferencias significativas con las mismas especies, *A. scrobiculata* (58.8 cm) y *A. colombiana* + *A. scrobiculata* (56.6 cm). En cuanto al PF y PS, del brote (B) y la raíz (R), el tratamiento con *A. scrobiculata* presentó los valores más altos, excepto para PFR, donde la misma especie (34.0 g) no difirió significativamente de *A. colombiana* + *A. scrobiculata* (32.2 g) (Cuadro 1).



**Table 1. Growth parameters of rooted cuttings of 'IAC 766' vine rootstocks inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) species or phosphate fertilization (Curitiba, Brazil).****Cuadro 1. Parámetros de crecimiento de estacas enraizadas de portainjertos de vid 'IAC-766' inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) o fertilización fosfatada (Curitiba, Brasil).**

Treatments/ Tratamientos	Height/ Altura	Root length/ Longitud de raíz cm	Diameter (mm)/ Diámetro (mm)	Fresh weight / Peso fresco		Dry weight	
				Shoot/Brote	Root/Raíz	Shoot/Brote	Root/Raíz
				g-seedling <sup>1</sup> / g-plántula <sup>1</sup>			
<i>G. margarita</i>	59.8 ef	43.0 cd	3.0 ns	27.8 gh	26.3 e	7.3f g	7.0 ef
<i>G. margarita</i> + <i>D. heterogama</i>	67.0 de	44.6 cd	3.5	29.9 efg	27.9 de	7.7 ef	7.6 d
<i>D. heterogama</i>	61.2 ef	44.0 cd	3.5	28.4 fgh	27.6 de	7.4 f	7.4 de
<i>R. intraradices</i>	72.6 cd	45.0 bcd	3.1	30.9 def	28.5 cde	8.0 def	7.6 d
<i>A. colombiana</i>	87.4 ab	49.8 b	3.4	35.3 bc	30.7 bc	8.9 c	8.2 c
<i>A. colombiana</i> + <i>A. scrobiculata</i>	89.4 a	56.6 a	3.5	36.8 b	32.2 ab	11.5 b	8.6 b
<i>A. scrobiculata</i>	96.0 a	58.8 a	3.6	41.5 a	34.0 a	13.7 a	9.1 a
12.5 P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	79.4 bc	46.2 bc	3.6	33.0 cd	28.7 cd	8.7 cd	7.7 d
25 P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	80.6 bc	46.6 bc	3.3	32.7 cde	28.2 de	8.2 cde	7.6 d
Control/Testigo	57.8 f	40.6 d	3.2	26.1 h	26.2 e	6.6 g	6.8 f

<sup>1</sup>Means followed by the same letter in the column do not differ from each other (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). ns = Not significant.

<sup>2</sup>Medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). ns = no significativa.

into the cuttings. As well as the positive results obtained in the present study, the beneficial effects of AMF inoculation in the formation of vigorous and healthy vine seedlings were previously emphasized by several researchers (Aguín, Mansilla, Vilariño, & Sainz, 2004; Caglar & Bayram, 2006; Camprubí et al., 2008; Ozdemir et al., 2010; Ambrosini et al., 2015).

In the present study, in general, the species of the genus *Acaulospora* stood out both individually and mixed in the evaluations carried out in comparison with the rest of the treatments. The positive effect of the inoculation of species of this genus was confirmed by the work carried out by Meyer, Botha, Valentine, Archer, and Louw (2005) and Ambrosini et al. (2015), in which root colonization was also favored in commercial plantations with different rootstocks in the cultivar Merlot and young vines subjected to high levels of Cu, respectively.

Another species of mycorrhiza that deserves to be highlighted according to the results obtained in the present work was *Rizophagus intraradices*, which promoted considerable benefit in the growth and percentage of colonization in the rootstock. Similar responses were found in studies carried out by Ambrosini et al. (2015) and Rosa et al. (2016) with *R. clarus* species subjected to high levels of Cu on Paulsen 1103 rootstocks, and Rosa et al. (2020) with *R. irregularis* on North American rootstocks in commercial substrate (expanded clay). The results obtained show that the

La inoculación de especies de HMA y la fertilización fosfatada favorecieron el crecimiento de las estacas enraizadas del portainjertos 'IAC-766', diferenciándose del testigo en cuanto a parámetros de crecimiento, presencia de macro- y micronutrientes, y colonización de las raíces. Además de los resultados positivos obtenidos en el presente estudio, los efectos benéficos de la inoculación de HMA en la preparación de plántulas de vid vigorosas y sanas fueron destacados previamente por varios investigadores (Aguín, Mansilla, Vilariño, & Sainz, 2004; Caglar & Bayram, 2006; Camprubí et al., 2008; Ozdemir et al., 2010; Ambrosini et al., 2015).

En el presente estudio, y en términos generales, las especies del género *Acaulospora* destacaron, tanto individualmente como en combinación, en las evaluaciones realizadas en comparación con el resto de los tratamientos. El efecto positivo de la inoculación de especies de este género fue confirmado por Meyer, Botha, Valentine, Archer y Louw (2005), y Ambrosini et al. (2015). Dichos autores reportan mejoras en la colonización radicular en plantaciones comerciales con diferentes portainjertos en el cultivar Merlot y en vides jóvenes sometidas a altos niveles de Cu, respectivamente.

De acuerdo con los resultados obtenidos, otra especie de micorriza que merece ser destacada en el presente trabajo es *Rizophagus intraradices*, la cual promovió un efecto benéfico en el crecimiento y el porcentaje de colonización en los portainjertos. Esta respuesta es similar a la observada por Ambrosini et al. (2015) y

species of the genus interact favorably in the different rootstocks and obtain a wide adaptability to different environmental conditions, thus being commercially produced for more than two decades (Hijri, 2016; Fracasso, Telò, Lanfranco, Bonfante, & Amaducci, 2020).

In general, the inoculation of AMF species on the 'IAC 766' rootstock provided greater gain in H, RL, FW and DW, both in shoots and roots. The results presented in the present study are confirmation of those obtained in research by Agostini and Souza (2003) and Anzanello, Souza, and Casamali (2011) with inoculations of species of the genera *Glomus* and *Scutellopora* on rootstocks of Paulsen vines 1103, 101-14, SO4 and 043-43. It is also important to mention similar responses in studies with rootstocks from other crops such as peach and citrus with inoculations of species *Glomus clarum*, *Glomus etunicatum* and *Acaulospora* sp. (Nunes, Souza, Marodin, & Fachinello, 2008; Back, Reith, Giuliani, & Souza, 2017).

The significant differences show that the AMF contributed to the increase in the architecture of the root system such as root length, accelerating the growth in height and leaf area of the rootstocks, allowing greater photosynthetic areas and, consequently, a higher level of photoassimilates production and accumulation of biomass (Wu, Zou, Liu, & Lu, 2012; Wu, Zou, & Huang, 2013; Wright, Scholes, & Read, 1998). The behavior between the actors is interpreted as functional specificity, since there is compatibility between the symbionts (Lindermann & Davis, 2001; Locatelli & Lovato, 2002; Silveira, Souza, & Koller, 2002).

Table 2, in general, shows significant differences when calculating the presence of macro and micronutrients in the rootstocks after 90 days of AMF inoculation and phosphate fertilization. When inoculated with the genus *Acaulospora*, the highest average value of P was obtained in the shoot ( $16.6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), while in the root the presence of this element was higher ( $20.9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) when fertilized with the highest dose of  $\text{P}_2\text{O}_5$ , followed by the lowest dose of phosphorus applied. Among the inoculated species, the highest concentration of this nutrient was obtained for *D. heterogama*, not differing from *A. scrobiculata*. For K, the highest averages in both shoots and roots were obtained with the inoculation of *A. scrobiculata* and *R. intraradices*, respectively. Finally, Ca and Mg presented higher averages, both in the shoot and in the root, when inoculated with species of the genus *Gigaspora* and fertilized with the lowest dose of P.

Regarding the micronutrients, the presence of Fe in the shoot was presented by the species *G. margarita* and in the root by *D. heterogama*. While for Cu the highest

Rosa et al. (2016), con especies de *R. clarus* sometidas a altos niveles de Cu sobre portainjertos 'Paulsen 1103', y Rosa et al. (2020) con *R. irregularis* sobre portainjertos norteamericanos en sustrato comercial (arcilla expandida). Los resultados obtenidos muestran que las especies de dicho género interactúan favorablemente en los diferentes portainjertos y obtienen una amplia adaptabilidad a diferentes condiciones ambientales, por lo que se han producido comercialmente por más de dos décadas (Hijri, 2016; Fracasso, Telò, Lanfranco, Bonfante, & Amaducci, 2020).

En general, la inoculación de especies de HMA en portainjertos 'IAC-766' mejoró la A, LR, PF y PS, tanto en brotes como en raíces. Los resultados del presente estudio coinciden con los obtenidos por Agostini y Souza (2003), y Anzanello, Souza y Casamali (2011), con inoculaciones de especies de los géneros *Glomus* y *Scutellopora* sobre portainjertos de vides Paulsen 1103, 101-14, SO4 y 043-43. Se han reportado respuestas similares con portainjertos de otros cultivos, como durazno y cítricos, con inoculaciones de *Glomus clarum*, *Glomus etunicatum* y *Acaulospora* sp. (Nunes, Souza, Marodin, & Fachinello, 2008; Back, Reith, Giuliani, & Souza, 2017).

Las diferencias muestran que los HMA contribuyeron al aumento de la arquitectura del sistema radicular, como la LR, con lo cual se aceleró el crecimiento en altura y área foliar de los portainjertos, lo que permite mayores áreas fotosintéticas y, en consecuencia, un mayor nivel de producción de fotoasimilados y acumulación de biomasa (Wu, Zou, Liu, & Lu, 2012; Wu, Zou, & Huang, 2013; Wright, Scholes, & Read, 1998). El comportamiento entre los actores se interpreta como especificidad funcional, ya que existe compatibilidad entre los simbiontes (Lindermann & Davis, 2001; Locatelli & Lovato, 2002; Silveira, Souza, & Koller, 2002).

En general, en el Cuadro 2 se observan diferencias significativas en las concentraciones de macro- y micronutrientes en los portainjertos después de 90 días de la inoculación con HMA y la fertilización fosfatada. Cuando se inoculó con el género *Acaulospora*, el mayor valor medio de P se obtuvo en el brote ( $16.6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), mientras que en la raíz la presencia de este elemento fue mayor cuando se fertilizó con la dosis más alta de  $\text{P}_2\text{O}_5$  ( $20.9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), seguida de la dosis más baja de fósforo aplicada. Entre las especies inoculadas, la mayor concentración de dicho nutriente en raíz se obtuvo con *D. heterogama*, sin diferencias significativas con *A. scrobiculata*. Para el K, los promedios más altos, tanto en brotes como en raíces, se obtuvieron con la inoculación de *A. scrobiculata* y *R. intraradices*, respectivamente. Por último, el Ca y el Mg presentaron medias más altas, tanto en brote como en raíz, cuando se inoculó con especies del género *Gigaspora* y se fertilizó con la dosis más baja de P.

**Table 2. Macronutrients and micronutrients present in shoot and root of rooted cuttings of 'IAC 766' vine rootstocks inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) or phosphate fertilization (Curitiba, Brazil).**

**Cuadro 2. Macronutrientes y micronutrientes presentes en brotes y raíces de estacas enraizadas de portainjertos de vid 'IAC-766' inoculados con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) o fertilización fosfatada (Curitiba, Brasil).**

Treatments/ Tratamientos	P		K		Ca		Mg		Fe		Cu		Mn		Zn	
	Shoot/ Brote	Root/ Raíz	Shoot/ Brote	Root/ Raíz	Shoot/ Brote	Root/ Raíz	Shoot/ Brote	Root/ Raíz	Shoot/ Brote	Root/ Raíz	Shoot/ Brote	Root/ Raíz	Shoot/ Brote	Root/ Raíz	Shoot/ Brote	Root/ Raíz
<i>G. margarita</i>	6.2 f <sup>2</sup>	14.7 f	4.6 g	4.1 f	2.7 c	1.3 b	1.3 a	2.0 a	30.0 a	56.5 f	1.4 de	3.6 b	6.5 e	10.5 d	4.1 e	7.6 b
<i>G. margarita</i> + <i>D. heterogama</i>	5.0 g	16.3 de	5.1 ef	6.1 cd	3.4 a	0.9 cd	1.3 a	2.0 a	19.9 e	63.1 d	1.3 ef	2.6 cd	8.1 b	9.2 e	5.1 cd	5.3 e
<i>D. heterogama</i>	7.7 e	16.8 c	5.0 ef	6.3 c	2.5 c	0.9 cd	1.0 bc	1.8 ab	22.4 c	73.2 a	1.6 cd	1.8 f	5.1 g	9.4 e	4.3 e	5.0 ef
<i>R. intraradices</i>	7.9 e	14.6 f	4.9 fg	8.0 a	3.2 ab	0.8 d	1.2 ab	1.6 bc	17.2 f	45.7 i	1.6 cd	1.9 ef	6.3 e	6.5 g	4.3 e	9.1 a
<i>A. colombiana</i>	11.0 d	13.5 g	7.0 c	6.7 b	2.6 c	0.8 cd	0.8 c	1.2 d	21.9 d	27.1 j	1.8 c	3.7 b	3.9 h	4.4 h	5.1 d	7.3 b
<i>A. colombiana</i> + <i>A. scrobiculata</i>	16.6 a	15.9 e	5.3 e	5.9 d	2.7 c	1.0 bcd	1.2 ab	1.4 cd	23.2 b	51.9 h	4.1 a	2.1 ef	8.6 a	8.1 f	6.6 a	4.9 f
<i>A. scrobiculata</i>	16.3 ab	16.6 cd	10.0 a	4.2 f	2.6 c	1.2 bc	1.2 ab	1.9 ab	23.1 b	64.5 c	2.9 b	4.4 a	6.3 e	8.3 f	5.4 c	6.4 d
12.5 P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	15.8 b	18.6 b	7.6 b	2.5 g	1.5 e	1.9 a	1.4 a	1.9 ab	13.9 i	58.8 e	1.0 f	2.9 c	7.3 c	21.1 b	6.0 b	6.8 c
25 P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	13.6 c	20.9 a	6.3 d	4.2 f	1.9 d	1.4 b	0.9 c	2.1 a	15.8 g	53.6 g	2.6 b	2.2 de	5.7 f	25.9 a	4.0 e	4.5 g
Control/ Testigo	4.8 g	12.1 h	7.7 b	5.0 e	3.0 b	1.9 a	1.2 ab	2.0 a	14.3 h	71.9 b	1.0 f	3.5 b	6.9 d	16.1 c	3.6 f	6.2 d

<sup>2</sup>Means followed by the same letter in the column do not differ from each other (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

<sup>2</sup>Medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

averages both in the shoot and in the root were of the species of the genus *Acaulospora*. In the case of Mn, the highest average was obtained in the shoot when inoculated with a mixture of species of the genus *Acaulospora* and in the root it was when fertilized with the highest dose of P. Finally, higher concentrations of Zn were also verified in the shoot, when it was inoculated with a mixture of species of the *Acaulospora* genus and in the root, when it was inoculated with *R. intraradices*.

The time that the experiment lasted was sufficient to demonstrate that there was a higher content of macro and micronutrients in the shoots and roots of the rootstock 'IAC 766', in the presence of AMF species, similar to what occurred in the vine cuttings of the cultivar Cabernet Sauvignon inoculated with the species *Claroideoglossum etunicatum* and *Entrophospora infrequens* (Coutinho, Silva, & Yano-Melo, 2017). In the studies carried out by Alarcón, González-Chávez, Ferrera-Cerrato, and Villegas-Monter (2001) and Anzanello et al. (2011), with twice the duration of the present experiment, verified a significant increase in the absorption of macro and micronutrients in different rootstocks inoculated with the species *Glomus fasciculatum*, *G. etunicatum* and *Scutellospora heterogama*, respectively. According to Agostini and Souza (2003), the effect of AMF on grapevine rootstocks in a short period of time does not allow them to express their full potential.

En cuanto a los micronutrientes, la mayor presencia de Fe en el brote ocurrió con *G. margarita*, y en la raíz, con *D. heterogama*. Para el Cu, los promedios más altos, tanto en el brote como en la raíz, fueron los tratamientos con *Acaulospora*. En el caso del Mn, el promedio más alto en el brote se obtuvo cuando se inoculó con una mezcla de especies del género *Acaulospora*, y en la raíz fue cuando se fertilizó con la dosis más alta de P. Finalmente, también se detectaron concentraciones más altas de Zn en el brote cuando se inoculó con una mezcla de especies del género *Acaulospora*, y en la raíz cuando se inoculó con *R. intraradices*.

El tiempo que duró el experimento fue suficiente para demostrar el incremento de macro- y micronutrientes en los brotes y las raíces de portainjertos 'IAC-766' en presencia de especies de HMA, que es similar a lo ocurrido en las estacas de vid del cultivar Cabernet Sauvignon inoculadas con *Claroideoglossum etunicatum* y *Entrophospora infrequens* (Coutinho, Silva, & Yano-Melo, 2017). En los estudios realizados por Alarcón, González-Chávez, Ferrera-Cerrato y Villegas-Monter (2001), y Anzanello et al. (2011), con el doble de duración del presente experimento, se reportó un aumento significativo en la absorción de macro- y micronutrientes en diferentes portainjertos inoculados con *Glomus fasciculatum*, *G. etunicatum* y *Scutellospora heterogama*, respectivamente. De acuerdo con Agostini y Souza (2003), el efecto de los HMA sobre los portainjertos de vid en un periodo breve no les permite expresar todo su potencial.

In Figure 1, it can be verified that the percentage of root colonization of the 'IAC 766' rootstock was favored by the inoculation of the five AMF species, and the highest value of this variable (53 %) was obtained when the species of the genus *Acaulospora* were associated (AC+ASC).

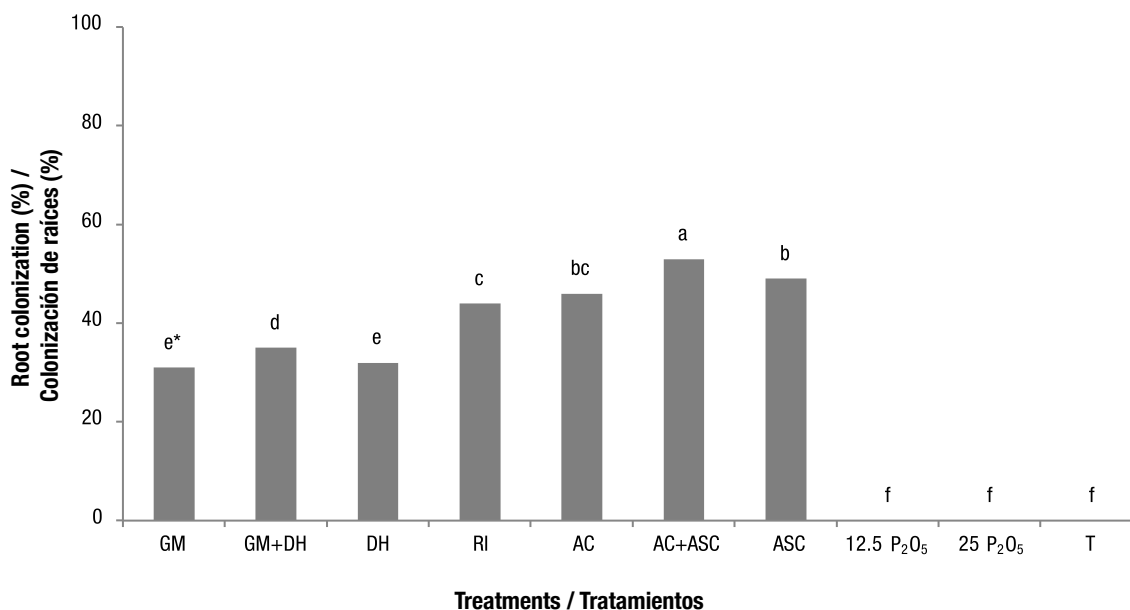
The fungi actively colonized the roots of the 'IAC 766' rootstocks; however, the species of the same genus had different behaviors when they were inoculated individually or mixed. Similar responses were also confirmed by Alarcón et al. (2001), Agostini and Souza (2003), and Rosa et al. (2016), who evaluating different rootstocks obtained a high root colonization. On the other hand, Nunes et al. (2008) and Back et al. (2017) evaluating rootstocks of other crops, verified that root colonization was almost 100 %. These differences in the intensity of the root colonization present in the rootstocks were also mentioned by Silveira et al. (2002), as a consequence of the degree of affinity between the seedlings and the AMF species.

Figure 2 shows the correlation matrices that exist between the averages of the treatments on the percentage of colonization, growth parameters and the content of macro and micronutrients in the

En la Figura 1, se puede observar que el porcentaje de colonización radicular del portainjertos 'IAC-766' se favoreció con la inoculación de las cinco especies de HMA, y el valor más alto de esta variable (53 %) se obtuvo cuando se asociaron las especies del género *Acaulospora* (AC + ASC).

Los hongos colonizaron las raíces de los portainjertos 'IAC-766'; sin embargo, las especies del mismo género tuvieron comportamientos diferentes al ser inoculadas individualmente o mezcladas. Respuestas similares fueron observadas por Alarcón et al. (2001), Agostini y Souza (2003), y Rosa et al. (2016), quienes, al evaluar diferentes portainjertos, obtuvieron una alta colonización de raíces. Por otro lado, Nunes et al. (2008) y Back et al. (2017), al evaluar portainjertos de otros cultivos, reportaron una colonización radicular de casi 100 %. Dichas diferencias en la intensidad de colonización radicular también fueron descritas por Silveira et al. (2002), como consecuencia del grado de afinidad entre las plántulas y las especies de HMA.

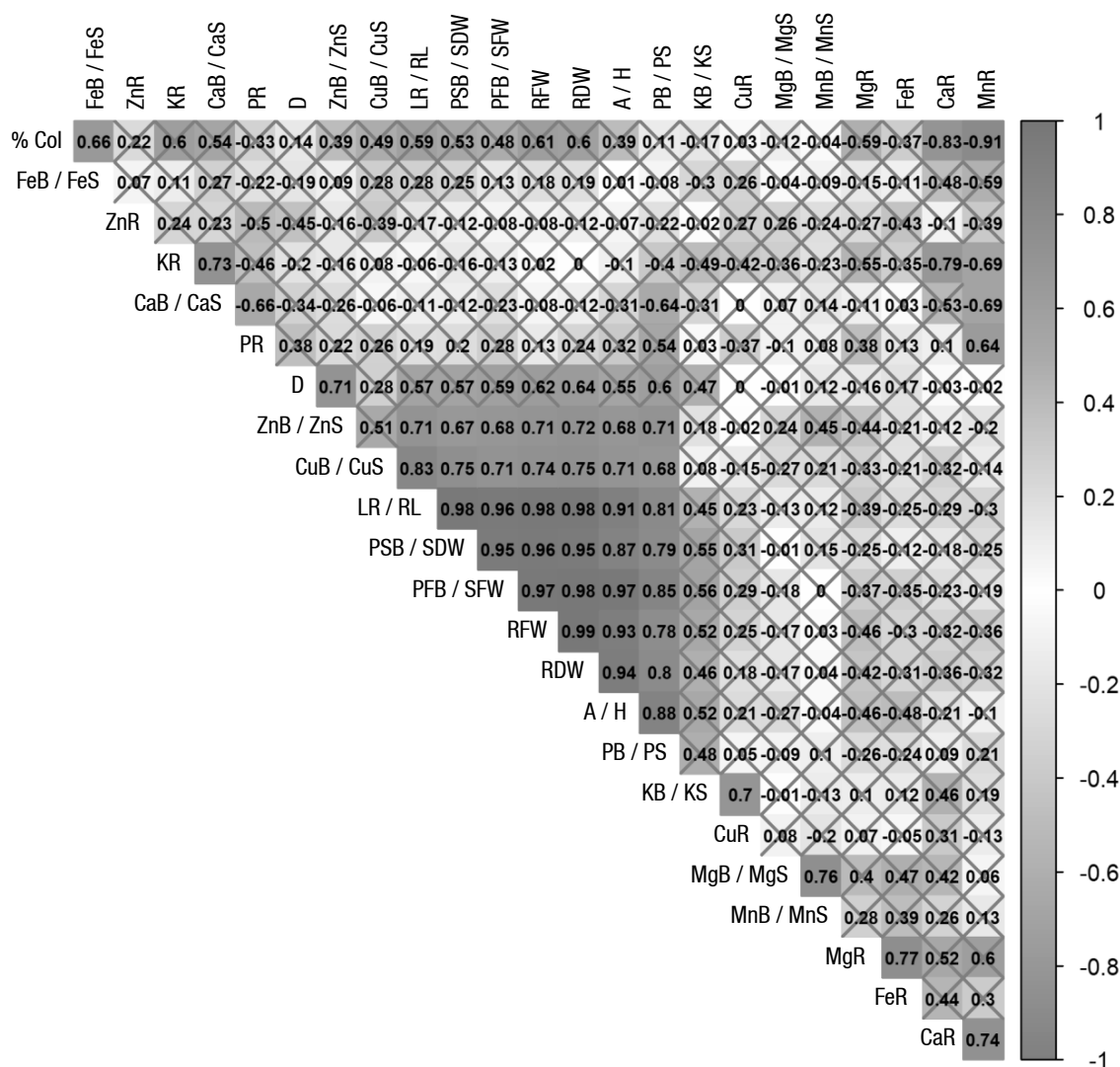
La Figura 2 muestra la matriz de correlaciones que existen entre las medias de los tratamientos sobre el porcentaje de colonización, los parámetros de crecimiento, y el contenido de macro- y micronutrientes



**Figure 1.** Root colonization of rooted cuttings of 'IAC 766' vine rootstock inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) or phosphate fertilization (Curitiba, Brazil). GM = *Gigaspora margarita*; DH = *Dentiscutata heterogama*; RI = *Rizophagus intraradices*; AC = *Acaulospora colombiana*; ASC = *Acaulospora scrobiculata*; 12.5 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> = 12.5 mg·kg<sup>-1</sup> P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; 25 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> = 25 mg·kg<sup>-1</sup> P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; T = control. \*Means followed by the same letter do not differ (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

**Figura 1.** Colonización de estacas de portainjertos de vid 'IAC-766' enraizadas e inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) o fertilización fosfatada (Curitiba, Brasil). GM = *Gigaspora margarita*; DH = *Dentiscutata heterogama*; RI = *Rizophagus intraradices*; AC = *Acaulospora colombiana*; ASC = *Acaulospora scrobiculata*; 12.5 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> = 12.5 mg·kg<sup>-1</sup> P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; 25 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> = 25 mg·kg<sup>-1</sup> P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; T = testigo. \*Barras con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).





**Figure 2.** Correlation matrix of treatment means in the percentage of root colonization, growth parameters, presence of macro and micronutrients in rooted cuttings of rootstock 'IAC 766' inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) species or fertilized with phosphorus (Curitiba, Brazil).

**Figura 2.** Matriz de correlación de las medias de los tratamientos en el porcentaje de colonización de la raíz, los parámetros de crecimiento, la presencia de macro- y micronutrientes en estacas enraizadas de portainjertos 'IAC-766' inoculadas con especies de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) o fertilizados con fósforo (Curitiba, Brasil).

rooted cuttings up to 90 days. It is verified that there is a positive correlation between RL, SFW, SDW, RFW, RDW and H. Likewise, the micronutrients Zn and Cu of the shoot had a positive correlation with most of the growth parameters, while the percentage of root colonization (% Col) had a high positive correlation with the Fe in the shoot (FeS).

As observed in the results, the efficiency of AMF was to confer greater vigor to the 'IAC 766' rootstocks, reflecting positively in the correlation of growth parameters. Therefore, it could be said that the

en los portainjertos enraizados hasta los 90 días. Se comprobó que existe una correlación positiva entre LR, PFB, PSB, PFR, PSR y A. Asimismo, los micronutrientes Zn y Cu del brote tuvieron una correlación positiva con la mayoría de los parámetros de crecimiento; mientras que el porcentaje de colonización radicular (% Col) tuvo una correlación positiva alta con el Fe en el brote (FeB).

Como se observó en los resultados, los HMA confieren mayor vigor a los portainjertos 'IAC-766', lo cual se reflejó positivamente en la correlación de los parámetros de crecimiento. Por lo tanto, se podría decir que los

rootstocks showed moderate mycorrhizal dependence, since the microorganisms facilitated sufficient absorption of nutrients which were contained in the substrate used in the experiment. A clear example of this fact was demonstrated by Schreiner (2003), who evaluating different rootstocks grafted with a clone of Pinot Noir in the final field, verified high yields in crops with moderate doses of nutrients, especially P. The growth of the vine depends on strongly from AMF in certain types of soils and the increase in growth parameters is mainly due to a greater absorption of P and other nutrients (Schreiner, 2007). These results were also verified by Nogueira and Nogueira-Cardoso (2006), and Miranda, Mello, and Kupper (2018), when inoculating species of the *Glomus* genus on rootstocks of Rangpur lime (*Citrus limonia*) with low concentrations of P in the substrates.

The results of the PCA based on the order between growth parameters, presence of macro and micronutrients and colonization percentage of the rooted cuttings with the species inoculated with AMF and phosphate fertilization up to 90 days, are shown in Figure 3. The perpendicular axes 1 and 2 indicate the separation of most of the treatments in relation to the parameters evaluated.

The axes represented 61.0 and 16.7 % of the data variability, which explains 77.7 % of the total accumulated variability. The growth parameters (RL, SDW, SFW, RFW, RDW, H and D), root colonization percentage (% Col) and micronutrients Cu and Zn of the shoots are favored by the presence of the species of the genus *Acaulospora* individually or as a mixture. On the other hand, although the P fertilizer and control results were different, they were far apart.

The efficiency demonstrated by the AMF in the rootstocks happened mainly with the presence of the species of the genus *Acaulospora*, as observed in the PCA, where the mentioned species had a favorable influence on root colonization, growth parameters and the absorption of micronutrients from the shoot. Similar results were observed by Schreiner and Mihara (2009), and Chatzistathis, Orfanoudakis, Alifragis, and Therios (2013) in plantations of the Pinot Noir cultivar and olive tree (*Olea europaea*) in soils with different levels of fertility.

In the present study it is important to highlight the presence of low levels of P in the rootstock 'IAC 766', which interacts favorably in the growth and formation of roots, as it was verified in different rootstocks when they were grafted with vinifera cultivars in soil with P availability of 8 mg·kg<sup>-1</sup> (Grant & Matthews, 1996). These results were confirmed by Simões-Neto et al. (2009), Veneklaas et al. (2012), and Tecchio, Teixeira,

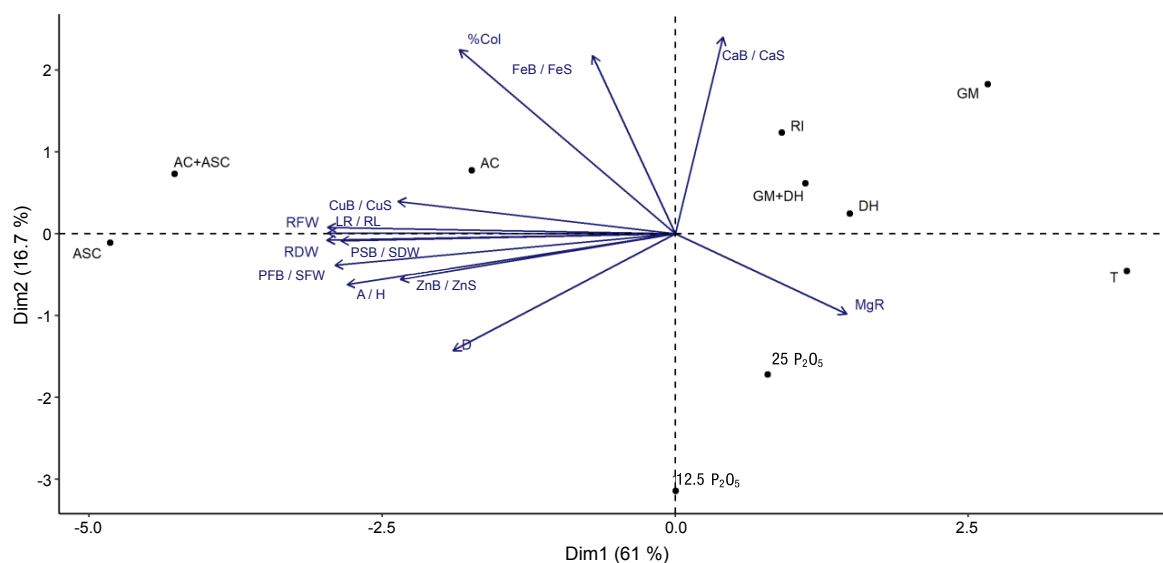
portainjertos mostraron una dependencia micorrízica moderada, ya que los microorganismos facilitaron la absorción de los nutrientes que contenía el sustrato utilizado en el experimento. Esto fue demostrado por Schreiner (2003), quien evaluó diferentes portainjertos injertados con un clon de Pinot Noir en campo definitivo y obtuvo rendimientos altos en cultivos con dosis moderadas de nutrientes, especialmente P. El crecimiento de la vid depende fuertemente de los HMA en determinados tipos de suelos, y el incremento en los parámetros de crecimiento se debe, principalmente, a una mayor absorción de P y otros nutrientes (Schreiner, 2007). Asimismo, Nogueira y Nogueira-Cardoso (2006), y Miranda, Mello y Kupper (2018) obtuvieron resultados similares al inocular especies del género *Glomus* en portainjertos de limón Rangpur (*Citrus limonia*) con bajas concentraciones de P en los sustratos.

Los resultados del ACP, basado en el orden entre parámetros de crecimiento, la presencia de macro- y micronutrientes, y el porcentaje de colonización de las estacas enraizadas con las especies inoculadas con HMA y fertilización fosfatada hasta 90 días, se muestran en la Figura 3. Los ejes perpendiculares 1 y 2 indican la separación de la mayoría de los tratamientos en relación con los parámetros evaluados.

Los ejes representaron el 61.0 y el 16.7 % de la variabilidad de los datos, lo cual explica el 77.7 % de la variabilidad total acumulada. Los parámetros de crecimiento (LR, PSB, PFB, PFR, PSR, A y D), el porcentaje de colonización radicular (% Col) y la concentración de los micronutrientes Cu y Zn de los brotes se ven favorecidos por la presencia de las especies del género *Acaulospora*, individualmente o en combinación. Por otra parte, aunque los resultados de la fertilización con P y el testigo fueron diferentes, estuvieron muy alejados.

La eficiencia demostrada por los HMA en los portainjertos ocurrió principalmente con la presencia de las especies del género *Acaulospora*, como se observó en el ACP, donde las especies mencionadas tuvieron una influencia favorable sobre la colonización de las raíces, los parámetros de crecimiento y la absorción de micronutrientes del brote. Resultados similares fueron observados por Schreiner y Mihara (2009), y Chatzistathis, Orfanoudakis, Alifragis y Therios (2013) en plantaciones del cultivar 'Pinot Noir' y olivo (*Olea europaea*), en suelos con diferentes niveles de fertilidad.

En el presente estudio, se observaron bajos niveles de P en el portainjertos 'IAC-766', el cual interactúa favorablemente en el crecimiento y la formación de raíces, como se verificó en diferentes portainjertos al ser injertados con cultivares viníferos en suelo con una disponibilidad de 8 mg·kg<sup>-1</sup> de P (Grant & Matthews, 1996). Estos resultados concuerdan con lo reportado



**Figure 3.** Principal component analysis (PCA) diagram in rootstock 'IAC 766' rootstocks inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) species or fertilized with phosphorus. Curitiba, Brazil. With the presence of growth parameters, macro and micronutrients and percentage of root colonization (% Col). GM = *Gigaspora margarita*; DH = *Dentiscutata heterogama*; RI = *Rizopogon intraradices*; AC = *Acaulospora Colombiana*; ASC = *Acaulospora scrobiculata*; 12.5 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> = 12.5 mg·kg<sup>-1</sup> P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; 25 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> = 25 mg·kg<sup>-1</sup> P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; T = control; H = height; D = diameter; RL = length of root; SFW = shoot fresh weight; SDW = shoot dry weight; RFW = root fresh weight; RDW = root dry weight; CaS = calcium shoots; MgR = magnesium root; FeS = iron shoots; CuS = copper shoots; ZnS = zinc shoots.

**Figura 3.** Diagrama de análisis de componentes principales (ACP) de portainjertos 'IAC 766' inoculados con especies de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) o fertilizados con fósforo (Curitiba, Brasil). Incluye parámetros de crecimiento, macro- y micronutrientes, y porcentaje de colonización de raíz (% Col). GM = *Gigaspora margarita*; DH = *Dentiscutata heterogama*; RI = *Rizopogon intraradices*; AC = *Acaulospora Colombiana*; ASC = *Acaulospora scrobiculata*; 12.5 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> = 12.5 mg·kg<sup>-1</sup> P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; 25 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> = 25 mg·kg<sup>-1</sup> P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; T = testigo; A = altura; D = diámetro; LR = longitud de raíz; PFB = peso fresco de brotes; PSB = peso seco de brotes; PFR = peso fresco de raíces; PSR = peso seco de raíces; CaB = calcio en brotes; MgR = magnesio en raíces; FeB = hierro en brotes; CuB = cobre en brotes; ZnB = zinc en brotes.

Terra, Moura, and Paioli-Pires (2011), who recommend the application of small concentrations of phosphorus to improve the efficiency of its use, in addition to optimizing the absorption capacity of the rootstock, and which will serve as the basis for future fertilization of vineyards in the final field.

Favorable results also confirm the adaptability of the 'IAC 766' rootstock in Brazilian soils with a low presence of P, offering vines with greater vigor and growth (Cardoso-Campos et al., 2020). Likewise, Tofanelli et al. (2011), Bruna and Back (2015), Souza et al. (2015) and Dias et al. (2017) verified vines with high productivity when grafted with the cultivars 'Niagara Rosada', 'Cabernet Sauvignon' and 'Syrah'. While in Chile, under hyperarid conditions, the works of Ibacache and Sierra (2009) and Verdugo-Vásquez et al. (2021) demonstrated the great influence that different rootstocks can have on the nutritional composition of vine cultivars for the production of table grapes

por Simões-Neto et al. (2009), Veneklaas et al. (2012), y Tecchio, Teixeira, Terra, Moura y Paioli-Pires (2011), quienes recomiendan la aplicación de pequeñas concentraciones de fósforo para mejorar la eficiencia de su uso, además de optimizar la capacidad de absorción del portainjertos y servir de base para futuras fertilizaciones de viñedos en campo definitivo.

Los resultados favorables de diversas investigaciones confirman la adaptabilidad del portainjertos 'IAC-766' en suelos brasileños con baja presencia de P, lo cual ofrece vides con mayor vigor y crecimiento (Cardoso-Campos et al., 2020). Asimismo, Tofanelli et al. (2011), Bruna y Back (2015), Souza et al. (2015), y Dias et al. (2017) obtuvieron vides con productividad alta al ser injertadas con los cultivares 'Niágara Rosada', 'Cabernet Sauvignon' y 'Syrah'. Mientras que, en Chile, bajo condiciones de hiper-aridez, los trabajos de Ibacache y Sierra (2009) y Verdugo-Vásquez et al. (2021) demostraron la influencia que pueden

and “pisco” in the presence of P with an average of 60 mg·kg<sup>-1</sup> in addition to other macronutrients.

### Conclusion

The inoculation of AMF species provides favorable responses on growth parameters, root colonization and the extraction of macro and micronutrients in the cuttings of the ‘IAC 766’ rootstock, highlighting the inoculation with species of the genus *Acaulospora* either individually or in association.

Phosphorus fertilization also influences growth parameters and the extraction of macro and micronutrients, but to a lesser degree than that found by inoculation with AMF species.

End of English version

### References / Referencias

- Agostini, S., & Souza, P. V. (2003). Desenvolvimento vegetativo e conteúdo em reservas de porta-enxertos de videira inoculados com fungos micorrízicos arbusculares. *Pesquisa Agropecuária Gaúcha*, 9(1-2), 93-99. Retrieved from [http://www.fepagro.rs.gov.br/upload/1398800227\\_art11.pdf](http://www.fepagro.rs.gov.br/upload/1398800227_art11.pdf)
- Aguín, O., Mansilla, J. P., Vilarinho, A., & Sainz, M. J. (2004). Effects of mycorrhizal inoculation on root morphology and nursery production of three grapevine rootstocks. *American Journal of Enology and Viticulture*, 55(1), 108-111. Retrieved from <https://www.ajevonline.org/content/55/1/108>
- Alarcón, A., González-Chávez, M. C., Ferrera-Cerrato, R., & Villegas-Monter, A. (2001). Efectividad de *Glomus fasciculatum* y *Glomus etunicatum* en el crecimiento de plántulas de *Vitis vinifera* L. obtenidas por micropropagación. *Terra Latinoamericana*, 19(1), 29-35. Retrieved from <https://www.redalyc.org/pdf/573/57319104.pdf>
- Ambrosini, V.G., Voges, J. G., Canton, L., Couto, R. R., Ferreira, P. A., Comin, J. J., Melo, G. W., Brunetto, G., & Soares, C. R. (2015). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on young vines in copper-contaminated soil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46(4), 1045-1052. doi: 10.1590/S1517-838246420140622
- Anzanello, R., Souza, P. V., & Casamali, B. (2011). Fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em porta-enxertos micropropagados de videira. *Bragantia*, 70(2), 409-415. doi: 10.1590/S0006-87052011000200023
- Back, M. M., Reith, S., Giuliani, J. C., & Souza, P. V. (2017). Interação entre porta-enxertos de citrose e fungos micorrízicos arbusculares. *Iheringia, Série Botânica*, 72(2), 277-282. Retrieved from <https://isb.emnuvens.com.br/iheringia/article/view/409>
- Begum, N., Qin, C., Ahanger, M. A., Raza, S., Khan, M. I., Ashraf, M., Ahmed, N., & Zhang, L. (2019). Role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant growth regulation: implications in abiotic stress tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1068. doi: 10.3389/fpls.2019.01068

tener diferentes portainjertos sobre la composición nutricional de cultivares de vid en la producción de uva de mesa y pisco, en presencia de 60 mg·kg<sup>-1</sup> de P y otros macronutrientes.

### Conclusión

La inoculación de especies de HMA genera respuestas favorables sobre los parámetros de crecimiento, la colonización de la raíz y la extracción de macro- y micronutrientes en estacas del portainjertos ‘IAC-766’. Esto, especialmente, al inocular con especies del género *Acaulospora*, ya sea individualmente o en asociación.

La fertilización con fósforo también influye sobre los parámetros de crecimiento y la extracción de macro- y micronutrientes, pero a un menor grado que lo encontrado mediante inoculación con especies HMA.

Fin de la versión en español

- Bhat, R.A., Dervash, M. A., Mehmood, M. A., Skinder, B. M., Rashid, A., Bhat, J. I., Singh, D. V., & Lone, R. (2017). Mycorrhizae: A sustainable industry for plant and soil environment. In: Varma A., Prasad R., & Tuteja N. (Eds), *Mycorrhiza - nutrient uptake, biocontrol, ecorestoration*. USA: Springer. doi: 10.1007/978-3-319-68867-1\_25
- Bruna, E. D., & Back, A. J. (2015). Comportamento da cultivar Niágara Rosada sobre diferentes porta-enxertos no sul de Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 37(4), 924-933. Doi: 10.1590/0100-2945-245/14
- Caglar, S., & Bayram, A. (2006). Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungi on the leaf nutritional status of four grapevine rootstocks. *European Journal of Horticultural Science*, 71(3), 109-113. Retrieved from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17402238/>
- Camprubí, A., Estaún, V., Nogales, A., García-Figueroles, F., Pitet, M., & Calvet, C. (2008). Response of the grapevine rootstock richter 110 to inoculation with native and selected arbuscular mycorrhizal fungi and growth performance in a replant vineyard. *Mycorrhiza*, 18(4), 211-216. doi: 10.1007/s00572-008-0168-3
- Cardoso-Campos, L. F., Pradi-Vendruscolo, E., Correia, S. R., Abreu-Campos, C. M., Teramoto, A., Moura, M. F., & Seleguini, A. (2020). Vegetative development of vine rootstock cultivars in brazilian cerrado conditions. *Colloquium Agrariae*, 16(4), 121-129. doi: 10.5747/ca.2020.v16.n4.a389
- Chatterjee, A., & Franzen, D. W. (2020). Do we need to apply additional phosphorus for corn succeeding sugarbeet?. *Agronomy Journal*, 112(5), 4492-4497. doi: 10.1002/agj2.20330
- Chatzistathis, T., Orfanoudakis, M., Alifragis, D., & Therios, I. (2013). Colonization of Greek olive cultivars' root system by arbuscular mycorrhiza fungus: root morphology, growth, and mineral nutrition of olive plants. *Scientia Agricola*, 70(3), 185-194. doi: 10.1590/S0103-90162013000300007



- Coutinho, F. P., Silva, E. M., & Yano-Melo, A. M. (2017). Inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e solubilizadores de fosfato na rizosfera de videira (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon). *Revista Biociências*, 23(2), 46-53. Retrieved from <http://periodicos.unitau.br/ojs/index.php/biociencias/article/view/2327>
- Diagne, N., Ngom, M., Djighaly, P. I., Fall, D., Hocher, V., & Svistoonoff, S. (2020). Roles of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth and performance: importance in biotic and abiotic stressed regulation. *Diversity*, 12(10), 370. doi: 10.3390/d12100370
- Dias, F. A., Mota, R. V., Souza, C. R., Pimentel, R. M., Souza, L. C., Souza, A. L., & Regina, M. A. (2017). Rootstock on vine performance and wine quality of 'syrah' under double pruning management. *Scientia Agricola*, 74(2), 134-141. doi: 10.1590/1678-992X-2015-0384
- Eftekhari, M., Alizadeh, M., Mashayekhi, K., Asghari, H., & Kamkar, B. (2010). Integration of arbuscular mycorrhizal fungi to grape vine (*Vitis vinifera* L.) in nursery stage. *Journal of Advanced Laboratory Research in Biology*, 1(2), 79-85. Retrieved from <https://www.neliti.com/publications/278939/integration-of-arbuscular-mycorrhizal-fungi-to-grape-vine-vitis-vinifera-l-in-nu>
- Fracasso, A., Telò, L., Lanfranco, L., Bonfante, P., & Amaducci, S. (2020). Physiological beneficial effect of *Rhizophagus intraradices* inoculation on tomato plant yield under water deficit conditions. *Agronomy*, 10(1), 71-90. doi: 10.3390/agronomy10010071
- Giovanetti, M., & Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84(3), 489-500. doi: 10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x
- Grant, R. S., & Matthews, M. A. (1996). The influence of phosphorus availability and rootstock on root system characteristics, phosphorus uptake, phosphorus partitioning, and growth efficiency. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47(4), 403-409. doi: 10.5344/ajev.1996.47.4.403
- Grohs, D. S., Almança, M. A., Fajardo, T. V., Halleen, F., & Miele, A. (2017). Advances in propagation of grapevine in the world. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 39(4), 760. doi: 10.1590/0100-29452017760
- Hijri, M. (2016). Analysis of a large dataset of mycorrhiza inoculation field trials on potato shows highly significant increases in yield. *Mycorrhiza*, 26(3), 209-214. doi: 10.1007/s00572-015-0661-4
- Ibacache, G. A., & Sierra, B. C. (2009). Influence of rootstocks on nitrogen, phosphorus and potassium content in petioles of four table grape varieties. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 69(4), 503-508. doi: 10.4067/S0718-58392009000400004
- Keller, M., Kummer, M., & Vasconcelos, M. C. (2001). Soil nitrogen utilization for growth and gas exchange by grapevines in response to nitrogen supply and rootstock. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 7(1), 2-11. doi: 10.1111/j.1755-0238.2001.tb00187.x
- Lindermann, R. G., & Davis, A. (2001). Comparative response of selected grapevine rootstocks and cultivars to inoculation with different mycorrhizal fungi. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52(1), 8-11. doi: 10.5344/ajev.2001.52.1.8
- Locatelli, L. M., & Lovato, P. M. (2002). Inoculação micorrízica e aclimatização de dois porta-enxertos de macieira micropropagados. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 37(2), 177-184. doi: 10.1590/S0100-204X2002000200009
- Mahecha-Vásquez, G., Sierrab, S., & Posada, R. (2017). Diversity indices using arbuscular mycorrhizal fungi to evaluate the soil state in banana crops in Colombia. *Applied Soil Ecology*, 109, 32-39. doi: 10.1016/j.apsoil.2016.09.017
- Martins, A. P., & Reissmann, C. B. (2007). Material vegetal e as rotinas laboratoriais nos procedimentos químico analíticos. *Scientia Agraria*, 8(1), 1-17. doi: 10.5380/rsa.v8i1.8336
- Meyer, A. H., Botha, A., Valentine, A. J., Archer, E., & Louw, P. J. (2005). The occurrence and infectivity of arbuscular mycorrhizal fungi in inoculated and uninoculated rhizosphere soils of two-year-old commercial grapevines. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 26(2), 90-94. doi: 10.21548/26-2-2123
- Miranda, P. B., Mello, A. H., & Kupper, K. C. (2018). Mycorrhizal dependence of citrus rootstock. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 40(3), 1-9. doi: 10.1590/0100-29452018762
- Nogueira, M. A., & Nogueira-Cardoso, E. J. (2006). Plant growth and phosphorus uptake in mycorrhizal rangpur lime seedlings under different levels of phosphorus. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41(1), 93-99. doi: 10.1590/S0100-204X2006000100013
- Nunes, J. L., Souza, P. V., Marodin, G. A., & Fachinello, J. C. (2008). Inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em porta-enxerto de pessegueiro cv Okinawa. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 30(4), 223-231. doi: 10.1590/S0100-29452008000400042
- Nuzzo, V., & Mathews, M. A. (2006). Response of fruit growth and ripening to crop level in dry-farmed Cabernet sauvignon on four rootstocks. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3), 314-324. doi: 10.5344/ajev.2006.57.3.314
- Ollat, N., Peccoux, A., Papura, D., Esmenjaud, D., Marguerit, E., Tandonnet, J. P., Bordenave, L., Cookson, S. J., Barrieu, F., Rossdeutsch, L., Lecourt, J., Lauvergeat, V., Vivin, P., Bert, P. F., & Delrot, S. (2016). Rootstocks as a component of adaptation to environment. In: Gerós, H. (Ed.), *Grapevine in a changing environment: a molecular and ecophysiological perspective* (pp. 68-108). Oxford, UK: Wiley. doi: 10.1002/9781118735985.ch4
- Ortas, I., Rowell, D. L., & Harris, P. J. (2004). Effect of mycorrhizae and pH change at the root-soil interface on phosphorus uptake by sorghum using a rhizocylinder technique. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 35(7-8), 1061-1080. doi: 10.1081/CSS-120030587
- Ozdemir, G., Akpınar, C., Sabir, A., Bilir, H., Tangolar, S., & Ortaş, İ. (2010). Effect of inoculation with mycorrhizal fungi on growth and nutrient uptake of grapevine genotypes (*Vitis* spp.). *European Journal of Horticultural Science*, 75(3), 103-110. Retrieved from [https://www.pubhort.org/ejhs/2010/file\\_1591092.pdf](https://www.pubhort.org/ejhs/2010/file_1591092.pdf)
- R Core Team. (2018). *R: A language and environment for statistical computing*. R foundation for statistical computing. Vienna,

- Austria: R Foundation. Retrieved from <https://www.R-project.org/>
- Rosa, D. J., Ambrosini, V. G., Brunetto, G., Soares, C. R., Borghezani, M., & Pescador, R. (2016). Parâmetros fisiológicos em videiras 'Paulsen 1103' (*Vitis berlandieri* x *Vitis rupestris*) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares em solo contaminado com cobre. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 31(1), 14-23. doi: 10.1051/ctv/20163101014
- Rosa, D., Pogiatis, A., Bowen, P., Kokkoris, V., Richards, A., Holland, T., & Hart, M. (2020). Performance and establishment of a commercial mycorrhizal inoculant in viticulture. *Agriculture*, 10(11), 539. doi: 10.3390/agriculture10110539
- Rouphael, Y., Franken, P., Schneider, C., Schwarz, D., Giovannetti, M., & Agnolucci, M. (2015). Arbuscular mycorrhizal fungi act as biostimulants in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, 196, 91-108. doi: 10.1016/j.scienta.2015.09.002
- Schreiner, R. P. (2003). Mycorrhizal colonization of grapevine rootstocks under field conditions. *American Journal of Enology and Viticulture*, 54(3), 143-149. doi: 10.5344/ajev.2003.54.3.143
- Schreiner, R. P. (2007). Effects of native and nonnative arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrient uptake of 'Pinot noir' (*Vitis vinifera* L.) in two soils with contrasting levels of phosphorus. *Applied Soil Ecology*, 36(2-3), 205-215. doi: 10.1016/j.apsoil.2007.03.002
- Schreiner, R. P., & Mihara K. L. (2009). The diversity of arbuscular mycorrhizal fungi amplified from grapevine roots (*Vitis vinifera* L.) in Oregon vineyards is seasonally stable and influenced by soil and vine age. *Mycologia*, 101(5), 599-611. doi: 10.3852/08-169
- Silva, A. R., Melo, N. F., & Yano-Melo, A. M. (2017). Acclimatization of micropropagated plants of *Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm. inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. *South African Journal of Botany*, 113, 164-169. doi: 10.1016/j.sajb.2017.08.014
- Silva, M. J., Padilha, C. V., Lima, M. S., Pereira, G. E., Venturini, W. G., Moura, M. F., & Tecchio, M. A. (2019). Grape juices produced from new hybrid varieties grown on Brazilian rootstocks – Bioactive compounds, organic acids and antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 289, 714-722. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.03.060
- Silveira, S. V., Souza, P. V., & Koller, O. C. (2002). Influência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o desenvolvimento vegetativo de porta-enxertos de abacateiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 37(3), 303-309. doi: 10.1590/S0100-204X2002000300011
- Simões-Neto, D. E., Oliveira, A. C., Freire, F. J., Freire, M. B., Nascimento, C. W., & Rocha, A. T. (2009). Extração de fósforo em solos cultivados com cana-de-açúcar e suas relações com a capacidade tampão. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 13, 840-848. doi: 10.1590/S1415-43662009000700005
- Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis*. UK: Academic Press. doi: 10.1016/B978-0-12-370526-6.X5001-6
- Souza, C. R., Mota, R. V., Cardozo, D. V., Pimentel, R. M., & Regina, M. A. (2015). Cabernet Sauvignon grapevine grafted onto rootstocks during the autumn-winter season in southeastern Brazilian. *Scientia Agricola*, 72(2), 138-146. doi: 10.1590/0103-9016-2014-0031
- Tecchio, M. A., Teixeira, L. A., Terra, M. M., Moura, M. F., & Paioli-Pires, E. J. (2011). Extração de nutrientes pela videira 'Niagara Rosada' enxertada em diferentes porta-enxertos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33(1), 736-742. doi: 10.1590/S0100-29452011000500103
- Tofaneli, M. B., Botelho, R., Pires, E. J., Vilela, L. A., & Ribeiro, D. O. (2011). Phenology of "Niagara Rosada" grapevines grafted on different rootstocks grown on Cerrado (Brazilian savanna) of Goiás State, Brazil. *African Journal of Biotechnology*, 10(17), 3387-3392. doi: 10.5897/AJB09.1950
- Trouvelot, S., Bonneau, L., Redecker, D., Tuinen, D. V., Adrian, M., & Wipf, D. (2015). Arbuscular mycorrhiza symbiosis in viticulture: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 35, 1449-1467. doi: 10.1007/s13593-015-0329-7
- Veneklaas, E. J., Lambers, H., Bragg, J., Finnegan, P. M., Lovelock, C. E., Plaxton, W. C., Price, C. A., Scheible, W. R., Shane, M. W., White, P. J., & Raven, J. A. (2012). Opportunities for improving phosphorus-use efficiency in crop plants. *New Phytologist*, 195(2), 306-320. doi: 10.1111/j.1469-8137.2012.04190.x
- Verdugo-Vásquez, N., Gutiérrez-Gamboa, G., Villalobos-Soublett, E., & Zurita-Silva, A. (2021). Effects of rootstocks on blade nutritional content of two minority grapevine varieties cultivated under hyper-arid conditions in Northern Chile. *Agronomy*, 11(2), 327. doi: 10.3390/agronomy11020327
- Vilcatoma-Medina, C., Dolinski, M. A., Mendoza-Cortez, J. W., Kaschuk, G., Constantino, V., Stürmer, S., & F. Zanette, F. (2021). Micorrizal colonisation on araucaria seedling with different doses of nitrogen, phosphorus and potassium. *Agriculture and Forestry*, 67(2), 163-177. doi: 10.17707/AgricultForest.67.2.12
- Wright, D. P., Scholes, J. D., & Read, D. J. (1998). Effects of VA mycorrhizal colonization on photosynthesis and biomass production of *Trifolium repens* L. *Plant, Cell & Environment*, 21(2), 209-216. doi: 10.1046/j.1365-3040.1998.00280.x
- Wu, Q. S., Zou, Y. N., Liu, C. Y., & Lu, T. (2012). Interacted effect of arbuscular mycorrhizal fungi and polyamines on root system architecture of *Citrus* seedlings. *Journal of Integrative Agriculture*, 11(10), 1675-1681. doi: 10.1016/S2095-3119(12)60170-1
- Wu, Q. S., Zou, Y. N., & Huang, Y. M. (2013). The arbuscular mycorrhizal fungus *Diversispora spurca* ameliorates effects of waterlogging on growth, root system, architecture and antioxidant enzyme activities of *Citrus* seedlings. *Fungal Ecology*, 6(1), 37-43. doi: 10.1016/j.funeco.2012.09.002
- Zhang, L., Marguerit-Jacob, E., Rossdeutsch, L., Ollat, N., & Gambetta, G. (2016). The influence of grapevine rootstocks on scion growth and drought resistance. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 28(2), 143-157. doi: 10.1007/s40626-016-0070-x