

TESIS DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**COMUNIDADES NATIVAS DE HONGOS
MICORRÍMICOS ARBUSCULARES: RESPUESTA
FRENTE A DISTINTAS PRÁCTICAS AGRÍCOLAS
Y EFECTOS SOBRE EL CRECIMIENTO DE *Glycine*
max (L.) MERRIL**

Biol. María Noelia Cofré

Directora: Alejandra Gabriela Becerra

Co-Director: Roberto Carlos Urcelay

Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV-CONICET)



**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA**

Córdoba, Argentina

2014

COMISIÓN ASESORA

Dra. Mónica Lugo, IMIBIO (CONICET), Universidad Nacional de San Luis.

Dra. Silvina Vargas Gil, Instituto de Patología Vegetal (IPAVE), Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP).

Dr. Bernardo Ernesto Lechner, PROPLAME-PRHIDEB (CONICET), FCEyN, Universidad de Buenos Aires.

DEFENSA ORAL Y PÚBLICA

Lugar y Fecha:

Calificación:

TRIBUNAL

Firma: Aclaración:

Firma: Aclaración:

Firma: Aclaración:

Dedico esta Tesis

a mi familia QUE ES MI CABLE A TIERRA, (eso que tu creas dijo un cubano), entonces a mi amor, Carlos, y mis dos retoños, Marti y Mayte, a Laura Domínguez y Luis Wall, por enseñarme a mirar la biología del suelo con ojos de niños, por acompañarme académicamente en toda la etapa de esta Tesis, por confiar en mí y siempre creer que podía!



... Y PENSAR QUE YO NO QUERÍA TRABAJAR CON AGROECOSISTEMAS... CADA VEZ QUE VIAJE AL SUR DE CÓRDOBA, A BUENOS AIRES, A ENTRE RÍOS, YA NO PENSARÉ Y MIRARÉ CON TRISTEZA LOS CAMPOS CULTIVADOS, DE AHORA EN MÁS, PENSARÉ QUE BAJO ESOS PASTIZALES, MAICES Y SOJAS, SE ESCONDEN MILLARES DE ESPORAS DE HMA, ENTRE LAS CUALES ESTÁN MIS ESPORAS, , PORQUE LAS “HE DOMESTICADO”, PORQUE HE PASADO HORAS MIRANDO COLORES, PAREDES, ORNAMENTACIONES, ESCUDOS DE GERMINACIÓN, BULBOS SUSPENSORES, CELULAS AUXILIARES... QUE IMPORTA CUANTAS HAY... SE QUE ESTÁN ALLÍ Y QUE ME HE DESLUMBRADO MIRÁNDOLAS BAJO EL MICROSCOPIO... AHORA PUEDO AFIRMAR QUE DENTRO DE ESA CAJA NEGRA QUE ES EL SUELO, SE ESCONDE EL DIVERSO Y PEQUEÑO MUNDO LILIPUTIENSE DE LOS HMA... SOLO HAY QUE MIRAR DETENIDA Y PACIENTEMENTE DENTRO DEL SUELO...

AGRADECIMIENTOS

Esta es la parte más difícil de todas, por que temo olvidarme de alguien y por las emociones...

En primer lugar quiero agradecer a mi familia, Carlos, Marti y Mayte, por la paciencia, y por apoyarme en toda esta etapa, por darme fuerzas siempre, porque con solo mirarlos me dan la fuerza NECESARIA PARA NO CLAUDICAR...y que importante tener un compañero colega, una pieza FUNDAMENTAL DE MI VIDA para compartir y discutir..., el amor, los sueños y los resultados...

A Laura Domínguez, por ser el corazón y la pieza fundamental del laboratorio de Micología, porque se merece más que dedicaciones de tesis y especies nuevas, por apoyarme y estar siempre, por enseñarme a soñar que se puede...

A Luis Wall, quien se merece mi respeto y admiración, por su grandeza no solo de espíritu, sino también de conocimientos...

A Flor, porque estuvo y está presente en todas las etapas de mi Tesis (pieza fundamental), por ayudarme y apoyarme siempre...porque me enseñó a no mezclar amistad y trabajo...

Al BIOSPAS, por el orgullo que siento de haber tenido la oportunidad de participar de un proyecto conformado por productores y grupos de investigación de una calidad enorme y conocimientos brillantes sobre la biología del suelo, porque de la mano del BIOSPAS, me llevo no solo el título de Doctora, si no también grandes afectos...Luis, Mary, Dali Silvina, Ceci, Elisa, Walter, Juan, Matías, Claudio, Juan, José, Marcela, Romina, Anahí, Camilo,...gracias por los momentos compartidos...En verdad he aprendido con este proyecto lo dificultoso pero interesante que es trabajar con los HMA, además de haberme divertido y disfrutado de agradables momentos con ellos!!!

A Nico, por su disposición para ayudar en todo lo que se necesita, por ser participe en varias etapas de esta Tesis, por su amistad...

Al laboratorio de Micología del Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (UNC-CONICET), por proveerme las instalaciones y el equipamiento,

Al tribunal evaluador de esta Tesis, Mónica, Silvina y Bernardo, por la excelente voluntad, predisposición, sugerencias y correcciones...

A Ale, mi directora, porque de su mano, descubrí este pequeño mundo de los HMA y de quien aprendí a trabajar parsimoniosamente con estos hongos...

A Charly, mi co-director, porque fue una pieza clave, en los análisis y discusión...

A mis padres, por apoyarme en este y tantos episodios de mi vida, por seguir comprendiendo que la biología es parte de mi vida...

A Inés y Mariana, por bancarme más de la cuenta, por estar en muchas instancias, por cuidar de mi retoño más pequeño...

A mis hermanos Ile, Leo, Lau...

A mi abuelo, por dar el empujoncito necesario en todo momento para seguir adelante con mi sueños...

A Sil y Lu, por apoyarme y acompañarme en más de una circunstancia, por estar siempre, por su amistad...

A Graciela, por poner el toque, el detalle, en cuanta presentación, resumen, póster hay que presentar...

A todos los integrantes del laboratorio de Micología por su apoyo siempre, su ayuda académica y colaboración, por acompañarme (Edu, Gra, Gerardo, Licha, Nico P., Valéria y Nataly)

A Gabriel, por ayudarme en muchas circunstancias...
A Fabiana y Miguel, por estar siempre presentes...

¡GRACIAS, ETERNAMENTE, GRACIAS!

Índice

Abreviaturas	1
Resumen	3
Abstract.....	5
CAPITULO I.....	7
I. Introducción general.....	7
I.1. El suelo y las prácticas agrícolas	8
<i>I.1.1. Tipos de labranzas. Rotación de cultivos</i>	<i>8</i>
<i>I.1.2. Características de la expansión agropecuaria en Argentina</i>	<i>10</i>
<i>I.1.3. El avance de la frontera agropecuaria y las reservas de nutrientes (C, N y P)</i>	<i>11</i>
I.2. El rol de los microorganismos en agroecosistemas	12
<i>I.2.1. Los Hongos Micorrícicos Arbusculares</i>	<i>13</i>
I.3. Fundamentos de la elección del tema de investigación.....	19
I.4. Hipótesis y predicciones.....	20
I.5. Objetivos.....	21
<i>I.5.1. Objetivo General.....</i>	<i>21</i>
<i>I.5.2. Objetivos Específicos</i>	<i>21</i>
CAPÍTULO II.....	23
II. Materiales y métodos generales	23
II.1. Área de estudio.....	24
<i>II.1.1. Ubicación geográfica y características del área central de Argentina</i>	<i>24</i>
<i>II.1.2. Elección de los sitios de estudio y definición de los tratamientos</i>	<i>29</i>
II. 2. Recolección de las muestras de suelo	29
<i>II.2.1. Muestras de suelo para análisis de las variables de HMA</i>	<i>29</i>
<i>II.2.2. Muestras de suelo para análisis químicos y físicos.....</i>	<i>34</i>
CAPITULO III	37
III. Evaluación de la composición de las comunidades nativas de hongos micorrícicos arbusculares en diferentes usos de suelo. Efecto de las prácticas agrícolas	37
III .1. Introducción	38
III.2. Materiales y métodos	40
<i>III.2.1. Área de estudio.....</i>	<i>41</i>
<i>III.2.2. Diseño del muestreo</i>	<i>41</i>

III.2.3. Comunidad de hongos micorrícicos arbusculares.....	41
III.2.4. Cultivos de plantas trampa	42
III.2.5. Análisis de datos	43
III.3. Resultados	44
III.3.1. Caracterización del suelo	44
III. 3.2. Caracterización de la comunidad de HMA.....	45
III.3.3. Plantas trampa	46
III.3.4. Variables micorrícicas, estacionalidad y usos de suelo	49
III.3.5. Variables micorrícicas, usos de suelo y sitios de estudio.	50
III.3.6. Análisis de correlación entre las variables micorrícicas y las variables edáficas	52
III.3.7. Análisis de componentes principales	55
III.4. Discusión	57
III.5. Conclusiones	60
CAPÍTULO IV	61
IV. Infectividad de los suelos bajo estudio: Efecto de las prácticas agrícolas sobre los niveles de propágulos de hongos micorrícicos arbusculares	61
IV .1. Introducción.....	62
IV.2. Materiales y métodos.....	63
IV.2.1. Principios del método de infectividad	63
IV.2.2. Ensayo de infectividad.....	64
IV.2.3. Inóculo utilizado.....	64
IV.2.4. Análisis estadísticos	65
IV.3. Resultados.....	65
IV.3.1. Infectividad de los diferentes suelos.....	66
IV.3.2. Relación de la infectividad de los diferentes suelos con la densidad de esporas	68
IV.4. Discusión	71
IV.5. Conclusiones.....	73
CAPÍTULO V	73
Efecto de las comunidades nativas de hongos micorrícicos arbusculares provenientes de suelos con diferentes usos sobre el crecimiento de plantas de <i>Glycine max</i> (L.) Merril.73	
V.1. Introducción	75
V.2. Materiales y métodos	78

V.2.1. <i>Ensayo experimental</i>	78
V.2.2. <i>Preparación de las unidades experimentales</i>	78
V.2.3. <i>Cosecha de las plantas y variables medidas</i>	79
V.2.4. <i>Análisis estadísticos</i>	80
V.3. Resultado.....	81
V.3.1 <i>Colonización micorrícica arbuscular en raíces de “Glycine max”</i>	81
V.3.2. <i>Efecto de los HMA sobre el crecimiento de plantas de soja</i>	84
V.4. Discusión.....	90
V.4.1. <i>Colonización micorrícica arbuscular en raíces de “Glycine max”</i>	90
V.4.2. <i>Efecto de los HMA sobre el crecimiento de plantas de soja</i>	92
V.5. Conclusiones	94
CAPÍTULO VI.....	91
VI. Discusión y conclusión general.....	91
VI.1. Discusión general.....	97
VI.1.1. <i>Efecto de las prácticas agrícolas en siembra directa sobre la comunidad de HMA</i>	100
VI.1.2. <i>Efecto de las prácticas agrícolas en siembra directa sobre la infectividad de los diferentes suelos, la colonización micorrícica y el crecimiento de plantas de “Glycine max”</i>	101
VI.2. Conclusiones generales.....	104
CAPÍTULO VII.....	106
VII. Referencias.....	106
VII. Referencias	107
ANEXO	125

Abreviaturas

A	Arbúsculos
AN	Ambiente Natural
AAPRESID	Asociación Argentina de Productores en Siembra Directa
BIOSPAS	Biología del Suelo y Producción Agraria Sustentable
B	Bengolea
BPA	Buenas Prácticas Agrícolas
°C	grados Celsius
% MO	porcentaje de materia orgánica
% LRC	porcentaje del largo de la raíz colonizada
C	Carbono
CE	conductividad eléctrica
cm	centímetro
CMO	contenido de materia orgánica
d	días
E	Este, Equitatividad
E.E.	error estándar
g	gramo
HMA	Hongos micorrícicos arbusculares
H	diversidad de Shannon-Weaver
INTA	Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria,
INVAM	International Culture Collection of Arbuscular and Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi
kg	kilogramo
LC	Labranza Convencional
LOG₁₀	logaritmo en base diez
LSD	least significant difference (diferencia mínima significativa)
m	metro
Máx.	máximo
MB	Monte Buey
Mín.	mínimo
mL	mililitro
mm	milímetro
MA	Micorrizas Arbusculares
MER	Micelio extraradical
msnm	metros sobre el nivel del mar
N	Norte, Nitrógeno
NACIO	Hipoclorito de Sodio
na	no analizado
nd	no determinado
NE	Noreste
NO	Noroeste

ns	no significativo
O	oeste
P	Pergamino, Fósforo extraíble
PE	Puntos de entrada
PF	peso fresco
pH	potencial de hidrógeno
PS	peso seco
PANS	Prácticas Agrícolas No Sustentables
PVA	Polivinil-alcohol
r	coeficiente de correlación
S	Sur, Azufre, Riqueza de especies
SD	Siembra Directa
SW	Shapiro-Wilks
µm	micrómetros
µg	microgramos
V	Viale, vesículas
Zn	zinc

Resumen

El uso creciente de la siembra directa (SD), adoptado en muchas partes del mundo como una alternativa a la labranza convencional, puede contribuir a mejorar la eficiencia del uso del agua y la fertilidad del suelo, reduciendo la erosión de los mismos, estando Argentina ubicada entre los primeros países del mundo en utilizar este sistema agrícola. Los hongos micorrízico arbusculares (HMA) representan un grupo funcional clave de la comunidad microbiana del suelo, siendo de particular importancia para las plantas en la absorción de nutrientes, en especial el fósforo (P). Sin embargo, estudios del efecto de la SD sobre los HMA son escasos.

Se definieron tres situaciones de usos de suelo (tratamientos): 1) ambiente natural (AN), 2) buenas prácticas agrícolas (BPA) y 3) prácticas agrícolas no sustentables (PANS) ambas bajo SD. Estas situaciones se replicaron en 4 sitios en una transecta regional del centro-este de nuestro país: Bengolea y Monte Buey (Córdoba), Pergamino (Buenos Aires) y Viale (Entre Ríos).

En este trabajo se evaluó la variación estacional de la densidad de esporas, la riqueza de morfoespecies, la diversidad y la equitatividad de las comunidades nativas de HMA en los diferentes usos de suelo. Asimismo, se evaluó la infectividad micorrízica de los diferentes suelos, empleando diferentes diluciones de los mismos y utilizando como planta trampa a vicia (*Vicia villosa* Roth), una especie utilizada como cultivo de cobertura en los campos bajo estudio. Por último, se evaluó el efecto de las comunidades nativas de HMA provenientes de los diferentes usos de suelo sobre el crecimiento de plantas de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] y se cuantificó el porcentaje de colonización micorrízico arbuscular, identificando las diferentes estructuras que forman estos hongos (hifas, arbusculos, vesículas, circunvoluciones y puntos de entrada), en las raíces de éstas plantas.

Se identificaron 46 morfoespecies de HMA, lo que representa un número elevado comparado con otros estudios en agroecosistemas en el país y en otras partes del mundo. La densidad de esporas y la riqueza de morfoespecies de HMA fueron afectadas negativamente por los usos de suelo manejados con fines agrícolas (BPA y PANS) comparadas con los del AN. El número de esporas y la riqueza de especies de HMA podrían ser utilizados como indicadores de los diferentes usos del suelo, ya que la tendencia mostró que estas variables decrecen siguiendo el patrón AN>BPA>PANS.

En cuanto a la infectividad de los diferentes suelos, los HMA de PANS mostraron la capacidad de colonizar las plantas utilizadas como prueba en este estudio más rápidamente que los suelos de AN y BPA. Los suelos de BPA mostraron la misma tendencia que el AN, por lo que podríamos concluir que el manejo que reciben estos suelos se asemejan más a un AN que a las PANS, en términos de la infectividad de las comunidades de HMA.

Las plantas de soja crecidas en suelos provenientes del AN mostraron los mayores porcentajes de colonización total y por arbusculos, las crecidas en suelos provenientes de PANS valores intermedios y los valores más bajos para esas dos variables fúngicas se observaron en BPA. Las comunidades de HMA provenientes del AN y de BPA causaron un efecto positivo sobre el crecimiento (mayor peso seco total) de las plantas comparados con sus respectivos controles (SM). En tanto que las provenientes de PANS no mostraron diferencias para esa variable entre las plantas crecidas CM y SM.

De acuerdo a nuestra hipótesis general de trabajo, las prácticas agrícolas en siembra directa en este estudio promovieron cambios en la comunidad de HMA (en la composición de la comunidad y en la infectividad de los diferentes suelos), y esos cambios influyeron de manera diferente en el crecimiento de las plantas de soja

Abstract

The increasing use of no-tillage agriculture (NT), adopted in many areas of the world as an alternative management to conventional tillage, may contribute to fertility and water conservation and the reduction of soil erosion. Argentina is located among the first countries in the world to use this agricultural system. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) represent a functionally important component of soil microbial communities, being of particular significance for plant mineral nutrition, specially for phosphorous (P). However, studies on the effect of NT systems on AMF are scarce.

Three treatments were defined according to land use: 1) natural environment (NE), 2) good agricultural practices (GAP) and 3) poor agricultural practices (PAP) non-sustainable, both under no-tillage management. These treatments were replicated at four sites across a west-east transect of our country: Bengolea and Monte Buey (Córdoba), Pergamino (Buenos Aires) and Viale (Entre Ríos).

In this study, we evaluated seasonal variation of spore density, morphospecies richness, diversity and evenness of the native AMF community under different land uses. Also mycorrhizal infectivity of the different soils was evaluated with different dilutions using “vicia” (*Vicia villosa* Roth) as trap plant, a species used as a cover crop in the fields under study. Finally, the effect of native AMF community on soybean plant growth [*Glycine max* (L.) Merrill] was evaluated under different land uses. Percentage of AMF colonization was quantified, considering the different structures formed by these fungi (hypha, arbuscules, vesicles, coils and entry points) in the roots of these plants.

Forty six morphospecies of AMF were identified, being a high number as compared with other agroecosystems in our country and in other places of the world. Spore density and morphospecies richness were negatively affected by agricultural land use (GAP and PAP) compared with the NE. Spore number and evenness of AMF species could be used as indicators of land use due to the tendency observed considering that both variables decreased following the pattern NE>GAP>PAP.

Regarding different infectivity of soils, trap plants used in this study were primarily colonized by AMF present in PAP followed by NE and GAP. Soils from GAP showed the same tendency as NE. Thus, regarding AMF community infectivity we can conclude that GAP managed soils are more similar to NE than to PAP.

Soy plants grown with AMF (WF) had more biomass (dry weight) than those grown without AMF (NF) in NE and GAP. Mean values of total mycorrhizal colonization by vesicles, arbuscules and entry points showed the same pattern of variation, following the sequence NE>PAP>GAP.

Good agricultural practices promote AMF communities, denser and richer in morphospecies, while infectivity patterns show a similar response to the natural environment and soy plants growth is promoted with respect to PAP.

CAPITULO I

I. Introducción general

I.1. El suelo y las prácticas agrícolas

El suelo es uno de los principales reservorios de biodiversidad de la Tierra, y en particular el de las comunidades microbianas (Jansa et al., 2003) debido a la gran heterogeneidad física, química y microclimática que implica la existencia de un gran número de nichos (Ettema y Wardle, 2002; Tiedje et al., 2001). A su vez, posibilita el cumplimiento de diversas funciones ecológicas cruciales, forma parte del ciclo hidrológico e interviene en la regulación de las características de la atmósfera. Las plantas dependen del suelo para obtener el agua y los nutrientes que necesitan para vivir. Por lo que los animales también dependen directa e indirectamente del suelo. Su delgado manto poroso actúa como reservorio de agua y de carbono; filtra y regula los flujos de numerosas sustancias; constituye el hábitat de una vasta diversidad de organismos y, por ello, un reservorio de genes en su mayor parte desconocidos. Dada su función ambiental, como base de la sostenibilidad de los ecosistemas, los suelos constituyen también un componente fundamental de la actividad económica posibilitando la producción de alimentos. Además constituye un componente central del paisaje y del patrimonio de las sociedades.

Las actividades humanas ponen en riesgo a este recurso difícilmente renovable, ya que promueven procesos de degradación o erosión que implican una disminución de la calidad de los suelos, e incluso su pérdida completa. Las prácticas agrícolas (tipo de labranza, rotación de cultivos, control de malezas y enfermedades) y el manejo de nutrientes provocan la degradación de los suelos (Acevedo y Martínez, 2003; Ellies, 2000) causando enormes pérdidas de carbono orgánico del suelo hacia la atmósfera (Blanco-Canqui y Lal, 2008; Brito-Vega et al., 2009). Una aplicación excesiva de fertilizantes químicos contamina los cuerpos de agua causando eutrofización de los mismos; además produce un desbalance iónico en el suelo ocasionando problemas para las plantas y los microorganismos asociados (Herrera-Peraza et al., 1984). Por lo tanto, la incorporación de técnicas de manejo de suelo y de cultivos que permitan una agricultura sustentable se considera de suma importancia (Jeffries y Barea, 2001).

I.1.1. Tipos de labranzas. Rotación de cultivos

Las labranzas, a largo plazo, degradan el suelo y contaminan el medioambiente. Existen dos tipos principales de sistemas de labranza: la labranza convencional (LC) y la de conservación (que deja al menos el 30 % de los rastrojos en el suelo)

(Conservation Technology Information Center, 1995). La LC, modelo agrícola que la humanidad aplicó desde sus inicios, incluye prácticas como arar, rastrear y quemar los residuos (Pereira, 2002). El uso reiterado de la LC impacta negativamente sobre la calidad del suelo, llevando a la pérdida de su estructura y su consecuente erosión (Packer et al., 1992), reduciendo el porcentaje de materia orgánica y disminuyendo los microorganismos del suelo (Gupta et al., 1994; Haines y Uren, 1990). La labranza de conservación se caracteriza por una reducción en la intensidad o el número de operaciones de labranza e incluye prácticas específicas tales como la labranza reducida, la labranza en fajas, la labranza profunda y la siembra directa (SD) o labranza cero (Kabir, 2005). Desde 1950 se ha incrementado en todo el mundo el interés por adoptar varias formas de labranza de conservación, incluyendo la SD. La SD contribuye a la fertilidad y conservación del agua. A su vez, permite superar el problema de la erosión y degradación de los suelos ya que se basa en la no remoción del mismo, utilizando equipos especiales de siembra que cortan o desplazan la cobertura de los rastrojos, quedando retenidos sobre la superficie y limitando el crecimiento de malezas (Kabir, 2005). Esta práctica mejora las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo incluyendo los microorganismos que en él habitan (Alvarez et al., 1998; Aon et al., 2001; Diosma et al., 2003).

La superficie de tierra sembrada bajo SD se ha incrementado en los últimos años superando los 70 millones de hectáreas en todo el mundo y la mitad corresponde a los países de América Latina. En Argentina, se calculan casi 20 millones de hectáreas, un 70% de la superficie cultivada (Asociación Argentina de Productores En Siembra Directa, AAPRESID).

Uno de los aspectos determinantes del funcionamiento de los agroecosistemas consiste en las prácticas de rotación (Altieri, 1999), ya que pueden reducir pérdidas por malezas, plagas y epidemias de enfermedades (Baliddawa, 1985; Finckh y Wolfe, 2006). El aumento de la diversidad de especies de cultivos a través de la rotación, genera cambios ecológicamente favorables en el reciclaje de nutrientes, el control y regulación del microclima, en los procesos hidrológicos locales y en la supresión de organismos indeseables (Altieri, 1999). Por lo tanto, se la considera una práctica de manejo que contribuye a la sustentabilidad de los sistemas agrícolas (Bullock, 1992).

1.1.2. Características de la expansión agropecuaria en Argentina

Sin duda fue el arado quien produjo las alteraciones estructurales y funcionales de mayor escala en el paisaje de la pradera pampeana (Timm, 2004). El reemplazo de tierras naturales y ganaderas por tierras agrícolas fue el cambio más notorio que experimentó la agricultura a lo largo del siglo 20 (Timm, 2004). En la primera mitad del siglo, hubo una coexistencia entre ganadería y agricultura, bajo condiciones extensivas o semi-intensivas, que consolidó el clásico y efectivo modelo de rotación de cultivos con pasturas y forrajeras anuales. Pero la intensificación agrícola de la pradera pampeana durante los años de la década 1990 y comienzos del nuevo siglo, estuvo acompañada por una notoria intensificación de los planteos ganaderos. Este nuevo planteo impuso, en superficies reducidas, una alta densidad de animales sometidos a un engorde intensivo a corral (feed-lot) con granos y forrajes procesados (heno, silaje, etc.). La agricultura aporta la mayor parte de los insumos que requiere ese planteo ganadero intensivo, y ambas actividades (agricultura y ganadería), que antes se articulaban en esquemas extensivos de rotación de cultivos, ahora aparecen desacopladas y especializadas, inclusive con administraciones independientes.

Este cambio, introdujo una modificación adicional en la funcionalidad de estos ecosistemas que, para sostener una mayor productividad, reciben más insumos y generan más residuos y desechos que afectan al ambiente (nutrientes, aguas residuales, plaguicidas, antibióticos, etc.). Los patrones de expansión agrícola en la región Pampeana han sido marcadamente asimétricos y heterogéneos. Aunque declinantes, los cultivos de invierno aún dominan en el sur; en cambio los de verano lo hacen en el norte de la región. En general ha ocurrido un creciente reemplazo de cultivos de invierno por cultivos de verano, dominado ampliamente por el cultivo de soja (Carreño y Viglizzo, 2007).

La asimetría observada en la expansión de los cultivos está modulada por las limitaciones biofísicas particulares de cada Zona Agronómica Homogénea (INTA-UNDP, 1990), y esta peculiaridad tiende a desmitificar la creencia popular de que la agricultura se expandió homogéneamente y sin altibajos en todas las direcciones. Solamente la Pampa Ondulada ha experimentado un aumento persistente del área cultivada entre fines de la década del 70 y comienzos del siglo 21, seguida en importancia por la Pampa Austral. En otras regiones esa expansión sufrió avances y retrocesos visibles debido a la incidencia de limitaciones ambientales como lluvias,

calidad edáfica, profundidad de suelos, altura de napas freáticas, capacidad de drenaje, etc.

1.1.3. El avance de la frontera agropecuaria y las reservas de nutrientes (C, N y P)

Es un hecho aceptado globalmente que los nutrientes provistos como fertilizantes han contribuido decisivamente a incrementar los rendimientos agropecuarios en el siglo 20. Cada año, grandes productores agropecuarios como China, Estados Unidos y otros países aplican millones de toneladas de nutrientes esenciales para sostener la productividad de sus suelos. Algunos nutrientes son relativamente abundantes en la naturaleza y no plantean grandes problemas de disponibilidad y uso. Pero otros nutrientes, como el fósforo (P), sí son causa de preocupación creciente. Sus depósitos naturales son finitos y pueden agotarse en el siglo 21. Aunque no hay coincidencia entre los expertos, muchos argumentan que hay signos de agotamiento de las reservas de P y esto plantea serios interrogantes acerca del futuro de la agricultura. Predicen asimismo que su disponibilidad será en los países agrícolas un activo estratégico y que su precio inevitablemente subirá en los mercados (Gilbert, 2009).

Las reservas de nitrógeno (N) y P disponible en los suelos cultivables de Argentina muestran un comportamiento dispar. Mientras la reserva de N está en buena parte asociada a los niveles de carbono (C), es inmediato que toda pérdida de C en biomasa y en suelo genera una pérdida proporcional de N. En cambio, la reserva de P resulta poco afectada por las variaciones de C. Si bien hay una relación de proporcionalidad entre C y P en biomasa, esa relación no se mantiene en el suelo. Aun cuando la reserva de C orgánico en suelo se mantenga estable, los niveles de P pueden variar drásticamente. Esto se aprecia en campos agrícolas donde la extracción de nutrientes por parte de los cultivos no es compensada por una incorporación equivalente de P mediante fertilización (Galantini y Suñer, 2008; Gutiérrez Boem et al., 2008; Suñer et al., 2005).

Mientras las reservas de C y N pueden considerarse activos renovables a través de usos de la tierra y tecnologías que permiten su recuperación, no ocurre lo mismo con el P. Muchas décadas de expansión agrícola en Argentina se han sostenido a través de una extracción de la dotación natural de P de los suelos. Pero es necesario tomar conciencia que no es éste un recurso renovable, y que la vía casi excluyente de incorporación o ganancia sigue siendo la de los fertilizantes fosforados. Siendo entonces el P un mineral

de costosa reposición a través de los fertilizantes (cuyo valor seguramente aumentará en función de su escasez), es esperable que los capitales aplicados a importantes proyectos de siembra (pools y fondos de inversión) tiendan a trasladarse hacia regiones cuyos suelos presentan todavía una reserva no limitada de este mineral. En la región pampeana, por su parte, el sostenimiento de altos rendimientos agrícolas demandará cantidades crecientes de fertilizantes que compensen muchas décadas acumuladas de extracción. En la medida que declinen en el tiempo las reservas de P disponible en el suelo, es posible inferir que este mineral se convertirá también, en pocos años, en un activo de valor estratégico para la agricultura de Argentina.

I.2. El rol de los microorganismos en agroecosistemas

En los últimos años ha crecido el interés por aprovechar los beneficios de los microorganismos del suelo sobre la producción de los cultivos, para lograr una agricultura sustentable, reduciendo insumos costosos y nocivos. El caso más conocido en soja es la simbiosis entre las bacterias fijadoras de N del género *Bradyrhizobium* (el primer inoculante en base a *Bradyrhizobium japonicum* data del año 1905, en EE.UU.) las cuales contribuyen a la nutrición nitrogenada del cultivo. Recientemente se ha incorporado otro tipo de bacterias vinculadas a la promoción del crecimiento de la planta y otros beneficios, por ejemplo, *Azospirillum* (las primeras investigaciones sobre *Azospirillum brasilense* datan del año 1976 en Brasil). Si bien hoy estos microorganismos se comercializan masivamente, han sido resultado de una minuciosa selección dentro del gran espectro de organismos que habitan el suelo. Pero su pequeño tamaño y complicadas metodologías han dificultado su estudio en relación a la búsqueda de alternativas sustentables de manejo del suelo (Prosser, 2002). Esta selección de organismos, que contribuyen a la producción agropecuaria, hoy en día cobra más valor debido al creciente interés por el uso racional de recursos no renovables, como los fertilizantes, en especial los fosfatados.

La producción continua de cultivos para fines alimentarios o de biocombustibles implica la continua remoción de nutrientes del suelo. Para que el proceso agrícola resulte sustentable, es decir que la productividad y calidad del suelo y el ambiente se mantengan en sus niveles de calidad en el tiempo, o aún se mejoren con el tiempo, el agua debe ser manejada racionalmente y los nutrientes deben ser repuestos o manejados de modo que los mismos se repongan por procesos naturales. En estos procesos de los

ciclos de los elementos, la biología del suelo juega un rol central, fundamentalmente en la catálisis de dichos procesos. Los microorganismos del suelo son esenciales en el ciclado de nutrientes y en la formación y mantenimiento de la estructura del suelo (van der Heijden et al., 2008; Wardle, 2006). A su vez, son marcadores biológicos de alta sensibilidad y capaces de evidenciar cambios sutiles en el suelo mucho antes de que estos puedan ser medidos con precisión en las variaciones de la materia orgánica (Powlson et al., 1987). Uno de los grupos de microorganismos importantes por su ubicuidad, su directa implicancia en los procesos esenciales planta-suelo y por su capacidad para asociarse con la mayoría de las plantas cultivables, son los hongos micorrícicos arbusculares (HMA), pertenecientes al Phylum Glomeromycota (Schüßler et al., 2001), que forman el tipo de micorrizas más ampliamente distribuido, las micorrizas arbusculares (MA).

1.2.1. Los Hongos Micorrícicos Arbusculares

1.2.1.a. Generalidades

En la actualidad, los HMA son los principales determinantes de las interacciones en los ecosistemas y tienen diversos roles en ecosistemas naturales y agrícolas. Se estima que estos hongos tuvieron sus orígenes alrededor de 1000 millones de años atrás y fueron probablemente importantes en la colonización de la tierra por las plantas (Heckman et al., 2001; Redecker et al., 2000; Remy et al., 1994).

En un sistema radical micorrícico arbuscular hay tres componentes principales: la raíz, el micelio intrarradical (MIR -dentro del apoplasto de la raíz-) y el micelio extrarradical (MER -en el suelo circundante-). El MIR de los HMA está involucrado en la transferencia de nutrientes entre los simbioses y se diferencia en: arbusculos intracelulares, vesículas intra o intercelulares y circunvoluciones (Fig. I.2), cada una de estas estructura con una función particular (Bonfante-Fasolo, 1988; Morton et al., 1996).

La formación de arbusculos constituye la característica diagnóstica de las micorrizas arbusculares. Son estructuras formadas por hifas muy ramificadas que se encuentran dentro de las células corticales del hospedante e incrementan la superficie de contacto entre el hongo y la planta. En la zona de interfase o apoplasto se produce el intercambio, los nutrientes inorgánicos tales como el P y el zinc (Zn) fluyen hacia la planta y los fotosintetatos hacia el hongo (Smith y Smith, 2011; Smith y Read, 2008).

Las circunvoluciones son repliegues o enrollamientos de hifas intrarradicales cuya función sería análoga a la de los arbuscúlos (Powell y Bagyaraj, 1984).

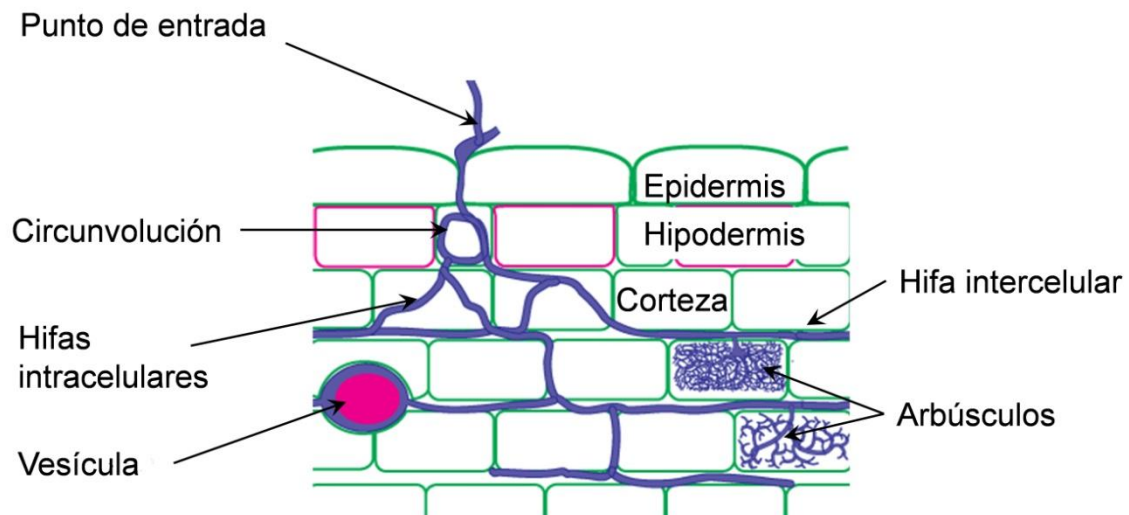


Figura I.2. Esquema mostrando las diferentes estructuras que forman los hongos micorrízicos arbusculares dentro de la raíz de su hospedador (modificado de Brundrett 2008 versión 2 on line <http://mycorrhizas.info/resource.html>)

Las vesículas son estructuras globosas llenas de lípidos que se forman en la raíz del hospedante inter o intracelularmente y su función principal es de reserva (Bonfante-Fasolo, 1988) o como propágulos (Biermann y Linderman, 1983). En situaciones de estrés y cuando disminuye el suministro de metabolitos desde la planta hospedante, el hongo utiliza las reservas lipídicas de las vesículas, que posteriormente degeneran (Sieverding, 1991).

El micelio extrarradical (MER), influenciado por la heterogeneidad del suelo, está involucrado en la búsqueda de nuevas plantas y en la exploración del suelo para la adquisición de nutrientes minerales que utilizarán tanto el hongo como la planta. Las hifas del MER pueden tener un crecimiento extenso (hasta 8 cm desde la raíz) (Sieverding, 1991) y son capaces de conectar diferentes plantas hospedantes y establecer simbiosis micorrízica con las diversas especies de plantas con las cuales se contactan (Giovannetti et al., 2004). Durante el crecimiento del MER se pueden diferenciar esporas y células auxiliares. Las esporas de los HMA son estructuras que contienen lípidos, citoplasma y hasta 2000-3000 núcleos y se forman asexualmente por diferenciación de hifas del MER en el suelo o las raíces. Las esporas pueden estar

agregadas en grupos denominados esporocarpos que funcionan como estructuras de reserva y propágulos (Smith y Read, 2008).

Los propágulos de los HMA, las esporas, los fragmentos de raíces colonizados y los fragmentos de hifas o micelio del MER, son capaces de iniciar la colonización MA en una planta. Las principales fuentes de propágulos en ecosistemas naturales son los fragmentos y el MER (Martins y Read, 1997). Mientras que las esporas son consideradas propágulos a largo plazo (Kabir, 2005), ya que tardan más tiempo en germinar y hacer contacto con las raíces que las hifas de un MER bien desarrollado (Klironomos y Hart, 2002).

1.2.1.b. Efectos de las micorrizas arbusculares sobre las plantas y el ambiente

El estado micorrícico es la regla en la naturaleza ya que más del 80 % de las plantas terrestres forman micorrizas arbusculares con los HMA. Los HMA poseen una importancia económica potencial dentro de la agricultura debido a su capacidad para asociarse con la mayoría de las plantas cultivables (Smith y Read, 2008). El efecto más conocido de las MA es el de la nutrición con P, N y micronutrientes (Smith y Read, 2008). También se pueden mencionar numerosos beneficios no nutricionales de las MA: incremento de la tolerancia al estrés (bajas temperaturas, sequía y salinidad) (Juniper y Abbott 1993) y adversidades bióticas (nematodos y patógenos fúngicos) (Azcón-Aguilar y Barea, 1997); lo que puede estimular el desarrollo vegetal a través de la producción de factores de crecimiento. Por otro lado, tienen un rol importante en la estabilización del suelo promoviendo su agregación mediante la unión mecánica de las partículas a través de las hifas y mediante el exudado de componentes tales como la glomalina -una glicoproteína específica recalcitrante- (Rillig, 2004; Rillig et al., 2001; Wright et al., 1999; Wright y Upadhyaya, 1998). Todo estos beneficios se traducen en una mejor captación de nutrientes por las raíces micorrizadas, ampliación del volumen de suelo explorado superando la zona de agotamiento de nutrientes y alcanzando zonas donde aún están disponibles (Sieverding, 1991). Como resultado, las plantas micorrizadas son a menudo más competitivas y más capaces de tolerar adversidades ambientales que las plantas no micorrizadas (Juniper y Abbott, 1993).

1.2.1.c. El rol de los HMA en la absorción de P

El P es requerido en relativamente grandes cantidades por las plantas, pero se encuentra poco disponible en el suelo. Las células vegetales lo absorben como iones ortofosfatos inorgánicos (específicamente, H_2PO_4^-) de la solución del suelo, donde se encuentra a muy bajas concentraciones (típicamente entre 0.5 – 10 μM), controlado principalmente por reacciones químicas y en menor medida por procesos biológicos (Schachtman et al., 1998).

El P en el suelo se encuentra como P orgánico (Po), ya sea como fosfato de inositol, fosfolípidos y ácidos nucleicos; o como P inorgánico (Pi), en formas insolubles de fosfatos de aluminio (Al), calcio (Ca) e hierro (Fe), depositados en superficies de minerales arcillosos (Smernik y Dougherty, 2007). De estas formas de Pi, una parte comprende un pool lábil disponible para las plantas. La conversión de todos los tipos de Po a formas inorgánicas que quedan disponibles para las plantas depende de la hidrólisis por microorganismos. Los HMA tienen la capacidad de hidrolizar algunas fuentes de Po o influenciar la producción de fosfatasas por las plantas. El Pi que entra al suelo por hidrólisis o aplicación de fertilizantes incrementan por un plazo corto y en forma local, la concentración de ortofosfatos en la solución del suelo. Sin embargo, una gran proporción de estos ortofosfatos son removidos por fijación, adsorbiéndose como iones sobre la superficie de partículas del suelo, precipitando como fosfato mineral, o utilizado por organismos del suelo, inmovilizando el P en biomasa. Estos procesos de fijación tienen importantes efectos sobre la concentración de ortofosfatos en la solución del suelo, y su movimiento y posterior absorción por las raíces es llevada a cabo en parte por los microorganismos, incluyendo a los HMA. El ortofosfato difunde muy lentamente en la solución del suelo, y aquel que queda disponible es rápidamente absorbido por las raíces de las plantas, dando lugar al desarrollo de zonas de depleción de P alrededor de las mismas. La absorción del ortofosfato está limitada por la tasa del movimiento de difusión dentro de la zona de depleción, más que por la tasa de transporte a través de las membranas celulares dentro de las raíces (por ej. la capacidad de absorción). Los pelos radicales extienden efectivamente el diámetro de la superficie de absorción de las raíces más allá de la zona de depleción y tienen efectos significativos sobre la absorción de P, especialmente si son largos (Caassen y Barber, 1976; Clarkson, 1985; Jakobsen et al., 2005; Schweiger y Jakobsen, 1999). Las hifas de los HMA se extienden dentro del suelo más lejos de la superficie radical o de la zona de

los pelos radicales (alcanzando más de 25 cm). Su pequeño diámetro (similar o menor al de los pelos radicales) no dan lugar a que se forme la zona de depleción alrededor de ellos, siendo capaces de acceder a poros del suelo que son inaccesibles para las raíces, incrementando efectivamente el volumen de solución de suelo disponible para la absorción.

1.2.1.d. HMA en suelos agrícolas

Los HMA son probablemente los hongos más ubicuos en suelos agrícolas, alcanzando entre un 5-36% de la biomasa total en el suelo y un 9-55 % del total de la biomasa microbiana (Olsson et al., 1999).

Para establecer y mantener una alta infectividad de HMA en suelos agrícolas u hortícolas es necesario una:

- 1) inoculación (y subsecuente manejo) de HMA previamente seleccionados;
- 2) adopción de prácticas de manejo que conserven o incrementen la infectividad de los HMA nativos (Brundrett et al., 1996; Gianinazzi et al., 1990; Larsen et al., 2007; Ryan y Graham, 2002; Sieverding, 1991).

Para ello se deben tener en cuenta diferentes factores clave: la respuesta de los cultivos al crecimiento, la comunidad de HMA nativos presentes (infectividad y efectividad) y las prácticas de manejo del suelo (tipo de labranza, aplicación de P y N) ya que todos afectan la disponibilidad de nutrientes, la respuesta del cultivo y la supervivencia de los hongos.

Las prácticas agrícolas influyen de distintas maneras en la relación simbiótica planta-HMA (Brito et al., 2006). Los efectos directos de estas prácticas agrícolas sobre las comunidades de HMA están relacionados con la disrupción física de la red hifal y la mezcla de residuos vegetales superficiales dentro del perfil del suelo, afectando la efectividad de la simbiosis MA (Kabir, 2005). Entre los efectos indirectos se destacan el pasaje de una comunidad vegetal compleja a un monocultivo y los cambios en la química del suelo pasando de un sistema pobre en nutrientes a un sistema fertilizado (Johnson et al., 1992; Oehl et al., 2003; Oehl et al., 2005). Los HMA son afectados por los cambios en las especies de plantas hospedantes y poblaciones de microorganismos del suelo. Se ha observado que el desarrollo de las comunidades de HMA y sus efectos sobre el crecimiento de las plantas son mayores en suelo con bajo contenido de

nutrientes, especialmente el P (Oehl et al., 2005), por lo que la aplicación de fertilizantes en el suelo afectaría la diversidad y el número de esporas (Egerton-Warburton y Allen, 2000).

Numerosos estudios han demostrado que las prácticas agrícolas (por ej. tipo de labranza) y la intensidad en el uso de suelo (por ej. monocultivos) afectan la densidad de propágulos, la colonización micorrícica y la composición de especies de HMA (Douds et al., 1995; Kabir et al., 1998; Kurle y Pflieger, 1994; McGonigle y Miller, 2000; Mozafar et al., 2000; Schalamuk et al., 2006). También, las características del suelo, dependiendo de su uso, pueden influenciar (Oehl et al., 2010) o no (Stürmer y Siqueira, 2011) las comunidades de HMA. Sin embargo, los efectos de los usos de suelo y las propiedades en cada uno de ellos varían de acuerdo a la escala de estudio (González-Cortés et al., 2012). La mayoría de los estudios que examinan las relaciones entre usos agrícolas del suelo y las comunidades de HMA lo hacen a escala local. Debido que se ha observado que las respuestas a diferentes escalas son muy variables, los gradientes ambientales regionales constituyen escenarios más apropiados para indagar acerca de las relaciones entre tipos de labranza y comunidades de HMA.

Los sistemas denominados “buenas prácticas agrícolas” o de bajo input, que incluyen labranza del suelo reducida, rotación de cultivo y reducción de fertilizantes minerales, mantienen una elevada cantidad de propágulos fúngicos estimulando de esta forma la actividad micorrícica en el suelo (Vestberg et al., 2005), la densidad de esporas (Karasawa et al., 2002) y la colonización de los cultivos en la rotación (Gavito y Miller, 1998; Miller, 2000). La rotación de cultivos, a diferencia de los monocultivos, permite un aumento en la diversidad de HMA posiblemente debido a la dependencia micorrícica de los cultivos (Miranda et al., 2005) y a la estabilidad de las comunidades bióticas del suelo (Cavagnaro et al., 2006). Diferentes especies hospedadoras y cultivares de la misma especie varían en el grado de dependencia micorrícica (Azcon y Ocampo, 1981). Alta dependencia para maíz (*Zea mays* L.) y sorgo (*Sorghum bicolor* L.) Moench, baja dependencia en trigo (*Triticum aestivum* L.), avena (*Avena sativa* L.) y cebada (*Hordeum vulgare* L.) (Coyne, 1999) e intermedia para la soja (*Glycine max* (L.) Merrill) (Plenchette et al., 1983).

Se ha comprobado que la presencia de cultivos MA, como el maíz, el trigo y los cultivos de cobertura como el trigo de invierno, mantienen un inóculo MA potencial en el suelo causando mayor absorción de P y crecimiento vegetal, lo que incrementaría finalmente el rendimiento de los cultivos subsiguientes (Kabir y Koide, 2000). A su vez,

largos períodos de rastrojo en el suelo reducen la densidad de propágulos fúngicos, por lo que la ausencia de las plantas hospedadoras declinaría la viabilidad de los HMA (Kabir et al., 1998). En monocultivo de soja se ha observado una menor abundancia de esporas en comparación con cultivos de rotación soja-maíz-sorgo (An et al., 1993). A su vez, un aumento en el uso de pesticidas para reducir las malezas, las enfermedades en las plantas y los insectos plagas en agroecosistemas, no solo afectan a los HMA (Vyas y Vyas, 2000), sino que provocan una disminución de los beneficios de los pesticidas para controlar las enfermedades de los cultivos. Esto resulta en selección de variedades de cultivos hospedadores menos dependientes de las asociaciones micorrícicas. Zhu et al. (2001) mostraron que los cultivares de trigo con altos niveles de aplicación de pesticidas responden menos a la colonización micorrícica que aquellos con bajos niveles de aplicación. La selección de maíz resistente a patógenos fúngicos ha producido variedades que son menos micotróficas que variedades previas (Toth et al., 1990).

I.3. Fundamentos de la elección del tema de investigación

Esta Tesis Doctoral forma parte del proyecto multidisciplinario BIOSPAS (<http://www.biospas.org>), en el cual se aborda el estudio de la biología del suelo por medio de una descripción multidisciplinaria con el fin de encontrar indicadores microbiológicos de agricultura sustentable en el marco de la agricultura en SD (Wall, 2011).

Las comunidades de HMA ejercen una gran influencia en diversos procesos ecológicos y tienen importancia actual y potencial en la agricultura. La mayoría de las investigaciones a campo sobre HMA realizadas en Argentina se han desarrollado en ecosistemas naturales (Becerra et al., 2009; Cofré et al., 2012; Grilli et al., 2012; Grilli et al., 2013; Longo et al., 2014; Lugo y Cabello, 2002; Soteris et al., 2012; Soteris et al., 2013; Urcelay et al., 2009), siendo escasa la información en nuestros agroecosistemas (Covacevich et al., 2012; Faggioli y Cabello, 2013; Imaz et al., 2014; Menéndez et al., 2001; Schalamuk y Cabello, 2010; Schalamuk et al., 2006). Aunque Argentina es uno de los países del mundo con mayor extensión de áreas cultivadas bajo SD (AAPRESID), los estudios acerca del efecto de la SD sobre la comunidad de Glomeromycota son escasos y generalmente abordados a escala local (Faggioli y Cabello, 2013; Menéndez et al., 2001; Schalamuk y Cabello, 2010; Schalamuk et al., 2006). Más aun, dichos estudios no suelen incluir un ambiente natural a partir del cual

contrastar los efectos promovidos por los usos de la tierra. En este sentido, uno de los aspectos más relevantes de esta Tesis es que compara prácticas agrícolas en siembra directa con un ambiente natural de referencia, abarcando un amplio gradiente ambiental a escala regional. Los resultados que emanen de esta Tesis permitirán avanzar en el conocimiento de los HMA en nuestros agroecosistemas especialmente en suelos en SD y de que manera podrían repercutir en la productividad del cultivo.

En situaciones de campo, la evaluación de la composición de las comunidades fúngicas requiere identificación de las especies presentes y cuantificación de la densidad de propágulos fúngicos presentes y la infectividad. La composición de las comunidades de HMA, en término de morfoespecies y densidad de propágulos fúngicos en agroecosistemas, ha sido poco estudiada, y no está claro como la diferencia en la composición de morfoespecies afecta la productividad de un cultivo. Como consecuencia de los cambios promovidos por distintos tipos de prácticas agrícolas sobre la estructura de las comunidades de HMA, se espera que dichos cambios influyan en el crecimiento de los cultivos (Fig. I. 3) (van der Heijden et al., 1998).

I.4. Hipótesis y predicciones

1. Las diferentes prácticas agrícolas afectan la composición de las comunidades de HMA (densidad, riqueza, diversidad, equitatividad) y se predice que la abundancia y riqueza de esporas decrecerá en el siguiente orden: ambiente natural > rotación de cultivos > monocultivo.

2. Las diferentes prácticas agrícolas afectan la cantidad de propágulos fúngicos, por lo que la infectividad de los diferentes suelos disminuirá de ambiente natural a monocultivo.

3. Las diferentes prácticas agrícolas afectan el porcentaje de colonización de HMA y se predice que decrecerá en el siguiente orden: ambiente natural > rotación de cultivos > monocultivo.

4. El efecto de los HMA sobre el crecimiento de las plantas de soja varía al comparar diferentes usos de suelo y se predice que el crecimiento de las plantas será mayor en ambiente natural, intermedio en rotación de cultivos y menor en monocultivo.

I.5. Objetivos

I.5.1. Objetivo General

Evaluar la composición de las comunidades de hongos micorrízico arbusculares (HMA) en suelos con diferentes usos (ambiente natural, monocultivo y rotación en siembra directa) a lo largo de un gradiente de sitios en la región central de Argentina. Además, mediante una aproximación experimental, evaluar el efecto de las comunidades micorrízicas provenientes de esos diferentes suelos sobre el crecimiento de plantas de soja (*Glycine max*) (Fig. I.3).

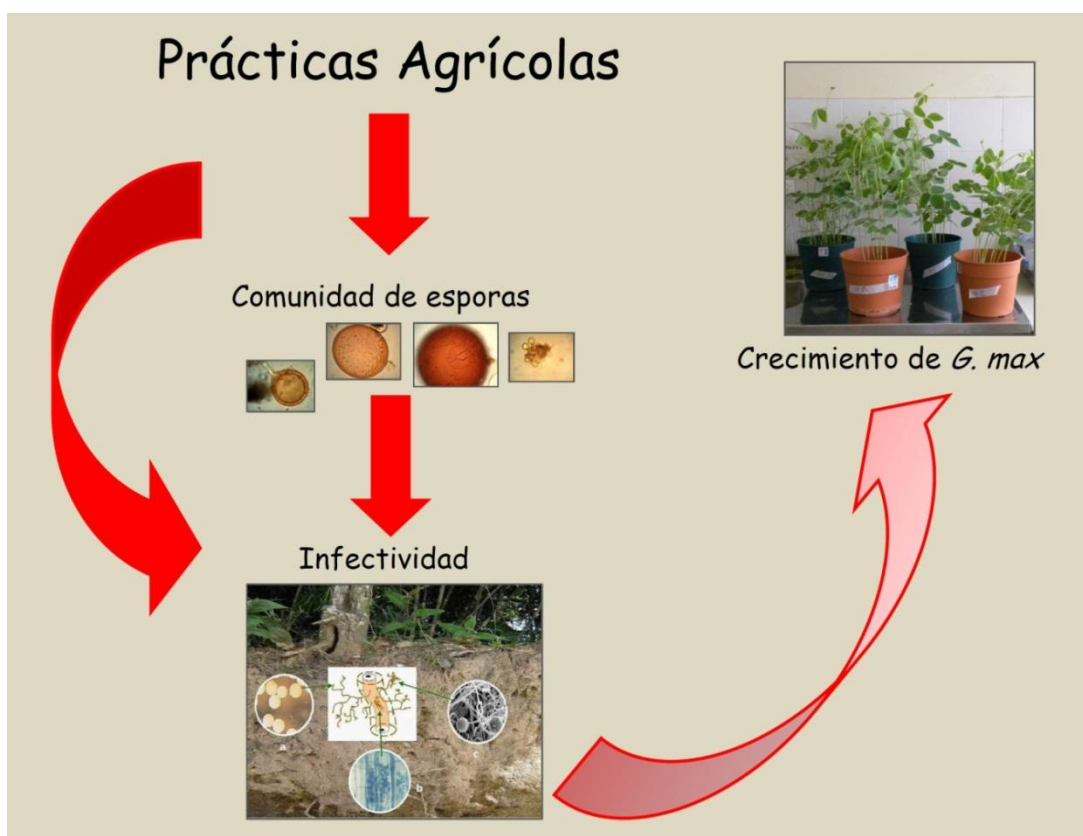


Figura I.3. Mapa conceptual esquematizando el objetivo general de la presente Tesis doctoral.

I.5.2. Objetivos Específicos

1) Evaluar la composición de las comunidades nativas de HMA en suelos bajo diferentes usos, comparando dos sistemas de siembra directa [buenas prácticas agrícolas (BPA) y prácticas agrícolas no sustentables (PANS) con ambientes naturales (AN) con vegetación nativa], durante dos estaciones del año (febrero y septiembre).

2) Estimar la infectividad de los diferentes suelos mediante bioensayos en invernadero.

3) Evaluar el efecto de las comunidades nativas de HMA provenientes de los suelos bajo diferentes usos sobre el crecimiento de plantas de *Glycine max* mediante bioensayos en invernadero.

4) Evaluar la colonización micorrícico arbuscular del cultivo de soja en los suelos de los diferentes tratamientos en el bioensayo del objetivo anterior.

CAPÍTULO II

II. Materiales y métodos generales

II.1. Área de estudio

II.1.1. Ubicación geográfica y características del área central de Argentina

El área de estudio se localizó en la región centro-Este de Argentina, en 4 sitios cercanos a las localidades de Bengolea y Monte Buey (provincia de Córdoba); Pergamino (provincia de Buenos Aires) y Viale (provincia de Entre Ríos) (Fig. II.1).

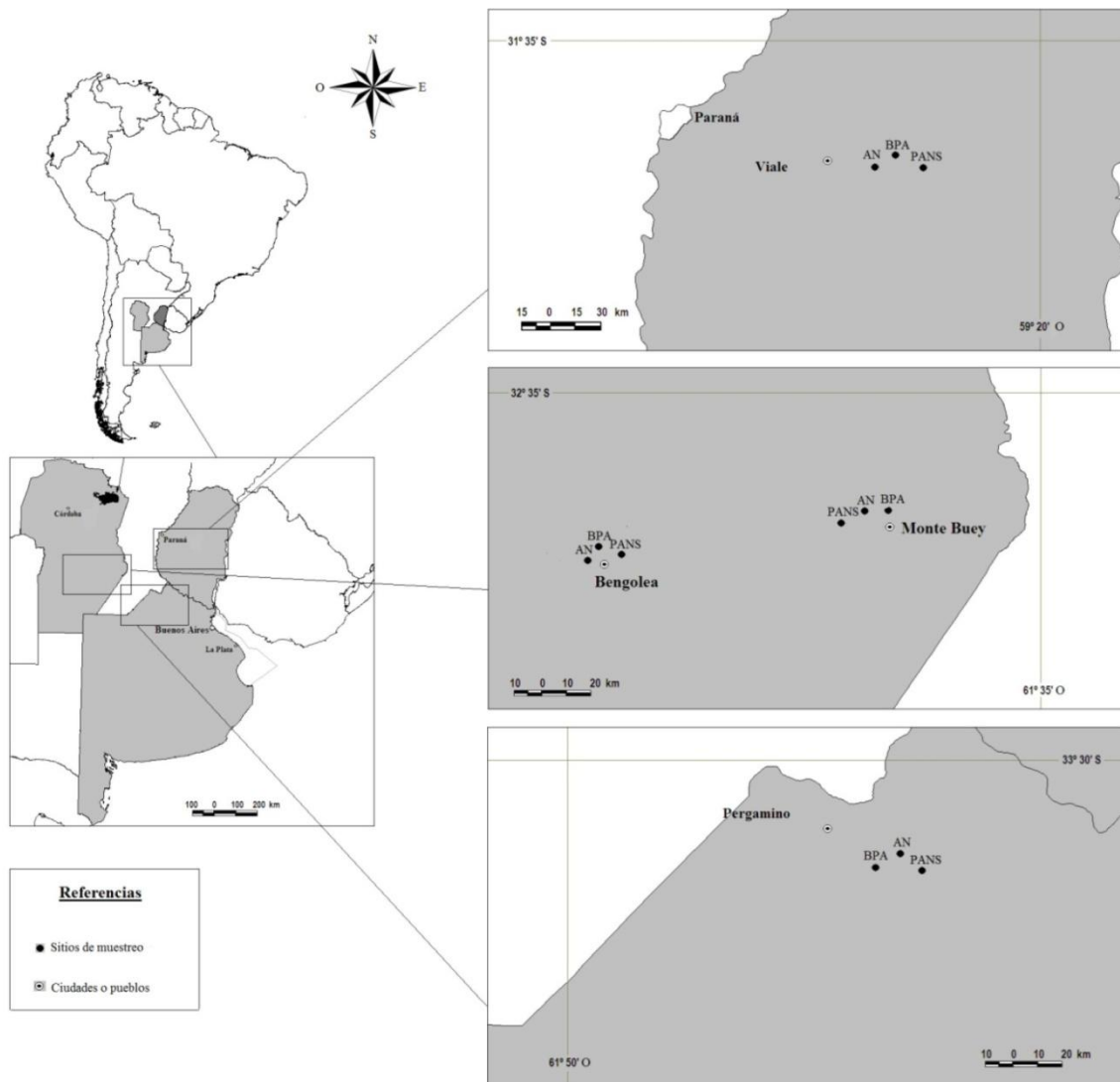


Figura II.1. Localización de los 4 sitios de estudio y los diferentes usos de suelo, en el centro-Este de Argentina.

Cada una de estas localidades se encuentra ubicada en 4 Zonas Agronómicas Homogéneas (ZAHs) diferentes (SAGyP-INTA, 1989), entendiéndose por ZAHs a unidades territoriales que mantienen cierta homogeneidad en sus características

ambientales, estructurales, socio-económicas, productivas e institucionales, caracterizadas a continuación:

- Zona 1) Bengolea (B) se encuentra dentro de la ZAHs de Laboulaye, ubicada al Sur de la provincia de Córdoba. Esta ZAH comprende la totalidad de los departamentos Juárez Celman y Roque Sáenz Peña y la pedanía La Cautiva del departamento Río Cuarto, abarcando una superficie de 20.404 km². Esta zona pertenece a la región fitogeográfica Pampeana y la comunidad clímax de este distrito es la estepa o pseudoestepa de gramíneas, denominada localmente “flechillar”. Los principales taxones de gramíneas son: *Stipa speciosa* Trin. & Rupr. comosa F.A. Roig, *Panicum urvilleanum* Kunth, *Poa ligularis* Nees ex Steud. *ligularis*, *Setaria vaginata* Spreng. var. *vaginata*, *Eragrostis lugens* Nees, *Andropogon ternatus* (Spreng.) Nees, *Elionurus muticus* (Spreng.) Kuntze. Entre las no gramíneas acompañantes se encuentran: *Glandularia peruviana* (L.) Small, *Eryngium paniculatum* Cav. & Dombey ex F. Delaroché, *Bromus auleticus* Trin. ex Nees, *Oenothera longiflora* L. ssp. *longiflora*. Entre los caméfitos, sufrútices y arbustos se destacan *Thelesperma megapotamicum* (Spreng.) Kuntze, *Baccharis coridifolia* DC., *Discaria americana* Gillies & Hook (Cabrera, 1976). Tradicionalmente la actividad preponderante fue la ganadería extensiva seguida por la agricultura; actualmente la tendencia en el uso de la tierra es de una fuerte agriculturización. Como ejemplo de esto se evidencia la evolución en el cultivo de soja, el cual ha tenido un crecimiento en la superficie sembrada entre las décadas de 1980 al 2000 de un 464 %. El relieve alcanza ambientes diversos y diferenciados. Por un lado, en la pedanía Cautiva Río Cuarto se reconoce un relieve medanoso esculpido en materiales franco arenosos; por el otro, en el Norte de Juárez Celman, predomina un ambiente de llanuras loessicas con muy bajas pendientes (entre 1 y 4 ‰). Un tercer ambiente correspondiente a la llamada Pampa Anegable (centro Oeste del departamento Presidente Roque Sáenz Peña) constituye la concavidad receptora final de los sistemas hídricos del Sur de las sierras. Aquí las condiciones de inundación y sedimentación, están asociadas a la salinización y sodificación de los suelos (RIAN Regional Córdoba, 2006). Forma parte de la cuenca de aguas superficiales del Paraná y de la cuenca de aguas subterráneas de Salinas Grandes. Los suelos de drenaje libre son Haplustolesenticos y udorthenticos (58 %) y Hapludoles en menor proporción (2 %). En los bajos son dominantes los Natralboles (14 %) y Natracualfes (7 %), mientras que Fragiacualfes y Natracuoles ocurren en menor proporción. En las crestas de médanos hay Ustipsammentes y Ustorthentes (3 %)

(RIAN Regional Córdoba, 2006). Los suelos de la zona presentan ligera susceptibilidad a erosión eólica. La temperatura media anual es de 16 °C con una amplitud térmica de 15 °C y un período libre de heladas de 250 días. La pluviometría regional posee una distribución con un rango de 700 mm al Oeste y que supera los 900 mm al Este, con una distribución estacional de tipo monzónico. El déficit hídrico presenta una variación de 200 mm al Este y 280 mm al Oeste (Capitanelli, 1979).

- Zona 2) Monte Buey (MB) se encuentra dentro de la ZAH Marcos Juárez, la que abarca una superficie de 11.913 km² representando el 7,2 % del total de la superficie de la provincia. Ocupa el sudeste de la provincia de Córdoba y comprende las pedanías Espinillos, Saladillo, Cruz Alta, Liniers y Calderas del departamento Marcos Juárez y las pedanías Ballesteros, Bell Ville y Ascasubi del departamento Unión. El relieve de esta zona se corresponde con la Pampa Ondulada, una llanura entre moderada y suavemente ondulada, con gradientes de pendientes que oscilan entre 3 % y 0,5 %. Su carácter general está impuesto por la naturaleza de los materiales (loess ricos en limos) y por su posición, resultante de un ascenso del basamento cristalino. Tiene un relieve de lomas altas, planas, con marcadas pendientes hacia los arroyos que, en general, se suavizan hacia el Sur (RIAN Regional Córdoba, 2006). La Vegetación natural corresponde a la de la región fitogeográfica pampeana (Cabrera, 1976). El origen y la disponibilidad de recursos hídricos corresponden a la cuenca de aguas superficiales del Paraná y a la cuenca de aguas subterráneas de los ríos Tercero, Cuarto y Quinto. Los suelos están desarrollados sobre sedimentos eólicos, francos limoso-finos. La característica sobresaliente es su importante grado de desarrollo, fertilidad y alta productividad, consecuencia de sus caracteres físico-químicos intrínsecos y del régimen de precipitaciones que los convierte en los suelos tradicionalmente de mayor productividad de la provincia. Los suelos zonales son predominantemente Molisoles, profundos, con un horizonte superior oscuro rico en materia orgánica y bien estructurado que facilita el movimiento superficial del aire y el agua. Son Argiudoles (44 %), Hapludoles (10 %) y Haplustoles (34 %) en las lomas; en los bajos son Natracualfes (3 %) y Natralboles (5 %) (RIAN Regional Córdoba, 2006). Presenta muy pocos problemas de erosión correspondiéndole menos del 1 % de la superficie provincial con problemas graves de erosión hídrica y eólica. La producción de la ZAH Marcos Juárez es mayoritariamente agrícola, siendo ésta la principal zona productora provincial de soja y trigo, y segunda de maíz. La temperatura media anual es de 17 °C y la amplitud térmica de 14 °C, con un periodo libre de heladas que alcanza los 257 días.

La precipitación media anual se distribuye en un rango de 850 mm al Oeste y supera los 900 mm al Este. El mayor porcentaje de precipitaciones se observa durante la época estival. Sin embargo, el balance hídrico sólo presenta excesos durante parte de la primavera, otoño y comienzos del invierno. El déficit hídrico presenta una variación de 100 mm al Este y 160 mm al Oeste (Capitanelli, 1979).

- Zona 3) Pergamino (P) se encuentra dentro de la ZAH Rojas, al Norte de la provincia de Buenos Aires. Abarca una superficie de 13.505 km² (4 % de la superficie total provincial) y está ubicada en el noreste de la provincia, abarcando la totalidad de los partidos Rojas, Chivilcoy y Chacabuco; la casi totalidad de Colón y Salto; la parte noreste de Gral. Arenales, Junín, Bagado y Alberti; sudeste de Pergamino y Carmen de Areco y una mínima porción sur de Arrecifes y San Andrés de Giles. Fitogeográficamente corresponde al del distrito Oriental de la Provincia Pampeana (Cabrera, 1976), formando parte de la subregión conocida como Pampa Ondulada. El paisaje es el de una planicie con pendientes que no superan el 1 %. La vegetación natural se encuentra totalmente modificada por la actividad antropogénica; originariamente era un pastizal de gramíneas, con las especies dominantes descritas anteriormente. Los suelos corresponden a Argiudoles típicos con textura franca y alto contenido de materia orgánica en superficie. Hasta hace unos años no se observaron graves problemas de erosión (SAGyP-INTA, 1989). El clima es templado-húmedo con temperaturas de valor promedio de 23,7 °C en enero y de 9,7 °C en julio y una media anual de 16,6 °C. En cuanto a los valores extremos, los máximos absolutos son de 41 °C y los mínimos -7 °C, con un período libre de heladas de 254 días en el Oeste. Las precipitaciones medias son de 950 mm, con valores medios de 100 mm mensuales en la estación cálida y 40 mm en invierno. El sistema de producción agrícola puro es importante en el zona, siendo el predominante en el sector Este. Se caracteriza por un uso intensivo del suelo y por la continuidad de cultivos agrícolas que en los últimos años se extendió al centro y Oeste de la región, desplazando en muchos casos a la ganadería y reduciendo la rotación agrícola ganadera a secuencias agrícolas permanentes.

- Zona 4) Viale (V) se encuentra dentro de la ZAH Paraná, abarca una superficie de 8.634 km², ubicada en el centro y suroeste de la provincia de Entre Ríos. Se extiende sobre el departamento Paraná y la porción de tierra firme de los departamentos Diamante y Victoria. Ocupa el 11 % de la superficie total provincial. Esta zona se encuentra dentro de la Región Neotropical, Dominio Chaqueño, Provincia del Espinal

(Cabrera, 1976). La vegetación se caracteriza por la dominancia de especies arbóreas de los géneros *Prosopis* y *Acacia* acompañados por otros géneros como *Jodina*, *Celtis*, *Schinus* y *Geoffroea*. Aunque predominan los bosques xerófilos hay también especies de gramíneas y arbustos. La comunidad clímax de esta zona está caracterizada por la presencia del ñandubay (*Prosopis affinis* Spreng) y el algarrobo negro [*Prosopis nigra* (Griseb.) Hieron]. Otras especies acompañantes son el espinillo [*Acacia caven* (Mol.) Mol], chañar [*Geoffrea decorticans* (Gill. ex Hook. Et Arn.) Burkart], palmera caranday [*Trithrinax campestris* (Burm.) Drud. Et Griseb], entre otras. Las actividades agropecuarias en la zona han determinado que gran parte de la vegetación natural haya desaparecido. Existen pocos relictos de bosques donde es factible encontrar especies típicas del Distrito del Ñandubay (Cartas de suelos de Paraná, 1998; Diamante, 1991; y Victoria, 1995). El paisaje en su mayor parte es ondulado y muy dinámico donde los procesos de degradación de suelos, especialmente por erosión hídrica, son potencialmente importantes. Posee ambientes agroecológicos similares a la región pampeana con suelos predominantes pertenecientes al orden Molisol y en menor medida a Vertisol. Esta ZAH comprende parte de dos cuencas hidrográficas: la cuenca “Aportes menores al Río Paraná” y la cuenca “Arroyo Las Conchas” (Dirección de Hidráulica de Entre Ríos). El uso del suelo se distribuye en montes y pastizales naturales (30 %) y superficie implantada (70 %). Es la zona más agrícola de la provincia siendo la superficie implantada en la campaña 2007/08 de 599.430 ha. Del total de la superficie agrícola, el 65 % corresponde a oleaginosas (la soja participa con el 63 %) y 35 % a los cereales (el trigo es el de mayor participación con el 21 % y en segundo lugar el maíz con el 10 %) (Proyecto SIBER, BCER. 2008). El clima es templado húmedo. La temperatura media anual es de 18,4 °C, con estaciones poco definidas desde el punto de vista térmico, presentando una transición imprecisa. Las heladas son microclimáticas influenciadas por los cursos de agua. Las precipitaciones presentan una media anual de alrededor de 1.100 a 1.200 mm, con marcada variabilidad interanual. Estas características se extienden a la región central de la zona, correspondiente al departamento Diamante, se diferencia en las precipitaciones medias anuales que alcanzan los 985 mm (RIAP Entre Ríos, 2006).

II.1.2. Elección de los sitios de estudio y definición de los tratamientos

Los tratamientos (usos de suelo) dentro de cada sitio de estudio (Bengolea (B), Monte Buey (MB), Pergamino (P) y Viale (V) (Fig. II.1- Fig. II.2) siguen la definición de uso de suelo en acuerdo con el conjunto de definiciones de Agricultura Certificada por AAPRESID (www.ac.org.ar/descargas/PyC_eng.pdf) y la FAO (Food and Agricultural Organization de las Naciones Unidas www.fao.org/prods/GAP/index_en.htm).

A los fines de evaluar la composición de la comunidad de esporas de hongos micorrícicos arbusculares como posibles indicadores de diferentes usos de suelo en un gradiente ambiental de la pampa Argentina, se definieron tres tratamientos: 1) “ambiente natural” (AN), pastizales utilizados como sitios de referencia o controles, cercanos a los sitios cultivados (menos de 5 km de distancia); 2) “buenas prácticas agrícolas” (BPA): prácticas agrícolas sustentables bajo siembra directa, sujetas a rotación de cultivo [rotación que consiste en trigo (*Triticum aestivum* L.) / soja (*Glycine max.* L) / maíz (*Zea mayz* L.) y cultivos de cobertura como vicia (*Vicia villosa* Roth) / triticale (*Tritico secale* Wittmack)], reemplazo de nutrientes y alto rendimiento de los cultivos; y 3) “prácticas agrícolas no sustentables” (PANS), con predominio de monocultivo de soja, bajo reemplazo de nutrientes y bajos rendimientos de los cultivos. Estos tratamientos estuvieron replicados tres veces en cada uno de los sitios estudiados.

II. 2. Recolección de las muestras de suelo

Los muestreos se realizaron dentro de campos naturales y agrícolas privados, pertenecientes a productores que financiaron parte del proyecto BIOSPAS: en Bengolea y Monte Buey el propietario de los campos es Jorge Romagnoli, de La Lucía SA, en Pergamino, los permisos para el ingreso a los campos se consiguieron por Gustavo González Anta, de Rizobacter Argentina SA, y en Viale los permisos se consiguieron por Pedro Barbagelatta, miembro de AAPRESID.

II.2.1. Muestras de suelo para análisis de las variables de HMA

En junio del 2009 se realizó un muestreo preliminar para reconocimiento de los sitios de muestreo y puesta a punto de las técnicas de recolección de muestras masivas para todos los grupos pertenecientes al BIOSPAS (datos no analizados en esta Tesis).

Para evaluar la composición de la comunidad de HMA se recolectaron muestras de suelo en febrero y septiembre de 2010 y 2011, meses que coinciden con los cultivos de verano (soja, maíz - febrero) y con presencia de rastrojos o cultivos de invierno o de cobertura (trigo / triticale / vicia - septiembre) dependiendo del sitio de muestreo. En la Tabla II.1 se detallan los puntos de muestreo (georeferenciados) en cada sitio de estudio como así también los cultivos o cobertura presentes en cada instancia de muestreo.



Figura II.2. Imágenes de los diferentes usos de suelo en cada sitio de estudio.

Se recolectaron 3 muestras de suelo (réplicas) en cada combinación de uso de suelo/sitio con barrenos de metal de 10 cm de diámetro, a una profundidad de 0-10 cm, contabilizando un total de 12 réplicas por uso de suelo. Cada réplica consistió de 20 subréplicas que fueron mezcladas para obtener una réplica compuesta, las que

estuvieron separadas, al menos, 50 m entre sí, para cada campo estudiado. Las muestras fueron homogeneizadas en el campo y transportadas al laboratorio para su posterior análisis. De cada una de las muestras de suelo se analizaron las diferentes variables de la comunidad de esporas de HMA (Objetivo 1): la densidad de esporas (n° de esporas / 100 g de peso seco de suelo) y la diversidad de morfoespecies de HMA a través del índice de diversidad Shannon (H), que combina la riqueza de especies (S) y la equitatividad (E) (Magurran y McGill, 2011). Para abordar estos análisis se separaron las esporas de las muestras de suelo y se contaron bajo microscopio e identificaron según diferentes caracteres morfológicos (color, tamaño, ornamentaciones, n° de láminas de sus paredes) y se diferenciaron en morfoespecies. Los detalles de esta metodología son abordados en la sección de Materiales y Métodos del Capítulo III.

Para evaluar la infectividad de los diferentes suelos (Objetivo 2), se realizó un ensayo en invernadero, utilizando una parte de las muestras de suelo colectadas en septiembre de 2010 y como planta prueba a *Vicia villosa*, utilizada como cultivo de cobertura en los campos bajo estudio. Los detalles de esta metodología son abordados en la sección de Materiales y Métodos del Capítulo IV.

Para evaluar el efecto de las comunidades de HMA de cada una de las situaciones planteadas (Objetivo 3 y 4), se realizó un ensayo en invernadero con plantas de *G. max* crecidas en suelos inoculados (CM) y no inoculados (SM) con HMA provenientes de cada tratamiento y lugar. Se utilizaron muestras de suelo de febrero de 2011. Se midió la biomasa seca de las plantas de soja y la colonización MA de las raíces. Los detalles de esta metodología son abordados en la sección de Materiales y Métodos del Capítulo V.

Tabla II.1. Puntos de muestreo (georeferenciados) correspondientes a cada réplica de suelo de cada tratamiento (AN: ambiente natural, BPA: buenas prácticas agrícolas y PANS: prácticas agrícolas no sustentables) en cada sitio de estudio. Cultivos y/o coberturas al momento de la recolección de las muestras de suelo.

Sitio	Usos de suelo	Puntos de muestreo	febrero 2010	septiembre 2010	febrero 2011	septiembre 2011
Bengolea	AN 1	33° 01' 33,4" S 63° 37' 36,5" O	Pastizal de gramíneas	Pastizal de gramíneas	Pastizal de gramíneas	Pastizal de gramíneas
	AN 2	33° 01' 33,9" S 63° 37' 37,0" O				
	AN 3	33° 01' 34,2" S 63° 37' 35,8" O				
	BPA 1	33° 01' 33,1" S 63° 37' 47,4" O	Soja en estado reproductivo	Maíz y rastrojo de soja	Maíz en estado de maduración	Trigo
	BPA 2	33° 01' 33,0" S 63° 37' 49,3" O				
	BPA 3	33° 01' 30,9" S 63° 37' 52,2" O				
	PANS 1	33° 01' 55,8" S 63° 38' 05,5" O	Maíz en estado reproductivo	Rastrojo de maíz.	Soja en estado reproductivo	Rastrojo de soja
	PANS 2	33° 01' 59,5" S 63° 38' 06,3" O				
	PANS 3	33° 02' 03,8" S 63° 38' 08,0" O				
Monte Buey	AN 1	32° 58' 17,0" S 62° 27' 2,02" O	Pastizal de gramíneas y rastrojo de trigo	Pastizal de gramíneas	Pastizal de gramíneas	Pastizal de gramíneas
	AN 2	32° 58' 15,8" S 62° 27' 02,0" O				
	AN 3	32° 58' 15,3" S 62° 27' 00,2" O				
	BPA 1	32° 58' 13,7" S 62° 27' 04,5" O	Soja en floración	Vicia en estado vegetativo	Maíz en estado reproductivo	Vicia y Triticale
	BPA 2	32° 58' 14,4" S 62° 27' 05,7" O				
	BPA 3	32° 58' 16,5" S 62° 27' 09,4" O				
	PANS 1	33° 03' 17,7" S 62° 28' 03,1" O	Soja en estado reproductivo	Trigo en estado vegetativo	Soja	Rastrojo de soja
	PANS 2	33° 03' 19,7" S 62° 28' 03,5" O				
	PANS 3	33° 03' 21,4" S				

		62° 28' 04,0" O				
Pergamino	AN 1	33° 56' 41,8" S 60° 33' 35,2" O	Pastizal de gramíneas	Pastizal de gramíneas	Pastizal de gramíneas	Pastizal de gramíneas
	AN 2	33° 56' 41,7" S 60° 33' 34,0" O				
	AN 3	33° 56' 41,5" S 60° 33' 32,1" O				
	BPA 1	33° 56' 34,0" S 60° 33' 59,9" O	Rastrojo de maíz.	Maíz en estado reproductivo	Soja en estado reproductivo	Trigo
	BPA 2	33° 56' 35,5" S 60° 33' 59,6" O				
	BPA 3	33° 56' 36,8" S 60° 33' 57,4" O				
	PANS 1	33° 57' 41,2" S 60° 28' 08,8" O	Soja en estado reproductivo	Soja en estado reproductivo	Rastrojo de soja	Rastrojo de soja
	PANS 2	33° 57' 37,8" S 60° 28' 07,5" O				
	PANS 3	33° 57' 34,9" S 60° 29' 06,3" O				
Viale	AN 1	31° 52' 41,9" S 59° 41' 16,1" O	Pastizal y hojarasca del monte	Pastizal y hojarasca del monte	Pastizal y hojarasca del monte	Pastizal y hojarasca del monte
	AN 2	31° 52' 41,1" S 59° 41' 16,7" O				
	AN 3	31° 52' 41,1" S 59° 41' 17,3" O				
	BPA 1	31° 52' 35,0" S 59° 41' 17,3" O	Soja en estado vegetativo, abundante rastrojo de trigo	Rastrojo de soja y de trigo	Maíz en estado reproductivo	Rastrojo de maíz
	BPA 2	31° 52' 31,9" S 59° 41' 11,9" O				
	BPA 3	31° 52' 30,0" S 59° 40' 06,8" O				
	PANS 1	31° 52' 06,3" S 59° 40' 09,1" O	Soja en estado reproductivo	Trigo en estado vegetativo	Soja en estado reproductivo	Rastrojo de soja
	PANS 2	31° 52' 09,1" S 59° 40' 05,9" O				
	PANS 3	31° 52' 11,0" S 59° 40' 04,8" O				

II.2.2. Muestras de suelo para análisis químicos y físicos

Los suelos de cada sitio fueron clasificados siguiendo la Taxonomía de Suelos (USDA, 1999) y mapas de suelo del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina (INTA, www.inta.gov.ar/suelos).

Tabla II. 2. Valores medios estacionales (n = 6) (\pm E.E.) de las variables edáficas medidos en las muestras de suelo de cada uso en cada sitio de estudio.

Variables edáficas	Estación	BENGOLEA			MONTE BUEY		
		AN	BPA	PANS	AN	BPA	PANS
COT (%)	febrero	1.70 (0.10)	1.44 (0.05)	1.24 (0.11)	3.45 (0.26)	2.10 (0.13)	1.73 (0.08)
	septiembre	1.73 (0.06)	1.65 (0.04)	1.16 (0.08)	3.72 (0.24)	2.23 (0.03)	1.83 (0.03)
Nt (%)	febrero	0.13 (0.004)	0.12 (0.004)	0.11 (0.10)	0.30 (0.02)	0.18 (0.005)	0.13 (0.003)
	septiembre	0.15 (0.01)	0.13 (0.01)	0.12 (0.003)	0.31 (0.02)	0.19 (0.01)	0.15 (0.01)
P (mg kg ⁻¹)	febrero	32.02 (5.27)	31.07 (3.47)	17.52 (4.65)	375.60 (18.05)	143.63 (24.55)	12.72 (2.61)
	septiembre	19.00 (2.90)	18.17 (5.31)	7.08 (1.47)	377.07 (34.87)	75.47 (8.08)	6.89 (0.56)
pH	febrero	6.40 (0.13)	6.07 (0.19)	6.33 (0.11)	5.97 (0.18)	6.02 (0.24)	6.38 (0.10)
	septiembre	6.20 (0.08)	5.88 (0.05)	5.92 (0.10)	5.47 (0.08)	5.70 (0.06)	6.08 (0.02)

Variables edáficas	Estación	PERGAMINO			VIALE		
		AN	BPA	PANS	AN	BPA	PANS
COT (%)	febrero	3.10 (0.35)	1.76 (0.15)	1.82 (0.08)	3.55 (0.40)	3.50 (0.24)	2.57 (0.11)
	septiembre	2.90 (0.13)	1.86 (0.08)	1.84 (0.03)	3.48 (0.33)	3.68 (0.36)	2.59 (0.04)
Nt (%)	febrero	0.25 (0.01)	0.15 (0.01)	0.14 (0.001)	0.24 (0.03)	0.27 (0.03)	0.18 (0.01)
	septiembre	0.25 (0.01)	0.16 (0.01)	0.15 (0.002)	0.28 (0.03)	0.29 (0.03)	0.20 (0.003)
P (mg kg ⁻¹)	febrero	10.68 (2.92)	19.28 (5.85)	12.02 (4.62)	17.28 (5.62)	35.41 (7.10)	39.76 (4.34)
	septiembre	5.73 (2.40)	15.75 (4.77)	14.87 (10.78)	8.33 (3.93)	21.50 (3.78)	27.32 (4.27)
pH	febrero	6.22 (0.17)	6.03 (0.18)	6.27 (0.14)	6.58 (0.22)	6.68 (0.19)	6.30 (0.17)
	septiembre	5.83 (0.06)	5.60 (0.03)	6.03 (0.03)	6.43 (0.31)	6.82 (0.20)	5.82 (0.10)

COT: carbono orgánico total, Nt: Nitrógeno total, P: Fosforo extraíble; AN: ambiente natural, BPA: buenas prácticas agrícolas, PANS: prácticas agrícolas no sustentables. Estos datos son propiedad del Grupo de Juan Galantini (CERZOS-CONICET) y forman parte de la Tesis Doctoral de Matías Duval (UNS), miembros del consorcio BIOSPAS.

Las muestras de suelo fueron secadas al aire, quebradas y tamizadas en mallas de 2 mm para remoción de tejidos vegetales determinando las siguientes propiedades físico-químicas: contenido de materia orgánica como porcentaje de C orgánico total (COT %) medidos por combustión seca, usando un LECO CR12 Carbonalyzer (LECO, St. Joseph, MI, USA); N total (Nt %), por el método de Kjeldhal; P extraíble ($P \text{ mg kg}^{-1}$), determinado mediante el método de Bray-Kurtz (Jackson, 1964) y pH, que fue determinado por una mezcla de 1:2,5 de muestra de tierra y agua (Tabla II.2).

En la Tabla II.3 se detallan los valores medios de micronutrientes de Ca, Mg, Na y K, el porcentaje de humedad, la densidad aparente y los contenidos de arena, limo y arcilla de las cuatro instancias de muestreo.

Tabla II. 3. Valores medios (n = 3) (\pm E.E.) de los micronutrientes Ca, Mg, Na y K, la CIC, el PSI, la CE, el porcentaje de humedad, la densidad aparente y los contenidos de arena, limo y arcilla medidos en las muestras de suelo de los diferentes usos en cada sitio de estudio.

	BENGOLEA			MONTE BUEY			PERGAMINO			VIALE		
	AN	BPA	PANS	AN	BPA	PANS	AN	BPA	PANS	AN	BPA	PANS
Ca (meq %)	6.31 (0.12)	7.5 (0.9)	6.42 (0.36)	11.77 (0.93)	11.1 (0.23)	12.5 (0.12)	7.97 (1.14)	7.86 (0.41)	10.24 (0.12)	18.31 (2.91)	25.59 (5.68)	16 (3.75)
Mg (meq %)	2.31 (0.04)	2 (0.06)	2.19 (0.08)	3.3 (0.12)	3.1 (0.17)	3.15 (0.03)	3.38 (0.13)	2.57 (0.22)	2.11 (0.1)	6.59 (0.93)	4.33 (0.37)	5.68 (0.71)
Na (meq %)	0.86 (0.02)	0.76 (0.01)	0.77 (0.03)	0.37 (0.03)	0.33 (0.03)	0.3	0.77 (0.06)	0.65 (0.03)	0.73 (0.04)	1.17 (0.36)	1.09 (0.11)	1.04 (0.11)
K (meq %)	1.86 (0.29)	2.08 (0.16)	2.06 (0.27)	3	2.2 (0.3)	1.1	1.68 (0.09)	1.18 (0.14)	1.32 (0.04)	0.97 (0.1)	1.19 (0.21)	1.27 (0.19)
CIC (meq %)	12.71 (0.22)	14.08 (0.48)	13.37 (0.39)	26.83 (1.62)	23.3 (1.41)	21.15	18.92 (0.9)	17.15 (0.96)	18.01 (0.73)	39.15 (1.93)	41.13 (1.22)	31.73 (1.79)
PSI (%)	6.8 (0.25)	5.43 (0.17)	5.77 (0.28)	1.4 (0.17)	1.43 (0.03)	1.47	4.1 (0.44)	3.8 (0.1)	4.07 (0.35)	2.97 (0.93)	2.67 (0.35)	3.27 (0.18)
CE (mS/cm)	0.32 (0.09)	0.38 (0.03)	0.34 (0.02)	0.54 (0.07)	0.63 (0.15)	0.22 (0.03)	0.36 (0.03)	0.39 (0.02)	0.26 (0.04)	0.9 (0.02)	0.7 (0.03)	0.71 (0.04)
Humedad del suelo %	12.26 (5.56)	14.01 (0.41)	11.05 (0.38)	28.13 (2.63)	22.72 (2.15)	19.28 (1.63)	34.99 (2.14)	28.08 (1.07)	25.42 (0.58)	42.60 (0.66)	38.53 (2.23)	27.39 (1.62)
Densidad aparente (g/cm³)	1.20 (0.01)	1.35 (0.03)	1.12 (0.02)	1.22 (0.02)	1.34 (0.06)	1.24 (0.02)	1.20 (0.05)	1.40 (0.11)	1.36 (0.07)	1.07 (0.05)	1.10 (0.03)	1.26 (0.08)
Arcilla (%)	13.77 (3.09)	11.83 (0.09)	11.57 (0.12)	22.63 (0.81)	24.6 (2.33)	20.23 (0.99)	21.8 (0.57)	22.83 (1.47)	21.07 (1.55)	41.63 (0.79)	47.3 (1.18)	40.23 (1.59)
Limo (%)	29.33 (2.19)	32	32 (0)	61 (0.58)	58.33 (3.28)	62.33 (0.88)	62	60.33 (1.45)	64.33 (0.88)	56.67 (0.88)	51.33 (1.33)	57.67 (1.76)
Arena (mg/kg)	56.67 (1.2)	56	56.67 (0.33)	16.33 (0.33)	17 (1.53)	17.67 (0.33)	15.67 (0.33)	17 (0.58)	14.67 (0.67)	2	2	2
Tipo de suelo	Haplustoléntico			Argiudol típico			Argiudol típico			Peludert argílico		
Textura	Franco arenoso			Franco limoso			Franco limoso			Arcillo limoso / Franco arcillo limoso		

Cationes intercambiables Ca: Calcio, Mg: Magnesio, Na: Sodio, K: Potasio, CIC: Capacidad de Intercambio Catiónico, PSI: Porcentaje de Sodio Intercambiable, CE: Conductividad eléctrica. AN: ambiente natural, BPA: buenas prácticas agrícolas, PANS: prácticas agrícolas no sustentables. Datos pertenecientes al grupo de Física y Micromorfología de suelos (CIRN-INTA) y la Cátedra de manejo y conservación de suelos de la Facultad de Agronomía, UBA; miembros del consorcio BIOSPAS.

CAPITULO III

**III. Evaluación de la composición de las
comunidades nativas de hongos
micorrícicos arbusculares en diferentes
usos de suelo. Efecto de las prácticas
agrícolas**

III .1. Introducción

El impacto generado por la agricultura y otras actividades humanas sobre el recurso suelo (como por ej. la aplicación de pesticidas y fertilizantes, los cambios promovidos por su uso, la compactación del mismo debido a la cría de ganado) ha llevado a la sociedad a promover estrategias de manejo que conserven o mejoren su calidad (Wardle et al., 2004).

En agroecosistemas, los sistemas de siembra directa (SD) están caracterizados por una reducción en la intensidad y/o el número de operaciones de labranza (Kabir, 2005), incrementando la diversidad de cultivos, mejorando la fertilidad el uso del agua, disminuyendo la erosión de los suelos y reduciendo el aporte químico, comparados con la labranza convencional (LC) (Hamel, 1996). En Argentina la LC ha sido tradicionalmente muy extendida, pero en las últimas tres décadas se ha incrementado el uso de la SD como uno de los modelos de agricultura sustentable (Viglizzo et al., 2011). Actualmente la SD cubre unos 20 millones de hectáreas que representan el 70 % del área cultivada total de Argentina (Derpsch et al., 2010). De este porcentaje, alrededor del 60 % (más de 15 millones de hectáreas) está dedicada al monocultivo de soja [*Glicine max* (L.) Merr.], mientras que otros cultivos como el maíz (*Zea mays* L.) y el trigo (*Triticum aestivum* L.) cubren 5 millones de hectáreas (Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca).

La biodiversidad microbiana es un factor clave que regula los procesos del suelo en sistemas agrícolas sustentables (Copley, 2000). Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) son un grupo funcional importante de dicha biodiversidad porque contribuyen en gran medida a la productividad de los cultivos (van der Heijden et al., 2008). De hecho, pueden tener efectos beneficiosos sobre la performance vegetal y la calidad del suelo, los cuales son esenciales en los agroecosistemas (Barrios, 2007; Jeffries et al., 2003). Por estas razones, la evaluación integral de la calidad del suelo debe incluir el estudio de las comunidades de HMA.

Los HMA forman estructuras intrarradicales (arbúsculos, vesículas, circunvoluciones e hifas intercelulares) y estructuras extrarradicales (micelio, esporas y células auxiliares). Las esporas son células individuales multinucleadas formadas principalmente en la parte apical de la hifa esporógena del micelio extrarradical. El número de esporas producidas depende de la especie fúngica (Blaszkowski, 1993), de las especies de plantas hospedadoras (Blaszkowski, 1993; Hetrick y Bloom, 1986), de la

fertilidad del suelo (Hayman, 1970), la fenología del hospedador (Giovannetti, 1985) y las capacidades competitivas de las diferentes especies de co-ocurrir con otras especies de HMA (Gemma et al., 1989). La reproducción de los HMA es clonal (Morton, 2000) y el papel de las esporas es el de almacenar la información genética de una especie particular, dispersar esta información a nuevos hábitats e iniciar nuevos individuos temporal y/o espacialmente separados de los organismos parentales (Morton et al., 1993). Debido a que muchos componentes de la estructura subcelular de las esporas (como la de las láminas de la pared) son estables en condiciones ambientales diferentes, son consideradas como las estructuras más importantes para la identificación morfológica de los HMA. Algunas estructuras diagnósticas de las esporas son: tamaño, color, forma, formación de agrupamientos (“esporocarpos”), características de la pared (número y grosor de capas, reacción con yodo, ornamentaciones) y características de la hifa sustentora o del sáculo esporífero, entre otras. A pesar de que el reconocimiento de las especies es fundamental para entender como la diversidad afecta los procesos ecosistémicos (Zak et al. 2003), la clasificación taxonómica de los HMA es objeto de continuo debate debido a las dificultades de la extracción de esporas de las muestras de suelo y del mantenimiento de los hongos en medios de cultivos (Błaszowski, 2012). A su vez, la definición de especie en el phylum Glomeromycota es controvertida (Rosendahl, 2008), por lo que se utiliza el término “morfoespecie” (Robinson-Boyer et al., 2009) cuando está basado en las características morfológicas y ontogenia de las esporas. En esta Tesis se utilizaron las clasificaciones propuestas por Redecker et al. (2013) y Schüßler y Walker (2010), quienes reconocen dentro de este phylum una única clase Glomeromycetes, formada por 4 órdenes (Glomerales, Diversisporales, Paraglomerales y Archaeosporales) y 11 familias.

Las esporas aisladas de las muestras de suelo rizosférico colectadas a campo dan una idea de la abundancia y de la diversidad de especies HMA que esporulan en esas condiciones ambientales (Błaszowski, 2012). Dado que una alta proporción de HMA produce esporas estacionalmente o no producen esporas (Brundrett et al., 1999), la determinación de la diversidad de especies de HMA que ocurren en un determinado lugar necesita de un muestreo sistemático, regular a largo plazo y complementariamente de la inducción a esporular en cultivos trampa. La estacionalidad de los HMA ha sido estudiada en diferentes ambientes y muchos de estos estudios sugieren que los HMA son estacionalmente dinámicos (Becerra et al., 2009; Guadarrama y Álvarez-Sánchez, 1999; Lugo et al., 2003; Soteris et al., 2012). Sin embargo, hay estudios en los que no

se encontraron patrones estacionales (Mandyam y Jumpponen, 2008; Ruotsalainen et al., 2007).

Se ha estudiado el efecto de las prácticas agrícolas sobre las comunidades de HMA comparando labranza convencional versus sistemas en siembra directa o agricultura orgánica (Boddington y Dodd, 2000; Hijri et al., 2006; Menéndez et al., 2001; Oehl et al., 2003; Schalamuk y Cabello, 2010; Schalamuk et al., 2006). En general, tanto la abundancia y la diversidad de HMA como la efectividad en términos de colonización de raíces y el crecimiento de la planta declinan bajo intensificación agrícola; aunque hay excepciones como fue observado por Franke-Snyder et al. (2001). En general los usos de suelo con fines agrícolas impactan en forma directa sobre los HMA, dañando físicamente las redes de micelio y mezclando los primeros centímetros de suelos ricos en propágulos dentro del perfil del suelo (Kabir, 2005), o indirectamente creando condiciones favorables o desfavorables para los HMA (pasaje de una comunidad vegetal compleja a un monocultivo y de sistemas pobres en nutrientes a sistemas fertilizados) (Gosling et al., 2006; Oehl et al., 2003; Oehl et al., 2005). En suelos agrícolas, el número de especies y la riqueza de los HMA es bajo (Daniell et al., 2001; Helgason et al., 1998; Menéndez et al., 2001; Oehl et al., 2003; Oehl et al., 2005) debido principalmente a la presión de selección ejercida por la fertilización, la aplicación de fungicidas, el frecuente disturbio del suelo y la baja diversidad de hospedantes (Smith y Read, 2008).

Los estudios de los efectos de la SD sobre la comunidad de HMA son escasos en Argentina (Faggioli y Cabello, 2013), por esta razón, en este capítulo se propuso evaluar la estructura de la comunidad de HMA bajo diferentes usos de suelo comparando dos sistemas de siembra directa [buenas prácticas agrícolas (BPA) y prácticas agrícolas no sustentables (PANS) con ambientes naturales (AN) con vegetación nativa] a lo largo de un gradiente de sitios en la pampa Argentina. Se hipotetiza que los usos de suelo bajo siembra directa afectarán la comunidad de HMA y se predice que la densidad, la riqueza de especies y la diversidad decrecerán en el orden AN>BPA>PANS.

III.2. Materiales y métodos

III.2.1. Área de estudio

Este estudio se realizó en el área centro-Este de Argentina (Fig. II.1, Capítulo II). Se definieron tres usos de suelo: 1) “ambiente natural” (AN), 2) “buenas prácticas agrícolas” (BPA) y 3) “prácticas agrícolas no sustentables” (PANS) los que fueron replicados en 4 sitios agrícolas siguiendo una transecta regional centro-este de la región pampeana Argentina.

III.2.2. Diseño del muestreo

Se recolectaron 144 muestras de suelo, distribuidas en 4 muestreos, febrero y septiembre de 2010 y 2011, según el uso agrícola. Los puntos de muestreo (georeferenciados) correspondientes a cada réplica en cada combinación de uso de suelo/sitio se detallan en la Tabla II.1 (Capítulo II). Se recolectaron 3 muestras de suelo (réplicas) separada por, al menos unos 50 metros, en cada combinación de uso de suelo / sitio con barrenos de metal de 10 cm de diámetro a una profundidad de 10 cm; en total se tomaron 12 réplicas por uso de suelo. Cada réplica consistió en 20 subréplicas que fueron mezcladas para obtener una muestra compuesta. Las muestras de suelo (de 500 g cada una) fueron colocadas en bolsas de polietileno, etiquetadas, y conservadas en heladera a 4 °C, para su posterior análisis en el laboratorio.

III.2.3. Comunidad de hongos micorrícicos arbusculares

De cada muestra de suelo se tomaron 100 g que fueron tamizados empleando mallas de distinto tamaño de apertura (125 y 38 μm) siguiendo la metodología propuesta por Gerdemann y Nicolson (1963). Posteriormente, los materiales retenidos en los tamices de 125 y 38 μm fueron transferidos a tubos de centrífuga de 50 mL y centrifugados en sacarosa al 80 % (Walker et al., 1982). Las esporas obtenidas en la interfase entre la solución de sacarosa y agua fueron lavadas y colocadas en cápsulas de Petri de 9 cm de diámetro con base cuadrículada de 1 cm de lado. Las esporas y esporocarpos aparentemente saludables y sin ningún tipo de señal de daño fueron diferenciados según tamaño, color, ornamentaciones, número de paredes, número de láminas en cada pared y forma de la hifa sustentora. Luego fueron cuantificadas bajo lupa estereoscópica Nikon SMZ745T. Para cada tipo morfológico se realizaron preparados permanentes usando Polivinil-alcohol (PVA) y PVA + Melzer (Morton,

1988; Omar et al., 1979), como medios de montaje. Las esporas en reactivo de Melzer fueron aplastadas para poder observar la tinción de las diferentes paredes. Las morfoespecies fueron identificadas bajo microscopio óptico Nikon Eclipse E200, fotografiadas y comparadas con las descripciones de las especies originales y aislamientos de referencia descritos en INVAM (<http://invam.caf.wvu.edu/fungi/taxonomy/speciesID.htm>), Blaszkowski (<http://www.zor.zut.edu.pl/Glomeromycota/index.html>), Schenck y Perez (1990) y Redecker et al. (2013). Las especies fueron asignadas a cada tipo de espора siguiendo las nominaciones taxonómicas de Schüßler y Walker (2010) y Redecker et al. (2013). Los especímenes fueron depositados en el Herbario del Museo Botánico de la Universidad Nacional de Córdoba.

Estas observaciones se reconfirmaron a través de la comparación con esporas obtenidas a partir de cultivos trampa (sección III.2.4).

De cada una de las muestras de suelo se analizaron las diferentes variables de la comunidad de esporas de HMA: (1) densidad de esporas (número total de esporas en 100 g de peso seco de suelo); (2) frecuencia de ocurrencia (número de esporas de una morfoespecie particular en una muestra); (3) riqueza de morfoespecies (S) (número total de morfoespecies diferentes en 100 g de peso seco de suelo); (4) equitatividad (E); (5) índice de diversidad (H– Shannon-Weaver) calculado como una medida de la diversidad de morfoespecies de HMA, combinando los dos componentes de diversidad, la riqueza de especies y la equitatividad (Magurran y McGill, 2011).

III.2.4. Cultivos de plantas trampa

A fin de realizar una correcta identificación taxonómica de los HMA, se tomaron 200 g de las muestras de febrero del 2010 y se realizaron cultivos de plantas trampa. Se utilizaron como plantas hospedadoras las especies de *Sorghum bicolor* (L.) Moench (sorgo) y *Medicago sativa* L. (alfalfa), debido a su alta respuesta micorrícica (Cabello, 1997). Las semillas de ambas plantas hospedantes se esterilizaron superficialmente en NaClO al 10 % por agitación durante 10 minutos. Luego, las semillas se hicieron crecer en una mezcla de arena / suelo estéril (1:1, V/V) y transplantadas a macetas de 400 cm³. Se establecieron 2 macetas por cada uso de suelo en cada sitio (una por cada especie de planta) con una mezcla de suelo nativo utilizado como inóculo y arena esterilizada en proporciones 1:1 (V/V). Se transplantaron 10 plantas a cada maceta y se mantuvieron en

invernadero a 24 °C durante el día y a 19 °C durante la noche, con un fotoperíodo de 16/8 hs día/noche, regadas por aspersión durante 1 minuto dos veces al día durante un período de 6 meses. Posteriormente, se sometieron a estrés hídrico durante 10 días. La parte aérea fue descartada y el suelo con las raíces se almacenó en heladera a 4 °C por dos meses con el objetivo de romper la latencia de las esporas. Las esporas fueron extraídas por el método de tamizado húmedo, decantación y centrifugado en sacarosa (solución de sacarosa al 80 %) e identificadas al nivel de morfoespecie.

III.2.5. Análisis de datos

Se utilizaron modelos mixtos lineales generalizados (MMLG). Las réplicas dentro de cada uso de suelo fueron anidadas y utilizadas como término aleatorio dentro de cada sitio para controlar la pseudo-replicación. Los factores fueron “uso de suelo” con tres niveles [ambiente natural (AN), buenas prácticas agrícolas (BAP) y prácticas agrícolas no sustentables (PANS)] y “estaciones” con dos niveles (febrero y septiembre) y la interacción entre ambos factores.

Para examinar posibles diferencias entre los usos de suelo y los sitios de estudio, en cada una de las estaciones de muestreo, se realizó un segundo análisis utilizando en este caso como factores fijos del modelo el “uso de suelo” (con sus tres niveles) y el “área de estudio” con 4 niveles: Bengolea (B), Monte Buey (MB), Pergamino (P) y Viale (V), incluyendo la interacción entre los factores, particionado por estación.

Se comprobaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza de los residuos de todas las variables analizadas: densidad de esporas, riqueza de morfoespecies, equitatividad y el índice de diversidad mediante el *Q-Q plot* normal y el *Level Plot*, respectivamente. Las variables que no cumplieron con los supuestos de fueron transformadas a Log_{10} previo al análisis estadístico.

Las diferencias significativas entre los niveles de cada factor se evaluaron con la prueba *a posteriori* de LSD Fisher ($p < 0,05$).

Los coeficientes de correlación de Pearson fueron calculados para evaluar la relación entre las variables micorrícicas (densidad, riqueza, equitatividad y diversidad) y las variables químicas edáficas (COT, Nt, P y pH).

Con la finalidad de interpretar espacialmente relaciones conjuntas entre las variables medidas (densidad, riqueza, equitatividad y diversidad) y los usos de suelo

(ambiente natural, buenas prácticas agrícolas y prácticas agrícolas no sustentables), y los usos de suelo en cada sitio de estudio (Bengolea, Monte Buey Pergamino y Viale), se realizó un análisis de componentes principales (ACP) con los usos de suelo y los sitios de estudio como variables de clasificación.

El análisis estadístico de los datos fue realizado usando el software estadístico InfoStat Plus version 2011 (<http://www.infostat.com.ar>).

III.3. Resultados

III.3.1. Caracterización del suelo

Las propiedades químicas y físicas de los diferentes usos de suelo dentro de cada sitio de estudio se detallaron en las Tablas II.2 y II.3 (Capítulo II). En la Tabla III.1 se muestra la variación de las variables edáficas (COT, Nt, P y pH) para los meses de febrero y septiembre en los diferentes usos de suelo (AN, BPA y PANS). De las 4 variables edáficas analizadas, el COT, el Nt y el P presentaron diferencias significativas entre los usos de suelo, pero no entre las estaciones de febrero y septiembre. Los valores promedios para estas tres variables decrecieron en el orden AN>BPA>PANS. El pH solo presentó diferencias significativas entre estaciones, siendo los suelos de los tres usos levemente más ácidos en septiembre que en febrero.

Tabla III.1. Media (\pm E.E.) de las variables edáficas medidas en las muestras de suelo: carbono orgánico total (COT) (%), nitrógeno total (Nt) (%), fosforo extraíble (P) (mg kg^{-1}) y el pH en febrero y septiembre en los diferentes usos de suelo (AN: ambiente natural; BPA: buenas prácticas agrícolas, PANS: prácticas agrícolas no sustentables). Resultados del MMLG (modelos mixtos lineales generalizados) entre estaciones de muestreo, usos de suelo y su interacción. Letras diferentes indican diferencias significativas según el test *a posteriori* LSD Fisher ($p < 0,05$) para la interacción de la estación de muestreo y usos de suelo.

Uso de suelo	COT		Nt	
	[febrero]	[septiembre]	[febrero]	[septiembre]
AN	2,95 \pm 0,37a	2,96 \pm 0,37a	0,23 \pm 0,03a	0,25 \pm 0,03a
BPA	2,20 \pm 0,37b	2,35 \pm 0,37b	0,18 \pm 0,03b	0,19 \pm 0,03b
PANS	184, \pm 0,37c	1,85 \pm 0,37c	0,14 \pm 0,03c	0,15 \pm 0,03c
MMLG	F	p	F	p
Estación	0,48	0,49	3,40	0,07
Usos de suelo	53,68	<0,001	52,67	<0,001
E*U	0,29	0,75	0,08	0,92

Uso de suelo	P		pH	
	[febrero]	[septiembre]	[febrero]	[septiembre]
AN	108,90 \pm 39,07a	102,53 \pm 39,07a	6,29 \pm 0,14a	5,98 \pm 0,14bc
BPA	57,35 \pm 39,07b	32,72 \pm 39,07bc	6,20 \pm 0,14ab	6 \pm 0,14bc
PANS	20,50 \pm 39,07bc	14,04 \pm 39,07c	6,32 \pm 0,14a	5,96 \pm 0,14c
MMLG	F	p	F	p
Estación	1,00	0,32	17,49	<0,001
Usos de suelo	17,47	<0,001	0,15	0,86
E*U	0,24	0,79	0,46	0,63

III. 3.2. Caracterización de la comunidad de HMA

Se identificaron 46 morfoespecies en base a caracteres morfológicos de las cuales 40 se atribuyeron a morfoespecies conocidas distribuidas en 8 familias: Acaulosporaceae Morton & Benny, Ambisporaceae Walker, Vestberg & Schüßler, Archaeosporaceae Morton & Redecker, Claroideoglomeraceae Walker & Schüßler, Entrophosporaceae Oehl & Sieverd, Gigasporaceae Morton & Benny, Glomeraceae Piroz. & Dalpé y Pacisporaceae Walker, Błaszk., Schüßler & Schwarzott (Ver Anexo, Figuras 1-8). La mayoría de las morfoespecies identificadas pertenecieron a las familias Glomeraceae (16 morfoespecies), Gigasporaceae (12 morfoespecies) y Acaulosporaceae (10 morfoespecies), y de estas familias 10 morfoespecies fueron las más ubicuas entre los tres usos de suelo: *Acaulospora scrobiculata* (9 %), *A. bireticulata* (3,9 %), *Archaeospora trappei* (3,4 %), *Claroideoglopus claroideum* (3,7 %), *Funneliformis geosporum* (16 %), *F. mosseae* (5 %), *Gigaspora margarita* (5 %), *Glomus brohultii* (18 %), *Rhizophagus clarus* (5 %) y *R. intraradices* (6,3 %).

En la Tabla III.2 se muestran las diferentes morfoespecies identificadas en cada uso de suelo con su frecuencia relativa. Para los tres usos de suelo, tanto en febrero como en septiembre, *Funneliformis geosporum* y *Glomus brohultii* fueron las morfoespecies más frecuentes (Tabla III.2). *A. denticulata* fue única de febrero (solo en PANS) y *A. alpina* (en los tres usos de suelo), *A. excavata* (en los tres usos de suelo) y *S. dipapillosa* (solo en AN y PANS) fueron únicas de septiembre. En AN sólo *Sclerocystis* sp.1 estuvo presente tanto en febrero como en septiembre, mientras que *A. denticulata* solo estuvo presente en las muestras de PANS de febrero. Varias especies estuvieron presentes en el AN y en las BPA en febrero y septiembre: *A. leavis*, *C. pellucida*, *G. decipiens*, *R. fulgida*, *G. aggregatum*, *Glomus* sp.2, *Glomus* sp. 3 y *Pacispora* sp. 1. En febrero y septiembre el número de morfoespecies decreció en el siguiente orden AN>BPA>PANS (Tabla III.2).

Las familias más abundantes en todos los usos de suelo fueron Glomeraceae, Acaulosporaceae, Gigasporaceae y Claroideoglomeraceae. Acaulosporaceae y Entrophosporaceae fueron más frecuentes en PANS que en AN y BPA; a su vez Ambisporaceae fue más frecuente en BPA que en los otros dos usos de suelo (Tabla III.2).

III.3.3. Plantas trampa

Los cultivos de planta trampa permitieron aislar solo 29 de las 46 especies identificadas en las muestras de campo. No se registró ninguna morfoespecie diferente de las encontradas en las muestras provenientes del campo (Tabla III.3).

Tabla III.2. Lista de especies identificadas de los morfotipos de esporas en los diferentes usos de suelo: AN (ambiente natural), BPA (buenas prácticas agrícolas) y PANS (prácticas agrícolas no sustentables) en los meses de febrero y septiembre. Los valores corresponden a las medias de las frecuencias de cada morfoespecie (%) en cada uso de suelo por estación.

Morfoespecies de HMA	febrero			septiembre		
	AN	BPA	PANS	AN	BPA	PANS
Acaulosporaceae						
<i>Acaulospora alpina</i> Oehl, Sýkorová & Sieverd.	0	0	0	0,05	0,15	1,89
<i>A. bireticulata</i> Rothwell & Trappe	1,58	1,43	6,18	3,05	3,23	7,6
<i>A. excavata</i> Ingleby & Walker	0	0	0	0,12	0,31	1,04
<i>A. delicata</i> Walker, Pfeiff. & Bloss	0	0,49	0,6	0	0,09	0
<i>A. denticulata</i> Sieverd. & Toro	0	0	0,33	0	0	0
<i>A. laevis</i> Gerd. & Trappe	0,2	1,26	0	0,37	0	0
<i>A. mellea</i> Spain & Schenck	0,09	0	0	1,49	0,96	0,7
<i>A. rehmii</i> Sieverd. & Toro	0,3	0,23	0,56	0,64	0,36	1,55
<i>A. scrobiculata</i> Trappe	7,63	8,01	12,65	5,3	9,51	12,6
<i>A. spinosa</i> Walker & Trappe	0,41	0,04	0,68	1,14	0,25	1,19
Ambisporaceae						
<i>Ambispora leptoticha</i> (Schenck & Sm.) Walker, Vestberg & Schüßler	0,07	0	0	0	1,12	0,08
Archaeosporaceae						
<i>Archaeospora trappei</i> (Ames & Linderman) Morton & Redecker	6,75	4,32	4,08	0,95	1,68	4,66
Claroideoglomeraceae						
<i>Claroideoglomerus claroideum</i> (Schenck & Sm.) Walker & Schüßler	2,98	5,53	2,29	2,04	3,27	6,2
<i>C. etunicatum</i> (Becker & Gerd.) Walker & Schüßler	0,77	0,48	1,47	3,99	4,95	4,57
<i>C. luteum</i> (Kenn., Stutz & Morton) Walker & Schüßler	3,21	0,69	0,95	1,31	3,87	0
Entrophosporaceae						
<i>Entrophospora infrequens</i> (Hall) Ames & Schneid.	0,94	0,26	1,29	0,58	0,56	0,73
Gigasporaceae						
<i>Cetraspora pellucida</i> (Nicolson & Schenck) Oehl, Souza & Sieverd	0,76	0,13	0	0,21	0,1	0
<i>Dentiscutata heterogama</i> (Nicolson & Gerd.) Sieverd., Souza & Oehl	2,39	2,31	0,63	1,26	0	0,23
<i>Gigaspora decipiens</i> Hall & Abbot	0,16	0,23	0	0,28	0,35	0
<i>G. gigantea</i> (Nicolson & Gerd.) Gerd. & Trappe	2,2	1,1	1,68	0,1	0,49	0,45
<i>G. margarita</i> Becker & Hall	2,73	3,26	6,92	4,48	5,07	6,46
<i>G. rosea</i> Nicolson & Schenck	0,15	0,51	0,43	0,34	1,66	1,13
<i>Racocetra fulgida</i> (Koske & Walker) Oehl, Souza & Sieverd	0,15	0	0	0,24	1,41	0
<i>Scutellospora biornata</i> Sieverd. & Toro	2,42	0,98	2,45	3,91	3,33	1,13
<i>S. calospora</i> (Nicolson & Gerd.) Walker & Sanders	0,72	0,62	0	2,18	1,22	0,38

<i>S. dipapillosa</i> (Walker & Koske) Walker & Sanders	0	0	0	0,74	0	0,59
<i>S. rubra</i> Stürmer & Morton	0,78	0,11	0,73	1,26	0,17	1,04
<i>Scutellospora</i> sp.1	0,34	0,67	1,27	0,61	0	0,78
Glomeraceae						
<i>Funneliformis coronatum</i> (Giovann.) Walker & Schüßler	0,19	2,17	1,82	0,56	1,18	0,14
<i>F. geosporum</i> (Nicolson & Gerd.) Walker & Schüßler	27,07	21,99	17,7	9,52	13,02	7,19
<i>F. mosseae</i> (Nicolson & Gerd.) Walker & Schüßler	2,88	7,66	7,31	6,12	5,07	2,71
<i>Glomus aggregatum</i> Schenck & Sm.	0,32	0,55	0	1,56	0	0
<i>G. brohultii</i> , Sieverd.& Herrera	13,93	13,15	12,1	25,69	21,74	21,03
<i>G. fuegianum</i> (Speg.) Trappe & Gerd.	2,38	0	0	1,23	0,17	0,29
<i>G. microaggregatum</i> Koske, Gemma & Olexia	1,44	0	0,27	1,75	0,37	2,35
<i>Glomus</i> sp.1	0,03	0	0,28	0	0,23	0,1
<i>Glomus</i> sp.2	0,05	0	0	0,24	0,23	0
<i>Glomus</i> sp.3	0,03	0,3	0	0	0,66	0
<i>Rhizophagus clarus</i> (Nicolson & Schenck) Walker & Schüßler	8,05	9,78	8,24	1,72	2,57	2,19
<i>R. fasciculatus</i> (Thaxt.) Walker & Schüßler	0,29	0	0	1,1	0,11	0,75
<i>R. intraradices</i> (Schenck & Sm.) Walker & Schüßler	4,16	10,18	6,85	3,3	8,39	5,05
<i>Sclerocystis sinuosa</i> (Gerd. & Bakshi) Almeida & Schenck	0,77	0,43	0,09	0,51	0,1	0
<i>Sclerocystis</i> sp.1	0,19	0	0	0,24	0	0
<i>Septoglomus constrictum</i> (Trappe) Sieverd., Silva & Oehl	0,35	0,56	0,18	3,09	0,41	1,44
Pacisporaceae						
<i>Pacispora boliviana</i> Sieverd. & Oehl	0,03	0,04	0	0,26	0	0,82
<i>Pacispora</i> sp.1	0,07	0,47	0	0,12	0,15	0
Total de morfoespecies por uso de suelo en cada estación	41(89%)	33(72%)	28(61%)	41(89%)	38(83%)	33(72%)
Total de morfoespecies por uso de suelo	AN: 44; BPA: 43; PANS: 37					
Morfoespecies únicas para cada uso de suelo	AN: 1; BPA: 0; PANS: 1					
Porcentaje de cada familia para cada uso de suelo						
Acaulosporaceae	AN: 11,18; BPA: 13,18; PANS: 23,79					
Ambisporaceae	AN: 0,04; BPA: 0,56; PANS: 0,04					
Archaeosporaceae	AN: 3,85; BPA: 3,00; PANS: 4,37					
Claroideoglomeraceae	AN: 7,15; BPA: 9,39; PANS: 7,74					
Entrophosporaceae	AN: 0,76; BPA: 0,41; PANS: 1,01					
Gigasporaceae	AN: 14,23; BPA: 11,83; PANS: 13,15					
Glomeraceae	AN: 59,4; BPA: 60,5; PANS: 49					
Pacisporaceae	AN: 0,24; BPA: 0,33; PANS: 0,41					

Tabla III.3. Morfoespecies identificadas en las muestras de suelo de las plantas trampa *Sorghum bicolor* (L.) Moench y *Medicago sativa* (L.). Se nombran todas las morfoespecies identificadas en las muestras de suelo del campo y con la X se destacan las asiladas de las muestras de suelo de las plantas trampa.

Morfoespecies de HMA	Usos de suelo					
	AN		BPA		PANS	
	<i>S. bicolor</i>	<i>M. sativa</i>	<i>S. bicolor</i>	<i>M. sativa</i>	<i>S. bicolor</i>	<i>M. sativa</i>
Acaulosporaceae						
<i>A. bireticulata</i>		X	X		X	
<i>A. excavata</i>		X	X		X	
<i>A. mellea</i>		X		X	X	
<i>A. rehmi</i>	X	X			X	
<i>A. scrobiculata</i>	X	X	X	X	X	
Archaeosporaceae						
<i>Archaeospora trapei</i>	X	X	X	X	X	
Claroideoglomeraceae						
<i>Claroideoglopus claroideum</i>	X	X	X		X	
<i>Cl. etunicatum</i>	X	X	X		X	
<i>Cl. luteum</i>	X	X	X			
Entrophosporaceae						
<i>Entrophospora infrequens</i>		X	X		X	X
Gigasporaceae						
<i>Dentiscutata heterogama</i>	X	X	X			
<i>G. gigantea</i>	X					
<i>G. margarita</i>	X	X	X	X		X
<i>Scutellospora biornata</i>	X	X	X	X	X	
<i>S. calospora</i>	X					X
<i>S. rubra</i>	X				X	
Glomeraceae						
<i>Funneliformis coronatum</i>	X		X	X		
<i>F. geosporum</i>	X	X	X	X	X	X
<i>F. mosseae</i>		X		X		
<i>G. brohultii</i>	X	X	X	X		
<i>G. fuegianum</i>		X	X	X		
<i>Rhizophagus clarus</i>	X		X	X	X	X
<i>R. fasciculatus</i>						
<i>R. intraradices</i>	X	X	X	X		
<i>Sclerocystis sinuosa</i>	X	X	X	X		
<i>Septoglopus constrictum</i>	X					
Pacisporaceae						
<i>Pacispora boliviana</i>		X	X	X		
<i>Pacispora sp.1</i>		X	X		X	

III.3.4. Variables micorrícicas, estacionalidad y usos de suelo

De las 4 variables micorrícicas analizadas en este estudio (densidad de esporas, riqueza de morfoespecies, equitatividad y diversidad) sólo la equitatividad presentó diferencias significativas entre los meses de muestreo, mientras que la riqueza, la equitatividad y la densidad de esporas difirieron significativamente entre los diferentes usos de suelo (Tabla III.4). La diversidad no presentó diferencias significativas entre febrero y septiembre ni entre los diferentes usos de suelo.

Tabla III.4. Media (\pm E.E.) de las variables micorrícicas analizadas en las muestras de suelo: densidad (n° de esporas/100 g PS de suelo), riqueza (n° de especies/100 g PS de suelo), diversidad, equitatividad de HMA en febrero y septiembre. Resultados del MMLG entre estaciones de muestreo, usos de suelo (AN: ambiente natural, BPA: buenas prácticas agrícolas, PANS: prácticas agrícolas no sustentables) y su interacción. Letras diferentes indican diferencias significativas según el test *a posteriori* LSD Fisher ($p < 0,05$) para la interacción de la estación de muestreo y usos de suelo.

Uso de suelo	Densidad		Riqueza	
	[febrero]	[septiembre]	[febrero]	[septiembre]
AN	137,67 \pm 36,30a	101,65 \pm 82,43a	9,92 \pm 1,34ab	10,50 \pm 5,18a
BPA	69,38 \pm 10,83ab	41,36 \pm 6,58bc	8,38 \pm 0,85bc	7,38 \pm 0,50c
PANS	32,97 \pm 4,46c	25,67 \pm 3,45c	6,71 \pm 0,65c	6,96 \pm 0,47c
MMLG	F	p	F	p
Estación (E)	1,3	0,26	0,01	0,93
Usos de suelo (U)	12,13	<0,001	10,74	<0,001
E x U	1,02	0,36	0,63	0,54

Uso de suelo	Diversidad		Equitatividad	
	[febrero]	[septiembre]	[febrero]	[septiembre]
AN	2,14 \pm 0,20b	2,50 \pm 0,74a	0,66 \pm 0,08c	0,75 \pm 0,05bc
BPA	2,23 \pm 0,14ab	2,32 \pm 0,08ab	0,79 \pm 0,02bc	0,84 \pm 0,02ab
PANS	2,25 \pm 0,16ab	2,39 \pm 0,09ab	0,81 \pm 0,05a	0,88 \pm 0,02a
MMLG	F	p	F	p
Estación (E)	3,59	0,06	4,99	<0,05
Usos de suelo (U)	0,07	0,94	11,45	<0,001
E x U	0,65	0,52	0,63	0,57

La densidad de esporas (número de esporas/100 g de peso seco de suelo) varió de 3,33 a 848,87 esporas/100g de peso seco de suelo para los tres usos de suelo (para febrero en el AN 3,33 - 848,87; en BPA 5,85 - 162,36 y en PANS 5,16 - 80,02 y en septiembre en el AN 7,44 - 273,31; en BPA 3,69 - 126,67 y en PANS 3,48 - 69,99). En febrero y septiembre la densidad de esporas y la riqueza de especies decreció en el orden AN>BPA>PANS, observando una mayor densidad de esporas en febrero, para los tres usos de suelo.

III.3.5. Variables micorrícicas, usos de suelo y sitios de estudio.

En la Tabla III.5 se muestran las variables micorrícicas analizadas (densidad de esporas, riqueza de morfoespecies, equitatividad y diversidad) para los usos de suelo, los sitios de estudio y los meses de muestreo. La riqueza y la densidad de esporas mostraron diferencias significativas para los usos de suelo y los sitios de estudio en ambas estaciones. Para esas dos variables, la interacción entre ambos factores (usos de suelo y sitios de estudio) también fue significativa en ambas estaciones.

Tabla III.5. Resultados del MMLG para las variables micorrícicas analizadas en las muestras de suelo: densidad (n° de esporas/100 g PS de suelo), riqueza (n° de especies/100 g PS de suelo), diversidad, equitatividad de HMA en febrero y septiembre, entre usos de suelo (AN: ambiente natural, BPA: buenas prácticas agrícolas, PANS: prácticas agrícolas no sustentables), sitios de estudio (Bengolea, Monte Buey, Pergamino y Viale) y su interacción.

Variables micorrícicas	febrero					
	Uso de suelo (U)		Sitio (S)		UxS	
	F	p	F	p	F	p
Diversidad	0,24	0,79	11,19	<0,001	3,19	<0,05
Riqueza	6,06	<0,01	20,03	<0,001	6,66	<0,001
Equitatividad	5,94	<0,01	4,53	<0,05	0,84	0,55
Densidad	5,11	<0,05	13,08	<0,001	5,28	<0,01

Variables micorrícicas	septiembre					
	Uso de suelo (U)		Sitio (S)		UxS	
	F	p	F	p	F	p
Diversidad	0,72	0,49	3,79	<0,05	1,59	0,19
Riqueza	8,52	<0,01	5,32	<0,01	3,12	<0,05
Equitatividad	4,87	<0,05	2,66	0,07	2,21	0,08
Densidad	16,7	<0,001	7,94	<0,001	7,43	<0,001

Por otro lado, la equitatividad presentó diferencias significativas entre los usos de suelo en ambas estaciones (Tabla III.5), mientras que para los sitios de estudio la equitatividad solo fue diferente en septiembre. La interacción entre ambos factores no fue significativa entre estaciones. Se observaron diferencias significativas en la diversidad entre sitios de estudio dentro de cada estación. A su vez, se observó interacción significativa entre usos de suelo y sitios de estudio (Tabla III.5).

La densidad de esporas, la riqueza de morfoespecies, la equitatividad y la diversidad presentaron diferentes patrones de variación entre los usos de suelo en cada sitio de estudio (Figuras III.1, III.2). La densidad de esporas decreció en ambas estaciones en el siguiente orden AN>BPA>PANS en todos los sitios, excepto en Monte Buey que mostró un patrón inverso (PANS≥BPA>AN), además de presentar los menores valores para esta variable en ambas estaciones (Fig. III.1. a y b). La riqueza de especies de HMA disminuyó en dirección Oeste-Este de la transecta regional y el AN presentó los mayores valores comparado con las prácticas agrícolas (BAP y PANS). Monte Buey fue el sitio con menor riqueza de especies para el AN como así también para los suelos usados con fines agrícolas (Fig.III.1. c y d).

Bengolea fue el sitio con mayor diversidad de HMA en ambas estaciones (Fig. III.2. a y b), siendo el AN el más diverso. Los suelos manejados para agricultura (BPA y

PANS) presentaron igual diversidad que los ambientes naturales en Monte Buey, Pergamino y Viale (Fig. III.2. a y b).

La equitatividad mostró los menores valores para los AN en todos los sitios siguiendo el patrón PANS>BPA>AN para ambas estaciones, excepto para Monte Buey que con los mayores valores para esta variable, no mostró diferencias entre los usos de suelo (Fig. III.2. c y d).

III.3.6. Análisis de correlación entre las variables micorrícicas y las variables edáficas

En la Tabla III.6 se muestra el análisis de correlación de Pearson entre las variables micorrícicas y las variables edáficas medidas en cada estación de febrero y septiembre. La diversidad, la riqueza y la equitatividad mostraron correlaciones negativas significativas con el COT, con el Nt y el P en la estación de febrero. Solo la riqueza mostró una correlación positiva y significativa con el pH y la equitatividad con el P. La densidad de esporas no mostró correlaciones significativas con ninguna de las variables edáficas. Con respecto a la estación de septiembre, la diversidad mostró correlaciones significativas con las cuatro variables edáficas, negativas con el COT, el Nt y el P, y positiva con el pH. La riqueza y la densidad mostraron correlaciones significativas negativas con el P y positivas con el pH. La equitatividad mostró correlaciones significativas y negativas con el COT y el Nt.

Tabla III.6. Análisis de correlación de Pearson entre las variables micorrícicas (diversidad, riqueza de morfoespecies, equitatividad y densidad de esporas) y las variables químicas edáficas (COT, Nt, P y pH) medidas en cada estación (febrero y septiembre).

Estación febrero				
	Diversidad	Riqueza	Equitatividad	Densidad
COT	-0,45***	-0,24*	-0,35**	0,09
Nt	-0,53***	-0,36**	-0,25*	0,01
P	-0,32**	-0,36**	0,23*	-0,22
pH	0,18	0,24*	-0,11	0,23
Estación septiembre				
COT	-0,33**	-0,16	-0,35**	0,13
Nt	-0,36**	-0,16	-0,37**	0,14
P	-0,32**	-0,30*	-0,06	-0,25*
pH	0,29*	0,36**	-0,03	0,25*

*, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

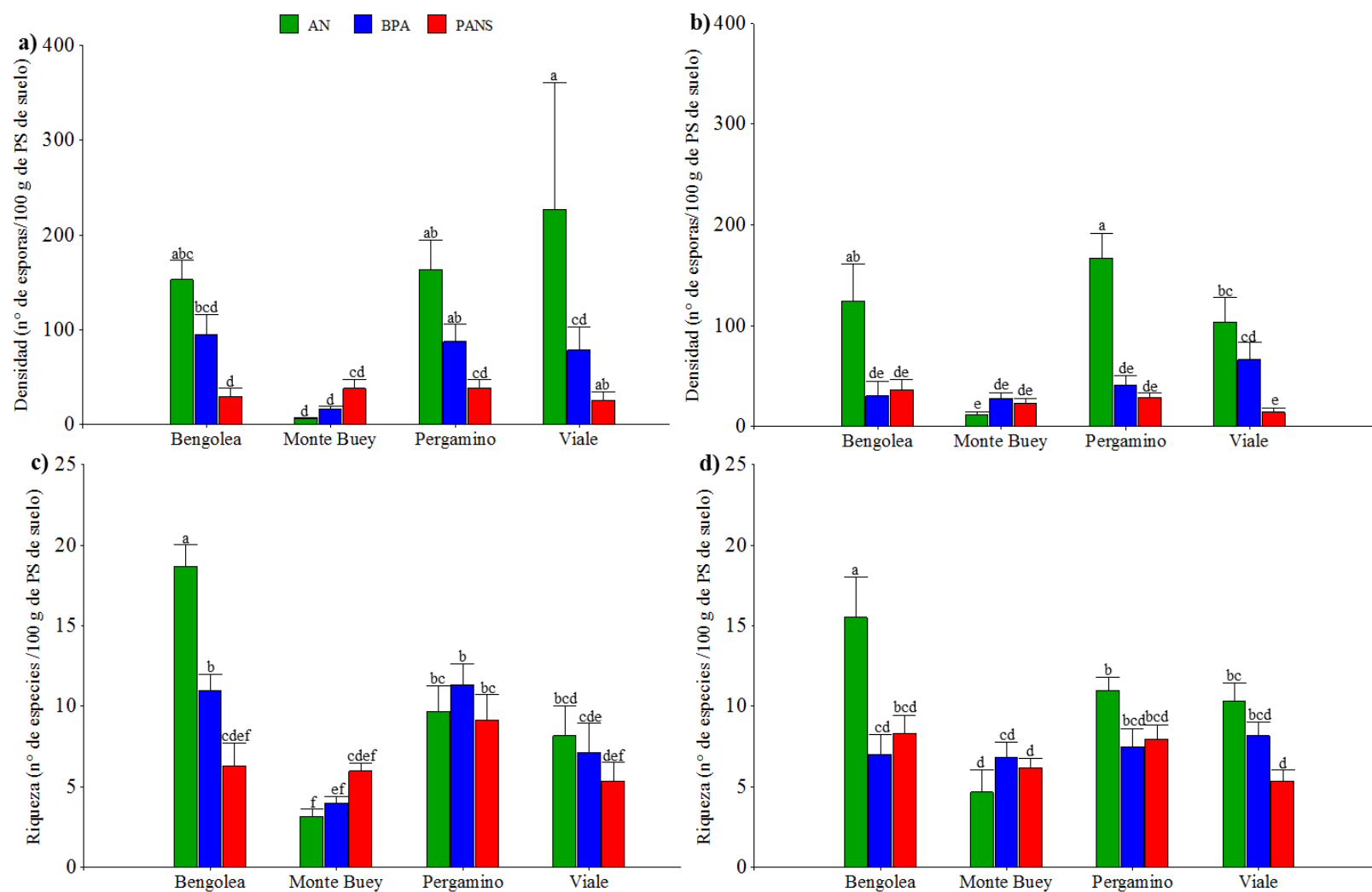


Figura III.1. Patrones de variación de los valores medios ($n = 6$) (\pm EE) de la densidad de febrero (a) y septiembre (b) y la riqueza de especies de febrero (c) y septiembre (d) de HMA en los diferentes usos de suelo (AN: ambiente natural, BPA: buenas prácticas agrícolas, PANS: prácticas agrícolas no sustentables) para cada uno de los sitios de estudio. Letras diferentes representan diferencias significativas [Test a posteriori LSD Fisher ($p < 0,05$)].

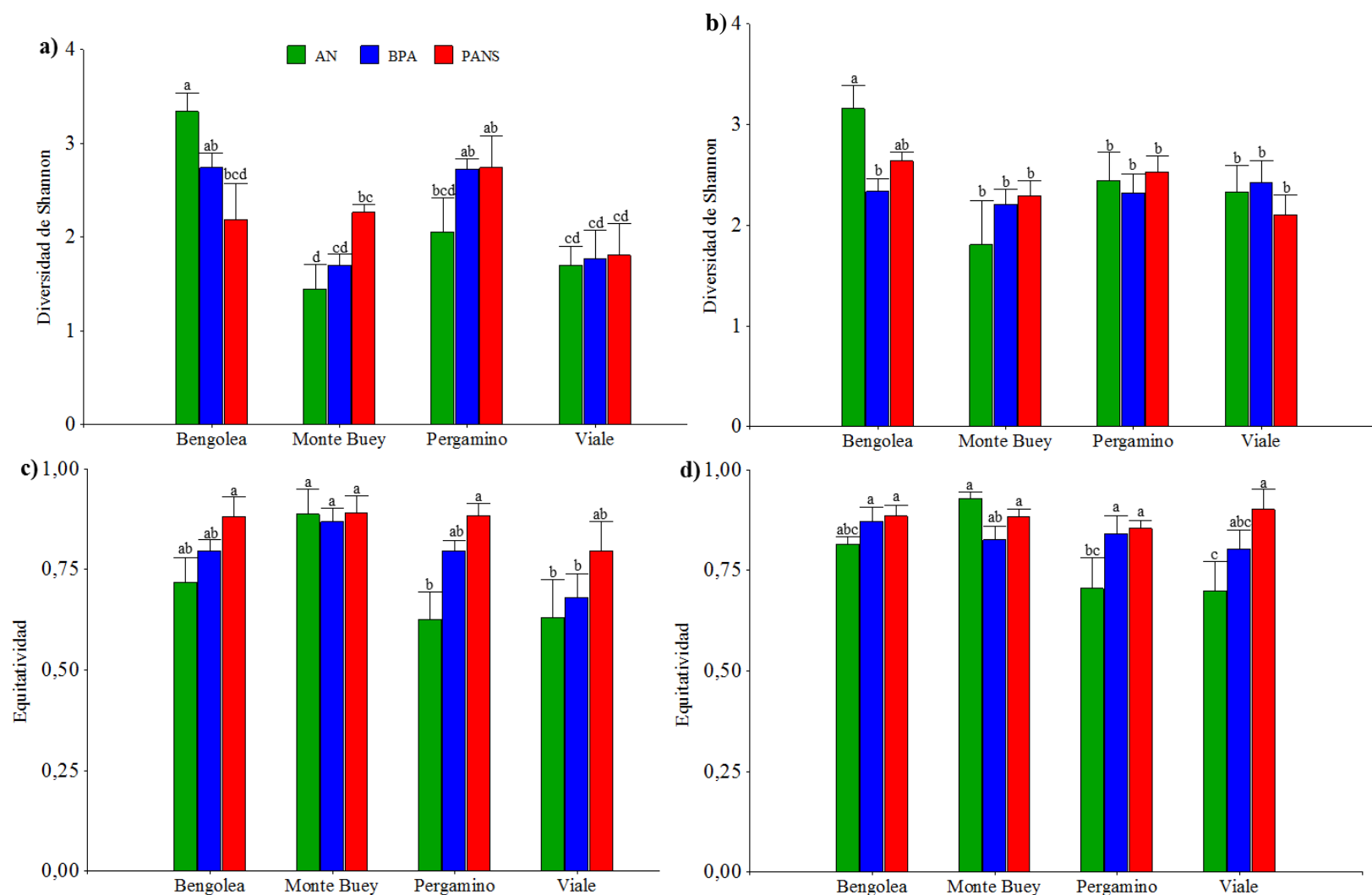


Figura III.2. Patrones de variación de los valores medios ($n = 6$) (\pm EE) de la diversidad de febrero (a) y julio (b) y de la equitatividad de febrero (c) y julio (d) de HMA en los diferentes usos de suelo (AN: ambiente natural, BPA: buenas prácticas agrícolas, PANS: prácticas agrícolas no sustentables) para cada uno de los sitios de estudio. Letras diferentes representan diferencias significativas [Test a posteriori LSD Fisher ($p < 0,05$)].

III.3.7. Análisis de componentes principales

III.3.7.a. Análisis de componentes principales entre los diferentes usos de suelo

En la Fig. III.3 se presentan los resultados del Análisis de Componentes Principales (ACP) de las variables micorrícicas (densidad de esporas, riqueza de especies, diversidad y equitatividad) y las variables edáficas (COT: carbono orgánico total, Nt: nitrógeno total, P: fósforo extraíble, pH) para febrero y septiembre en los diferentes usos de suelo (AN, BPA y PANS). El primer componente principal (CP1) explicó el 72 % de la variabilidad total de los datos de ambas variables (micorrícicas y edáficas) mostrando una clara separación entre los diferentes usos de suelo, y estuvo representado principalmente por la riqueza (autovector1: 0,41; autovector2: -0,12), la densidad (autovector1: 0,41; autovector2: 0,11), el P (autovector1: 0,41; autovector2: -0,01), el COT (autovector1: 0,40; autovector2: -0,13) y la equitatividad (autovector1: -0,41; autovector2: -0,08). La riqueza, la densidad, el P y el COT mostraron asociación con los ambientes naturales, tanto en febrero como en septiembre, y la equitatividad se asoció con las prácticas agrícolas no sustentables en ambos meses de muestreo.

Los AN poseen los valores más altos en densidad de esporas, riqueza de especies, como así también las mayores concentraciones de COT, P y Nt en sus suelos (Tabla III.1). Por el contrario las PANS se asociaron a la equitatividad, por lo que estos usos de suelo poseen los valores más bajos para las variables anteriormente mencionadas, pero presentan los valores más altos de equitatividad. El segundo componente principal (CP2) explicó el 25 % de la variabilidad de los datos, representado principalmente por el pH (autovector1: 0,06; autovector2: 0,68) y la diversidad (autovector1: -0,11; autovector2: -0,66).

III.3.7.b. Análisis de componentes principales entre usos de suelo y sitios de estudio.

En la Fig. III.4 se presentan los resultados del Análisis de Componentes Principales (ACP) de las variables micorrícicas y las variables edáficas para febrero y septiembre en los diferentes usos de suelo dentro de cada sitio de estudio. El primer componente principal (CP1) explicó el 41 % de la variabilidad total de los datos de las variables micorrícicas y edáficas analizadas y estuvo representado principalmente por la diversidad (autovector1: 0,49; autovector2: 0,03), el Nt (autovector1: -0,45; autovector2: -0,29), el COT (autovector1: -0,43; autovector2: -0,34), el P (autovector1: -

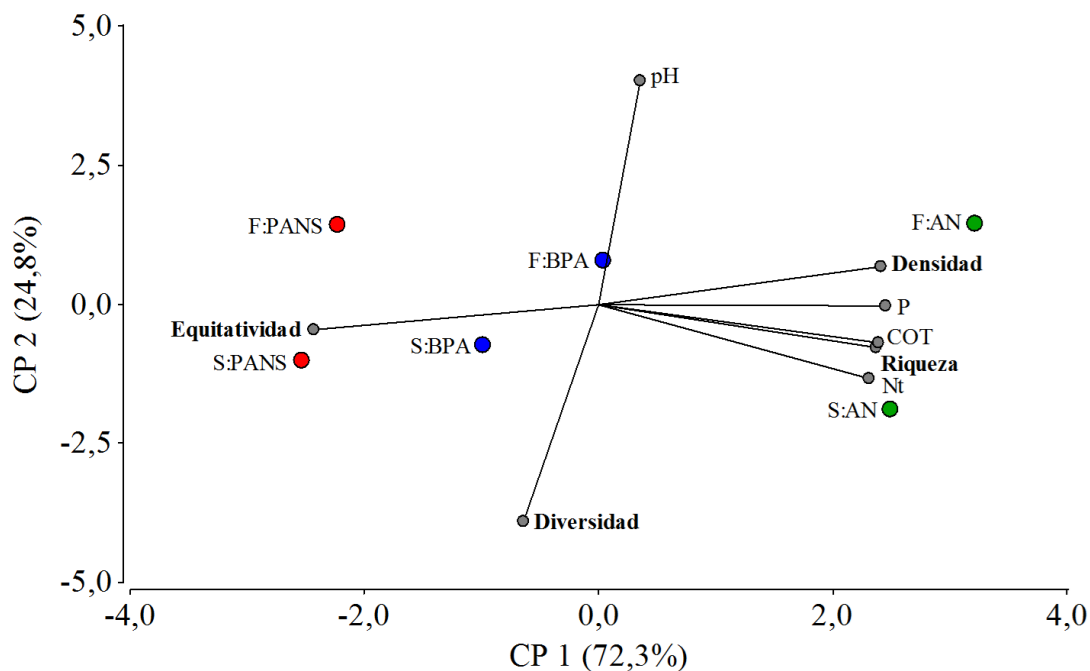


Fig. III.3. Análisis de componentes principales (ACP) de las variables micorrícicas: densidad, riqueza, diversidad y equitatividad, y las variables químicas edáficas: pH, P (fósforo extraíble), COT (carbono orgánico total) y Nt (nitrógeno total) para febrero (F) y septiembre (S) en los diferentes usos de suelo: AN (ambiente natural), BPA (buenas prácticas agrícolas) y PANS (prácticas agrícolas no sustentables).

0,41; autovector2: 0,13) y la riqueza (autovector1: 0,41; autovector2: 0,31). El segundo componente principal (CP2) explicó el 36 % de la variabilidad de los datos, representado principalmente por la equitatividad (autovector1: 0,05; autovector 2: 0,55) y la densidad (autovector1: 0,16; autovector2: -0,52). El segundo componente es el que separa los AN de las prácticas agrícolas en siembra directa (BPA y PANS), explicado por los altos valores de densidad de esporas encontrados en los AN de Bengolea, Pergamino y Viale y los más bajos en equitatividad. Por el contrario, los suelos cultivados poseen los valores más bajos de densidad de esporas y los más altos en equitatividad.

El AN de Bengolea se asoció a los mayores valores de diversidad y riqueza de especies y los AN de Pergamino y Viale y las BPA de Viale a los mayores valores de densidad de esporas, como así también de las concentraciones de Nt, COT y pH del suelo. El AN de Monte Buey se asoció claramente a los altos niveles de P presentes en estos suelos. Por el contrario las prácticas agrícolas en siembra directa se agruparon y se asociaron a los altos valores de equitatividad.

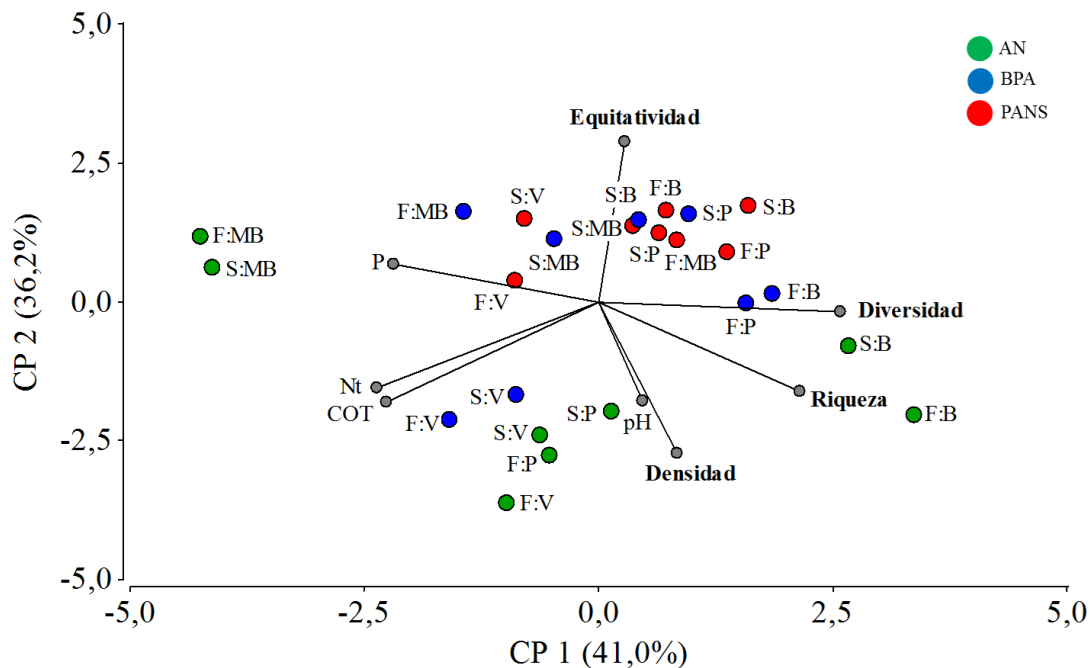


Figura III.4. Análisis de componente principal (ACP) de las variables micorrícicas: densidad, riqueza, diversidad y equitatividad, y las variables edáficas: pH, P (fósforo extraíble), COT (carbono orgánico total) y Nt (nitrógeno total) para febrero (F) y septiembre (S) en los diferentes usos de suelo: AN (ambiente natural), BPA (buenas prácticas agrícolas) y PANS (prácticas agrícolas no sustentables) y sitios de estudio: B: Bengolea, MB: Monte Buey, P: Pergamino y V: Viale.

III.4. Discusión

Numerosos estudios han demostrado que el manejo agrícola afecta las comunidades de HMA (Douds et al., 1993; Jansa et al., 2003; Miller y Jastrow, 2002; Oehl et al., 2003; Sieverding, 1990), mostrando resultados contradictorios, en un rango que va desde efectos negativos a positivos e incluso neutros (Gosling et al., 2006; Jansa et al., 2002; Lekberg et al., 2008; Wang et al., 2008). El análisis de los patrones de variación de las variables micorrícicas entre los usos de suelo y entre sitios de estudio mostró que estas variables están afectadas por ambos factores, además de las significativas interacciones entre ambos términos. Estos resultados sugieren algún grado de contexto de dependencia de las respuestas de los HMA (Hedlund et al., 2003), ya que nuestros resultados consideran una escala regional, sugiriendo que los efectos de los usos de suelo son sitio-dependientes, por lo que posiblemente otros factores, como la historia en el uso de los suelos, las propiedades físico-químicas intrínsecas de cada sitio y el “provincialismo” de los microorganismos del suelo estén influenciando estos patrones de respuesta.

El número de morfoespecies identificadas en este estudio (46) es alto comparado con los resultados de estudios previos de zonas templadas (Franke-Snyder et al., 2001; Menéndez et al., 2001; Schalamuk y Cabello, 2010; Schalamuk et al., 2006) donde se reportan una riqueza de especies de 15, 17, 24 and 21 en sitios agrícolas de Estados Unidos y Argentina, respectivamente. No obstante, es similar a los reportados por Oehl et al. (2003) y Faggioli y Cabello (2013) para suelos agrícolas de Europa Central y de la provincia de Córdoba (Argentina).

Los cultivos de plantas trampa no permitieron aislar nuevas morfoespecies con respecto a las muestras de suelo del campo, incluso se identificaron 17 morfoespecies menos en estos cultivos, confirmando los resultados obtenidos por Blaszkowsky (2012) y Brundrett et al. (1999) quienes indicaron que algunas especies que esporulan en campo no lo hacen en cultivos trampa.

Se ha documentado en estudios previos que el manejo de cultivos y la excesiva aplicación de fertilizantes y pesticidas, afectan la comunidad de HMA en agroecosistemas de zonas templadas y tropicales (Druille et al., 2013a; Druille et al., 2013b; Jansa et al., 2002; Oehl et al., 2003; Sieverding, 1990). En general, los suelos usados para producción agrícola tienen una menor densidad de esporas y riqueza de especies de HMA comparados con ecosistemas naturales (Menéndez et al., 2001) y frecuentemente son dominados por especies del género *Glomus* (Daniell et al., 2001; Jansa et al., 2003; Oehl et al., 2003; Troeh y Loynachan, 2003). En nuestro estudio, aunque los suelos usados para agricultura (BPA y PANS) poseen menor número de morfoespecies de HMA que los ambientes naturales (AN), siguen siendo ricos en especies comparado con los resultados de Menéndez et al. (2001) y Schalamuk et al. (2006) en sistemas de labranza convencional y siembra directa en Argentina.

Entre los suelos usados para agricultura, las prácticas agrícolas no sustentables (PANS) mostraron los valores más bajos de especies en ambas estaciones. Esto es consistente con la idea de que la intensificación agrícola afecta negativamente la riqueza de especies de HMA, sobre todo cuando se compara rotación de cultivos con monocultivos (Gosling et al., 2006; Oehl et al., 2003). Esta menor riqueza de esporas de HMA encontrada en PANS sugiere que estas prácticas agrícolas podrían promover una pérdida de ciertas especies o grupos de especies dando lugar no solo a la pérdida de material genético, sino también de diversidad funcional de los HMA, lo que podría finalmente causar una disminución en la fertilidad y calidad del suelo.

En este estudio se evidenciaron claros cambios en la densidad de esporas y la riqueza de especies, en las distintas situaciones de uso de suelo. En términos generales los usos de suelo con fines agrícolas bajo siembra directa (BPA y PANS) presentaron valores más bajos que los AN en ambas estaciones siguiendo el patrón AN>BPA>PANS. Esto posiblemente se deba al disturbio ocasionado por las prácticas agrícolas, la aplicación de fertilizantes y fungicidas, y la menor diversidad de hospedadores en los suelos cultivados como se ha sugerido en estudios previos en nuestro país (Menéndez et al., 2001; Schalamuk y Cabello, 2010) y en otras regiones geográficas del mundo (Bedini et al., 2007; Hijri et al., 2006; Jansa et al., 2003; Oehl et al., 2003). Por otro lado, el índice de diversidad de Shannon en nuestro estudio, mostró uniformidad entre los usos de suelo, una situación similar a lo observado por Franke-Snyder et al. (2001) en sitios agrícolas del este de Pennsylvania, USA.

Un importante resultado fue que el análisis de PCA mostró asociaciones positivas entre la densidad de esporas, la riqueza de especies, el COT, el Nt y el P con los ambientes naturales de ambas estaciones, de acuerdo con los mayores valores observados para esas variables en esos usos de suelo. Además mostró una clara separación entre los diferentes usos de suelo.

En el análisis de PCA se observó que los sitios manejados con fines agrícolas tienden a agruparse a diferencia de los AN de todos los sitios, que presentan una mayor distribución espacial, por lo que se podría sugerir una fuerte presión de selección causada por la intervención antrópica, que tiende a homogeneizar los suelos cultivados, a diferencia de los AN que presentan mayor diversidad de las diferentes variables físico-químicas y biológicas.

Es importante resaltar que en Monte Buey, el AN y las BPA presentaron los valores más bajos de densidad de esporas y riqueza de especies, donde las concentraciones de P en el suelo fueron notablemente más altas que en cualquier otra combinación de uso de suelo y sitio. Esto apoya la idea de que la disponibilidad de P en el suelo se relaciona negativamente con los HMA (Grilli et al., 2012; Treseder, 2004).

En relación a la influencia de los cambios estacionales sobre las comunidades de HMA se ha sugerido que la abundancia máxima de HMA ocurre en verano y declina en invierno y en la primavera temprana (Bentivenga y Hetrick 1992; DeMars y Boerner 1995; Kabir et al. 1997; Lugo et al. 2003). Aunque en este estudio, solo la equitatividad presentó diferencias significativas entre estaciones, la densidad de esporas mostró los

mayores valores para los tres usos de suelo en febrero, que coincide con la estación de verano.

III.5. Conclusiones

El análisis de la comunidad de HMA permitió diferenciar entre ambientes naturales y suelos cultivados en la región central de Argentina. La densidad y la riqueza de especies fueron mayores en el ambiente natural (AN) en comparación con los suelos manejados para agricultura (BPA y PANS). Más aún, ambas variables decrecieron en el orden predicho (AN>BPA>PANS) por lo que pueden ser sugeridas como indicadoras de los diferentes usos de suelo.

Una característica sobresaliente de este estudio es que las situaciones de uso de la tierra se replicaron regionalmente incluyendo diversos tipos de suelos, climas y secuencias de cultivos fueron tomados como bases para las réplicas. Los patrones de variación de las variables micorrícias analizadas mostraron ser sitio-dependientes lo que justifica la elección del diseño experimental Sin embargo, más allá de las respuestas dependientes del contexto, en términos generales los resultados sugieren que las prácticas que promueven la intensificación agrícola afectan negativamente las comunidades de esporas de HMA, en particular empobreciendo y homogeneizando las comunidades.

CAPÍTULO IV

**IV. Infectividad de los suelos bajo
estudio: Efecto de las prácticas agrícolas
sobre los niveles de propágulos de hongos
micorrízicos arbusculares**

IV .1. Introducción

La cantidad de propágulos de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) tiene un efecto importante en la colonización de las raíces de las plantas de cualquier ecosistema (Klironomos y Hart, 2002). Los HMA pueden utilizar diferentes fuentes de inóculo (Smith y Read, 2008) y típicamente son componentes de la fase extrarradical, que incluyen esporas e hifas del micelio (MER) (Friese y Allen, 1991). Este MER, primero es responsable de la adquisición de nutrientes, pero luego crece a lo largo y entre los segmentos radicales formando nuevas unidades de infección. Las esporas se desarrollan a partir del micelio extrarradical y son altamente infectivas. Los tubos germinativos de las esporas, se extienden por varios centímetros en dirección a raíces activas para desarrollar una infección primaria. Los componentes de la fase intrarradical también pueden ser infectivos. Las vesículas han mostrado ser particularmente infectivas, por lo que los fragmentos de raíces colonizados vivos o muertos, pueden ser fuente de inóculo para el desarrollo de nuevas raíces (Smith y Read, 2008; Tommerup, 1984).

El inóculo de los HMA en los suelos puede ser llamado “banco de propágulos” que permanece latente, hasta que las condiciones resulten favorables para germinar, crecer y eventualmente colonizar las raíces de nuevas plantas (Öpik, 2004; Schalamuk y Cabello, 2010).

Los diferentes propágulos de HMA en el suelo pueden medirse por varios métodos cuantitativos. Mediante el conteo de esporas extraídas de una cierta cantidad de suelo (Gerdemann y Nicolson, 1963; Tommerup, 1984), como así también estimando todos los propágulos en el suelo utilizando el método del número más probable (NMP) (Adelman y Morton, 1986). Ambas técnicas consumen mucho tiempo y asumen una aparente densidad de propágulos en el suelo y ninguno refleja la infectividad de un suelo. El término “infectividad de un suelo” (Bouhot, 1980; Plenchette et al., 1989) hace referencia a la capacidad de un suelo natural con HMA de iniciar una infección a una planta hospedadora y puede ser medida por ensayos que determinan la colonización micorrícica en una planta prueba o trampa. La infectividad está relacionada con el número de propágulos de HMA presentes en el suelo en forma de esporas, micelio extrarradical y fragmentos de raíces colonizados.

Las prácticas agrícolas pueden afectar todos los tipos de propágulos en mayor o menor medida mediante diferentes mecanismos: (1) disrupción física de las redes

miceliales, (2) dilución de los primeros centímetros del suelo ricos en propágulos, a partir de la mezcla del perfil superficial con perfiles más profundos y (3) por la descomposición acelerada de las raíces (Schalamuk, 2005). Numerosos estudios han demostrado que la colonización micorrícica es negativamente afectada por las prácticas agrícolas (Kabir, 2005; Kabir et al., 1997; Kabir et al., 1998; McGonigle y Miller, 1996; Mozafar et al., 2000; Schalamuk y Cabello, 2010; Schalamuk et al., 2003, 2004). Por lo tanto, las prácticas agrícolas pueden reducir la infectividad micorrícica del suelo y de ese modo afectar la colonización de las raíces de las plantas. El principal efecto del disturbio del suelo en la reducción de la densidad de propágulos fúngicos es observado cuando se interrumpe la red de micelio extrarradical (McGonigle y Miller, 1996). En suelos no disturbados (ambientes naturales), se espera que las nuevas unidades de infección provengan principalmente de las hifas extrarradicales y que las esporas sean menos importantes. En sistemas agrícolas bajo siembra directa (SD) por lo general esa red micelial permanece intacta, pero el disturbio del suelo resulta en hifas dañadas no infectivas (Jasper et al., 1989), decreciendo el potencial de infectividad micorrícica del suelo (Sylvia, 1990).

En situaciones de campo, la evaluación de la composición de las comunidades fúngicas requiere identificación de las especies presentes y cuantificación de la densidad de propágulos fúngicos y la infectividad. La infectividad en agroecosistemas ha sido poco evaluada, en el mundo (Jansa et al., 2009) y ha sido particularmente poco estudiada en nuestro país (Irrazabal et al., 2004; Soteras et al., 2012). En este capítulo se propuso evaluar la infectividad de HMA de los diferentes usos de suelo [ambiente natural (AN), buenas prácticas agrícolas (BPA) y las prácticas agrícolas no sustentables (PANS)] a lo largo de un gradiente de sitios en la pampa Argentina. La hipótesis de trabajo fue que los usos de suelo bajo siembra directa afectan negativamente la cantidad de propágulos fúngicos, por lo que la infectividad de los diferentes suelos disminuirá en el orden AN>BPA>PANS.

IV.2. Materiales y métodos

IV.2.1. Principios del método de infectividad

La infectividad de un suelo puede ser estimada por un ensayo estándar de relación dosis-respuesta acorde a principios de análisis biológicos (Finney, 1971; Plenchette et al., 1989). El método utilizado en este capítulo para la medición de la

infectividad incluye el cultivo de plantas de *Vicia villosa* Roth, susceptible de ser colonizada por HMA, en condiciones medioambientales controladas, en un rango de concentraciones de suelo original diluido en una mezcla de perlita/vermiculita estéril.

IV.2.2. Ensayo de infectividad

En este ensayo se utilizaron muestras de suelo colectadas en el muestreo de septiembre de 2010 para estimar los propágulos viables como esporas, micelio extrarradical y fragmentos de raíces colonizados presentes en los diferentes suelos. Estas formas de propágulos se valoraron mediante la cuantificación de la colonización de las plantas utilizadas como hospedadoras (*Vicia villosa*) crecidas en invernadero. Estos resultados fueron comparados con los datos de densidad de esporas obtenidos de las mismas muestras descrito en Capítulo III (Capítulo III- Sección III.2.3).

IV.2.3. Inóculo utilizado

El suelo utilizado como inóculo consistió de un homogeneizado de las tres muestras de suelo recolectadas en cada uno de los usos de suelo de cada sitio (12 inóculos diferentes, uno por cada uso de suelo, por sitio), previa tamización (apertura de la malla 1 cm de diámetro) a fin de remover hojarasca, restos de rastrojo, piedras y palos pequeños.

Se realizaron tres diluciones de las muestras de suelo con perlita y vermiculita esterilizadas (1h en autoclave a 100 °C y 1,5 atm. de presión) mostrando una relación 1:2, 1:8 y 1:32; respectivamente (Díaz y Honrubia, 1995). La mezcla de suelo fue transferida a macetas de 400 cm³ y se realizaron 12 réplicas por dilución por inóculo que sumaron 576 macetas en total.

Se utilizó como planta hospedadora a *Vicia villosa* Roth (cultivo de cobertura en campos de BPA). Las semillas (provistas por los productores de los campos experimentales) fueron esterilizadas superficialmente por agitación en NaClO al 10%, y luego lavadas con agua estéril. Una vez crecidas en arena esterilizadas, se trasplantaron 2 plántulas a cada maceta.

El experimento se mantuvo en invernadero a 22 °C durante el día y a 19 °C durante la noche, un fotoperíodo de 16/8 hs día/noche y las plantas fueron regadas por aspersión durante 1 min dos veces al día. Para evaluar el estado de micorrización, las plantas se cosecharon a los 15, 30 y 60 días posteriores al inicio del ensayo, levantando

4 macetas al azar en cada tratamiento. Los sistemas radicales completos de ambas plantas fueron lavados y las raíces se separaron cuidadosamente. Se utilizó hidróxido de potasio (KOH 10 %) para clarificarlas por aproximadamente 20 minutos a 90 °C. Después, las raíces fueron lavadas con agua y acidificadas en ácido clorhídrico (HCL) por 2 minutos para ser teñidas con azul de anilina al 0,025 % durante 10 minutos a 90 °C (Brundrett et al., 1996; Grace y Stribley, 1991). Posteriormente, las raíces teñidas se examinaron bajo lupa estereoscópica Nikon SMZ745T. Para evaluar los porcentajes de colonización se utilizó el método de intersección en gradilla de Giovannetti y Mosse (1980) (Ver Anexo, Figura 9).

IV.2.4. Análisis estadísticos

Se utilizaron modelos mixtos lineales generalizados (MMLG). Las réplicas dentro de cada uso de suelo fueron anidadas y utilizadas como término aleatorio dentro de cada sitio para controlar la pseudo-replicación. El uso de suelo (con tres niveles: ambiente natural, AN; buenas prácticas agrícolas, BAP y prácticas agrícolas no sustentables, PANS) fue el factor fijo del modelo.

La exploración de los modelos estimados para comprobar los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza de los residuos fueron chequeados gráficamente mediante *el Q-Q plot* normal y *el Level Plot*, respectivamente. El criterio de Akaike (AIC) fue utilizado como medida de ajuste del modelo.

El análisis estadístico de los datos fue realizado usando el software estadístico InfoStat Plus version 2011 (<http://www.infostat.com.ar>).

IV.3. Resultados

Las raíces de *Vicia villosa* mostraron las estructuras típicas de los HMA: hifas, vesículas y arbusculos (Fig. IV.1), como así también puntos de entrada.

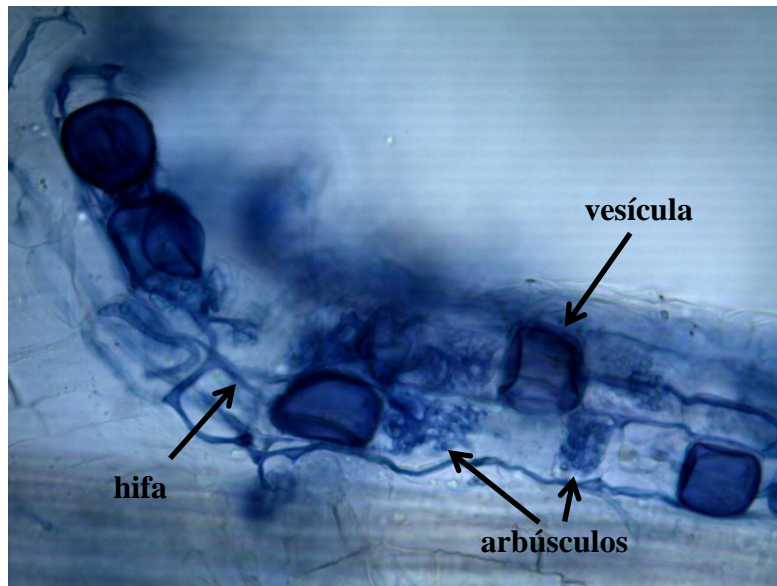


Figura IV.1. Estructuras intrarradicales de los HMA identificadas en las raíces de *Vicia villosa*.

IV.3.1. Infectividad de los diferentes suelos

Las raíces de *Vicia villosa* mostraron una colonización micorrícica arbuscular que fue incrementando con el tiempo (Fig. IV.2).

Cuando se utilizó suelo menos diluido (1:2), las plantas inoculadas con suelo de AN y BPA mostraron los valores máximos de colonización a los 30 días de iniciado el experimento (25 % y 15 % respectivamente). En cambio, las inoculadas con suelo de las PANS, mostraron una colonización que siguió incrementando en el tiempo, alcanzando valores mayores que los otros usos de suelo a los 60 días (30 %).

En el caso de la dilución intermedia de suelo (1:8), la colonización mostró patrones de variación inversos con respecto al suelo menos diluido: para las PANS, la colonización máxima (20 %) se alcanzó a los 30 días de iniciado el experimento y para los otros usos de suelo (AN y BPA) la colonización máxima (17 %) se alcanzó a los 60 días.

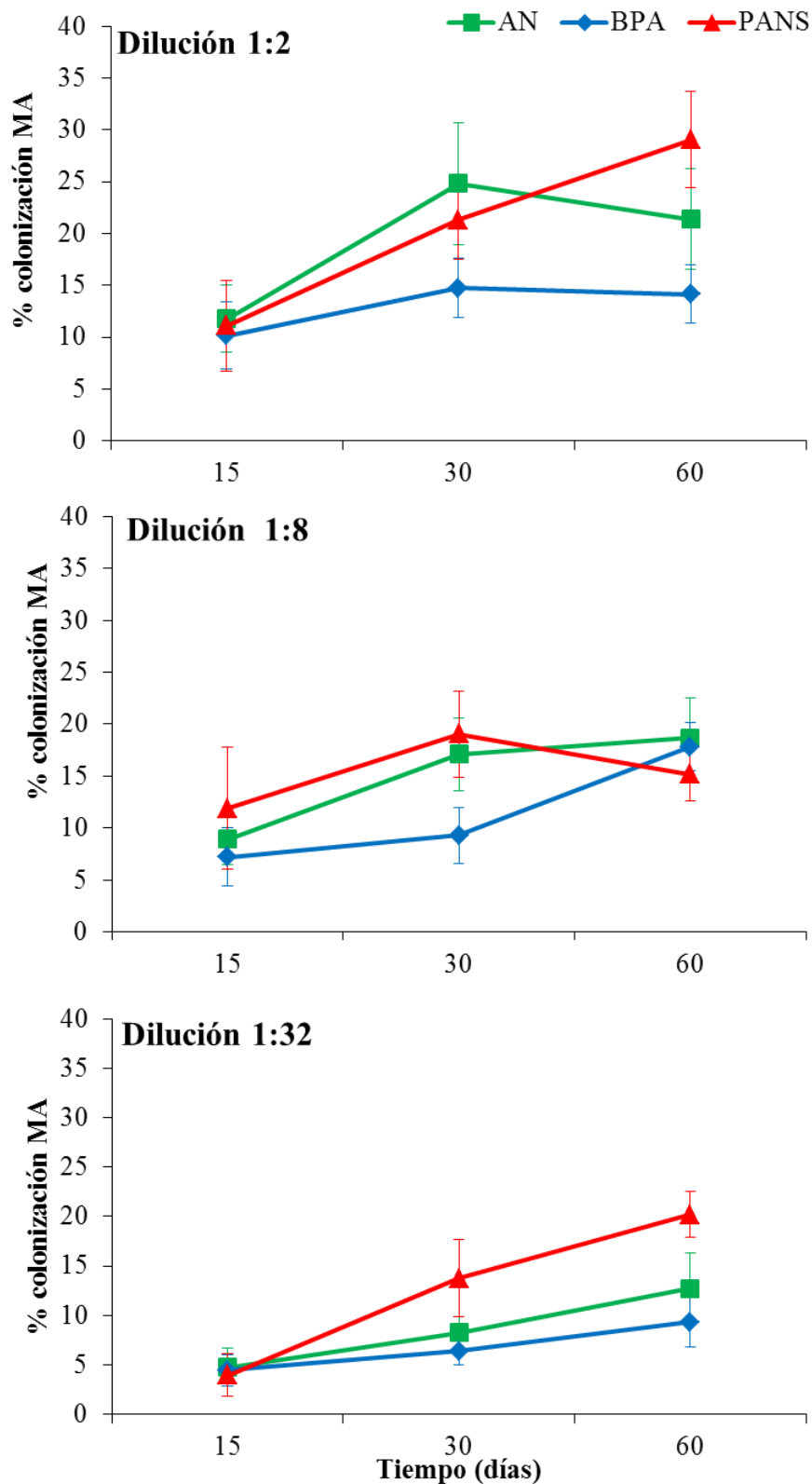


Figura IV.2. Infectividad micorrícica: colonización micorrícica arbuscular de *Vicia villosa* para las tres diluciones (1:2, 1:8 y 1:32) en los tres tipos de suelo utilizados como inóculo: (AN) ambiente natural (BPA) buenas prácticas agrícolas y (PANS), durante tres fechas de cosecha (15, 30 y 60 días a partir del inicio del experimento). Los valores son la media \pm error estándar (n = 4).

Con respecto al suelo diluido 32 veces, la colonización micorrícica arbuscular de las raíces de vicia, incrementó con el paso del tiempo en los tres usos de suelo. Sin embargo, ya a partir de los 30 días los valores de colonización incrementaron el doble para las plantas inoculadas con suelos de PANS con respecto a los otros dos usos de suelo, y ese patrón se mantuvo en el tiempo.

Por lo tanto, de acuerdo a los patrones de variación de la colonización micorrícica observados en las raíces de vicia, los suelos de las prácticas agrícolas no sustentables (PANS) mostraron ser más infectivos que los de ambiente natural (AN) y buenas prácticas agrícolas (BPA). Para estos dos usos de suelo (AN y BPA) los patrones de variación fueron similares en todas las diluciones de suelo.

Comparando todas las diluciones de suelo, el porcentaje de colonización de las plantas de vicia crecidas en suelos proveniente de AN y BPA tiende a estabilizarse en un 10-20 % con el paso del tiempo, por el contrario en suelos de PANS la colonización tiende a seguir incrementando superando el 20 %.

IV.3.2. Relación de la infectividad de los diferentes suelos con la densidad de esporas

En esta sección se compararon los patrones de variación de la colonización micorrícica arbuscular de *Vicia villosa* con la densidad de esporas obtenidas de las muestras de campo del muestreo de septiembre de 2010, definida como la densidad inicial de esporas: cantidad inicial de estos propágulos con que se contaron al inicio del experimento de infectividad. Se utilizaron para esta comparación los resultados de la colonización micorrícica arbuscular obtenidos con el suelo menos diluido (1:2) de las plantas cosechadas a los 60 días, ya que no se utilizó suelo sin diluir en nuestro ensayo.

Las raíces de *Vicia villosa* presentaron valores promedios de colonización de 26,61 % para el AN (mín. 2,74 – máx. 64,22 %), de 16,34 % para las BPA (mín. 5,11 – máx. 44,79 %) y de 34,64% para las PANS (mín. 12,68 – máx. 58,42 %), con diferencias significativas entre los diferentes usos de suelo utilizados como inóculo ($F = 3,48$; $p < 0,05$) (Fig. IV.3).

La densidad de esporas (n° de esporas/100 g de peso seco de suelo) presentó valores promedios de 100,53 (mín. 10,16 – máx. 271-73) para el AN, de 38,60 para las BPA (mín. 3,69 – máx. 126,67) y de 30,73 (mín. 7,51 – máx. 69,99) para las PANS, con diferencias significativas entre los usos de suelo ($F = 6,09$; $p < 0,01$) (Fig. IV.3).

La colonización micorrícica y la densidad de esporas de los HMA mostraron patrones de variación diferentes (Fig. IV.3). La colonización decreció en el orden PANS>AN>BPA, por el contrario la densidad siguió el orden AN>BPA>PANS. Sin embargo, es importante destacar que a pesar de la menor densidad de esporas aisladas de las muestras de PANS, una gran parte de ellas, si no todas, parecen ser infectivas, comparado con los otros usos de suelo.

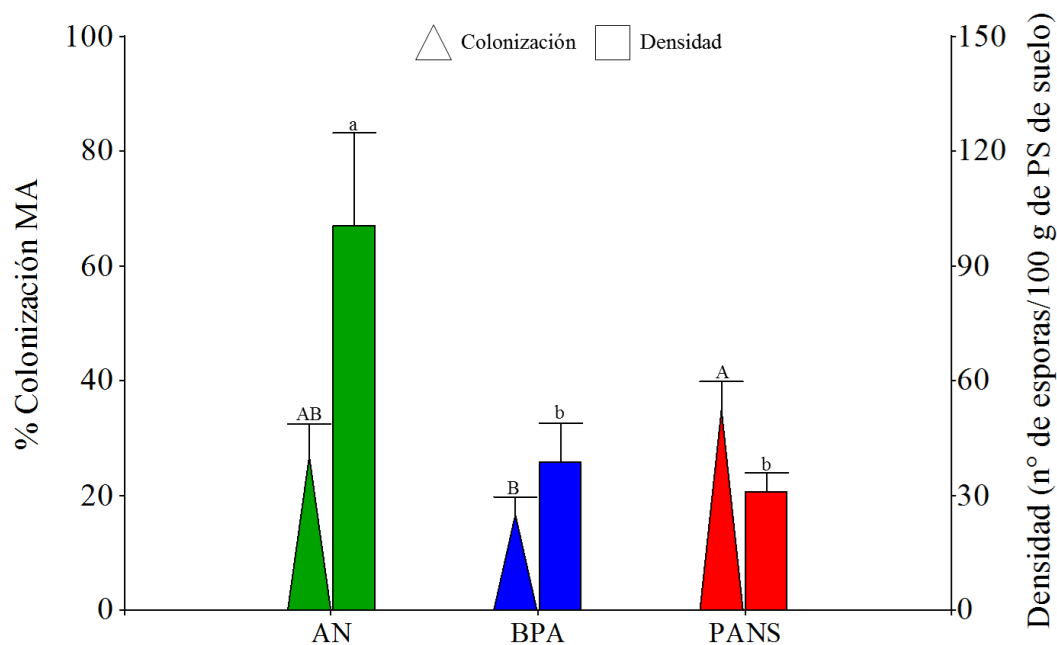


Fig. IV.3 Patrones de variación de los valores medios ($n = 12$) (\pm EE) de los porcentajes de colonización de las raíces de *Vicia villosa* y de la densidad (n° de esporas/100g de PS de suelo) entre los diferentes usos de suelo (AN: ambiente natural, BPA: buenas prácticas agrícolas, PANS: prácticas agrícolas no sustentables). Letras diferentes representan diferencias significativas [Test a posteriori LSD Fisher ($p < 0,05$)].

Cuando se comparó la infectividad entre los diferentes usos de suelo por sitio (Fig. IV.4), se observó que el patrón de variación sigue la misma tendencia que el patrón general en los 4 sitios de estudio PANS>AN>BPA. Asumiendo que la densidad de esporas analizada para las muestras de septiembre de 2010, es la densidad inicial de esta forma de propágulo, se podría afirmar que:

- las esporas de las prácticas agrícolas no sustentables (PANS) son más infectivas que en los otros usos de suelo y-que las esporas del AN y las BPA de Bengolea parecen ser más infectivas que en los otros sitios.

- la comunidad de HMA de Monte Buey en términos de colonización y densidad de esporas se comporta diferente a los otros sitios, y ambas variables siguen el mismo patrón PANS>BPA>AN.

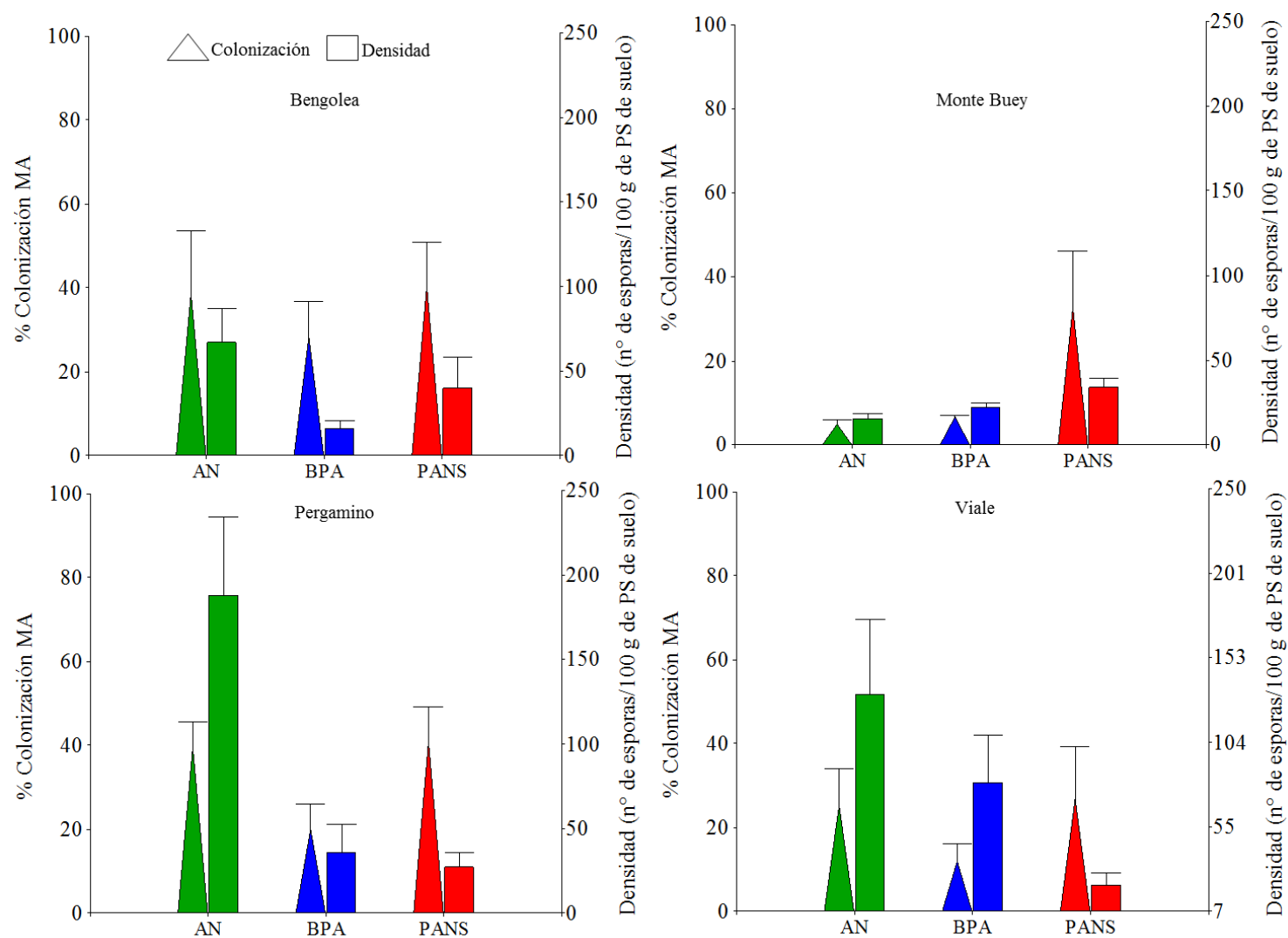


Figura IV.4 Patrones de variación de los valores medios ($n = 3$) (\pm EE) de los porcentajes de colonización de las raíces de *Vicia villosa* y de la densidad (n° de esporas/100g de PS de suelo) entre los diferentes usos de suelo (AN: ambiente natural, BPA: buenas prácticas agrícolas, PANS: prácticas agrícolas no sustentables) para cada uno de los sitios de estudio.

En términos generales se puede asumir que la infectividad es menos dependiente del sitio, que la comunidad de esporas en sus patrones de respuesta, por lo que los usos de suelo son más determinantes de esos patrones de respuesta.

IV.4. Discusión

Contrario a lo esperado, los suelos utilizados como inóculo provenientes de las prácticas agrícolas no sustentables (PANS) mostraron mayor habilidad de colonizar las raíces de *Vicia villosa* que los suelos provenientes de ambiente natural (AN) y buenas prácticas agrícolas (BPA).

Aunque existen diferentes tipos de propágulos, ellos pueden no ser igualmente infectivos para producir nuevas unidades de infección. Se espera que en suelos no disturbados las nuevas unidades de infección provengan de hifas extrarradicales y que las esporas sean menos importantes. Esto se debe principalmente a que las esporas llevan mayor tiempo para germinar y hacer contacto con una nueva raíz a diferencia de las hifas del micelio extrarradical que están listas para infectar una nueva raíz. El disturbio del suelo interrumpe la fase extrarradical, dañando las hifas dejándolas no infectivas (Jasper et al., 1989). En ese caso, las esporas son más relevantes como método de propagación. En términos generales, las PANS presentaron la mayor habilidad para colonizar las raíces de *Vicia* en comparación con los otros dos usos de suelo (AN y BPA). Los suelos del ambiente natural (AN) y de las buenas prácticas agrícolas (BPA) presentaron patrones de variación similares para todas las diluciones de suelo.

Una posible explicación para estos resultados, es que las PANS, como uno de los usos de suelo manejado más intensamente para fines agrícolas (más disturbado) (Oehl et al., 2003), presenta una comunidad de esporas que se encuentra rápidamente disponible para colonizar las raíces de las plantas, con cortos períodos de dormancia como una respuesta adaptativa a las condiciones más desfavorables, lo que podría explicar en parte la alta infectividad de este inóculo (Bever et al., 2001). Además de la cinética en el tiempo de la colonización micorrícica, cuando se comparó la colonización de las raíces de *Vicia* con la densidad obtenida en las muestras de suelo de septiembre de 2010, se observó que a pesar de la baja densidad de esporas aisladas de las PANS, una gran parte las esporas parecen ser infectivas.

En el AN y las BPA, como ecosistemas más estables y más diversos en plantas hospedadoras micotróficas (pastizal de gramíneas y presencia de maíz, soja y cultivos de cobertura en la rotación) con respecto a las PANS (alta frecuencia de monocultivo de soja), los fragmentos colonizados y el micelio extrarradical serían los propágulos más infectivos y las esporas tendrían períodos de dormancia más prolongados (Irrazabal et al., 2004; Jasper et al., 1991; Sene et al., 2012; Zangaro et al., 2000). En nuestro estudio, las muestras de suelo original fueron homogeneizadas por lo que la mayor parte de los fragmentos radicales y el micelio externo pudo haberse dañado (Evans y Miller, 1990; Jasper et al., 1989). En este sentido, cobran mayor relevancia las esporas, como formas de propágulos en todos los usos de suelos.

En adición, los sistemas agrícolas pueden estar expuestos a una intensa presión de selección a escalas de tiempo muy cortas. Diferentes estrategias o rasgos microbianos pueden surgir por un manejo agrícola intensivo, no encontrados en ecosistemas naturales. Por ejemplo, las grandes extensiones de tierras sembradas con trigo, centeno y cebada, probablemente hayan facilitado la recombinación de dos royas patógenas del trigo y el centeno, dando lugar a la aparición de una nueva plaga, altamente patógena para la cebada (Burdon y Thrall, 2008). Para los HMA, la estrategia de esporulación es un ejemplo de un fuerte rasgo afectado por la agricultura, los HMA aislados de campos agrícolas manejados intensamente (alto aporte de agroquímicos y presencia de monocultivos) exhiben una esporulación más temprana comparando las mismas especies, pero provenientes de sistemas agrícolas menos intensivos (bajo rotación de cultivos) y de pastizales (Oehl et al., 2003) sugiriendo una fuerte selección para una rápida reproducción. Del mismo modo, en ciertos agroecosistemas en los cuales los HMA están obligados a soportar largos períodos de rastrojos y en los cuales sus plantas hospedadoras están ausentes, existe una fuerte estacionalidad en la actividad de los HMA (Daniell et al., 2001; Hijri et al., 2006). Para entender de qué manera la presión selectiva de las prácticas agrícolas forman las comunidades de HMA, es de suma utilidad incluir el concepto de estrategia-r (Pianka, 1970), en el marco de la evolución de historias de vida en ecología microbiana (Verbruggen y Kiers, 2010). La estrategia-r favorece a organismos adaptados a medioambientes que requieren una rápida dispersión y una reproducción abundante. Debido a que las prácticas agrícolas intensivas pueden crear condiciones ambientales impredecibles, caracterizadas por regímenes de labranza disruptivos, altas fluctuaciones de nutrientes y remoción a gran escala de plantas hospedadoras anuales, hay menos ventajas en adaptaciones que

permiten a los HMA competir por los recursos limitantes. Los ambientes que cambian rápidamente, seguramente favorecerán a aquellos HMA que emplean estrategias-r, como la capacidad de reproducirse rápidamente. Esto direccionaría a una menor complementariedad de las funciones en las comunidades de HMA en agroecosistemas con respecto a ambientes naturales, que son ecosistemas limitados en nutrientes. Se podría especular entonces, que las PANS en nuestro estudio estarían favoreciendo a aquellos HMA que tienen una alta capacidad de colonizar las raíces de las plantas, como una adaptación a las prácticas agrícolas más intensivas.

Cuando se comparó la infectividad entre los diferentes usos de suelo por sitio, en términos generales se puede asumir que la infectividad es menos dependiente del sitio, que la comunidad de esporas en sus patrones de respuesta, por lo que los usos de suelo son más determinantes de esos patrones de respuesta. Para el caso de Monte Buey hay un claro efecto de las altas concentraciones de P en los suelos de AN y BPA, como ya ha sido demostrado por numerosos autores que alta disponibilidad de P en el suelo reduce la colonización de las raíces, la producción de esporas y la respuesta de las plantas a la inoculación por HMA (Abbott y Robson, 1991; Bethlenfalvay, 1992; Hamel, 1996).

IV.5. Conclusiones

Las comunidades de HMA presentes en los suelos de PANS mostraron mayor capacidad de colonizar las plantas de *Vicia villosa*, utilizadas como pruebas en este estudio más rápidamente que los suelos de AN y BPA. Esto puede atribuirse a que las situaciones más perturbadas seleccionan especies con estrategias-r (ruderales) de crecimiento más rápido, que los característicos de AN y las BPA. Los suelos de BPA mostraron los mismos patrones de variación que el AN, por lo que se podría concluir que el manejo que reciben estos suelos se asemejan más a un AN que a las PANS, en términos de la infectividad de las comunidades de HMA.

CAPÍTULO V

**Efecto de las comunidades nativas de
hongos micorrícicos arbusculares
provenientes de suelos con diferentes
usos sobre el crecimiento de plantas de
Glycine max (L.) Merrill**

V.1. Introducción

La agricultura argentina en general –y la pampeana en particular– se ha expandido en los últimos 20 años dentro de una matriz tecnológica moderna conformada por cultivos transgénicos, siembra directa, mayor uso de fertilizantes y plaguicidas y, en menor medida, por prácticas asociadas a la agricultura de precisión (Satorre, 2005). El monocultivo de soja lideró la incorporación de tecnología a través de la expansión de variedades transgénicas (resistentes a glifosato) y del uso exponencial del glifosato como herbicida básico. Este cambio se vio principalmente reflejado en un aumento acelerado de la superficie cultivada y del rendimiento de los cultivos (Martínez-Ghersa y Ghersa, 2005; Trigo, 2005). Los sistemas productivos se concentraron en pocos cultivos de alta productividad y homogeneidad genética, maximizando la producción y la rentabilidad. Sin embargo, esta transformación además tuvo efectos ecológicos directos e indirectos como el impacto ocasionado por la simplificación del sistema de producción (Viglizzo, 2007). Además se incrementó el riesgo climático, económico y biológico (plagas y enfermedades), la pérdida de materia orgánica, y la sobre-extracción de algunos macro- y micro-nutrientes (Casas, 2001). En respuesta a los problemas de pérdida de materia orgánica, que aumenta el riesgo de erosión del suelo, surgió la siembra directa y para compensar la extracción de nutrientes y la expansión de plagas, aumentó la fertilización y el uso de plaguicidas, respectivamente (Viglizzo et al., 2011).

Las prácticas agrícolas junto con los cambios físicos, químicos y biológicos que promueven, generan variaciones en la comunidad de microorganismos del suelo y, en particular en la diversidad de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) (Jansa et al., 2006).

Existe una amplia evidencia sobre las diferencias en la composición de especies y en la estructura de las comunidades de HMA entre suelos con distintos usos y prácticas agrícolas (Gosling et al., 2006; Jansa et al., 2002; Kabir, 2005; Kabir et al., 1998; Kurle y Pflieger, 1994; Menéndez et al., 2001; Schalamuk y Cabello, 2010). En general, se postula que aquellos tipos de uso que implican un mayor disturbio del suelo (por ej. incontrolado uso de agroquímicos, ausencia de rotaciones, etc.) generan un mayor impacto sobre las comunidades de HMA. Sin embargo, está escasamente estudiado cómo dichos cambios en la biota del suelo afectan el crecimiento de las plantas cultivadas, a pesar de que numerosos estudios han mostrado que variaciones en

la composición de HMA influyen sobre el crecimiento de las plantas y la productividad de los ecosistemas (Klironomos y Hart, 2002; van der Heijden et al., 1998).

Las especies de plantas responden diferencialmente a la colonización por HMA. Esta respuesta es conocida como “respuesta micorrícica” y describe el efecto de los HMA sobre el crecimiento de una especie en particular, comparando distintas variables de crecimiento (altura, biomasa, relación raíz/tallo) con la misma planta no colonizada (control) (Janos, 2007). La respuesta micorrícica puede ser positiva (Yao et al., 2001; Yücel et al., 2009), neutra o negativa (Hao et al., 2008; Hetrick et al., 1992), y depende de numerosos factores, como la disponibilidad de nutrientes del suelo y la identidad de la planta y del hongo (Lehmann et al., 2012).

Los sistemas denominados “buenas prácticas agrícolas” incluyen labranza de suelo reducida, rotación de cultivo y reducción de fertilizantes minerales. Estos sistemas mantienen una elevada cantidad de propágulos fúngicos, estimulando la actividad micorrícica del suelo (Kurle y Pflieger, 1994; Vestberg et al., 2005), la esporulación de HMA (Karasawa et al., 2002) y la colonización micorrícica radical (Gavito y Miller, 1998; Miller, 2000). La rotación de cultivos, que implica una mayor diversidad de plantas hospedadoras, a diferencia de los monocultivos, está relacionada con un aumento en la diversidad de HMA, debido principalmente a la presencia de hospedantes con diferente respuesta micorrícica y preferencia en el ecosistema (Miranda et al., 2005).

A pesar de que en general se ha descartado la existencia de especificidad en la relación planta-HMA, se han observado asociaciones preferenciales (Golotte et al., 2004; McGonigle y Fitter, 1990; Vandenkoornhuyse et al., 2002). Además, diferentes especies hospedadoras, e incluso distintas variedades de la misma especie de cultivo, varían en el grado de dependencia micorrícica (Azcon y Ocampo, 1981). Se ha observado una alta dependencia micorrícica en el maíz (*Zea mays* L.) y el sorgo (*Sorghum bicolor* L.) Moench, una dependencia intermedia en la soja (*Glycine max* L. Merrill) (Plenchette et al., 1983) y una baja dependencia micorrícica en el trigo (*Triticum aestivum* L.), avena (*Avena sativa* L.) y cebada (*Hordeum vulgare* L.) (Coyne, 1999). Como consecuencia de los cambios promovidos por las prácticas agrícolas sobre la estructura de las comunidades de HMA, cabe esperar que dichos cambios influyan en el crecimiento de los cultivos, tal como ha sido observado en plantas silvestres (van der Heijden et al., 1998).

La soja [*Glycine max* (L.) Merrill] es una planta anual perteneciente a la familia de las leguminosas, nativa del Este y sudeste asiático que se ha adaptado y cultivado comercialmente en numerosas regiones del mundo, debido a que sus granos poseen un alto contenido de proteínas y aceite.

En la República Argentina la soja se la cultiva desde la década del 60, abarcando desde los 23° hasta los 38° de latitud Sur aproximadamente (Distéfano de Vallone y Giorda, 1997). Actualmente Argentina ocupa el cuarto lugar como productor de grano, participando con un 10 % de la producción mundial. Este país, conjuntamente con EE.UU., Brasil y China, representa aproximadamente el 90 % de la producción de grano total mundial. A su vez, Argentina es el principal exportador de aceite de soja del mundo y el segundo proveedor de los subproductos proteicos del cultivo (harina de soja) (Giorda, 1997).

A medida que el cultivo de soja se fue expandiendo en el territorio argentino, reemplazó a otros, convirtiéndose en un monocultivo. Su combinación con prácticas de labranza convencional aceleró la degradación física y química del suelo, llevando a la pérdida numerosas áreas cultivables. Como consecuencia, en la actualidad el desarrollo del cultivo se ha visto acompañado por el empleo de técnicas más conservacionistas (labranza bajo cubierta, labranza mínima, siembra directa), junto con el uso de semillas genéticamente modificadas y de herbicidas como el glifosato (Diamante y Izquierdo, 2004; Marelli, 1997). Estos factores son conocidos por afectar las comunidades micorrícicas en el suelo (ej. capítulo 3 y 4 de esta tesis) pero se desconoce como esos cambios pueden repercutir en el crecimiento del cultivo.

El presente estudio experimental tuvo como objetivos 1) evaluar la colonización micorrícico-arbuscular de plantas de *Glycine max* (L.) Merrill crecidas en suelos provenientes de diferentes usos (comparando dos sistemas de siembra directa: buenas prácticas agrícolas, BPA, y prácticas agrícolas no sustentables, PANS, con un ambiente natural, AN, a lo largo de un gradiente de sitios de la pampa Argentina) y 2) evaluar el efecto de las comunidades nativas de HMA provenientes de los diferentes usos de suelo sobre el crecimiento de las mismas plantas de soja.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el Capítulo III, en donde se observaron efectos negativos de las prácticas agrícolas en siembra directa sobre la densidad de esporas y la riqueza de especies de HMA, siguiendo el patrón AN>BPA>PANS; como así también los suelos de PANS en el Capítulo IV resultaron más infectivos que los suelos de AN y BPA, denotando presencia de morfoespecies de HMA con estrategias-r,

se espera una mayor colonización micorrícica arbuscular en raíces de *Glycine max* crecidas en PANS al igual que en las raíces de *Vicia*, pero un efecto negativo de los HMA en este uso de suelo.

Por lo tanto, se predice que el porcentaje de colonización de HMA de las raíces de *Glycine max* decrecerá en el siguiente orden: PANS>BPA>AN y que las comunidades de HMA provenientes del AN y de BPA promoverán un efecto positivo sobre el crecimiento de las plantas comparados con el control sin micorriza (SM) y no promoverán diferencias entre las plantas crecidas con micorrizas (CM) y SM en PANS.

V.2. Materiales y métodos

Antes de comenzar con este ensayo, en diciembre de 2010, se confirmó que plantas de soja crecidas desde semillas fueron colonizadas con los HMA presentes en el suelo con diferentes usos. Se armaron 4 macetas con suelo original (inóculo) y perlita/vermiculita estéril y se sembraron semillas de soja. Las raíces presentaron colonización por HMA, identificando las estructuras típicas de los hongos micorrícico-arbusculares (hifas, vesículas y arbusculos).

V.2.1. Ensayo experimental

Para llevar a cabo este experimento se utilizaron muestras de suelo, correspondientes al muestreo de febrero de 2011 (Ver Tabla II.1 - Capítulo II).

V.2.2. Preparación de las unidades experimentales

Las semillas de *Glycine max* (LDC 4.7), utilizadas para este ensayo [las mismas que se sembraron en los campos de buenas prácticas agrícolas (BPA) y prácticas agrícolas no sustentables (PANS), cedidas por los productores] fueron esterilizadas superficialmente por agitación en NaClO al 10 %, y luego lavadas con agua estéril. Posteriormente, se colocaron para su germinación en bandejas de plástico con arena y suelo esterilizados (1h en autoclave a 100 °C y 1,5 atm. de presión), en proporción 3:1, durante 15 días. Luego de la germinación, las plántulas fueron trasplantadas a cada maceta para su inoculación.

Se prepararon 96 unidades experimentales (macetas de 1000 cm³) con una mezcla de arena gruesa y suelo proveniente de cada combinación de uso de suelo/sitio

en proporción 1:2 (V:V). El suelo utilizado para preparar las unidades experimentales, consistió de un homogeneizado de las 3 muestras de suelo recolectadas en cada combinación de uso de suelo/sitio, previa tamización (apertura de la malla 1 cm de diámetro) a fin de remover hojarasca, restos de rastrojo, piedras y palos pequeños. Cada mezcla de arena y suelo fue esterilizada en autoclave (1h en autoclave a 100 °C y 1,5 atm. de presión) y se dejó reposar por 15 días para reducir los potenciales efectos fitotóxicos del autoclavado (Rovira y Bowen, 1966).

Para observar el efecto de los HMA de cada situación, se realizaron 4 réplicas de cada uso de suelo (AN, BPA, PANS) de cada sitio (Bengolea, Monte Buey, Pergamino y Viale), (4 réplicas x 3 usos de suelo x 4 sitios = 48 macetas) utilizando como inóculo 50 g de suelo nativo, el cual fue colocado justo en el lugar donde se colocaría la plántula de soja para asegurar la colonización por los HMA. Este es el tratamiento denominado con micorrizas (CM). Se realizaron, paralelamente, los respectivos controles sin micorrizas (SM). En este caso, a las macetas se les agregó 50 g de cada uso de suelo de cada sitio previamente esterilizado (48 macetas más, resultando en un total de 96 macetas) y se les adicionó 30 ml de una solución de suelo nativo (50 g) previamente filtrada por un tamiz de 25 µm a fin de excluir el inóculo micorrícico (esporas, micelio extrarradical y fragmentos de raíces colonizados) y recuperar la microbiota nativa (Koide y Li, 1989; Pérez y Urcelay, 2009). Al tratamiento CM se le adicionó 30 mL de agua esterilizada para homogeneizar los tratamientos.

El experimento se mantuvo en invernadero desde el 6 de mayo hasta el 20 de julio de 2011 (22/19 °C día/noche, fotoperiodo 16/8 h día/noche), no se utilizó ningún tipo de fertilizante y las plantas fueron regadas por aspersion durante 1 minuto dos veces al día. Las macetas dentro del invernadero fueron movidas periódicamente para evitar diferencias espaciales (Ver Anexo, Figura 9).

Es importante aclarar que las plantas no tuvieron un crecimiento muy vigoroso, los tallos no crecieron muy erguidos por lo que se les puso una varilla tutora, para acompañar su crecimiento.

V.2.3. Cosecha de las plantas y variables medidas

Las plantas fueron cosechadas a los 75 días de crecimiento, lavando las raíces cuidadosamente. Posteriormente, fueron cortadas por encima del sistema radical, y divididas en dos partes (raíz y parte aérea) registrando los pesos frescos

correspondientes a cada una. Luego, la altura de todas las plantas fue medida en el laboratorio utilizando un calibre desde la base hasta el ápice del tallo. La parte aérea y las raíces fueron secadas a 70 °C durante 72 hs y pesadas para obtener el peso seco de raíz y tallo, y la relación raíz/tallo (peso seco raíz/peso seco tallo). El área foliar específica expresada en $\text{mm}^2 \text{mg}^{-1}$ (AFE) fue calculada en todas las plantas de acuerdo a Pérez-Harguindeguy et al. (2013). Para ello se seleccionaron 3 hojas trifoliadas por planta ($n = 288$), las que fueron escaneadas sin sus pecíolos para obtener el área foliar utilizando el software Leafarea (Askew, University of Sheffield UK; <http://www.nucleodiversus.org>), posteriormente fueron secadas en estufa y pesadas. Finalmente también se obtuvo el peso seco total de la planta.

Se evaluaron como variables de crecimiento de las plantas de *Glycine max*: el peso seco total (g), la altura de la planta (cm), la relación raíz/tallo y el área foliar específica ($\text{mm}^2 \text{mg}^{-1}$).

Las raíces fueron clarificadas y teñidas siguiendo la técnica de Grace y Stribley (1991) y Brundrett et al. (1996), ya descrita en el capítulo IV. Las variables fúngicas evaluadas fueron el porcentaje de colonización micorrícica arbuscular total y las estructuras intrarradicales (arbusculos, vesículas, puntos de entrada y circunvoluciones), siguiendo la técnica propuesta por McGonigle et al. (1990) utilizando un microscopio óptico (Nikon, E200) a 400x de aumento. Los segmentos radicales colonizados fueron fotografiados.

V.2.4. Análisis estadísticos

Se utilizaron modelos mixtos lineales generalizados (MMLG). Las réplicas dentro de cada uso de suelo fueron anidadas y utilizadas como término aleatorio dentro de cada sitio para controlar la pseudo-replicación. El uso de suelo (con tres niveles: ambiente natural, AN; buenas prácticas agrícolas, BAP y prácticas agrícolas no sustentables, PANS) y la condición micorrícica (con dos niveles: con micorrizas, CM y sin micorrizas, SM) fueron los factores fijos del modelo, incluyendo la interacción entre ambos factores.

Para observar el efecto de los HMA entre los usos de suelo y los sitios de estudio, se realizó un segundo análisis, utilizando en este caso como factores fijos del modelo, el uso de suelo (con sus tres niveles), la condición micorrícica (con sus dos

niveles) y el sitio (con 4 niveles: B, Bengolea; MB, Monte Buey; P, Pergamino y V, Viale), incluyendo la interacción entre los tres factores.

La exploración de los modelos estimados para comprobar los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza de los residuos fueron chequeados gráficamente mediante *el Q-Q plot* normal y el *Level Plot*, respectivamente.

El criterio de Akaike (AIC) fue utilizado como medida de ajuste del modelo.

Las diferencias significativas entre los niveles de cada factor se evaluaron con la prueba a posteriori LSD Fishery y DGC ($p < 0,05$).

El análisis estadístico de los datos fue realizado usando el software estadístico InfoStat Plus version 2011 (<http://www.infostat.com.ar>).

V.3. Resultado

V.3.1 Colonización micorrícica arbuscular en raíces de “*Glycine max*”

Las raíces de plantas crecidas con suelos con HMA (CM) mostraron las estructuras características de la colonización micorrícica arbuscular: hifas, vesículas, arbuscúlos, puntos de entrada y circunvoluciones (Fig. V.1). En las plantas que crecieron en suelos sin la presencia de HMA (SM), no se registró la presencia de estos hongos en sus raíces.

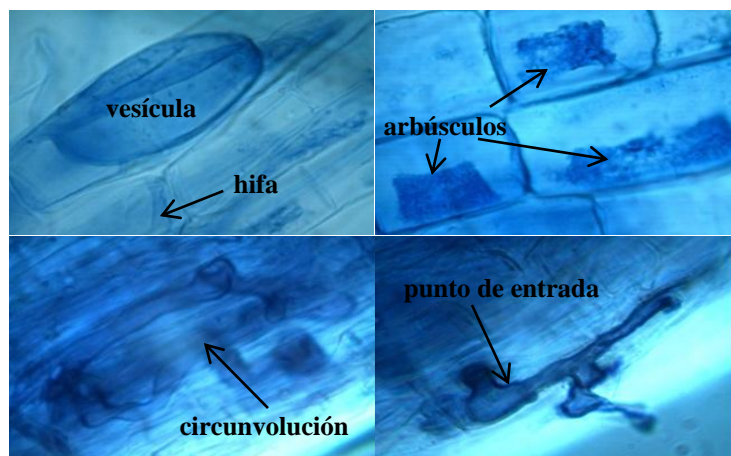


Figura V.1. Estructuras intrarradicales de los HMA identificadas en las raíces de *Glycine max*.

V.3.1.a. Colonización micorrícica arbuscular y usos de suelo

Las raíces de *Glycine max* crecidas en suelos CM, presentaron valores promedios de colonización de 32,35 % para el AN (mín. 17 – máx. 51 %), de 15,81 % para las BPA (mín. 3 – máx. 36 %) y de 23,69 % para las PANS (mín. 7 – máx. 55 %), con diferencias significativas entre los diferentes usos de suelo (Tabla V.1).

El porcentaje de arbuscúlos presentó diferencias significativas entre los usos de suelo, mientras que las vesículas y los puntos de entrada no mostraron diferencias (Tabla V.1). Las raíces de soja del AN mostraron los mayores porcentajes de colonización total y por arbuscúlos.

Las circunvoluciones se identificaron en solo 5 plantas con valores promedios muy bajos, de 0,25 % en el AN (mín. 0 – máx. 1 %), 0,06 % en BPA (mín. 0 – máx. 1 %) y de 0,31 % en PANS (mín. 0 – máx. 5 %), por lo que no se consideraron en los análisis estadísticos.

Los valores medios del porcentaje de colonización micorrícica total, por vesículas, arbuscúlos y puntos de entrada mostraron los mismos patrones de variación, siguiendo el siguiente orden AN>PANS>BPA (Fig. V.2).

Tabla V.1. Media (\pm E.E.) (n = 16) de las variables fúngicas (porcentajes de colonización total, por vesículas, arbuscúlos y puntos de entrada) medidas en las raíces de las plantas de *Glycine max* crecidas en suelos con HMA (CM) provenientes de los diferentes usos: AN (ambiente natural), BPA (buenas prácticas agrícolas) y PANS (prácticas agrícolas no sustentables). Resultados del MMLG entre los diferentes usos de suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas según el test a posteriori LSD Fisher ($p < 0,05$).

Uso de suelo	Colonización micorrícica (%)		Vesículas (%)		Arbuscúlos (%)		Puntos de entrada (%)	
	F	p	F	p	F	p	F	p
AN	32,25	2,85a	8,81	1,09a	12,75	1,59a	2,94	0,59a
BPA	15,81	2,15b	4,81	0,82b	4,44	0,71b	1,38	0,36a
PANS	23,69	3,59b	8,00	1,60ab	8,00	1,44b	2,94	0,76a
MMLG								
Usos de suelo	8,15	<0,001	3,03	0,06	10,44	<0,001	2,33	0,11

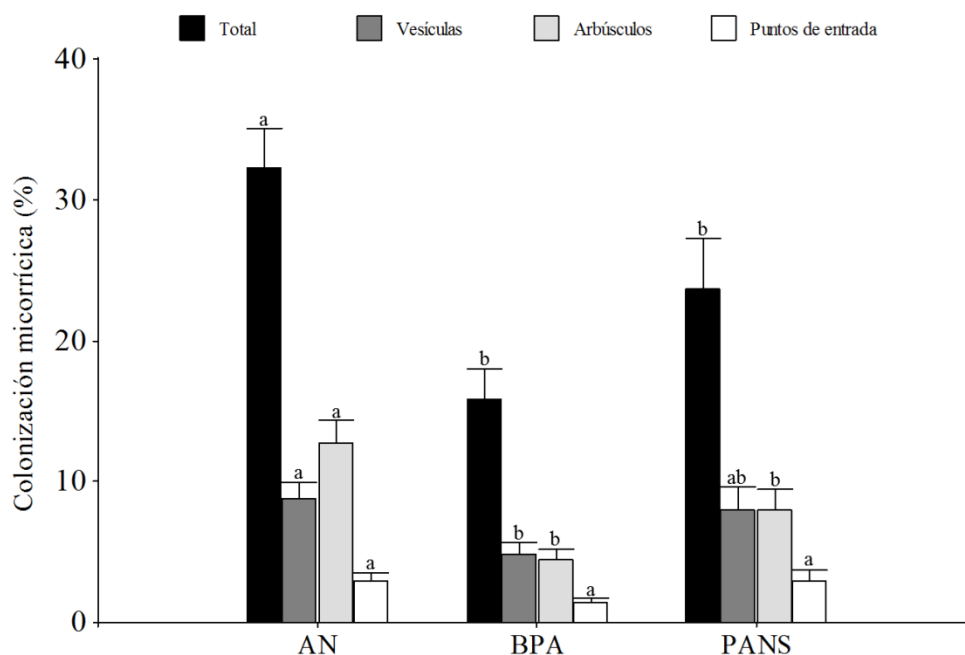


Figura V.2. Valores medios (\pm EE) ($n = 16$) de las variables fúngicas (porcentajes de colonización total, por vesículas, arbusculos y puntos de entrada) medidas en las raíces de *Glycine max* entre los diferentes usos de suelo: AN (ambiente natural), BPA (buenas prácticas agrícolas) y PANS (prácticas agrícolas no sustentables). Letras diferentes representan diferencias significativas de cada estructura intrarradical de HMA (barra del mismo color) entre los usos de suelo [Test a posteriori LSD Fisher ($p < 0,05$)].

V.3.1.b. Colonización micorrízica arbuscular, usos de suelo y sitios de estudio

El porcentaje de colonización micorrízica total y por arbusculos presentaron diferencias significativas entre los usos de suelo, pero no entre los sitios de estudio y la interacción entre ambos factores fue significativa para el porcentaje de colonización total y por vesículas. El porcentaje de puntos de entrada no presentó diferencias significativas para ninguno de los dos factores (Tabla V.2).

Tabla V.2. Resultados del MMLG de los variables fúngicas (porcentaje de colonización total, por vesículas, arbusculos y puntos de entrada) medidas en las raíces de las plantas de *Glycine max* crecidas en suelos con HMA (CM) provenientes de los diferentes usos, sitios de estudio y su interacción.

MMLG	Usos de suelo (U)		Sitios (S)		U*S	
	F	p	F	p	F	p
Colonización micorrízica (%)	9,38	<0,01	2,11	0,12	3,97	<0,01
Vesículas (%)	3,58	0,07	0,73	0,54	2,49	<0,05
Arbusculos (%)	11,33	<0,01	1,46	0,25	1,60	0,19
Puntos de entrada (%)	2,66	0,12	0,71	0,55	2,20	0,07

Cuando se compararon los patrones de variación de los valores medios para las 4 variables fúngicas medidas en las raíces de *Glycine max* entre los diferentes usos de suelo en cada sitio de estudio (Fig. V.3), en términos generales se pudo observar que:

- Bengolea mostró el mismo patrón de variación que el observado en la Fig. V.2 para las 4 variables AN>PANS>BPA;
- Monte Buey y Viale mostraron patrones similares de variación, con tendencias para las 4 variables en el siguiente orden AN>BPA>PANS y;
- Pergamino mostró el mismo patrón de variación para las 4 variables, en el siguiente orden PANS>AN>BPA.

V.3.2. Efecto de los HMA sobre el crecimiento de plantas de soja

V.3.2.a. Variables de crecimiento y usos de suelo

De las cuatro variables de crecimiento analizadas en las plantas de *Glycine max* [peso seco total (g) altura de la planta (cm), relación raíz/tallo, área foliar específica ($\text{mm}^2 \text{mg}^{-1}$)], solo el peso seco total presentó diferencias significativas entre las plantas crecidas CM y SM (Tabla V.3). Las plantas CM crecidas en suelos provenientes de ambiente natural (AN) mostraron mayor peso seco total que las SM crecidas en los mismos usos de suelo. Las plantas crecidas en suelos de BPA y PANS no mostraron diferencias en peso seco entre las plantas CM y SM, aunque las de BPA mostraron valores mayores CM que SM (Fig. V.4). Por otro lado, esta variable no presentó diferencias significativas entre los usos de suelo; sin embargo, las plantas crecidas en presencia de HMA (CM) mostraron valores decrecientes de AN>BPA>PANS y el patrón inverso en ausencia de ellos (Tabla V.3 y Fig. V.4).

Por otro lado, el área foliar específica (AFE) en las plantas de soja mostró diferencias significativas entre los diferentes usos de suelo, con las plantas crecidas en suelos provenientes de BPA presentando los valores más altos (Tabla V.3 y Fig. V.4).

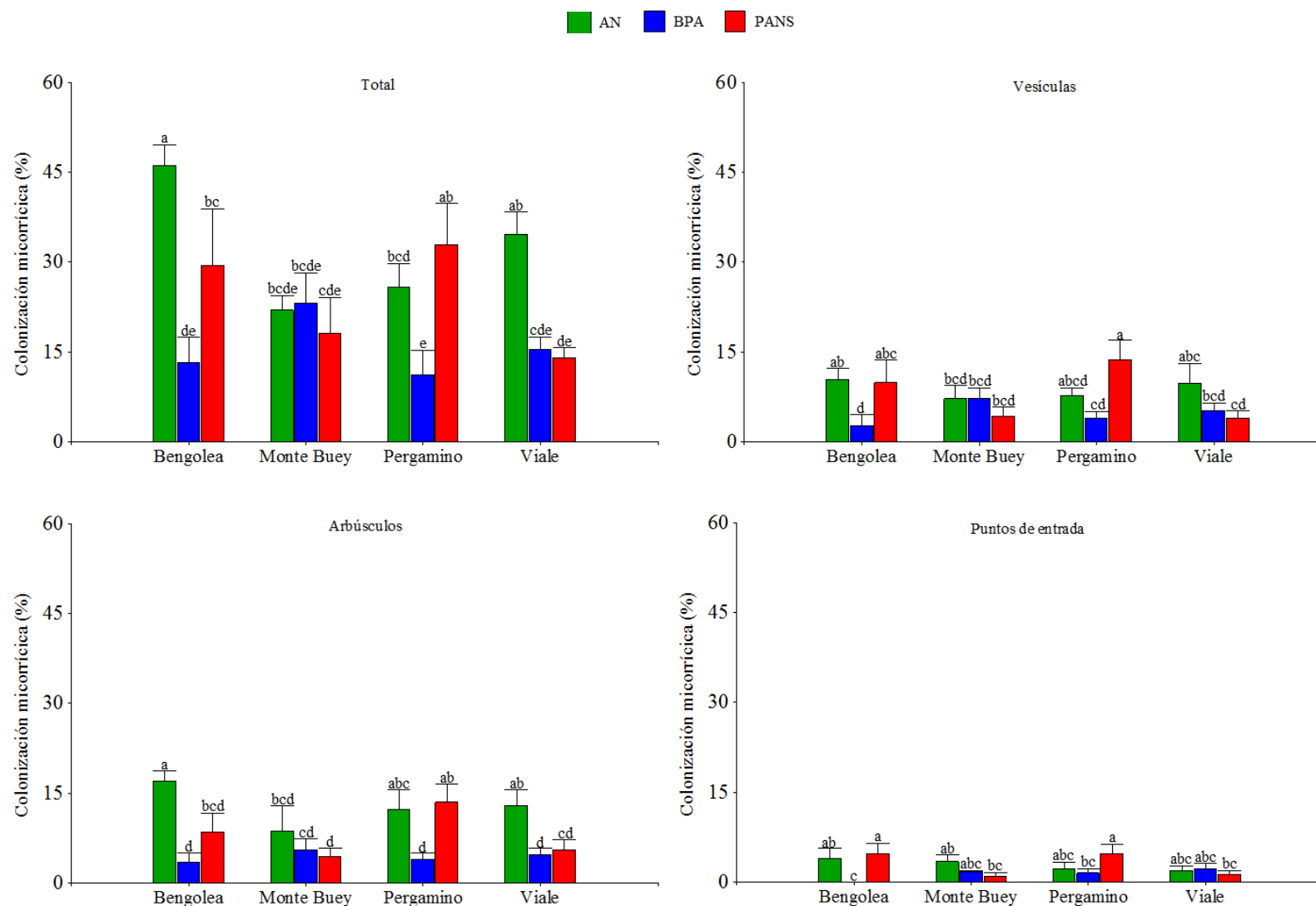


Figura V.3. Valores medios (\pm EE) ($n = 4$) de las variables fúngicas (porcentajes de colonización total, por vesículas, arbúsculos y puntos de entrada) medidas en las raíces de *Glycine max* crecidas en suelos con HMA (CM) provenientes de los diferentes usos de suelo [AN (ambiente natural), BPA (buenas prácticas agrícolas) y PANS (prácticas agrícolas no sustentables)] en cada sitio de estudio. Letras diferentes representan diferencias significativas [Test a posteriori LSD Fisher ($p < 0,05$)].

Para la relación raíz/tallo la interacción entre los usos de suelo y sitios de estudio fue significativa por lo que las plantas crecidas con suelos de AN-CM presentaron los mayores valores de esta variable. Las plantas crecidas en suelos de PANS-SM mostraron valores intermedios de esta variable; las crecidas en BPA CM y SM, como así también las de PANS-SM mostraron los valores más bajos para esta variables.

Aunque la altura de las plantas no presentó diferencias significativas para ambos factores, los valores más altos fueron observados en las plantas crecidas CM para los tres usos de suelo, con un patrón que decreció en el siguiente orden PANS>BPA>AN.

V.3.2.b. Variables de crecimiento, usos de suelo y sitios de estudio

Tabla V.3. Media (\pm E.E.) (n = 16) de las variables de crecimiento (peso seco total, altura, relación raíz/tallo y área foliar específica) medidas en las plantas de *Glycine max* crecidas en suelos con HMA (CM) y sin HMA (SM) provenientes de cada uso de suelo: AN (ambiente natural), BPA (buenas prácticas agrícolas) y PANS (prácticas agrícolas no sustentables). Resultados del MMLG entre micorrizas, usos de suelo y su interacción. Letras diferentes indican diferencias significativas según el test a posteriori LSD Fisher ($p < 0,05$) para la interacción entre micorrizas y usos de suelo.

Uso de suelo	Peso seco total (g)		Altura (cm)	
	[CM]	[SM]	[CM]	[SM]
AN	1,60 \pm 0,14a	1,17 \pm 0,11b	100,36 \pm 4,59ab	93,61 \pm 5,78b
BPA	1,58 \pm 0,12a	1,34 \pm 0,11ab	103,18 \pm 3,37ab	100,11 \pm 2,43ab
PANS	1,40 \pm 0,09ab	1,37 \pm 0,10ab	105,81 \pm 3,22a	101,20 \pm 2,90ab
MMLG	F	p	F	p
Micorrizas	7,89	<0,01	2,35	0,13
Uso de suelo	0,35	0,71	1,53	0,22
M*U	2,01	0,14	0,12	0,89

Uso de suelo	Relación raíz/tallo		Área foliar específica (mm ² mg ⁻¹)	
	[CM]	[SM]	[CM]	[SM]
AN	0,30 \pm 0,03a	0,22 \pm 0,01b	13,95 \pm 0,77ab	13,40 \pm 0,70b
BPA	0,22 \pm 0,01b	0,23 \pm 0,01b	14,99 \pm 0,74a	14,96 \pm 0,56a
PANS	0,23 \pm 0,04b	0,26 \pm 0,02ab	14,19 \pm 0,48ab	14,18 \pm 0,49ab
MMLG	F	p	F	p
Micorrizas	0,58	0,45	0,21	0,65
Uso de suelo	1,83	0,17	3,04	0,053
M*U	5,07	<0,01	0,17	0,85

El peso seco total presentó diferencias significativas entre las plantas crecidas en suelos CM y SM, y entre los sitios de estudio, pero las diferencias entre los usos de suelo no fueron significativas. El AFE presentó diferencias significativas entre los usos de suelo y entre los sitios de estudio, pero no entre las plantas crecidas CM y SM (Tabla V.4).

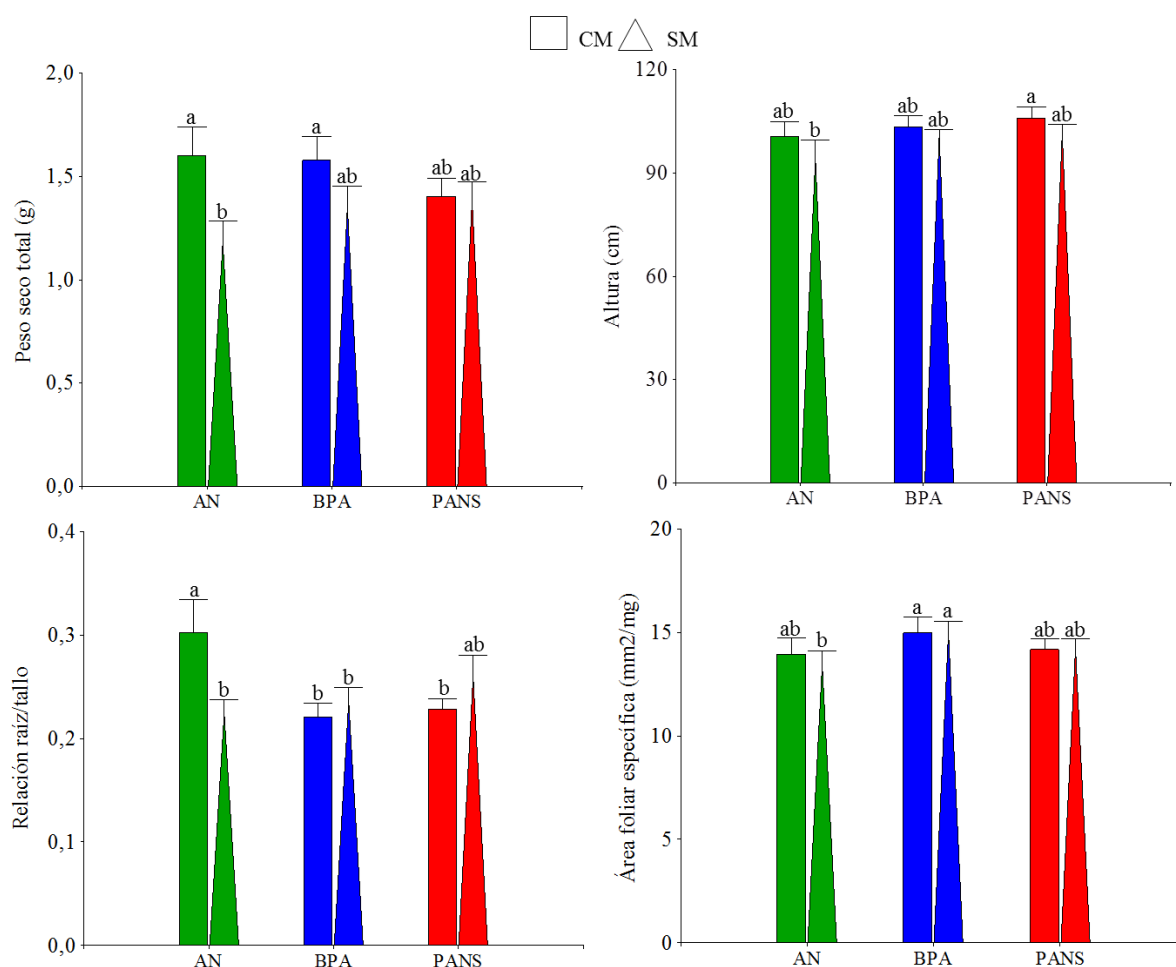


Figura V.4. Valores medios (\pm EE) ($n = 16$) de las variables de crecimiento (peso seco total, altura, relación raíz/tallo y área foliar específica) medidas en las plantas de *Glycine max* crecidas en suelos con HMA (CM) y sin HMA (SM) provenientes de cada uso de suelo: AN (ambiente natural), BPA (buenas prácticas agrícolas) y PANS (prácticas agrícolas no sustentables). Letras diferentes representan diferencias significativas [Test a posteriori LSD Fisher ($p < 0,05$)] para la interacción entre micorrizas y usos de suelo.

La altura de las plantas y la relación raíz/tallo no presentaron diferencias significativas para ninguno de los factores analizados

Cuando se compararon los patrones de variación de los valores medios para las 4 variables de crecimiento medidas en las plantas de *Glycine max* entre los diferentes usos de suelo en cada sitio de estudio (Fig. V.5), en términos generales se pudo observar que: -el peso seco total, mostró mayores valores en las plantas crecidas CM en Monte Buey y Viale para todos los usos de suelo, con patrones de variación siguiendo el orden BPA>PANS>AN y AN>PANS>BPA, respectivamente;

Tabla V.4. Media (\pm E.E.) (n = 4) de las variables de crecimiento (peso seco total, altura, relación raíz/tallo y área foliar específica) medidas en las plantas de *Glycine max* crecidas en suelos con HMA (CM) y sin HMA (SM) provenientes de cada uso de suelo: AN (ambiente natural), BPA (buenas prácticas agrícolas) y PANS (prácticas agrícolas no sustentables) y sitio de estudio. Resultados del MMLG entre micorrizas, usos de suelo, sitios y su interacción. Letras minúsculas representan diferencias significativas según el test a posteriori DGC ($p < 0,05$) para la interacción entre micorrizas, usos de suelo y sitios de estudio.

Sitio de estudio	Uso de suelo	Peso seco total (g)		Altura (cm)		Relación raíz/tallo		Área foliar específica ($\text{mm}^2 \text{mg}^{-1}$)	
		[CM]	[SM]	[CM]	[SM]	[CM]	[SM]	[CM]	[SM]
Bengolea	AN	1,63 \pm 0,17a	1,65 \pm 0,17a	105,80 \pm 6,68a	97,90 \pm 6,68a	0,38 \pm 0,04a	0,27 \pm 0,04b	16,16 \pm 0,85b	15,25 \pm 0,85b
	BPA	1,99 \pm 0,17a	1,95 \pm 0,17a	106,33 \pm 6,68a	104,28 \pm 6,68a	0,24 \pm 0,04b	0,28 \pm 0,04b	15,25 \pm 0,85b	14,71 \pm 0,85b
	PANS	1,54 \pm 0,17a	1,55 \pm 0,17a	103,69 \pm 6,68a	102,13 \pm 6,68a	0,25 \pm 0,04b	0,24 \pm 0,04b	12,79 \pm 0,85b	14,46 \pm 0,85b
Monte Buey	AN	2,16 \pm 0,17a	1,11 \pm 0,17b	109,05 \pm 6,68a	102,57 \pm 6,68a	0,28 \pm 0,04b	0,20 \pm 0,04b	14,89 \pm 0,85b	13,38 \pm 0,85b
	BPA	1,37 \pm 0,17b	1,11 \pm 0,17b	104,63 \pm 6,68a	93,77 \pm 6,68a	0,19 \pm 0,04b	0,22 \pm 0,04b	18,52 \pm 0,85a	18,00 \pm 0,85a
	PANS	1,51 \pm 0,17a	1,62 \pm 0,17a	104,80 \pm 6,68a	113,68 \pm 6,68a	0,23 \pm 0,04b	0,24 \pm 0,04b	14,81 \pm 0,85b	13,90 \pm 0,85b
Pergamino	AN	1,55 \pm 0,17a	1,23 \pm 0,17b	108,50 \pm 6,68a	100,70 \pm 6,68a	0,24 \pm 0,04b	0,23 \pm 0,04b	14,93 \pm 0,85b	15,64 \pm 0,85b
	BPA	1,09 \pm 0,17b	1,08 \pm 0,17b	86,78 \pm 6,68b	103,00 \pm 6,68a	0,20 \pm 0,04b	0,23 \pm 0,04b	14,69 \pm 0,85b	14,09 \pm 0,85b
	PANS	0,97 \pm 0,17b	1,26 \pm 0,17b	96,33 \pm 6,68a	96,00 \pm 6,68a	0,21 \pm 0,04b	0,29 \pm 0,04b	15,90 \pm 0,85b	13,99 \pm 0,85b
Viale	AN	1,07 \pm 0,17b	0,70 \pm 0,17b	78,11 \pm 6,68b	73,27 \pm 6,68b	0,31 \pm 0,04b	0,20 \pm 0,04b	9,85 \pm 0,85c	9,35 \pm 0,85c
	BPA	1,85 \pm 0,17a	1,25 \pm 0,17b	114,98 \pm 6,68a	99,40 \pm 6,68a	0,24 \pm 0,04b	0,20 \pm 0,04b	11,53 \pm 0,85b	13,05 \pm 0,85b
	PANS	1,60 \pm 0,17a	1,07 \pm 0,17b	118,43 \pm 6,68a	93,00 \pm 6,68a	0,23 \pm 0,04b	0,26 \pm 0,26b	13,27 \pm 0,85b	14,39 \pm 0,85b
MMLG		F	p	F	p	F	p	F	p
Micorrizas		12,58	<0,01	3,11	0,08	0,58	0,45	0,44	0,51
Uso de suelo		0,47	0,63	2,02	0,15	1,60	0,22	3,70	<0,05
Sitio		11,47	<0,001	2,16	0,11	2,00	0,13	17,12	<0,001
M*U*S		2,00	0,09	1,36	0,26	0,39	0,88	1,45	0,22

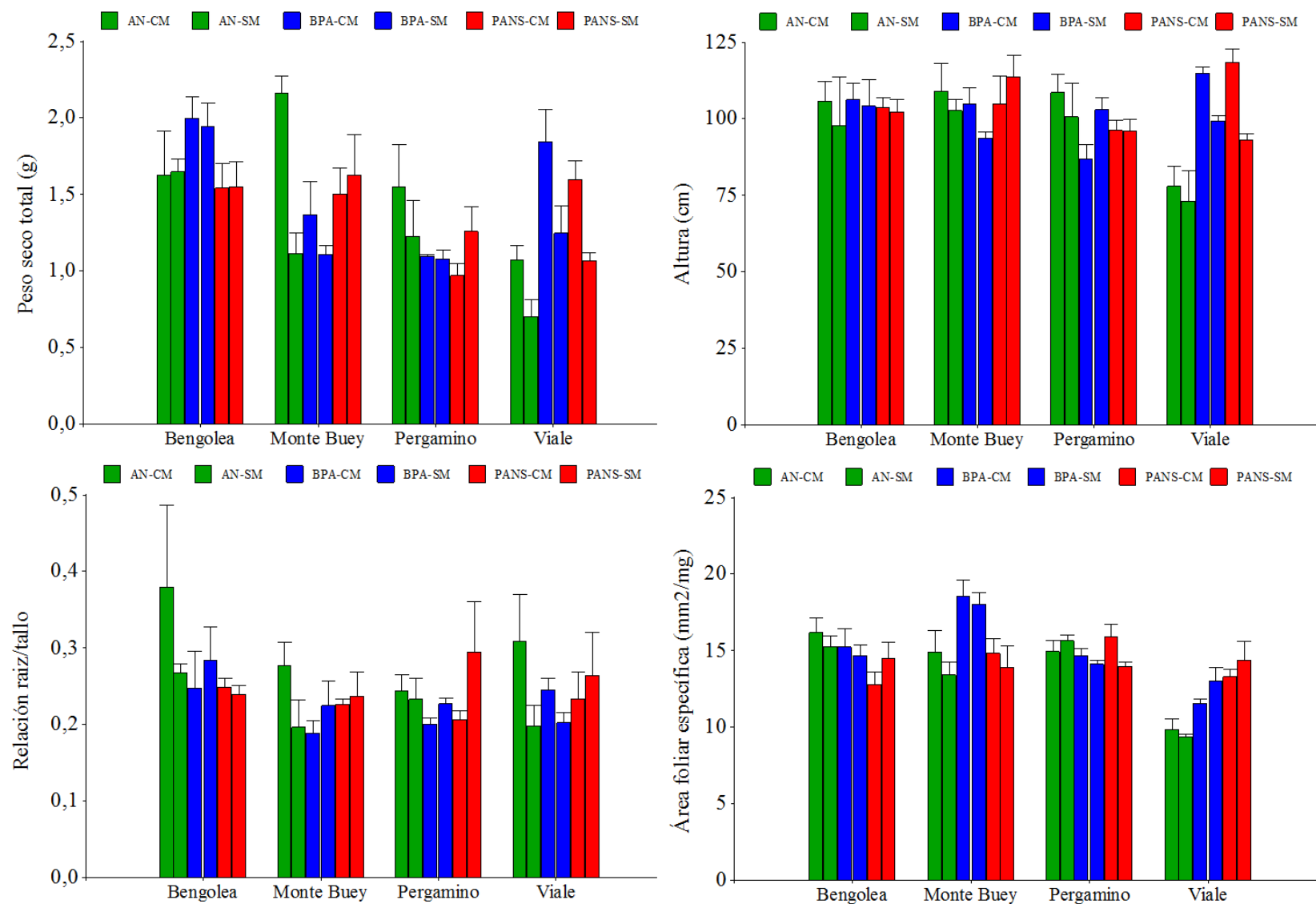


Figura V.5. Valores medios (\pm EE) ($n = 4$) de las variables de crecimiento (peso seco total, altura, relación raíz/tallo y área foliar específica) de las plantas de *Glycine max* crecidas en suelos con HMA [(CM), primeras barras de cada color en cada uso de suelo] y sin HMA [(SM) segundas barras de color en cada uso de suelo] provenientes de cada uso de suelo: AN (ambiente natural), BPA (buenas prácticas agrícolas) y PANS (prácticas agrícolas no sustentables) y sitio de estudio.

- la altura de las plantas mostraron valores más altos cuando crecieron CM, en las BPA de Monte Buey y Viale, y las PANS de Viale, que sin ellas y lo contrario ocurrió en las BPA de Pergamino;
- la relación raíz/tallo mostró los valores más altos en presencia de HMA, en las plantas crecidas con suelos provenientes de los AN de Bengolea, Monte Buey y Viale, y las BPA de Viale; y las PANS de Pergamino mostraron un patrón inverso;
- el área foliar específica no mostró grandes variaciones entre las plantas crecidas CM o SM, con el valor más bajo para esta variable en el AN de Viale y el más alto en BPA de Monte Buey.

V.4. Discusión

V.4.1. Colonización micorrícica arbuscular en raíces de "*Glycine max*"

Los porcentajes de colonización total por vesículas, arbusculos y puntos de entrada en las raíces de plantas de soja, variaron dependiendo del origen del inóculo de HMA. Las raíces de las plantas de soja crecidas en suelos provenientes del ambiente natural (AN) mostraron los mayores porcentajes de colonización total y por arbusculos. Por otro lado, las que crecieron en suelos provenientes de prácticas agrícolas no sustentables (PANS) mostraron valores intermedios y las de buenas prácticas agrícolas (BPA), los valores más bajos para esas dos variables fúngicas. A pesar de que los porcentajes de colonización por vesículas y puntos de entrada no presentaron diferencias significativas entre los usos de suelo, mostraron los mismos patrones de variación que los porcentajes de colonización total y por vesículas, siguiendo el orden AN>PANS>BPA.

Estos resultados podrían estar sustentados por los obtenidos en el Capítulo III y IV de esta Tesis Doctoral. En el Capítulo III, la densidad de esporas y la riqueza de especies mostraron un patrón decreciente de AN>BPA>PANS, denotando el efecto negativo de las prácticas agrícolas sobre la comunidad de HMA (Gosling et al., 2006; Menéndez et al., 2001; Oehl et al., 2003; Schalamuk y Cabello, 2010). Pero por otro lado, el ensayo de infectividad (Capítulo IV) mostró que las comunidades de HMA provenientes de PANS fueron capaces de colonizar las plantas de *Vicia villosa* más rápidamente que las provenientes de AN y BPA. Por lo que este uso de suelo, producto de un manejo agrícola intensivo parece albergar comunidades de HMA con especies

ruderales (estrategias-r), capaces de responder frente a fluctuaciones del ecosistema original iniciando rápidamente la colonización radical de las plantas (Verbruggen y Kiers, 2010).

Probablemente la diferencia en la capacidad infectiva de los distintos tipos de suelo observada en los distintos Capítulos de esta Tesis esté dada por la identidad de la planta hospedante utilizada en el experimento de infectividad (*Vicia villosa*) y en el del presente ensayo (*Glycine max*). Posiblemente, los HMA presentes en el suelo del AN tengan una mayor habilidad para iniciar la colonización micorrícica de plantas de soja. Es decir que estos resultados sustentarían la hipótesis de la existencia de un grado de preferencia o selectividad en la interacción planta-HMA (Davison et al., 2011; Helgason et al., 2002; Öpik et al., 2009; Vandenkoornhuysen et al., 2003). De todas maneras, sería interesante detectar, mediante técnicas moleculares, los HMA que se encuentran colonizando las raíces de las plantas de estudio (Davison et al., 2012; Redecker et al., 2000), ya que las especies de la rizosfera no necesariamente reflejan los simbiontes radicales (Clapp et al., 1995).

Es importante recordar en esta instancia la identidad de las plantas hospedadoras presentes en cada uso de suelo, en cada sitio de estudio, en el momento de la recolección del suelo utilizado para este ensayo (febrero de 2011-Ver Tabla II.1 del Capítulo II). En el AN de los cuatro sitios de estudio (Bengolea, Monte Buey, Pergamino y Viale) predominaban los pastizales de gramíneas, las BPA de Bengolea, Monte Buey y Viale estaban sembradas con maíz (*Zea mays*) y las de Pergamino con soja. Las PANS de los cuatro sitios estaban sembradas con soja, lo que podría explicar los valores intermedios en los porcentajes de colonización en nuestro ensayo para este tipo de suelo. Es posible que en las muestras de suelo de las PANS utilizadas como inóculo hayan predominado fragmentos de raíces colonizados de las plantas de soja, fragmentos de hifas y esporas específicos de este cultivo, por lo que en el ensayo experimental las plantas crecidas con este inóculo estarían promoviendo mayores porcentajes de colonización que las BPA agrícolas.

En resumen, la soja crecida en el suelo proveniente de PANS, donde se espera que la comunidad de HMA rizosférica predominante sea específica de la soja, favoreció una mayor colonización por HMA, que la soja crecida en suelo proveniente de BPA, donde la comunidad predominante fue específica de las plantas de maíz. Por el contrario los AN tuvieron una comunidad de HMA más rica y diversa con respecto a los otros usos de suelo. Si bien una importante evidencia sugiere que existe baja especificidad en

la interacción planta-HMA (Smith y Read, 2008), hay estudios que muestran que ciertas especies de plantas muestran selectividad en sus interacciones con sus socios fúngicos (Helgason y Fitter, 2005; Vandenkoornhuysen et al., 2003).

V.4.2. Efecto de los HMA sobre el crecimiento de plantas de soja

En este ensayo experimental las comunidades de HMA, provenientes de los diferentes usos de suelo mostraron diferentes efectos sobre el crecimiento de las plantas de soja. De acuerdo a la predicción planteada, las comunidades fúngicas provenientes del AN causaron un efecto positivo sobre el crecimiento (mayor peso seco total) de las plantas comparados con los controles (SM). Las crecidas en suelos de BPA-CM mostraron valores de peso seco total mayores que sus respectivos controles, pero sin diferencias significativas entre ellas. En tanto que las provenientes de PANS no causaron diferencias entre las plantas crecidas CM y SM.

El efecto de los HMA sobre el crecimiento de las plantas ha sido ampliamente estudiado y varía desde beneficioso hasta antagonista (Jones y Smith, 2004), dependiendo de numerosos factores como la especie de planta (Pérez y Urcelay, 2009), las variedades de la misma, la disponibilidad de nutrientes del suelo y la identidad planta-hongo (Lehmann et al., 2012). Los efectos beneficiosos de los HMA sobre el crecimiento de las plantas son atribuidos principalmente a la facilitación de la adquisición de nutrientes, especialmente de fósforo, a la resistencia frente a la herbivoría, a hongos patógenos, a la sequía y al aumento de la tasa fotosintética (Smith y Read, 2008) y frecuentemente se miden como producción de biomasa. Los efectos antagonistas están relacionados con el balance entre los costos de carbono por parte de la planta y el beneficio de la absorción de P (Li et al., 2008), el gasto de carbohidratos puede afectar negativamente el crecimiento de la planta (Johnson y Graham, 2013; Urcelay et al., 2011). En particular, las especies con estrategias r de vida como es el caso de la soja estudiada en este ensayo pueden verse afectadas negativamente por los hongos micorrízicos (Rinaudo et al., 2010; Veiga et al., 2011), aunque se ha sugerido que la soja es intermedia en dependencia micorrízica (Plenchette et al., 1983). En las raíces de las plantas crecidas CM de este estudio, se observaron los valores más altos de colonización micorrízica en los suelos de AN y los más bajos en los de BPA y las plantas en estos tratamientos presentaron mayor peso seco total. En las crecidas en suelos provenientes de PANS, donde no hubo diferencia en el peso seco entre las

plantas CM y SM, se observaron los valores intermedios de colonización micorrícica. Estos resultados pueden ser explicados en parte por la estrategia de vida ruderal de la planta y su dependencia micorrícica intermedia, por lo que en AN y BPA la soja se estaría beneficiando de la asociación con los HMA y en PANS, esta relación se vuelve redundante y sin beneficios para el hospedador.

Por otro lado, se observaron diferencias en la relación raíz: tallo cuando la planta de soja creció CM y SM en suelos provenientes de AN y PANS, pero los resultados fueron controvertidos. Las evidencias sugieren que la colonización micorrícica disminuye la relación raíz/tallo, ya que las plantas destinan menos productos de la fotosíntesis al crecimiento radical al adquirir los nutrientes principalmente a través del micelio extrarradical de los HMA asociados con sus raíces (Veresoglou et al., 2011), siendo este el caso para las plantas crecidas en los suelos de PANS. Pero cuando crecieron en suelos provenientes de AN las plantas colonizadas por HMA mostraron mayor relación raíz/tallo. Esta diferencia podría deberse a la corta duración del experimento realizado, que es un factor que puede influir en la relación raíz/tallo (Veresoglou et al., 2011). Es decir, es posible que en el momento de levantarse el experimento las plantas que presentaron una mayor colonización micorrícica (AN) estaban en la etapa de asignación de carbohidratos para crecimiento radical y para mantener la simbiosis con los HMA (Meddad-Hamza et al., 2010; Porras-Soriano et al., 2009), por lo cual la relación raíz/tallo fue mayor. En cambio, las plantas inoculadas con suelo de PANS, que presentaban un menor porcentaje de colonización, probablemente tenían más fotosintetatos disponibles para asignar al desarrollo de biomasa aérea y por ello la relación raíz/tallo fue menor en este tratamiento.

El área foliar específica (AFE) es una de las variables usadas frecuentemente en estudios de crecimiento de las plantas y se relaciona con un mayor crecimiento de las mismas (Pérez-Harguindeguy et al., 2013), por lo que si las plantas se benefician en crecimiento cuando están colonizadas por HMA deberíamos esperar mayores valores de AFE en las mismas plantas. Sin embargo, en este estudio el AFE no presentó diferencias significativas entre las plantas crecidas CM y SM. Sin embargo, las plantas de BPA presentaron mayores valores de AFE con respecto a los otros dos usos de suelos (AN y PANS). En general, las especies de plantas que crecen en ecosistemas con alta disponibilidad de recursos tienen mayor AFE que aquellas que crecen en ambientes con baja disponibilidad de recursos (Pérez-Harguindeguy et al., 2013).

A pesar de que no se encontraron diferencias significativas en la altura entre las plantas CM y SM, las plantas colonizadas fueron levemente más altas que las no colonizadas en todos los usos de suelo. Tal vez estos resultados se deban a la falta de un crecimiento vigoroso de las plantas en nuestro ensayo, debido por ejemplo a la época del año en que se realizó el ensayo experimental (otoño-invierno). A pesar de que las condiciones de temperatura, fotoperíodo y humedad del invernadero fueron controladas, posiblemente la estación en la que se realizó el experimento influyó en el desarrollo de las plantas de soja. Sin embargo, estos caracteres merecen un mayor número de estudios para poder comprender la interacción hongo-planta en distintos contextos.

En general, el porcentaje de colonización micorrícica total y por arbuscúlos presentaron diferencias significativas entre los usos de suelo, pero no entre los sitios de estudio; y la interacción entre ambos factores fue significativa para el porcentaje de colonización total y por vesículas. Con respecto a las variables de crecimiento de las plantas de *Glycine max*, el peso seco total presentó diferencias significativas entre las plantas crecidas en suelos CM y SM, y entre los sitios de estudio, pero las diferencias entre los usos de suelo no fueron significativas. El área foliar específica presentó diferencias significativas entre los usos de suelo y entre los sitios de estudio, pero no entre las plantas crecidas CM y SM. Los patrones de variación tanto de las variables fúngicas como las de crecimiento analizadas en *Glycine max*, no fueron consistente a través de todos los sitios y mostraron ser sitio- dependientes justificando nuevamente la elección del diseño experimental.

V.5. Conclusiones

Estos resultados sugieren que la soja, una planta con estrategia de vida r- se comporta como tal, cuando crece con las comunidades de HMA provenientes de PANS, donde de acuerdo a nuestros resultados, parecen predominar morfoespecies con este mismo estilo de vida, y se han co-adaptado por lo que relación planta-hongo se vuelve redundante. Por el contrario, cuando crece en suelos con comunidades más densas en esporas y ricas en especie (AN y BPA) se ve favorecida en términos de biomasa, por las comunidades de HMA de estos ambientes.

En el ambiente natural la comunidad de HMA que se ha adaptado a largo plazo a un ambiente estable, de nutrientes, con una gran diversidad de hospedadores, promueve

un crecimiento positivo a la soja, en las BPA la comunidad de HMA presente en las buenas prácticas agrícolas ha sido modificada por la agricultura, pero la presencia de mayor diversidad de plantas, dada por la rotación de cultivos, y el controlado uso de agroquímicos (un ambiente menos estable que el natural, pero intermedio entre este y las PANS) también estaría favoreciendo el crecimiento de la plantas de soja, por el contrario las PANS parecen seleccionar especies de HMA con estrategias *r*- que no favorecen el crecimiento en biomasa de esta plantas, comparado con los controles.

CAPÍTULO VI

VI. Discusión y conclusión general

VI.1. Discusión general

Los procesos que ocurren a gran escala geográfica como el clima y el cambio en el uso y cobertura de la tierra, pueden controlar los patrones de biodiversidad en el mundo (Sala et al., 2000). Los cambios en el uso de la tierra producen importantes modificaciones tanto en la estructura como en el funcionamiento de los ecosistemas (Casas, 2001; Viglizzo et al., 2001). La agricultura, junto a la urbanización, la pérdida de vegetación y desertificación, son ejemplos de actividades producidas por el hombre que han modificado la superficie del planeta. Estos cambios, en consecuencia, estarían alterando las comunidades de microorganismos que habitan el suelo (Rillig, 2004; van der Heijden et al., 2008; Wardle et al., 2004).

Los agroecosistemas son ecosistemas artificiales simplificados en biodiversidad, que requieren de la continua intervención humana ya que carecen de capacidad para realizar su propia regulación. Estos modernos sistemas agrícolas se han vuelto muy productivos pero sólo porque son altamente dependientes de aportes externos. La agricultura moderna implica la simplificación de la estructura del ambiente en grandes extensiones, reemplazando la diversidad natural por un pequeño número de plantas cultivadas y animales domésticos. La dominancia de una especie a escala geográfica determina la exclusión de otras, con la consecuencia de que la riqueza específica (número de especies) y el equilibrio en la abundancia (importancia relativa de las distintas especies) decrecen tanto a nivel local como regional (Hillebrand et al., 2008). Cuando la expansión de un cultivo se hace en detrimento de otras especies y variedades, nos encontramos frente a una monopolización de los recursos, que es una consecuencia dominante del monocultivo. La homogeneización del paisaje lleva a la pérdida de numerosas especies silvestres que pueden vivir o subsistir en mosaicos agrícolas o mixtos (Tscharntke et al., 2005). Una menor diversidad agrícola también es indicadora de deterioro ambiental, donde tanto la diversidad de cultivos como la diversidad de especies y procesos ecológicos asociados a paisajes heterogéneos se ven afectados negativamente (Altieri, 1999).

La homogeneización del paisaje agrícola argentino, asociado a la introducción desequilibrante de una especie cultivable, puede observarse en el aumento acelerado del área sembrada con soja (*Glycine max*). Esta pérdida de heterogeneidad en el ambiente rural trae aparejada una pérdida de diversidad a escala agro-ecosistémica. Además de la expansión de la frontera agrícola y de la pérdida de biodiversidad por destrucción de

ambientes naturales, Aizen et al. (2009) advierten sobre la homogeneización del paisaje agrícola con los múltiples costos ambientales, sociales y económicos que trae aparejado una menor diversidad de cultivos. Un creciente número de evidencias da cuenta de las consecuencias de la expansión agrícola sobre el clima, el balance de C y N, las emisiones de gases invernadero, la biodiversidad y el balance hídrico. (Houghton, 2001). Las pérdidas de fósforo son indicativas, por otro lado, de un deterioro de la capacidad productiva de los suelos que, más temprano que tarde, deberá compensarse mediante una fertilización que elevará los costos de producción.

Existen numerosas prácticas agrícolas que son citadas frecuentemente por su impacto positivo sobre el hábitat y la biodiversidad, como la reducción del uso de pesticidas y fertilizantes, el control mecánico de malezas, el uso de abono verdes y animales, la siembra directa, el intercultivo, el manejo de bordes, espacios marginales o áreas no cultivadas, épocas de siembra, rotaciones de cultivos, planteos de producción mixta, etc. Tres prácticas pueden ser resaltadas como benéficas para la biodiversidad: 1) reducir a niveles estrictamente necesarios el uso de pesticidas químicos y fertilizantes inorgánicos, 2) manejar estratégicamente los sitios no cultivados o marginales que, al convertirse en reservorios, permiten mantener e incrementar la diversidad biológica, y 3) adoptar prácticas de control integrado de plagas y malezas, por ejemplo, tratando de preservar los planteos mixtos y la rotación de cultivos por su impacto positivo para proveer hábitats heterogéneos y variables en el espacio y tiempo (Hole et al., 2005).

Otro de los aspectos fundamentales que en general no se tienen en cuenta a la hora de implementar prácticas agrícolas con miras a la sustentabilidad es la de integrar en planes de manejo a los microorganismos importantes para la calidad y la salud del suelo. Si tenemos en cuenta que estos microorganismos influyen en numerosos procesos relacionados con la dinámica de poblaciones de plantas y sus interacciones, es fundamental incluir las comunidades nativas de microorganismos y en especial a los HMA en cualquier estudio de manejo del suelo o procesos de restauración de un ecosistema. Para ello, en primer lugar es necesario conocer la identidad y ecología de las comunidades, tanto vegetales como fúngicas, que se encuentran en cualquier ecosistema (Dobson et al., 1997).

La mayoría de las investigaciones a campo sobre HMA realizadas en Argentina se han desarrollado en ecosistemas naturales (Becerra et al., 2009; Cofré et al., 2012; Grilli et al., 2012; Grilli et al., 2013; Longo et al., 2014; Lugo y Cabello, 2002; Soteras et al., 2012; Soteras et al., 2013; Urcelay et al., 2009), siendo escasa la información en

nuestros agroecosistemas (Faggioli y Cabello, 2013; Menéndez et al., 2001; Schalamuk y Cabello, 2010; Schalamuk et al., 2006). Aunque Argentina es uno de los países del mundo con mayor extensión de áreas cultivadas bajo SD (AAPRESID), los estudios acerca del efecto de la SD sobre la comunidad de Glomeromycota son escasos y generalmente abordados a escala local (Faggioli y Cabello, 2013; Menéndez et al., 2001; Schalamuk y Cabello, 2010; Schalamuk et al., 2006). Más aun, dichos estudios no suelen incluir un ambiente natural a partir del cual contrastar los efectos promovidos por los usos de la tierra. Por lo que el objetivo general de la presente Tesis se enfocó principalmente en tres temas identificados en la Introducción general (Fig. I.3, Capítulo I):

1) efecto de las prácticas agrícolas en siembra directa sobre la composición de la comunidad de HMA, para lo cual se evaluó la composición de las comunidades de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) en suelos con diferentes usos (ambiente natural, buenas prácticas agrícolas y prácticas agrícolas no sustentables) a lo largo de un gradiente de sitios en la región central de Argentina (Capítulo III) en dos meses del año (febrero y septiembre);

2) efecto de las prácticas agrícolas en siembra directa sobre la infectividad de los diferentes suelos basada en todos los propágulos funcionales (esporas, fragmentos de raíces colonizados e hifas extrarradicales), para lo cual se realizó un ensayo en invernadero utilizando como planta prueba a *Vicia villosa* (Capítulo IV); y

3) efecto de los HMA sobre el crecimiento de plantas de *Glycine max* (L.) Merrill, mediante un ensayo en invernadero con plantas de soja crecidas en suelos inoculados (CM) y no inoculados (SM) con HMA provenientes de cada situación (Capítulo V).

De acuerdo a nuestra hipótesis general de trabajo, las prácticas agrícolas en siembra directa en este estudio promovieron cambios en la comunidad de HMA (en la composición de la comunidad y en la infectividad de los diferentes suelos), y esos cambios influyeron de manera diferente en el crecimiento de las plantas de soja (Fig. I.3, Capítulo I).

VI.1.1. Efecto de las prácticas agrícolas en siembra directa sobre la comunidad de HMA

En general, las prácticas agrícolas afectaron negativamente a la comunidad de esporas, principalmente la densidad de esporas y la riqueza de especies disminuyeron siguiendo el orden AN>BPA>PANS de acuerdo a lo predicho (Capítulo I).

En la primera parte de esta Tesis se realizó una descripción de la comunidad de HMA y se evaluaron las diferentes variables de la comunidad de HMA (densidad de esporas, riqueza de morfoespecies, diversidad y equitatividad) en los diferentes usos de suelo: ambiente natural (AN), buenas prácticas agrícolas (BPA) y prácticas agrícolas no sustentables (PANS). Por lo que con estos resultados se ampliaron los conocimientos de las comunidades de HMA en agroecosistemas bajo siembra directa de Argentina, ya que pocos estudios han sido abordados sobre el tema y en general han sido desarrollados a escala local. En comparación a los estudios realizados en agroecosistemas de Argentina (Covacevich et al, 2012; Faggioli y Cabello, 2013; Imaz et al., 2014; Menéndez et al., 2001; Schalamuk y Cabello, 2010; Schalamuk et al., 2006) y otros de diferentes áreas geográficas (Douds y Millner, 1999; Jansa et al., 2003), estos resultados mostraron un mayor número de morfoespecies.

Los agroecosistemas poseen características particulares que influyen en la actividad de los HMA. Mientras que en ecosistemas naturales existen plantas de diversas especies con distintas edades y estacionalidad hospedando los HMA, en sistemas agrícolas con cultivos anuales, como es el caso de las BPA y PANS en este estudio, se presentan dos períodos con diferencias muy marcadas: una parte del año donde se registra una gran densidad de plantas hospedantes coetáneas y pertenecientes a la misma especie (febrero), y luego de la cosecha un período de rastrojos con ausencia de hospedantes o en algunos casos con presencia de cultivos de cobertura o cultivos de invierno (septiembre). La producción de esporas depende del suministro de fotoasimilados de la planta hospedante hacia el hongo, por lo que en los sistemas agrícolas suele concentrarse en el tiempo y la ausencia de plantas hospedantes en los períodos de rastrojo, poscosecha, impacta sobre la comunidad de *Glomeromycota* (Troeh y Loynachan, 2003). Variaciones estacionales con picos en la densidad de esporas en verano-otoño fueron observados por Lugo y Cabello (2002) en pastizales de altura en la provincia de Córdoba. En este estudio, la densidad de esporas mostró los valores más altos para los tres usos de suelo en febrero, es decir la estación estival,

coincidiendo con los ciclos de los cultivos de verano (maíz/soja); sin embargo estas diferencias no fueron significativas. Además, la densidad de esporas y la riqueza de morfoespecies decrecieron siguiendo el patrón AN>BPA>PANS, lo que indica que tanto la intensidad de la práctica agrícola (rotación de cultivos/monocultivo) como la presencia del cultivo influyen sobre la composición de la comunidad de HMA.

VI.1.2. Efecto de las prácticas agrícolas en siembra directa sobre la infectividad de los diferentes suelos, la colonización micorrícica y el crecimiento de plantas de “*Glycine max*”

Las prácticas agrícolas afectaron la infectividad de los diferentes suelos, reflejado en la diferencia de los porcentajes de colonización micorrícica arbuscular de las raíces de vicia y soja. Las prácticas agrícolas no sustentables (PANS) promovieron mayor colonización en las raíces de ambas plantas (vicia y soja), sugiriendo que los suelos en monocultivo de soja son más infectivos que los de buenas prácticas agrícolas, sometidos a rotación de cultivos. Por otro lado en el Capítulo IV, los suelos de PANS mostraron ser más infectivos para las raíces de vicia que los suelos de AN y BPA, por lo que, contrario a lo esperado, la infectividad siguió el orden PANS>AN>BPA. Con respecto al Capítulo V, estos mismos suelos, revelaron ser menos infectivos que los AN, ya que los porcentajes de colonización en las raíces de soja siguieron el orden AN>PANS>BPA.

Probablemente, la diferencia en la capacidad infectiva de los distintos tipos de suelo observada en los ensayos del Capítulo IV y V, esté dada por la identidad de la planta hospedante utilizada en cada experimento (*Vicia villosa* y *Glycine max* respectivamente). Posiblemente, los HMA presentes en el suelo del AN tengan una mayor habilidad para iniciar la colonización micorrícica de plantas de soja. Es decir que estos resultados sustentarían la hipótesis de la existencia de un grado de preferencia o selectividad en la interacción planta-HMA (Davison et al., 2011; Helgason et al., 2002; Öpik et al., 2009; Vandenkoornhuyse et al., 2003). De todas maneras, sería interesante detectar, mediante técnicas moleculares, los HMA que se encuentran colonizando las raíces de las plantas de estudio (Davison et al., 2012; Redecker et al., 2000), ya que las especies de la rizosfera no necesariamente reflejan los simbiontes radicales (Clapp et al., 1995).

Las especies de plantas responden diferencialmente a la colonización por HMA. Esta respuesta es conocida como “respuesta micorrícica” y describe el efecto de los HMA sobre el crecimiento de una especie en particular, comparando distintas variables de crecimiento (altura, biomasa, relación raíz/tallo) con la misma planta no colonizada (control) (Janos, 2007). El efecto de los HMA sobre el crecimiento de las plantas ha sido ampliamente estudiado y varía desde beneficioso hasta antagonista (Johnson et al., 1997; Jones y Smith, 2004), dependiendo de numerosos factores como la especie de planta (Pérez y Urcelay, 2009), las variedades de la misma, la disponibilidad de nutrientes del suelo, la identidad planta-hongo (Lehmann et al., 2012) la combinación de taxones de HMA (Maherali y Klironomos, 2007) y la infectividad micorrícica del suelo (Cuenca et al., 2004). Los efectos beneficiosos de los HMA sobre el crecimiento de las plantas son atribuidos principalmente a la facilitación de la adquisición de nutrientes, especialmente de fósforo, a la resistencia frente a la herbivoría, a hongos patógenos, a la sequía y al aumento de la tasa fotosintética (Smith y Read, 2008) y frecuentemente se miden como producción de biomasa. Los efectos antagonistas están relacionados con el balance entre los costos de carbono por parte de la planta y el beneficio de la absorción de P (Li et al., 2008), que generalmente afectan negativamente el crecimiento de las plantas, dependiendo probablemente a las condiciones ambientales del suelo, a la identidad o a la estrategia de vida del hospedador (Johnson et al., 1997; Johnson y Graham, 2013; Rinaudo et al., 2010; Urcelay et al., 2011; Veiga et al., 2011). En particular, las especies con estrategias *r* de vida como es el caso de la soja estudiada en este ensayo pueden verse afectadas negativamente por los hongos micorrícicos (Rinaudo et al., 2010; Veiga et al., 2011), aunque se ha sugerido que la soja es intermedia en dependencia micorrícica (Plenchette et al., 1983).

Con respecto al efecto de los HMA sobre el crecimiento de las plantas de soja (Capítulo V), los resultados revelaron en el ensayo experimental que las comunidades de HMA, provenientes de los diferentes usos de suelo, mostraron diferentes efectos sobre el crecimiento de las plantas de soja. De acuerdo a la predicción planteada, las comunidades fúngicas provenientes del AN causaron un efecto positivo sobre el crecimiento (mayor peso seco total) de las plantas comparados con los controles (SM). Las crecidas en suelos de BPA-CM mostraron valores de peso seco total mayores que sus respectivos controles, pero sin diferencias significativas entre ellas. En tanto que las provenientes de PANS no causaron diferencias entre las plantas crecidas CM y SM.

Con respecto a las otras variables de crecimiento analizadas (altura de las plantas, relación raíz/tallo, área foliar específica) mostraron inconsistencias en las respuestas.

Sin embargo, y como se sugirió anteriormente, los suelos de PANS promovieron mayor colonización en las raíces de vicia (Capítulo IV) y soja (Capítulo V) comparado con los suelos de BPA, resultando ser más infectivo, pero esta mayor colonización observada en las raíces de soja en los suelos de PANS no fue reflejada en una mayor biomasa seca total en las plantas de soja crecidas CM en esos mismos suelos (Capítulo V). Se ha observado en estudios previos que la colonización micorrícica en las raíces de las plantas no necesariamente se relaciona con el beneficio proporcionado por los HMA hacia la planta (Gange y Ayres, 1999; Smith y Read, 2008), por lo que una especie de planta puede tener altos porcentajes de colonización micorrícica arbuscular en sus raíces sin que los HMA les brinden algún beneficio (Johnson et al., 1997).

El modelo continuo propuesto por Johnson et al. (1997) y revisado por Johnson y Graham (2013) establece que la función micorrícica es una manifestación de la interacción de los genotipos hongo-planta entre ellos y con el medioambiente local. Las combinaciones nativas de la planta y hongo micorrícico que comparten una historia de vida (co-adaptadas a un ambiente común) se prevé que tengan resultados funcionales diferentes comparados con combinaciones exóticas sin historia de vida de co-adaptación. Un experimento reciente provee fuertes evidencias de que las comunidades de pastizales intactos y HMA se han co-adaptado unos con otros y con su medioambiente local, por lo que el mutualismo se maximiza en suelos deficientes en P y el parasitismo se reduce al mínimo en suelos con alta disponibilidad de P (Johnson et al., 2010). Podríamos argumentar entonces que en estos agroecosistemas estudiados, la soja en monocultivo (PANS), se ha adaptado a una comunidad de HMA que esta seleccionada para colonizarla más y más rápido, pero sin efectos beneficiosos para su crecimiento, y cuando crece en suelos bajo rotación con otros cultivos como el maíz en BPA, la soja se estaría beneficiando de la comunidad de HMA en la rotación y aún más en ambientes más estables y diversos como los pastizales de gramíneas.

VI.2. Conclusiones generales

-Las prácticas agrícolas afectaron la comunidad de HMA como así también la infectividad de los diferentes suelos, por lo que estos efectos sobre estas variables de la comunidad de HMA se vieron reflejados en el crecimiento de *Glycine max*.

-Se identificaron 46 morfoespecies, distribuidas en 8 familias, con 44 morfoespecies en el AN, 43 en las BPA y 37 en las PANS. El número de morfoespecies identificadas para nuestros agroecosistemas fue alto comparado con otros agroecosistemas del mundo y de Argentina por lo que es muy importante la protección del suelo y la búsqueda de alternativas sustentables para evitar su degradación y la pérdida de especies.

-Se comprobó un efecto negativo de las prácticas agrícolas en siembra directa sobre la comunidad de HMA y estos efectos fueron más marcados en la densidad de esporas y en la riqueza de especies.

- El análisis de la comunidad de HMA permitió diferenciar entre ambientes naturales y suelos cultivados en la región central de Argentina. La densidad y la riqueza de especies fueron mayores en el ambiente natural (AN) en comparación con los suelos manejados para agricultura (BPA y PANS). Más aún, ambas variables decrecieron en el orden predicho (AN>BPA>PANS) por lo que pueden ser sugeridas como indicadoras de los diferentes usos de suelo.

-En cuanto a la infectividad de los diferentes suelos, el suelo de las PANS mostró ser capaz de colonizar las plantas de *Vicia villosa*, utilizadas como pruebas en este estudio más rápidamente que los suelos de AN y BPA. Esto puede atribuirse a que las situaciones más disturbadas seleccionan especies ruderales, de crecimiento más rápido, que los característicos de AN y BPA. Los suelos de BPA mostraron la misma tendencia que el AN, por lo que podríamos concluir que el manejo que reciben estos suelos se asemejan más a un AN que a PANS, en términos de la infectividad de las comunidades de HMA.

-Las plantas de *Glycine max* crecidas en suelo con inóculo micorrícico presentaron mayor biomasa (en peso seco), que las plantas crecidas sin el inóculo de micorrizas en AN y BPA. Las comunidades fúngicas provenientes del AN y de BPA causaron un efecto positivo sobre el crecimiento (mayor peso seco total) de las plantas

comparados con los controles (SM). En tanto que las provenientes de PANS no causaron diferencias entre las plantas crecidas CM y SM.

Una característica sobresaliente de este estudio es que las situaciones de uso de la tierra se replicaron regionalmente incluyendo diversos tipos de suelos, climas y secuencias de cultivos fueron tomados como bases para las réplicas. Los patrones de variación de las variables micorrícias analizadas mostraron ser sitio-dependientes lo que justificó la elección del diseño experimental.

Sin embargo, más allá de las respuestas dependientes del contexto, en términos generales los resultados sugieren que las prácticas que promueven la intensificación agrícola afectan negativamente las comunidades de HMA, en particular empobreciendo y homogeneizando las comunidades.

Por lo que resulta imprescindible:

- conservar los ambientes naturales considerados reservorios, por la alta densidad de esporas y riqueza de morfoespecies de HMA encontradas en los sitios estudiados;

- adoptar buenas prácticas agrícolas, con control integrado de plagas y malezas, y rotación de cultivos por su impacto positivo para proveer hábitats heterogéneos y variables en el espacio y tiempo. En esta Tesis pudimos comprobar que los suelos de BPA de los sitios estudiados, albergan comunidades de HMA con densidades de esporas y riqueza de morfoespecies, como así también con capacidad de colonizar las plantas de *vicia* y soja y de promover biomasa de las plantas de soja, similares a las comunidades de HMA presentes en AN, que con respecto a las PANS.

Los resultados obtenidos en esta Tesis no solo aportan nuevos conocimientos a la ecología particular de los HMA en agroecosistemas bajo siembra directa en Argentina, sino en general, junto con todos los resultados obtenidos en el proyecto BIOSPAS aportan conocimiento a nivel local en relación a la biología del suelo ya que el proyecto tuvo como objetivo identificar indicadores biológicos de calidad de suelo contribuyendo a fortalecer y mejorar los conocimientos de las ventajas de la siembra directa en Argentina.

CAPÍTULO VII

VII. Referencias

VII. Referencias

- Abbott, L., Robson, A., 1991. Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Agriculture, ecosystems & environment* 35, 121-150.
- Acevedo, E., Martínez, E., 2003. Sistema de Labranza y Productividad de los Suelos. In: E. Acevedo, ed. *Sustentabilidad en cultivos anuales: Cero Labranza, Manejo de Rastrojos*. Facultad de Ciencias Agronomicas, Universidad de Chile. Serie Ciencias Agronomicas N° 8, Santiago, Chile, pp: 13-27.
- Adelman, M.J., Morton, J.B., 1986. Infectivity of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi: influence of host-soil diluent combinations on MPN estimates and percentage colonization. *Soil Biology and Biochemistry* 18, 77-83.
- Aizen, M.A., Garibaldi, L.A., Dondo, M., 2009. Expansión de la soja y diversidad de la agricultura argentina. *Ecología austral* 19, 45-54.
- Altieri, M.A., 1999. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 74, 19-31.
- Alvarez, R., Russo, M.E., Prystupa, P., Scheiner, J.D., Blotta, L., 1998. Soil carbon pools under conventional and no-tillage systems in the Argentine Rolling Pampa. *Agronomy Journal* 90, 138-143.
- An, Z.Q., Hendrix, J.W., Hershman, D.E., Ferriss, R.S., Henson, G.T., 1993. The influence of crop rotation and soil fumigation on a mycorrhizal fungal community associated with soybean. *Mycorrhiza* 3, 171-182.
- Aon, M., Cabello, M., Sarena, D., Colaneri, A., Franco, M., Burgos, J., Cortassa, S., 2001. I. Spatio-temporal patterns of soil microbial and enzymatic activities in an agricultural soil. *Applied Soil Ecology* 18, 239-254.
- Azcón-Aguilar, C., Barea, J., 1997. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens—an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza* 6, 457-464.
- Azcon, R., Ocampo, J., 1981. Factors affecting the vesicular-arbuscular infection and mycorrhizal dependency of thirteen wheat cultivars. *New Phytologist* 87, 677-685.
- Baliddawa, C., 1985. Plant species diversity and crop pest control. An analytical review. *International Journal of Tropical Insect Science* 6, 479-487.
- Barrios, E., 2007. Soil biota, ecosystem services and land productivity. *Ecological Economics* 64, 269-285.
- Becerra, A.G., Cabello, M., Zak, M.R., Bartoloni, N., 2009. Arbuscular mycorrhizae of dominant plant species in Yungas forests, Argentina. *Mycologia* 101, 612-621.
- Bedini, S., Avio, L., Argese, E., Giovannetti, M., 2007. Effects of long-term land use on arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin-related soil protein. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 120, 463-466.

- Bethlenfalvay, G.J., 1992. Mycorrhizae and crop productivity. *Mycorrhizae in sustainable agriculture*, 1-27.
- Bever, J.D., Schultz, P.A., Pringle, A., Morton, J.B., 2001. Arbuscular Mycorrhizal Fungi: More Diverse than Meets the Eye, and the Ecological Tale of Why The high diversity of ecologically distinct species of arbuscular mycorrhizal fungi within a single community has broad implications for plant ecology. *Bioscience* 51, 923-931.
- Biermann, B., Linderman, R., 1983. Use of vesicular-arbuscular mycorrhizal roots, intraradical vesicles and extraradical vesicles as inoculum. *New Phytologist* 95, 97-105.
- Blanco-Canqui, H., Lal, R., 2008. No-tillage and soil-profile carbon sequestration: An on-farm assessment. *Soil Science Society of America Journal* 72, 693-701.
- Blaszkowski, J., 1993. Comparative studies of the occurrence of arbuscular fungi and mycorrhizae (Glomales) in cultivated and uncultivated soils of Poland. *Acta Mycologica* 28.
- Błaszowski, J., 2012. *Glomeromycota*. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences.
- Boddington, C., Dodd, J., 2000. The effect of agricultural practices on the development of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi. I. Field studies in an Indonesian ultisol. *Plant and soil* 218, 137-144.
- Bonfante-Fasolo, P., 1988. The role of the cell wall as a signal in mycorrhizal associations, *Cell to cell signals in plant, animal and microbial symbiosis*. Springer, pp. 219-235.
- Bouhot, D., 1980. Le potentiel infectieux des sols: un concept, un modèle pour sa mesure, quelques applications. Thèse de doctorat, Université de Nancy IN, Nancy, France.
- Brito-Vega, H., Espinosa-Victoria, D., Fragoso, C., Mendoza, D., Landero, N.D.I.C., Alderete-Chavez, A., 2009. Soil Organic Matter Particle and Presence of Earthworm Under Different Tillage Systems. *Journal of Biological Sciences* 9.
- Brito, I., Carvalho, M., van Tuinen, D., Goss, M.J., 2006. Effects of soil management on the arbuscular mycorrhizal fungi in fall-sown crops in Mediterranean climates. In: *Soil management for sustainability* (eds R. Horn, H. Fleige, S. Peth & X. Peng), pp. 149–156. Catena Verlag GMBH, Reiskirchen, Germany.
- Brundrett, M., Abbott, L., Jasper, D., 1999. Glomalean mycorrhizal fungi from tropical Australia. *Mycorrhiza* 8, 305-314.
- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T., Malajczuk, N., 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture.
- Bullock, D., 1992. Crop rotation. *Critical reviews in plant sciences* 11, 309-326.
- Burdon, J.J., Thrall, P.H., 2008. Pathogen evolution across the agro-ecological interface: implications for disease management. *Evolutionary Applications* 1, 57-65.

- Caassen, N., Barber, S., 1976. Simulation model for nutrient uptake from soil by a growing plant root system. *Agronomy Journal* 68, 961-964.
- Cabello, M.N., 1997. Hydrocarbon pollution: its effect on native arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). *FEMS Microbiology Ecology* 22, 233-236.
- Cabrera, A.L., 1976. Regiones fitogeográficas argentinas. Editorial Acme.
- Capitanelli, R.G., 1979. Clima, In: Vázquez, J.R., Miatello, A., E., R.M. (Eds.), *Geografía Física de la Provincia de Córdoba*. Boldt, Bs. As., Argentina, pp. 45–138.
- Carreño, L., Viglizzo, E., 2007. Provisión de servicios ecológicos y gestión de los ambientes rurales en Argentina. Area estratégica de gestión ambiental. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Buenos Aires, 68.
- Casas, R., 2001. La conservación de los suelos y la sustentabilidad de los sistemas agrícolas. *Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria*, tomo LV, 247 pp.
- Cavagnaro, T., Jackson, L., Six, J., Ferris, H., Goyal, S., Asami, D., Scow, K., 2006. Arbuscular mycorrhizas, microbial communities, nutrient availability, and soil aggregates in organic tomato production. *Plant and Soil* 282, 209-225.
- Clapp, J., Young, J., Merryweather, J., Fitter, A., 1995. Diversity of fungal symbionts in arbuscular mycorrhizas from a natural community. *New Phytologist* 130, 259-265.
- Clarkson, D.T., 1985. Factors affecting mineral nutrient acquisition by plants. *Annual Review of Plant Physiology* 36, 77-115.
- Cofré, N., Becerra, A., Nouhra, E., Soterias, F., 2012. Arbuscular mycorrhizae and dark-septate endophytes on *Atriplex cordobensis* in saline sites from Argentina. *J. Agric. Technol.*
- Copley, J., 2000. Ecology goes underground. *Nature* 406, 452-454.
- Covacevich, F., Echeverría, E.H., 2010. Indicadores para seleccionar inóculos de hongos micorrízicos arbusculares eficientes en suelos moderadamente ácidos. *CI. Suelo* 28(1), 9-22.
- Coyne, M., 1999. *Soil Microbiology: An exploratory approach*. Delmar Publishers. 462 pag.
- Cuenca, G., Andrade, Z.D., Lovera, M., Fajardo, L., Meneses, E., 2004. The effect of two arbuscular mycorrhizal inocula of contrasting richness and the same mycorrhizal potential on the growth and survival of wild plant species from La Gran Sabana, Venezuela. *Canadian journal of botany* 82, 582-589.
- Daniell, T., Husband, R., Fitter, A., Young, J., 2001. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising arable crops. *FEMS Microbiology Ecology* 36, 203-209.
- Davison, J., Öpik, M., Daniell, T.J., Moora, M., Zobel, M., 2011. Arbuscular mycorrhizal fungal communities in plant roots are not random assemblages. *FEMS Microbiology Ecology* 78:103–115.

- Davison, J., Öpik, M., Zobel, M., Vasar, M., Metsis, M., Moora, M., 2012. Communities of arbuscular mycorrhizal fungi detected in forest soil are spatially heterogeneous but do not vary throughout the growing season. *PloS one* 7, e41938.
- Derpsch, R., Friedrich, T., Kassam, A., Hongwen, L., 2010. Current status of adoption of no-till farming in the world and some of its main benefits. *International Journal of Agricultural & Biological Engineering* 3.
- Diamante, A., Izquierdo, J., 2004. Manejo y gestión de la biotecnología agrícola apropiada para pequeños productores: estudio de caso-Argentina. *Estudio de Caso REDBIO/FAO*.
- Díaz, G., Honrubia, M., 1995. Effect of native and introduced arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrient uptake of *Lygeum spartum* and *Anthyllis cytisoides*. *Biologia plantarum* 37, 121-129.
- Diosma, G., Golik, S., Chidichimo, H., Balatti, P., 2003. Nitrificación potencial, actividad deshidrogenásica y biomasa microbiana en un suelo argiudol cultivado con trigo bajo dos sistemas de labranza. *Spanish Journal of Agricultural Research= Revista de Investigación Agraria* 1, 111-119.
- Dirección de Hidráulica de Entre Ríos, <http://www.hidraulica.gob.ar/>.
- Distéfano de Vallone, S., Giorda, L.M., 1997. Enfermedades de la soja en la Argentina. INTA Centro Regional Córdoba, Argentina.
- Dobson, A.P., Bradshaw, A., Baker, A.á., 1997. Hopes for the future: restoration ecology and conservation biology. *Science* 277, 515-522.
- Douds, D.D.J., Janke, R.R., Peters, S.E., 1993. VAM fungus spore populations and colonization of roots of maize and soybean under conventional and low-input sustainable agriculture. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 43, 325-335.
- Douds, D.D.J., Millner, P.D., 1999. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 74, 77-93.
- Douds, D.J., Galvez, L., Janke, R., Wagoner, P., 1995. Effect of tillage and farming system upon populations and distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 52, 111-118.
- Druille, M., Cabello, M.N., Omacini, M., Golluscio, R.A., 2013a. Glyphosate reduces spore viability and root colonization of arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied Soil Ecology* 64, 99-103.
- Druille, M., Omacini, M., Golluscio, R.A., Cabello, M.N., 2013b. Arbuscular mycorrhizal fungi are directly and indirectly affected by glyphosate application. *Applied Soil Ecology* 72, 143-149.
- Egerton-Warburton, L.M., Allen, E.B., 2000. Shifts in arbuscular mycorrhizal communities along an anthropogenic nitrogen deposition gradient. *Ecological Applications* 10, 484-496.

- Ellies, A., 2000. Soil erosion and its control in Chile-An overview. *Acta geologica hispanica* 35, 279-284.
- Ettema, C.H., Wardle, D.A., 2002. Spatial soil ecology. *Trends in ecology & evolution* 17, 177-183.
- Evans, D., Miller, M., 1990. The role of the external mycelial network in the effect of soil disturbance upon vesicular—arbuscular mycorrhizal colonization of maize. *New Phytologist* 114, 65-71.
- Faggioli, V.S., Cabello, M.N., 2013. Diversidad de hongos formadores de micorrizas en un gradiente ambiental y de uso de suelo de la provincia de Córdoba Estación Experimental Agropecuaria Marcos Juárez, INTA, 1-6.
- Finckh, M.R., Wolfe, M.S., 2006. Diversification strategies, *The epidemiology of plant diseases*. Springer, pp. 269-307.
- Finney, D.J., 1971. *Probit Analysis* Cambridge University Press, Boston, MA.
- Franke-Snyder, M., Douds Jr, D.D., Galvez, L., Phillips, J.G., Wagoner, P., Drinkwater, L., Morton, J.B., 2001. Diversity of communities of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi present in conventional versus low-input agricultural sites in eastern Pennsylvania, USA. *Applied Soil Ecology* 16, 35-48.
- Friese, C.F., Allen, M.F., 1991. The spread of VA mycorrhizal fungal hyphae in the soil: inoculum types and external hyphal architecture. *Mycologia*, 409-418.
- Galantini, J., Suñer, L., 2008. Las fracciones orgánicas del suelo: análisis en los suelos de la Argentina. *Agriscientia* 25, 41-55.
- Gange, A.C., Ayres, R.L., 1999. On the relation between arbuscular mycorrhizal colonization and plant 'benefit'. *Oikos*, 615-621.
- Gavito, M.E., Miller, M.H., 1998. Early phosphorus nutrition, mycorrhizae development, dry matter partitioning and yield of maize. *Plant and soil* 199, 177-186.
- Gemma, J., Koske, R., Carreiro, M., 1989. Seasonal dynamics of selected species of VA mycorrhizal fungi in a sand dune. *Mycological Research* 92, 317-321.
- Gerdemann, J.W., Nicolson, T.H., 1963. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society* 46, 235-244.
- Gianinazzi, S., Trouvelot, A., Gianinazzi-Pearson, V., 1990. Conceptual approaches for the rational use of VA endomycorrhizae in agriculture: possibilities and limitations. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 29, 153-161.
- Gilbert, N., 2009. Environment: The disappearing nutrient. *Nature* 461, 716.
- Giorda, L., 1997. La soja en Argentina. *El cultivo de la soja en Argentina*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Centro Regional Córdoba, Coordinación subprograma Soja, Argentina, 13-26.

- Giovannetti, M., 1985. Seasonal variations of vesicular-arbuscular mycorrhizas and endogonaceous spores in a maritime sand dune. *Transactions of the British Mycological Society* 84, 679-684.
- Giovannetti, M., Mosse, B., 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* 84, 489-500.
- Giovannetti, M., Sbrana, C., Avio, L., Strani, P., 2004. Patterns of below-ground plant interconnections established by means of arbuscular mycorrhizal networks. *New Phytologist* 164, 175-181.
- Gollotte, A., van Tuinen, D., Atkinson, D., 2004. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising roots of the grass species *Agrostis capillaris* and *Lolium perenne* in a field experiment. *Mycorrhiza* 14, 111-117.
- González-Cortés, J.C., Vega-Fraga, M., Varela-Fregoso, L., Martínez-Trujillo, M., Carreón-Abud, Y., Gavito, M.E., 2012. Arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) communities and land use change: the conversion of temperate forests to avocado plantations and maize fields in central Mexico. *Fungal Ecology* 5, 16-23.
- Gosling, P., Hodge, A., Goodlass, G., Bending, G., 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 113, 17-35.
- Grace, C., Stribley, D.P., 1991. A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycological Research* 95, 1160-1162.
- Grilli, G., Urcelay, C., Galetto, L., 2012. Forest fragment size and nutrient availability: complex responses of mycorrhizal fungi in native–exotic hosts. *Plant Ecology* 213, 155-165.
- Grilli, G., Urcelay, C., Galetto, L., 2013. Linking mycorrhizal fungi and soil nutrients to vegetative and reproductive ruderal plant development in a fragmented forest at central Argentina. *Forest Ecology and Management* 310, 442-449.
- Guadarrama, P., Álvarez-Sánchez, F.J., 1999. Abundance of arbuscular mycorrhizal fungi spores in different environments in a tropical rain forest, Veracruz, Mexico. *Mycorrhiza* 8, 267-270.
- Gupta, V., Roper, M., Kirkegaard, J., Angus, J., 1994. Changes in microbial biomass and organic matter levels during the first year of modified tillage and stubble management practices on a red earth. *Soil Research* 32, 1339-1354.
- Gutiérrez Boem, F.H., Alvarez, C.R., Cabello, M.J., Fernández, P.L., Bono, A., Prystupa, P., Taboada, M.A., 2008. Phosphorus retention on soil surface of tilled and no-tilled soils. *Soil Science Society of America Journal* 72, 1158-1162.
- Haines, P., Uren, N., 1990. Effects of conservation tillage farming on soil microbial biomass, organic matter and earthworm populations, in north-eastern Victoria. *Animal Production Science* 30, 365-371.

- Hamel, C., 1996. Prospects and problems pertaining to the management of arbuscular mycorrhizae in agriculture. *Agriculture, ecosystems & environment* 60, 197-210.
- Hao, L., Zhang, J., Christie, P., Li, X., 2008. Response of two maize inbred lines with contrasting phosphorus efficiency and root morphology to mycorrhizal colonization at different soil phosphorus supply levels. *Journal of Plant Nutrition* 31, 1059-1073.
- Hayman, D., 1970. *Endogone* spore numbers in soil and vesicular-arbuscular mycorrhiza in wheat as influenced by season and soil treatment. *Transactions of the British Mycological Society* 54, 53-IN12.
- Heckman, D.S., Geiser, D.M., Eidell, B.R., Stauffer, R.L., Kardos, N.L., Hedges, S.B., 2001. Molecular evidence for the early colonization of land by fungi and plants. *Science* 293, 1129-1133.
- Hedlund, K., Santa Regina, I., Van der Putten, W., Lepš, J., Diaz, T., Korthals, G., Lavorel, S., Brown, V., Gormsen, D., Mortimer, S., 2003. Plant species diversity, plant biomass and responses of the soil community on abandoned land across Europe: idiosyncrasy or above-belowground time lags. *Oikos* 103, 45-58.
- Helgason, T., Daniell, T.J., Husband, R., Fitter, A., Young, P., 1998. Ploughing up the wood-wide web? *Nature* 394, 431.
- Helgason, T., Fitter, A., 2005. The ecology and evolution of the arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycologist* 19, 96-101.
- Helgason, T., Merryweather, J.W., Denison, J., Wilson, P., Young, J.P.W., Fitter, A.H., 2002. Selectivity and functional diversity in arbuscular mycorrhizas of co-occurring fungi and plants from a temperate deciduous woodland. *J Ecol* 90: 371-384.
- Herrera-Peraza, R., Ferrer, R., Orozco, M., Hernández, G., Vancura, V., 1984. Fertilización y micorrizas VA. II. Análisis del balance de macroelementos en varios experimentos. *Acta Bot. Cubana* 20, 111-142.
- Hetrick, B., Wilson, G., Cox, T., 1992. Mycorrhizal dependence of modern wheat varieties, landraces, and ancestors. *Canadian Journal of Botany* 70, 2032-2040.
- Hetrick, B.A.D., Bloom, J., 1986. The influence of host plant on production and colonization ability of vesicular-arbuscular mycorrhizal spores. *Mycologia*, 32-36.
- Hijri, I., SÝKorovÁ, Z., Oehl, F., Ineichen, K., MÄDer, P., Wiemken, A., Redecker, D., 2006. Communities of arbuscular mycorrhizal fungi in arable soils are not necessarily low in diversity. *Molecular Ecology* 15, 2277-2289.
- Hillebrand, H., Bennett, D.M., Cadotte, M.W., 2008. Consequences of dominance: a review of evenness effects on local and regional ecosystem processes. *Ecology* 89, 1510-1520.
- Hole, D., Perkins, A., Wilson, J., Alexander, I., Grice, P., Evans, A.D., 2005. Does organic farming benefit biodiversity? *Biological conservation* 122, 113-130.

- Houghton, R., 2001. Counting terrestrial sources and sinks of carbon. *Climatic Change* 48, 525-534.
- Imaz, P.A., Barbieri, P.A., Echeverría H.E., Sainz Rozas, H.R., Covacevich, F., 2014. Indigenous mycorrhizal fungi from Argentina increase Zn nutrition of maize modulated by Zn fertilization. *Soil. Environm.* 33(1), 23-32.
- INTA-UNDP, 1990. Atlas de Suelos de la República Argentina. Buenos Aires.
- Irrazabal, G.B., Cabello, M.N., Velázquez, M.S., Schalamuk, S., Arturi, M., 2004. Análisis de la biodiversidad de hongos formadores de micorrizas arbusculares en suelos de los talares de Magdalena (Buenos Aires, Argentina). *Actas de XIX Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Paraná, Entre Ríos.* pp. 131.
- Jackson, M., 1964. Determinaciones de materia orgánica en los suelos. *Análisis químico de suelos.* Omega (Ed), Barcelona, Spain, 282-310.
- Jakobsen, I., Leggett, M.E., Richardson, A.E., Sims, J., Sharpley, A., 2005. Rhizosphere microorganisms and plant phosphorus uptake. *Phosphorus: agriculture and the environment*, 437-494.
- Janos, D.P., 2007. Plant responsiveness to mycorrhizas differs from dependence upon mycorrhizas. *Mycorrhiza* 17, 75-91.
- Jansa, J., Mozafar, A., Anken, T., Ruh, R., Sanders, I., Frossard, E., 2002. Diversity and structure of AMF communities as affected by tillage in a temperate soil. *Mycorrhiza* 12, 225-234.
- Jansa, J., Mozafar, A., Kuhn, G., Anken, T., Ruh, R., Sanders, I., Frossard, E., 2003. Soil tillage affects the community structure of mycorrhizal fungi in maize roots. *Ecological Applications* 13, 1164-1176.
- Jansa, J., Oberholzer, H.-R., Egli, S., 2009. Environmental determinants of the arbuscular mycorrhizal fungal infectivity of Swiss agricultural soils. *European Journal of Soil Biology* 45, 400-408.
- Jansa, J., Wiemken, A., Frossard, E., 2006. The effects of agricultural practices on arbuscular mycorrhizal fungi. *Geological Society, London, Special Publications* 266, 89-115.
- Jasper, D., Abbott, L., Robson, A., 1989. Soil disturbance reduces the infectivity of external hyphae of vesicular—arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 112, 93-99.
- Jasper, D., Abbott, L., Robson, A., 1991. The effect of soil disturbance on vesicular—arbuscular mycorrhizal fungi in soils from different vegetation types. *New Phytologist* 118, 471-476.
- Jeffries, P., Barea, J., 2001. Arbuscular mycorrhiza—a key component of sustainable plant-soil ecosystems, *Fungal Associations.* Springer, pp. 95-113.

- Jeffries, P., Gianinazzi, S., Perotto, S., Turnau, K., Barea, J.-M., 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biol Fertil Soils* 37, 1-16.
- Johnson, N., Graham, J., Smith, F., 1997. Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism–parasitism continuum. *New phytologist* 135, 575-585.
- Johnson, N.C., Copeland, P.J., Crookston, R.K., Pflieger, F., 1992. Mycorrhizae: possible explanation for yield decline with continuous corn and soybean. *Agronomy Journal* 84, 387-390.
- Johnson, N.C., Graham, J.H., 2013. The continuum concept remains a useful framework for studying mycorrhizal functioning. *Plant and soil* 363, 411-419.
- Johnson, N.C., Wilson, G.W., Bowker, M.A., Wilson, J.A., Miller, R.M., 2010. Resource limitation is a driver of local adaptation in mycorrhizal symbioses. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107, 2093-2098.
- Jones, M.D., Smith, S.E., 2004. Exploring functional definitions of mycorrhizas: Are mycorrhizas always mutualisms? *Canadian Journal of Botany* 82, 1089-1109.
- Juniper, S., Abbott, L., 1993. Vesicular-arbuscular mycorrhizas and soil salinity. *Mycorrhiza* 4, 45-57.
- Kabir, Z., 2005. Tillage or no-tillage: impact on mycorrhizae. *Canadian Journal of Plant Science* 85, 23-29.
- Kabir, Z., Koide, R., 2000. The effect of dandelion or a cover crop on mycorrhiza inoculum potential, soil aggregation and yield of maize. *Agriculture, ecosystems & environment* 78, 167-174.
- Kabir, Z., O'Halloran, I., Hamel, C., 1997. Overwinter survival of arbuscular mycorrhizal hyphae is favored by attachment to roots but diminished by disturbance. *Mycorrhiza* 7, 197-200.
- Kabir, Z., O'Halloran, I., Widden, P., Hamel, C., 1998. Vertical distribution of arbuscular mycorrhizal fungi under corn (*Zea mays* L.) in no-till and conventional tillage systems. *Mycorrhiza* 8, 53-55.
- Karasawa, T., Kasahara, Y., Takebe, M., 2002. Differences in growth responses of maize to preceding cropping caused by fluctuation in the population of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry* 34, 851-857.
- Klironomos, J.N., Hart, M.M., 2002. Colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi using different sources of inoculum. *Mycorrhiza* 12, 181-184.
- Koide, R.T., Li, M., 1989. Appropriate controls for vesicular–arbuscular mycorrhiza research. *New Phytologist* 111, 35-44.

- Kurle, J.E., Pflieger, F., 1994. The effects of cultural practices and pesticides on VAM fungi, In: Pflieger, F.L., Linderman, R.G. (Eds.), *Mycorrhizae and Plant Health*. APS Press, St. Paul, Minnesota, pp. 101-132.
- Larsen, J., Ravnskov, S., Sorensen, J., 2007. Capturing the benefits of arbuscular mycorrhiza in horticulture. In *Mycorrhizae and Crop Production*. Eds C Hamel and C Plenchette pp. 123–150. The Haworth Press, Inc., Binghamton, New York, USA.
- Lehmann, A., Barto, E.K., Powell, J.R., Rillig, M.C., 2012. Mycorrhizal responsiveness trends in annual crop plants and their wild relatives—a meta-analysis on studies from 1981 to 2010. *Plant and soil* 355, 231-250.
- Lekberg, Y., Koide, R.T., Twomlow, S.J., 2008. Effect of agricultural management practices on arbuscular mycorrhizal fungal abundance in low-input cropping systems of southern Africa: a case study from Zimbabwe. *Biology and Fertility of Soils* 44, 917-923.
- Li, H., Smith, F.A., Dickson, S., Holloway, R.E., Smith, S.E., 2008. Plant growth depressions in arbuscular mycorrhizal symbioses: not just caused by carbon drain? *New Phytologist* 178, 852-862.
- Longo, S., Nouhra, E., Goto, B.T., Berbara, R.L., Urcelay, C., 2014. Effects of fire on arbuscular mycorrhizal fungi in the Mountain Chaco Forest. *Forest Ecology and Management* 315, 86-94.
- Lugo, M.A., Cabello, M.N., 2002. Native arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from mountain grassland (Córdoba, Argentina) I. Seasonal variation of fungal spore diversity. *Mycologia* 94, 579-586.
- Lugo, M.A., Maza, M.E.G., Cabello, M.N., 2003. Arbuscular mycorrhizal fungi in a mountain grassland II: Seasonal variation of colonization studied, along with its relation to grazing and metabolic host type. *Mycologia* 95, 407-415.
- Magurran, A.E., McGill, B.J., 2011. *Biological diversity: frontiers in measurement and assessment*. Oxford University Press Oxford.
- Maherali, H., Klironomos, J.N., 2007. Influence of phylogeny on fungal community assembly and ecosystem functioning. *science* 316, 1746-1748.
- Mandyam, K., Jumpponen, A., 2008. Seasonal and temporal dynamics of arbuscular mycorrhizal and dark septate endophytic fungi in a tallgrass prairie ecosystem are minimally affected by nitrogen enrichment. *Mycorrhiza* 18, 145-155.
- Marelli, H.J., 1997. La siembra directa como práctica conservacionista. Seminario Siembra Directa. 1997 10 08-09, 8 y 9 de octubre, 1997. Buenos Aires. AR.
- Martínez-Ghersa, M.A., Ghersa, C.M., 2005. Consecuencias de los recientes cambios agrícolas. En: *La Transformación de la Agricultura Argentina* (M. Oosterheld, editor). *Ciencia Hoy*, 15: 37-45.

- Martins, M., Read, D.J., 1997. Efeitos da distribuição do micélio externo de fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento vegetal. *Pesq. Agropec. Bras.* 32, 1183-1189.
- McGonigle, T., Fitter, A., 1990. Ecological specificity of vesicular-arbuscular mycorrhizal associations. *Mycological Research* 94, 120-122.
- McGonigle, T., Miller, M., Evans, D., Fairchild, G., Swan, J., 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular—arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 115, 495-501.
- McGonigle, T.P., Miller, M.H., 1996. Mycorrhizae, phosphorus absorption, and yield of maize in response to tillage. *Soil Science Society of America Journal* 60, 1856-1861.
- McGonigle, T.P., Miller, M.H., 2000. The inconsistent effect of soil disturbance on colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi: a test of the inoculum density hypothesis. *Applied Soil Ecology* 14, 147-155.
- Meddad-Hamza, A., Beddiar, A., Gollotte, A., Lemoine, M., Kuszala, C., Gianinazzi, S., 2010. Arbuscular mycorrhizal fungi improve the growth of olive trees and their resistance to transplantation stress. *African Journal of Biotechnology* 9.
- Menéndez, A.B., Scervino, J.M., Godeas, A.M., 2001. Arbuscular mycorrhizal populations associated with natural and cultivated vegetation on a site of Buenos Aires province, Argentina. *Biology and Fertility of Soils* 33, 373-381.
- Miller, M.H., 2000. Arbuscular mycorrhizae and the phosphorus nutrition of maize: a review of Guelph studies. *Canadian Journal of Plant Science* 80, 47-52.
- Miller, R.M., Jastrow, J.D., 2002. Mycorrhizal influence on soil structure. In: Kapulnik, Y., Douds, D.D. (Eds.), *Arbuscular Mycorrhizae: Molecular Biology and Physiology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 3e18.
- Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca, <http://www.minagri.gob.ar/site/index.php>.
- Miranda, J., Vilela, L., de Miranda, L., 2005. Dynamics and contribution of arbuscular mycorrhiza in culture systems with crop rotation. *Pesqui Agropecu Bras* 40:1005–1014.
- Morton, J., 1988. Taxonomy of VA mycorrhizal fungi: classification, nomenclature, and identification. *Mycotaxon* 32, 267-324.
- Morton, J., Bentivenga, S., Wheeler, W., 1993. Germ plasm in the International Collection of Arbuscular and Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM) and procedures for culture development, documentation and storage. *Mycotaxon* 48, 491-528.
- Morton, J.B., 2000. Evolution of endophytism in arbuscular mycorrhizal fungi of Glomales. *Microbial endophytes*. Marcel Dekker Balckwell, Inc. Nueva York, 121-140.
- Morton, J.B., Bever, J.D., Pflieger, F.L., 1996. Taxonomy of *Acaulospora gerdemannii* and *Glomus leptotichum*, synanamorphs of an arbuscular mycorrhizal fungus in Glomales. *Mycol. Res.* 101, 625-631.

- Mozafar, A., Anken, T., Ruh, R., Frossard, E., 2000. Tillage intensity, mycorrhizal and nonmycorrhizal fungi, and nutrient concentrations in maize, wheat, and canola. *Agronomy Journal* 92, 1117-1124.
- Oehl, F., Laczko, E., Bogenrieder, A., Stahr, K., Bösch, R., van der Heijden, M., Sieverding, E., 2010. Soil type and land use intensity determine the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 724-738.
- Oehl, F., Sieverding, E., Ineichen, K., Mäder, P., Boller, T., Wiemken, A., 2003. Impact of land use intensity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of Central Europe. *Applied and environmental microbiology* 69, 2816-2824.
- Oehl, F., Sieverding, E., Ineichen, K., Ris, E.A., Boller, T., Wiemken, A., 2005. Community structure of arbuscular mycorrhizal fungi at different soil depths in extensively and intensively managed agroecosystems. *New Phytologist* 165, 273-283.
- Olsson, P., Thingstrup, I., Jakobsen, I., Bååth, E., 1999. Estimation of the biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in a linseed field. *Soil Biology and Biochemistry* 31, 1879-1887.
- Omar, M., Bolland, L., Heather, W., 1979. A permanent mounting medium for fungi. *Bulletin of the British Mycological Society* 13, 31-32.
- Õpik, M., 2004. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the roots of perennial plants and their effect on plant performance [Disertación Doctoral]. Tartu, Finland: Univ Tartu Press. 68 p.
- Õpik, M., Metsis, M., Daniell, T., Zobel, M., Moora, M., 2009. Large scale parallel 454 sequencing reveals host ecological group specificity of arbuscular mycorrhizal fungi in a boreonemoral forest. *New Phytologist* 184, 424-437.
- Packer, I., Hamilton, G., Koen, T., 1992. Runoff, soil loss and soil physical property changes of light textured surface soils from long term tillage treatments. *Soil Research* 30, 789-806.
- Pereira, M.H., 2002. The second green revolution. In: Saturnino, H.M., Landers, J.N. (Eds.), *The Environment and Zero Tillage*. Associação de Plantio Direto no Cerrado, Brasília, DF, Brazil, pp. 27 – 30.
- Pérez-Harguindeguy, N., Díaz, S., Garnier, E., Lavorel, S., Poorter, H., Jaureguiberry, P., al., e., 2013. New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany*, 61, 167–234.
- Pérez, M., Urcelay, C., 2009. Differential growth response to arbuscular mycorrhizal fungi and plant density in two wild plants belonging to contrasting functional types. *Mycorrhiza* 19, 517-523.
- Pianka, E.R., 1970. On r-and K-selection. *American naturalist*, 592-597.
- Plan Mapa de Suelos, C.I.G.d.E.R., Carta de Suelos de la República Argentina. Departamentos Paraná (1998), Victoria (1995) y Diamante (1991), Provincia de Entre Ríos. Acuerdo Complementario del Convenio INTA - Gobierno de Entre Ríos, EEA Paraná. .

- Plenchette, C., Fortin, J., Furlan, V., 1983. Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. *Plant and Soil* 70, 199-209.
- Plenchette, C., Perrin, R., Duvert, P., 1989. The concept of soil infectivity and a method for its determination as applied to endomycorrhizas. *Canadian Journal of Botany* 67, 112-115.
- Porrás-Soriano, A., Soriano-Martín, M.L., Porrás-Piedra, A., Azcón, R., 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi increased growth, nutrient uptake and tolerance to salinity in olive trees under nursery conditions. *Journal of Plant Physiology* 166, 1350-1359.
- Powell, C.L., Bagyaraj, D.J., 1984. *VA Mycorrhiza*. CRC Press, Inc, Boca Raton, FL.
- Powlson, D., Prookes, P., Christensen, B.T., 1987. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. *Soil biology and biochemistry* 19, 159-164.
- Prosser, J.I., 2002. Molecular and functional diversity in soil micro-organisms. *Plant and Soil* 244, 9-17.
- Proyecto SIBER BCER, 2008. <http://www.bolsacer.org.ar/Fuentes/siber.php>.
- Redecker, D., Kodner, R., Graham, L.E., 2000. Glomalean fungi from the Ordovician. *Science* 289, 1920-1921.
- Redecker, D., Schüßler, A., Stockinger, H., Stürmer, S.L., Morton, J.B., Walker, C., 2013. An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycorrhiza* 23, 515-531.
- Remy, W., Taylor, T.N., Hass, H., Kerp, H., 1994. Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91, 11841-11843.
- RIAN Regional Córdoba, 2006. <http://anterior.inta.gov.ar/mjuarez/info/riap.htm>.
- RIAP Entre Ríos, 2006. <http://inta.gob.ar/documentos/caracterizacion-de-zonas-y-subzonas-riap-entre-rios-1/>.
- Rillig, M.C., 2004. Arbuscular mycorrhizae and terrestrial ecosystem processes. *Ecology Letters* 7, 740-754.
- Rillig, M.C., Wright, S.F., Nichols, K.A., Schmidt, W.F., Torn, M.S., 2001. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. *Plant and soil* 233, 167-177.
- Rinaudo, V., Bàrberi, P., Giovannetti, M., van der Heijden, M.G., 2010. Mycorrhizal fungi suppress aggressive agricultural weeds. *Plant and soil* 333, 7-20.
- Robinson-Boyer, L., Grzyb, I., Jeffries, P., 2009. Shifting the balance from qualitative to quantitative analysis of arbuscular mycorrhizal communities in field soils. *Fungal Ecology* 2, 1-9.
- Rosendahl, S., 2008. Communities, populations and individuals of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 178, 253-266.

- Rovira, A., Bowen, G., 1966. The effects of micro-organisms upon plant growth. *Plant and Soil* 25, 129-142.
- Ruotsalainen, A.L., Markkola, A., Kozlov, M.V., 2007. Root fungal colonisation in *Deschampsia flexuosa*: Effects of pollution and neighbouring trees. *Environmental pollution* 147, 723-728.
- Ryan, M.H., Graham, J.H., 2002. Is there a role for arbuscular mycorrhizal fungi in production agriculture? *Plant and soil* 244, 263-271.
- SAGyP-INTA, 1989. Mapa de Suelos - SAGyP-INTA Proyecto PNUD ARG/85/019.
- Sala, O.E., Chapin, F.S., Armesto, J.J., Berlow, E., Bloomfield, J., Dirzo, R., Huber-Sanwald, E., Huenneke, L.F., Jackson, R.B., Kinzig, A., 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100. *science* 287, 1770-1774.
- Satorre, E., 2005. Cambios tecnológicos en la agricultura argentina actual. *Ciencia Hoy* 15, 24-31.
- Schachtman, D.P., Reid, R.J., Ayling, S.M., 1998. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. *Plant Physiology* 116, 447-453.
- Schalamuk, S., 2005. Dynamics and biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF): effect of tillage systems and fertilization in extensive crops [Disertación doctoral]. La Plata, Argentina: Univer Nac La Plata Press. 190 p.
- Schalamuk, S., Cabello, M., 2010. Arbuscular mycorrhizal fungal propagules from tillage and no-tillage systems: possible effects on Glomeromycota diversity. *Mycologia* 102, 261-268.
- Schalamuk, S., Velazquez, S., Chidichimo, H., Cabello, M., 2003. Efecto de diferentes sistemas de labranza fertilización sobre la simbiosis micorrizica arbuscular en cultivo de trigo. *Boletín micológico* 18, 15-19.
- Schalamuk, S., Velazquez, S., Chidichimo, H., Cabello, M., 2004. Effect of no-till and conventional tillage on mycorrhizal colonization in spring wheat. *Bol Soc Argent Bot* 39, 13-20.
- Schalamuk, S., Velazquez, S., Chidichimo, H., Cabello, M., 2006. Fungal spore diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with spring wheat: effects of tillage. *Mycologia* 98, 16-22.
- Schenck, N., Perez, Y., 1990. Manual for identification of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi.(INVAM). University of Florida, Gainesville, Florida, USA.
- Schüßler, A., Walker, C., 2010. The Glomeromycota: a species list with new families and new genera, Gloucester, in libraries at The Royal Botanic Garden Edinburgh, The Royal Botanic Garden Kew, Botanische Staatssammlung Munich and Oregon State University.
- Schüßler, A., Schwarzott, D., Walker, C., 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research* 105, 1413-1421.

- Schweiger, P., Jakobsen, I., 1999. The role of mycorrhizas in plant P nutrition: fungal uptake kinetics and genotype variation, *Plant nutrition—molecular biology and genetics*. Springer, pp. 277-289.
- Sene, G., Thiao, M., Manga, A., Kane, A., Samba-Mbaye, R., Mbaye, M.S., Khasa, D., Sylla, S.N., 2012. Arbuscular mycorrhizal soil infectivity and spores distribution across plantations of tropical, subtropical and exotic tree species: a case study from the forest reserve of Bandia, Senegal. *African Journal of Ecology* 50, 218-232.
- Sieverding, E., 1990. Ecology of VAM fungi in tropical agrosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 29, 369-390.
- Sieverding, E., 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. *Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit, GTZ No 224*. Eschborn.
- Smernik, R.J., Dougherty, W.J., 2007. Identification of phytate in phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectra: The need for spiking. *Soil Science Society of America Journal* 71, 1045-1050.
- Smith, F.A., Smith, S.E., 2011. What is the significance of the arbuscular mycorrhizal colonisation of many economically important crop plants? *Plant and Soil* 348, 63-79.
- Smith, S.E., Read, D.J., 2008. *Mycorrhizal symbiosis*, 2nd ed. Academic press Ltd, London.
- Soteras, F., Becerra, A., Cofré, N., Bartoloni, J., Cabello, M., 2012. Arbuscular mycorrhizal fungal species in saline environments of Central Argentina: seasonal variation and distribution of spores at different soil depths. *Sydowia* 64, 301-311.
- Soteras, F., Cofré, N., Bartoloni, J., Cabello, M., Becerra, A., 2013. Hongos arbusculares (Glomeromycota) en la rizosfera de *Atriplex lampa* en dos ambientes salinos de Córdoba: influencia de la profundidad en la colonización radical y presencia de morfoespecies. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 48, 0-0.
- Stürmer, S.L., Siqueira, J.O., 2011. Species richness and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi across distinct land uses in Western Brazilian Amazon. *Mycorrhiza* 21, 255-267.
- Suñer, L., Galantini, J., Rosell, R., 2005. Cambios del fósforo en suelos bajo diferentes rotaciones de cultivos. *INPOFOS Informaciones Agronómicas*, 5-8.
- Sylvia, D.M., 1990. Distribution, structure, and function of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi J.E. Box, L.H. Hammond (Eds.), *Rhizosphere Dynamics*, Westview Press, Boulder, CO (1990), pp. 144-167.
- Tiedje, J., Cho, J., Murray, A., Treves, D., Xia, B., Zhou, J., Rees, R., Ball, B., Campbell, C., Watson, C., 2001. Soil teeming with life: new frontiers for soil science. *Sustainable management of soil organic matter*, 393-425.

- Timm, J., 2004. Variabilidad climática y cambios en el uso de la tierra en la Región Pampeana Argentina. Tesis de Graduación, Universidad Nacional de La Pampa, Argentina. Santa Rosa (LP).
- Tommerup, I., 1984. Effect of soil water potential on spore germination by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Transactions of the British Mycological Society* 83, 193-202.
- Toth, R., Doane, C., Bennett, E., Alexander, T., 1990. Correlation between host-fungal surface areas and percent colonization in VA mycorrhizae. *Mycologia (USA)*.
- Treseder, K.K., 2004. A meta-analysis of mycorrhizal responses to nitrogen, phosphorus, and atmospheric CO₂ in field studies. *New Phytologist* 164, 347-355.
- Trigo, E.J., 2005. Reflexiones sobre las oportunidades que ofrece la biotecnología agropecuaria a los países de América Latina y el Caribe y las opciones de políticas a impulsar para su desarrollo. Documento elaborado para el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) en el marco del servicio WEB Coyuntura Agropecuaria 2004. http://www.iica.org.uy/online/coyuntura_10doc.asp.
- Troeh, Z.I., Loynachan, T.E., 2003. Endomycorrhizal fungal survival in continuous corn, soybean, and fallow. *Agronomy Journal* 95, 224-230.
- Tscharntke, T., Klein, A.M., Kruess, A., Steffan-Dewenter, I., Thies, C., 2005. Landscape perspectives on agricultural intensification and biodiversity–ecosystem service management. *Ecology letters* 8, 857-874.
- Urcelay, C., Acho, J., Joffre, R., 2011. Fungal root symbionts and their relationship with fine root proportion in native plants from the Bolivian Andean highlands above 3,700 m elevation. *Mycorrhiza* 21, 323-330.
- Urcelay, C., Díaz, S., Gurvich, D.E., Chapin III, F.S., Cuevas, E., Domínguez, L.S., 2009. Mycorrhizal community resilience in response to experimental plant functional type removals in a woody ecosystem. *Journal of ecology* 97, 1291-1301.
- USDA, 1999. Soil Taxonomy. A Basic System of Soil Classification for Making and Interpreting Soil Surveys (2nd Ed). United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service, Agriculture Handbook, Number 436.
- van der Heijden, M.G., Klironomos, J.N., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., Wiemken, A., Sanders, I.R., 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396, 69-72.
- van der Heijden, M.G.A., Bardgett, R.D., van Straalen, N.M., 2008. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters* 11, 296-310.
- Vandenkoornhuyse, P., Husband, R., Daniell, T., Watson, I., Duck, J., Fitter, A., Young, J., 2002. Arbuscular mycorrhizal community composition associated with two plant species in a grassland ecosystem. *Molecular Ecology* 11, 1555-1564.

- Vandenkoornhuysen, P., Ridgway, K., Watson, I., Fitter, A., Young, J., 2003. Co-existing grass species have distinctive arbuscular mycorrhizal communities. *Molecular Ecology* 12, 3085-3095.
- Veiga, R.S., Jansa, J., Frossard, E., van der Heijden, M.G., 2011. Can arbuscular mycorrhizal fungi reduce the growth of agricultural weeds? *PloS one* 6, e27825.
- Verbruggen, E., Kiers, E.T., 2010. Evolutionary ecology of mycorrhizal functional diversity in agricultural systems. *Evolutionary Applications* 3, 547-560.
- Veresoglou, S.D., Shaw, L.J., Sen, R., 2011. *Glomus intraradices* and *Gigaspora margarita* arbuscular mycorrhizal associations differentially affect nitrogen and potassium nutrition of *Plantago lanceolata* in a low fertility dune soil. *Plant and soil* 340, 481-490.
- Vestberg, M., Saari, K., Kukkonen, S., Hurme, T., 2005. Mycotrophy of crops in rotation and soil amendment with peat influence the abundance and effectiveness of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi in field soil. *Mycorrhiza* 15, 447-458.
- Viglizzo, E., Jobbágy, E.G., 2010. Expansión de la frontera agropecuaria en Argentina y su impacto ecológico-ambiental. Ediciones INTA Buenos Aires.
- Viglizzo, E., Lértora, F., Pordomingo, A., Bernardos, J., Roberto, Z., Del Valle, H., 2001. Ecological lessons and applications from one century of low external-input farming in the pampas of Argentina. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 83, 65-81.
- Viglizzo, E.F., 2007. El Sector Rural Argentino frente al Cambio Climático Global: Amenazas, Oportunidades y Estrategias. Área Estratégica de Gestión Ambiental, INTA, abril de 2007, 15 pp.
- Viglizzo, E.F., Frank, F.C., Carreno, L.V., Jobbágy, E.G., Pereyra, H., Clatt, J., Pincen, D., RICARD, M.F., 2011. Ecological and environmental footprint of 50 years of agricultural expansion in Argentina. *Global Change Biology* 17, 959-973.
- Vyas, S., Vyas, S., 2000. Effect of agrochemicals on mycorrhizae, *Mycorrhizal Biology*. Springer, pp. 289-327.
- Walker, C., Mize, C.W., McNabb Jr, H.S., 1982. Populations of endogonaceous fungi at two locations in central Iowa. *Canadian Journal of Botany* 60, 2518-2529.
- Wall, L.G., 2011. The BIOSPAS consortium: Soil Biology and Agricultural Production, in: de Bruijn, F. (Ed), *Handbook of Molecular Microbial Ecology I: Metagenomics and Complementary Approaches*. John Wiley & Sons, Inc. pp. 299-306.
- Wang, Y.Y., Vestberg, M., Walker, C., Hurme, T., Zhang, X., Lindström, K., 2008. Diversity and infectivity of arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural soils of the Sichuan Province of mainland China. *Mycorrhiza* 18, 59-68.
- Wardle, D.A., 2006. The influence of biotic interactions on soil biodiversity. *Ecology letters* 9, 870-886.

- Wardle, D.A., Bardgett, R.D., Klironomos, J.N., Setälä, H., van der Putten, W.H., Wall, D.H., 2004. Ecological Linkages Between Aboveground and Belowground Biota. *Science* 304, 1629-1633.
- Wright, S., Starr, J., Paltineanu, I., 1999. Changes in aggregate stability and concentration of glomalin during tillage management transition. *Soil Science Society of America Journal* 63, 1825-1829.
- Wright, S., Upadhyaya, A., 1998. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and soil* 198, 97-107.
- Yao, Q., Li, X., Christie, P., 2001. Factors affecting arbuscular mycorrhizal dependency of wheat genotypes with different phosphorus efficiencies. *Journal of Plant Nutrition* 24, 1409-1419.
- Yücel, C., Özkan, H., Ortaş, İ., Yağbasanlar, T., 2009. Screening of wild emmer wheat accessions (*Triticum turgidum* subsp. *dicoccoides*) for mycorrhizal dependency. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 33, 513-523.
- Zangaro, W., Bononi, V., Trufen, S., 2000. Mycorrhizal dependency, inoculum potential and habitat preference of native woody species in South Brazil. *Journal of Tropical Ecology* 16, 603-622.
- Zhu, Y.-G., Smith, S.E., Barritt, A.R., Smith, F.A., 2001. Phosphorus (P) efficiencies and mycorrhizal responsiveness of old and modern wheat cultivars. *Plant and Soil* 237, 249-255.

ANEXO

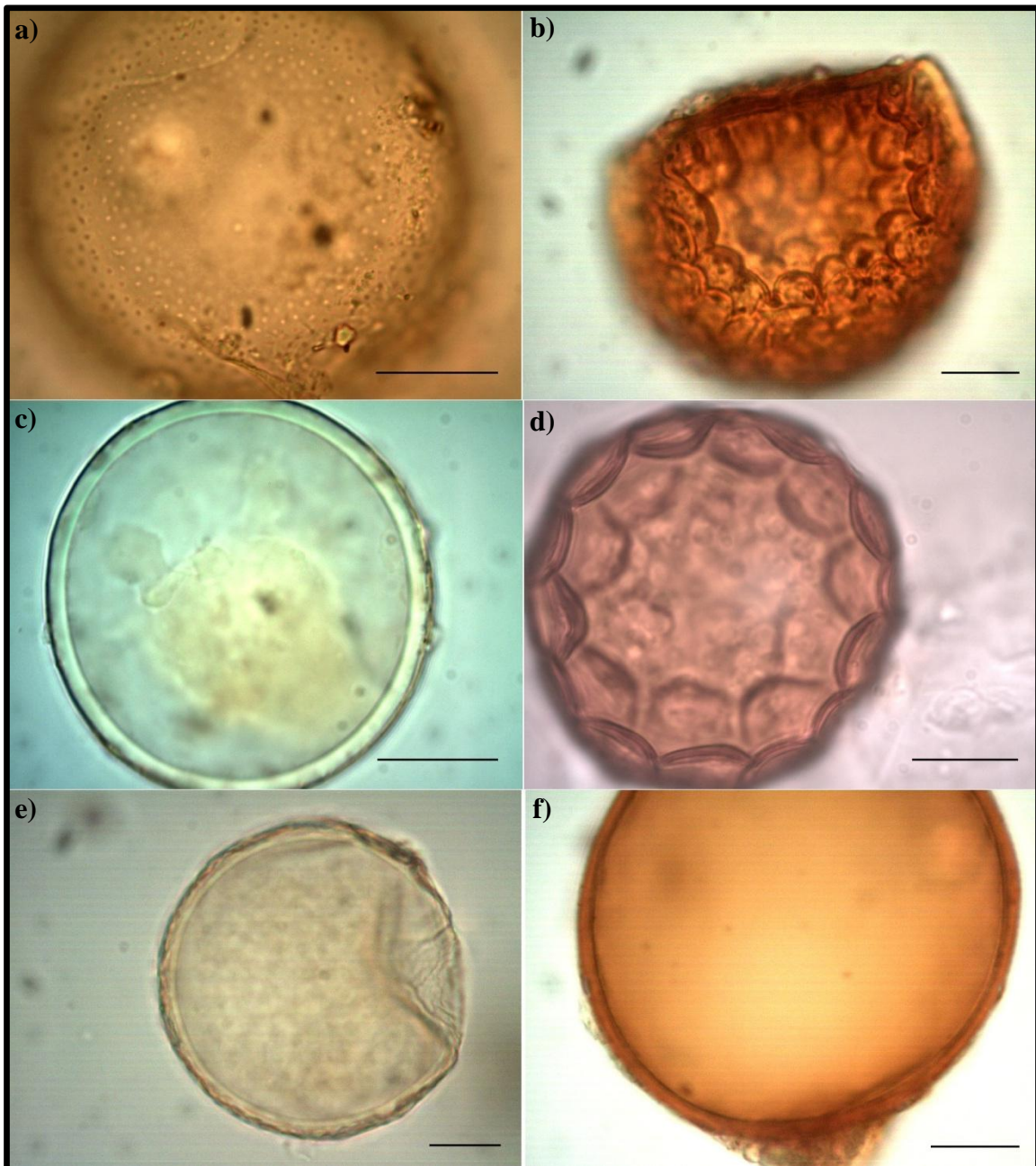


Figura 1. Morfoespecies pertenecientes a la Familia Acaulosporaceae identificadas en este estudio: a) *Acaulospora alpina*, b) *Acaulospora bireticulata*, c) *Acaulospora delicata*, d) *Acaulospora excavata*, e) *Acaulospora laevis* f) *Acaulospora mellea*.
— 50 μm

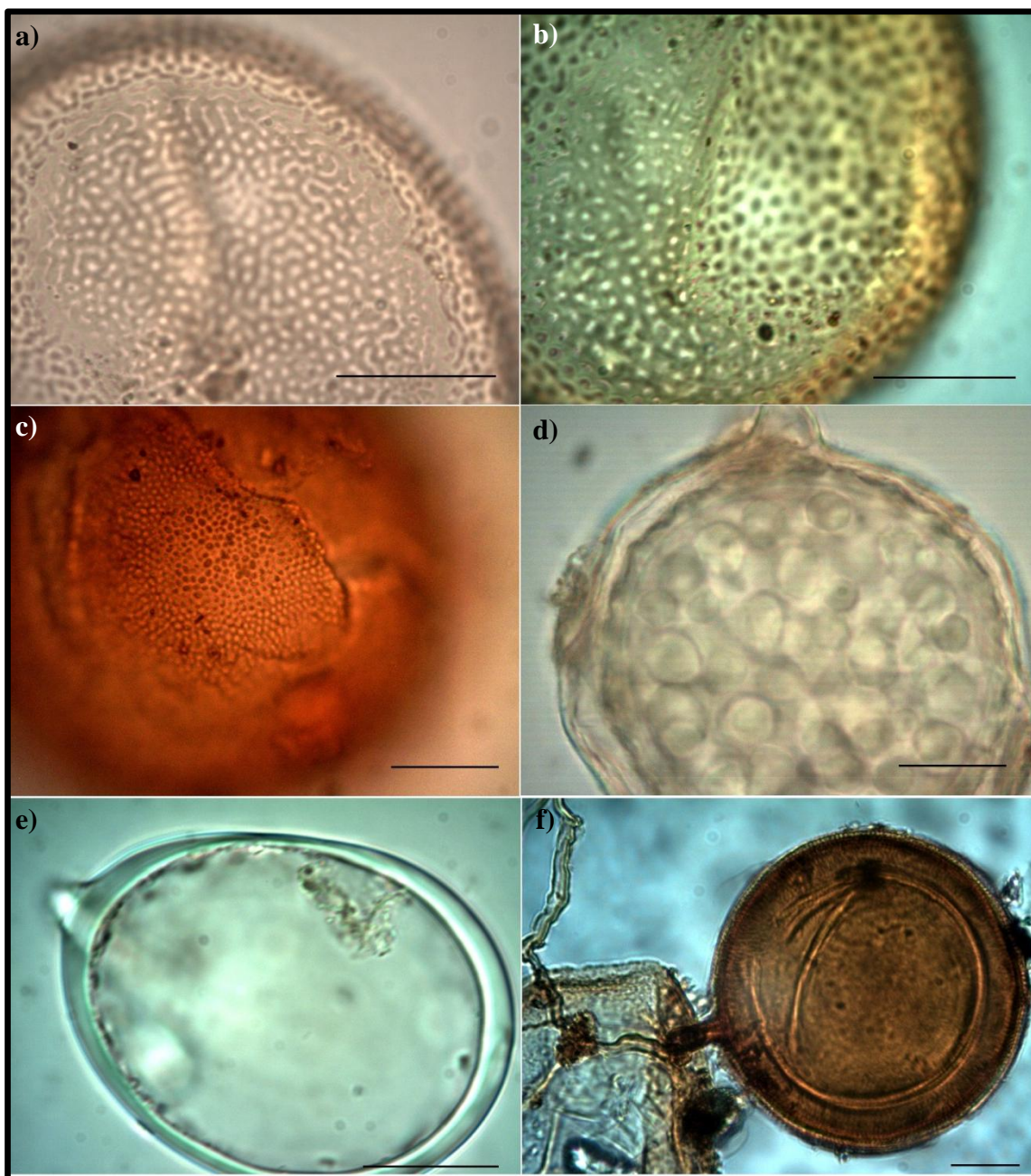


Figura 2. Morfoespecies identificadas en este estudio a) *Acaulospora rehmi*, b) *Acaulospora scrobiculata*, c) *Acaulospora spinosa* d) *Ambispora leptoticha*, e) *Archaeospora trappei*, f) *Entrophospora infrequens*. — 50 μm

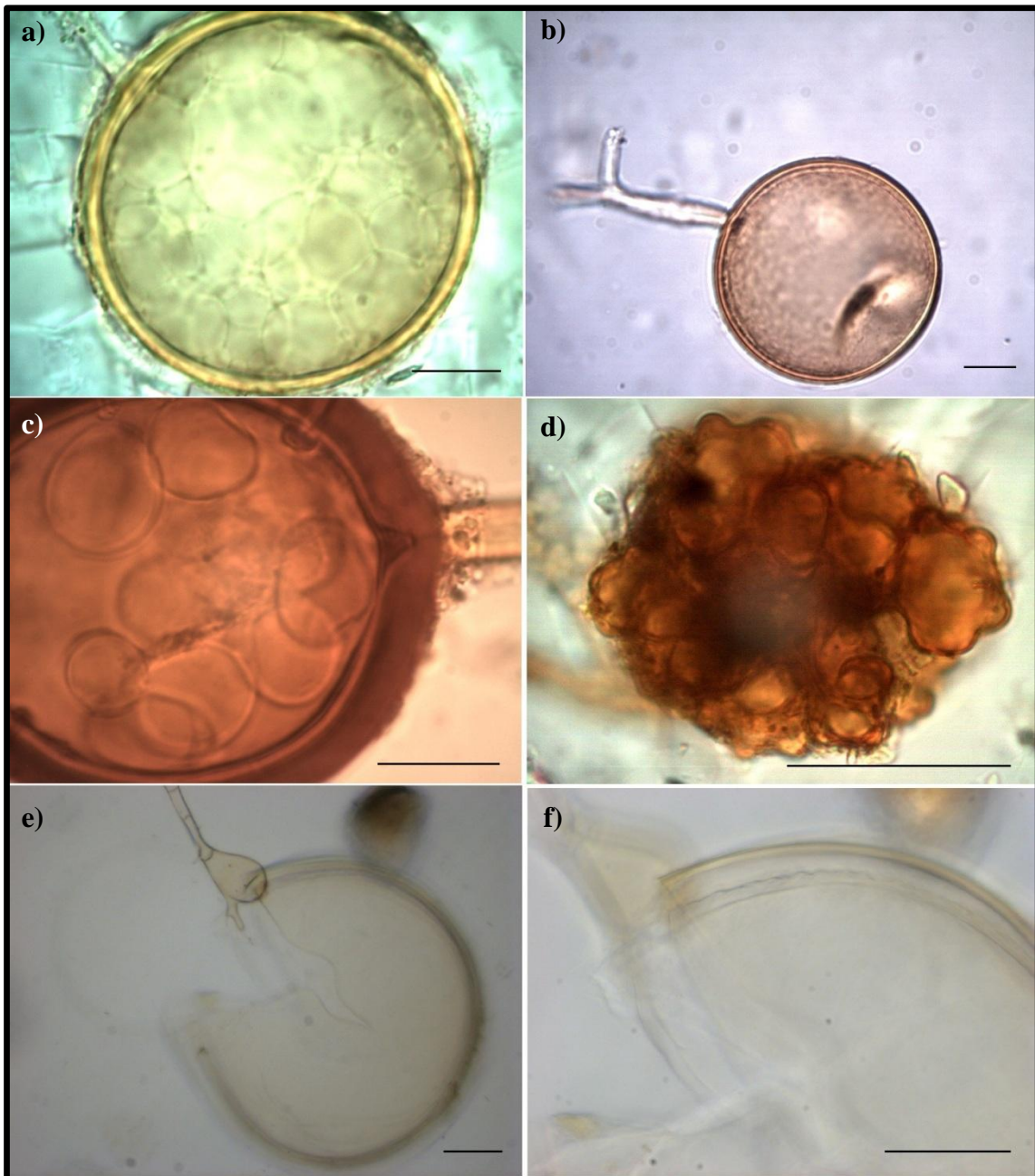


Figura 3. Morfoespecies identificadas en este estudio a) *Claroideoglomus claroideum*, b) *Claroideoglomus etunicatum*, c) *Claroideoglomus luteum*, d) células auxiliares típicas de la Familia Gigasporaceae, e) *Cetraspora pellucida*, f) detalle de la pared de *C. pellucida*. —50 μm

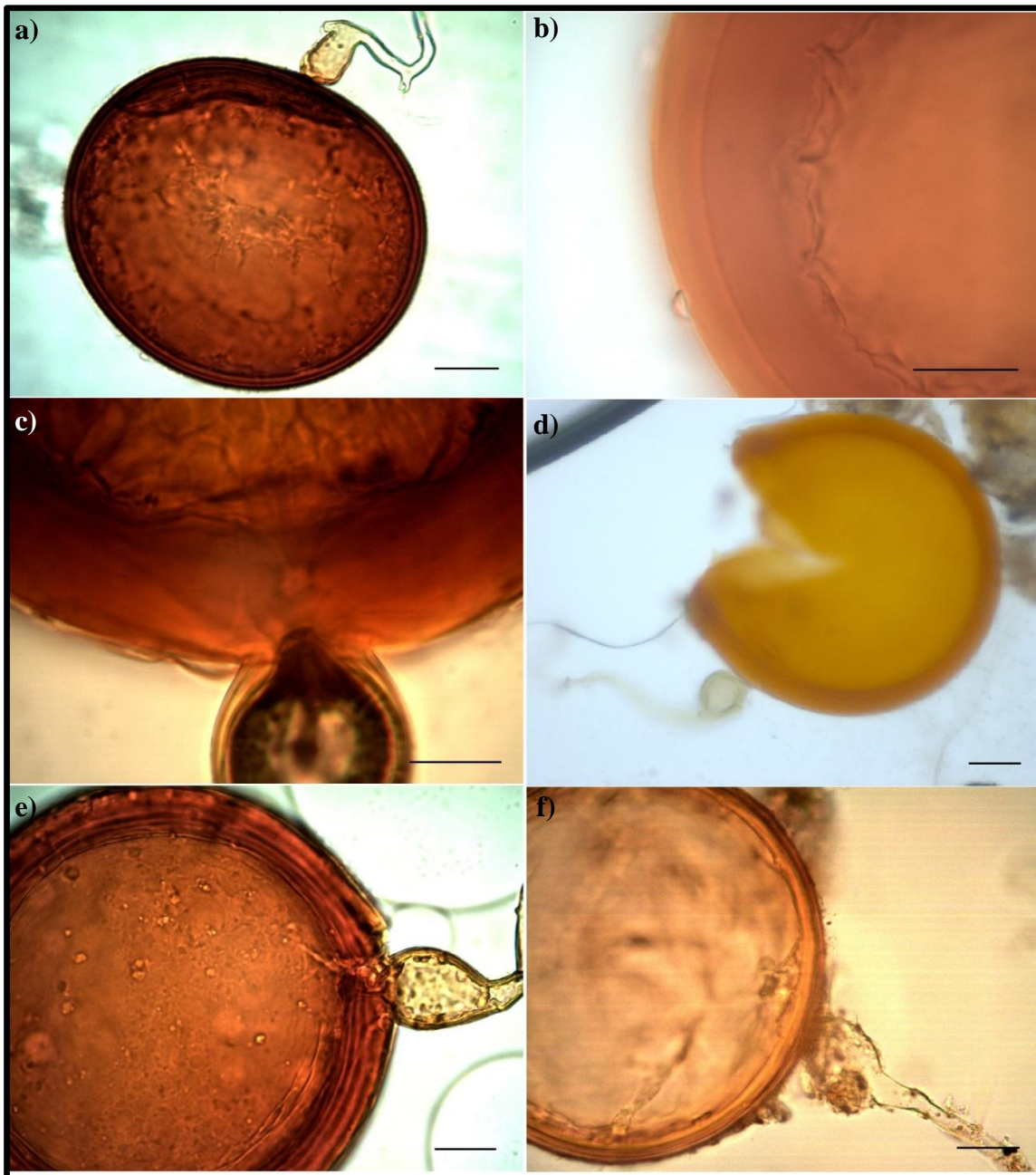


Figura 4. Morfoespecies pertenecientes a la familia Gigasporaceae identificadas en este estudio a) *Dentiscutata heterogama*, b y c) detalle de la pared y del bulbo suspensor de *Gigaspora decipiens*, d) *Gigaspora gigantea*, e) *Gigaspora margarita*, f) *Gigaspora rosea*. — 50 μm

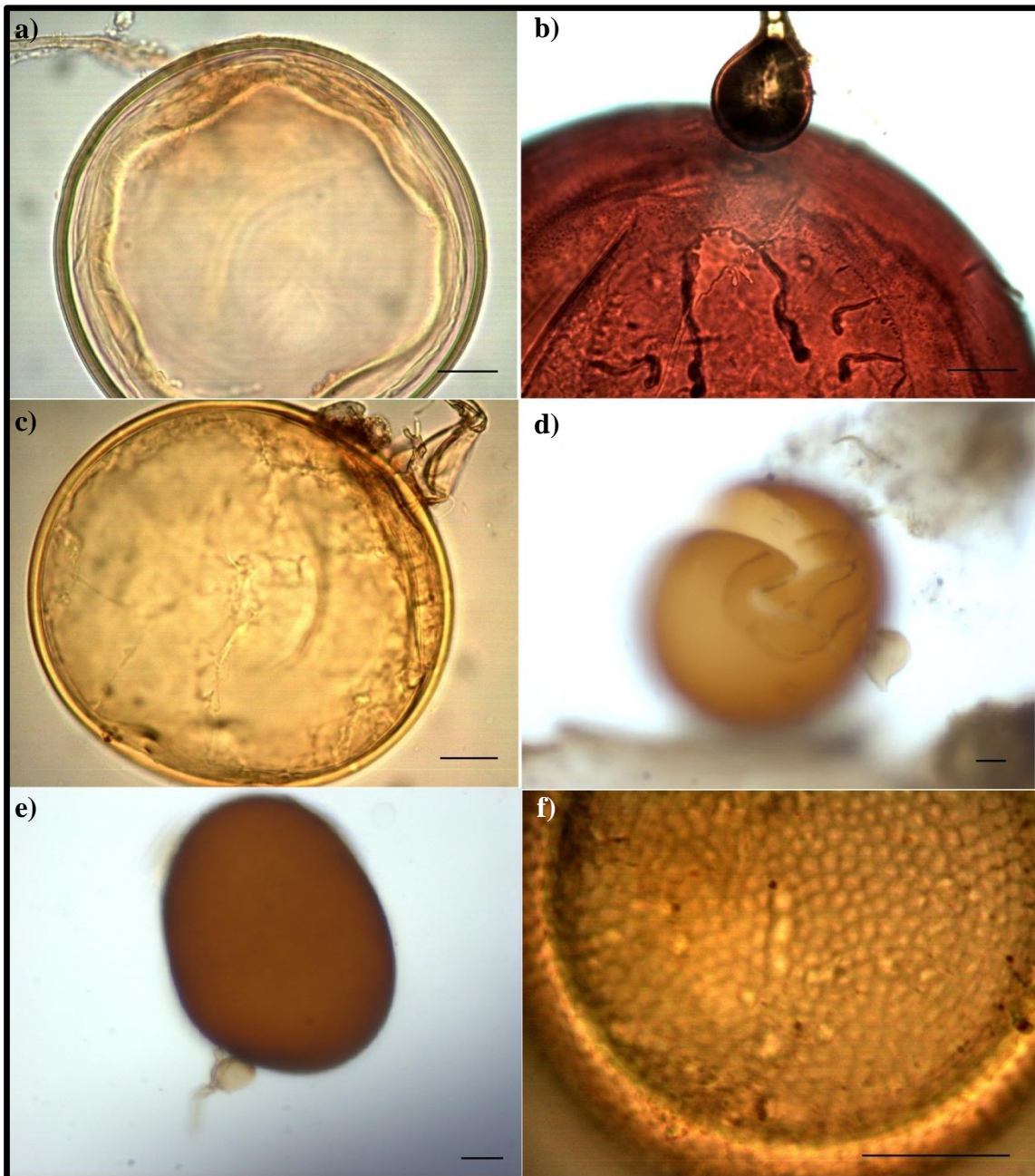


Figura 5. Morfoespecies identificadas en este estudio a) *Racocetra fulgida*, b) detalle de la pared y del bulbo suspensor de *Scutellopora biornata*, c) *Scutellopora calospora*, d) *Scutellopora dipapillosa*, e) *Scutellopora rubra*, f) *Pacispora boliviana*. — 50 μm



Figura 6. Morfoespecies pertenecientes a la familia Glomeraceae identificadas en este estudio a) *Funneliformis coronatum* b) *Funneliformis geosporum*, c) *Funneliformis mosseae*, d) esporocarpio de *Glomus aggregatum*, e) *Glomus brohultii*, f) *Glomus fuegianum*. — 50 μm

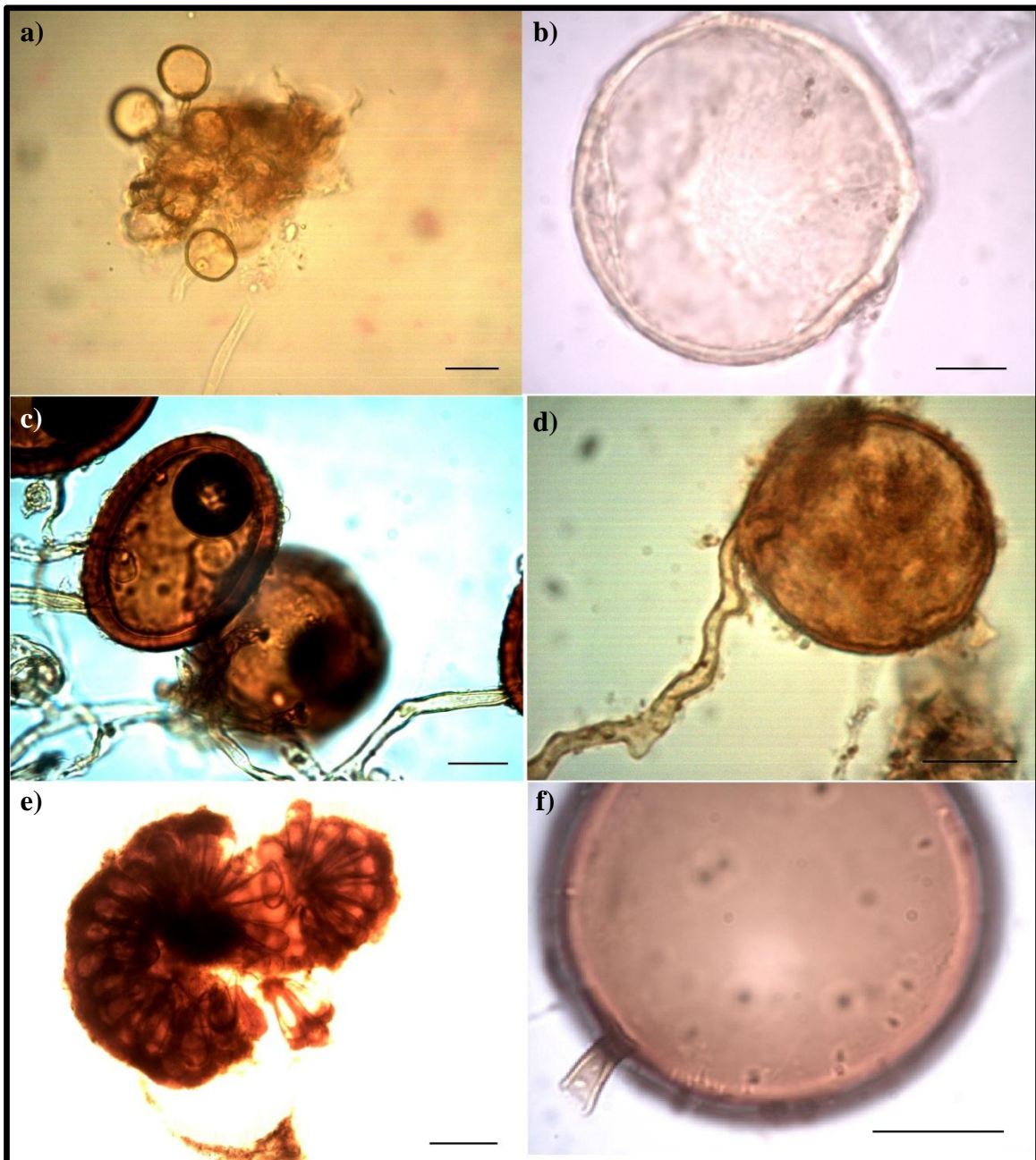


Figura 7. Morfoespecies identificadas en este estudio a) esporocarpo de *Glomus microaggregatum*, b) *Rhizophagus clarus*, c) *Rhizophagus fasciculatus*, d) *Rhizophagus intraradices* e) *Sclerocystis sinuosa*, f) *Septoglomus constrictum*. — 50 μ m

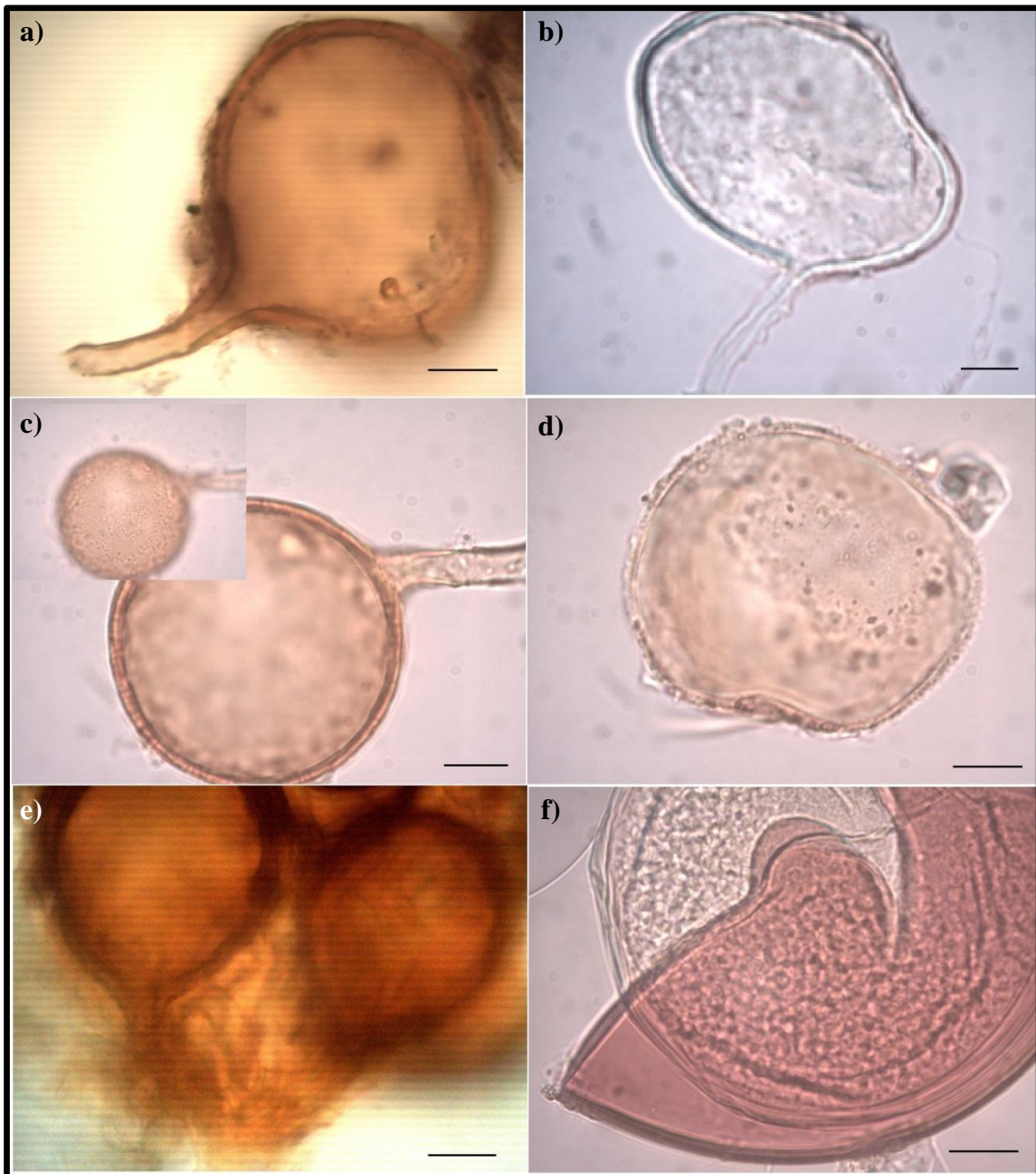


Figura 8. Morfoespecies identificadas en este estudio a) *Glomus* sp. 1, b) *Glomus* sp. 2, c) *Glomus* sp. 3, d) *Pacispora* sp. 1, e) *Sclerocystis* sp. 1 e) *Scutellospora* sp. 1.
— 50 μ m



Figura 9. Ensayo de Infectividad del Capítulo IV, utilizando a *Vicia villosa* como planta hospedadora: a) plantas a los 15 días de crecimiento, b) sistemas radicales conservados en alcohol al 70 % después de la cosecha de las plantas, c) colonización micorrícica arbuscular en las raíces de *V. villosa*. Ensayo de crecimiento del Capítulo V utilizando a *Glycine max* como planta hospedadora: d) plántulas antes del transplante a las macetas de 1000cm³, e) plantas a los 60 días de crecimiento, f) colonización micorrícico-arbuscular en las raíces de *G. max*. —20 μ m.