

Capítulo 3

Hongos formadores de micorrizas arbusculares: Influencia de las prácticas agronómicas sobre su diversidad y dinámica de colonización

Arbuscular mycorrhizal fungi: Influence of agronomic practices on diversity and dynamics of colonization

Santiago Schalamuk¹, Magdalena Druille², Marta N. Cabello^{3,4*}

¹Centro de Investigaciones Fitopatológicas (CIDEFI), (Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. UNLP) 60 y 119, (CP 1900) La Plata. ²Cátedra de Forrajicultura, (Facultad de Agronomía; UBA) Av. San Martín 4453 (CP 1417), Capital Federal; ³Instituto Spegazzini, (FCNyM, UNLP) Av. 53 N° 477, (CP1900) La Plata; ⁴CICPBA. E-mail: mcabello@netverk.com.ar

Introducción

El suelo es un sistema vivo, dinámico, que constituye un recurso esencial para la producción de alimento y fibra y para el balance global y el funcionamiento de los ecosistemas (Doran et al. 1996). Un vasto número de microorganismos residen en el suelo y llevan a cabo un amplio rango de funciones. Entre estos microorganismos se encuentran los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA), los cuales forman simbiosis mutualistas con las raíces de la mayoría de las especies vegetales (Smith, Read 2008). En estas asociaciones simbióticas se genera un movimiento bidireccional de nutrientes donde el carbono fluye hacia el hongo y los nutrientes inorgánicos se mueven hacia la planta. Los hongos que forman estas asociaciones son biótrofos obligados y se encuentran ubicados dentro del phylum *Glomeromycota* (Schübler et al. 2001). Las micorrizas son las asociaciones más frecuentes en la naturaleza debido a su rango de hospedantes y su distribución cosmopolita (Harley, Smith 1983), y por ello los *Glomeromycota* son usualmente considerados «generalistas» dada su baja especificidad (Smith, Read 2008). También es importante destacar que los HFMA colonizan la mayoría de las plantas cultivables y presentan un impacto sustancial en la productividad de muchos cultivos (Johnson 1993).

El efecto positivo más significativo de las micorrizas arbusculares consiste en el mejoramiento de la nutrición de las plantas, ya que las hifas de estos hongos se extienden en el suelo y pueden absorber y transferir macro y

micronutrientes hacia las raíces. En ese sentido, la mayor captación de nutrientes, particularmente los poco móviles como el P, se logra ampliando el volumen de suelo explorado y alcanzando zonas donde los nutrientes se encuentran disponibles, es la característica más conocida de estas asociaciones (Sieverding 1991). Desde el punto de vista nutricional es pertinente aclarar que, teniendo en cuenta que los HFMA consumen C de los hospedantes, el efecto de la micorrización sobre las plantas depende de la relación costo-beneficio de la simbiosis (Johnson et al. 1997; Grimoldi et al. 2005). Por lo tanto, si bien se asume que las micorrizas arbusculares constituyen asociaciones mutualistas, el rango de respuesta es afectado por numerosos factores, entre ellos el estado y especie de planta hospedante, la especie de *Glomeromycota* y las condiciones del ambiente rizosférico.

Los hongos micorrízico-arbusculares poseen múltiples roles en los ecosistemas naturales y agroecosistemas. Entre otros beneficios de estas asociaciones micorrícicas se pueden mencionar los incrementos en la resistencia a parásitos de raíces (Borowicz 2001), los aumentos en la tolerancia a la sequía (Augé 2001) y las reducciones del impacto de estreses ambientales como por ejemplo la salinidad (Ruiz-Lozano et al. 1996). Los HFMA también tienen una función importante en el mantenimiento de la fertilidad física del suelo, al producir una glicoproteína específica recalcitrante, denominada glomalina (Wright et al. 1996) que aumenta la agregación (Wright, Upadhyaya 1998; Wright et al. 1999; Rillig et al. 2001) y promueve disminuciones de la erodabilidad los suelos (Rillig et al. 2002). Por otra parte, también se ha demostrado que estos hongos simbioses pueden redistribuir los recursos energéticos en las comunidades vegetales a través de redes fúngicas que se extienden tridimensionalmente en el suelo y conectan diferentes plantas entre sí (Read 1997). El mecanismo de formación de esas redes está relacionado con capacidad de las hifas de *Glomeromycota* para generar anastomosis con otras hifas de individuos fúngicos compatibles, creando así redes de longitud indefinida (Giovannetti et al. 2004).

Los HFMA se encuentran agrupados en 14 géneros que incluyen más de 210 especies descritas hasta la fecha, y los efectos que tiene sobre los hospedantes, o «eficiencia», difieren ampliamente entre especies y cepas (Miller et al. 1985; Modjo, Hendrix 1986).

Teniendo en cuenta los cambios favorables que promueven las micorrizas arbusculares en agroecosistemas, los hongos que constituyen este tipo de simbiosis poseen gran importancia económica potencial dentro de la agricultura, y su estudio es relevante tanto para posibilitar el manejo de HFMA indígenas a campo a través de prácticas agrícolas apropiadas como para el logro de inoculaciones exitosas.

El presente capítulo tiene como objetivos señalar los principales efectos de prácticas agrícolas habituales en los cultivos extensivos de Argentina, tales como las rotaciones, las labranzas, la fertilización y las aplicaciones de plaguicidas sobre las asociaciones micorrícicas arbusculares, y mencionar los

resultados de algunas investigaciones efectuadas en agroecosistemas de nuestro país.

Prácticas agrícolas y micorrizas

La agricultura argentina ha sobrellevado grandes procesos de transformación. El cambio más importante en los últimos 20 años ha consistido en el predominio de la soja como el principal cultivo de la región pampeana (Solbrig 2005), en la cual actualmente este cultivo, junto con el maíz, el trigo y el girasol ocupa la mayor superficie. El área sembrada con soja ha crecido junto con un paquete tecnológico que incluye la siembra directa o labranza cero y material genéticamente modificado que facilita el control de malezas con herbicidas totales. La soja transgénica resistente al glifosato facilitó enormemente la siembra directa, permitiendo simplificar el control químico de malezas durante el ciclo del cultivo. Por otra parte, se introdujo el barbecho químico, es decir el control de las malezas previo a la siembra exclusivamente a través de herbicidas. La siembra directa ha sido incorporada como una herramienta que, mediante el mantenimiento de los residuos de cultivo, permite la disminución de la erosión del suelo, la reducción en las pérdidas de materia orgánica, y también una mejor economía del agua (Satorre 2005). Estos aspectos han posibilitado la expansión de la frontera agrícola hacia zonas que eran mayormente destinadas a la ganadería, como también la intensificación de la agricultura mediante el doble cultivo trigo-soja en un mismo año.

El cambio tecnológico mencionado afecta profundamente a las comunidades de *Glomeromycota*. Las asociaciones micorrízicas, debido fundamentalmente a su carácter de simbioses obligados, reflejan interacciones entre la planta hospedante, los hongos y el ambiente (Brundrett et al. 1996). Por este motivo, los efectos de cada práctica agronómica son complejos, ya que pueden afectar directamente a los HFMA como indirectamente a través de los hospedantes de los que obtienen sus recursos o en el ambiente suelo donde se propagan. Por lo tanto, las prácticas agrícolas constituyen disturbios que afectan tanto la dinámica como la diversidad de estos hongos. Mientras que en ecosistemas naturales existen plantas de diversas especies en diferentes estados fenológicos y estacionalidad hospedando los *Glomeromycota*, en sistemas agrícolas con cultivos anuales, se presentan dos periodos con diferencias muy marcadas: una parte del año donde se registra una gran densidad de plantas hospedantes coetáneas y pertenecientes a la misma especie, es decir el cultivo, y luego de la cosecha un periodo de barbecho con ausencia de hospedantes o en algunos casos con presencia escasa de vegetación espontánea de distintas especies. Las tecnologías que se aplican en los principales cultivos de Argentina difieren notablemente de las utilizadas en otras regiones agrícolas, donde la siembra directa se encuentra menos difundida. La ausencia de labranza a través de

ésta técnica conservacionista permite que el grado de disturbio en los suelos se reduzca, sin embargo es importante destacar que la mayor utilización de elementos externos como herbicidas y otros plaguicidas, fertilizantes, así como intensificación de las rotaciones generan disturbios de diferente naturaleza que impactan de diversas maneras a las comunidades de *Glomeromycota*. El manejo adecuado de los HFMA, teniendo en cuenta los beneficios que promueven en los cultivos y en el suelo, debe ser considerado para mejorar la eficiencia, productividad y sostenibilidad de los sistemas agrícolas.

Cultivos y rotaciones

Las especies y la secuencia de cultivos que se desarrollan en un lote pueden alterar significativamente la estructura de las comunidades de *Glomeromycota*. Como hemos señalado, en Argentina los principales cultivos que se desarrollan son soja, trigo, maíz y girasol. Todas estas especies cultivables poseen la capacidad de formar asociaciones micorrícicas, aunque difieren en su grado de dependencia. El trigo y la soja son consideradas medianamente dependientes mientras que maíz y girasol son escasamente dependientes (Jeffries, Dodd 1991). Entre los cultivos extensivos en la región pampeana se está difundiendo la colza o canola (*Brassica napus* L.), con gran potencialidad de desarrollo para el ambiente edafoclimático de la zona. Esta especie pertenece a la familia *Brassicaceae* y por lo tanto no se asocia a los *Glomeromycota*. Gavito, Miller (1998) han hallado retrasos en la colonización de maíz sembrado después de colza, cuando se comparaba con plantas de maíz que se cultivaban en lotes con especies antecesoras micotróficas. Teniendo en cuenta la significancia de la colonización temprana para la absorción de P, dicho retraso puede tener consecuencias negativas. Por ello, en situaciones donde la disponibilidad de P es limitante, las características relacionadas con las asociaciones micorrícicas del cultivo antecesor pueden tener importantes efectos sobre el crecimiento y la absorción de P del cultivo siguiente a través de cambios en el potencial inoculo del suelo y la consecuente colonización (Gavito, Miller 1998; Karasawa et al. 2001). A pesar de esto, existe la posibilidad de que las comunidades de HFMA puedan reestablecer del efecto inhibitorio de un cultivo no hospedante a través de la inclusión de especies micotróficas (Gavito, Miller 1998).

Asimismo, la secuencia de cultivos que se desarrollan dentro de una rotación parece cambiar la composición de especies de las comunidades fúngicas e impactar en su diversidad, aunque los impactos de esos cambios no han sido evaluados extensamente (Hendrix et al. 1995). Es importante destacar que, a pesar de la ausencia de especificidad en las asociaciones micorrícicas, dado que los principales cultivos en Argentina se desarrollan en distintas épocas del año, y que además poseen diferente estructura, cada cultivo genera diferentes condiciones en el ambiente suelo que modifican las comunidades de *Glomeromycota*.

Sistemas de labranza: Siembra directa

En Argentina, los sistemas de labranza reducida, especialmente la siembra directa, se han difundido ampliamente en los últimos años, ocupando actualmente alrededor del 70 % de la superficie dedicada a cultivos anuales (Fertilizar 2010). Estos sistemas han sido incorporados con el fin de mantener los suelos cubiertos con residuos vegetales durante la siembra y crecimiento de los cultivos, y así reducir la erosión hídrica y eólica (Satorre 2005).

En suelos de la región pampeana numerosos trabajos han hallado que los sistemas de labranza generan diversos cambios de naturaleza física, química y biológica en los suelos de Argentina, (i.e. Alvarez, Steinbach 2009; Diosma et al. 2006; Ferreras et al. 2000; Aon et al 2001), y es de esperar que dichas transformaciones influyan en las comunidades de *Glomeromycota* a través de modificaciones en el ambiente suelo y el estado fisiológico de los hospedantes. Sin embargo, es importante aclarar que la acción mecánica sobre el suelo genera cambios cuali y cuantitativos que impactan en forma directa a los propágulos de *Glomeromycota* (McGonigle, Miller 1996a). La colonización de raíces por HFMA puede generarse a partir de tres fuentes distintas de inóculo: esporas, hifas pertenecientes a la red de micelio externo y fragmentos de raíces colonizadas. Estas estructuras, que forman el denominado «banco de propágulos» de *Glomeromycota* capaz de germinar, crecer y colonizar raíces cuando se dan las condiciones adecuadas (Öpik 2004; Schalamuk, Cabello 2010a), sufren alteraciones directas por el laboreo del suelo. Se ha propuesto que todos los tipos de propágulos de HFMA son afectados, en mayor o menor medida, a través de diversos mecanismos que actúan en forma conjunta: i) la disrupción de la red hifal por los implementos de labranza ii) la «dilución» del suelo derivada de la mezcla de porciones superiores de suelo con mayor infectividad micorrízica con otras mas pobres en propágulos iii) la descomposición acelerada de las raíces colonizadas (Schalamuk, Cabello 2010a). En consecuencia, las labranzas reducen la actividad de todos los propágulos y esto se refleja en disminuciones en la capacidad de los suelos para inducir colonización, es decir lo que denomina infectividad micorrízica del suelo. En ese sentido, Schalamuk et al. (2004) hallaron mayores niveles de infectividad micorrízica en el suelo en siembra directa que en sistemas labreados.

Diversos trabajos han registrado mayor presencia o actividad de *Glomeromycota* en suelos bajo siembra directa que en otros previamente labrados (Douds et al. 1995; McGonigle, Miller 1996a; Mozafar et al. 2000, Schalamuk et al. 2004). Es de esperar que en un suelo bajo siembra directa se encuentre una red de micelio externo desarrollada, teniendo en cuenta que las hifas extraradicales pueden ser severamente afectadas por la labranza (McGonigle, Miller 1996b; Wright, Upadhyaya 1998). Estudios realizados en Argentina han hallado valores superiores de colonización micorrízica y porcentajes de arbusculos en siembra directa con respecto a sistemas bajo labranza convencional en los estados iniciales de los cultivos (Schalamuk et

al. 2003, 2004). El hecho que los eventos y procesos necesarios para iniciar la colonización hayan sido más rápidos en sistemas de siembra directa se relacionó con los mayores niveles registrados de infectividad del suelo. La expresión gráfica de la colonización micorrícica en raíces a través del tiempo presenta una curva de tipo sigmoidea, en la cual se reconocen tres etapas: fase de latencia, fase exponencial y fase de plateau (Sieverding 1991). Una mayor infectividad micorrícica del suelo debería reducir la longitud de la fase de latencia, y así por lo tanto acelerar el proceso de colonización micorrícica (Smith, Read 2008).

Mientras que en los primeros estados fenológicos de los cultivos existe una gran influencia de la infectividad micorrícica de los suelos, en los estados fenológicos más avanzados, otros factores adquieren mayor importancia. Luego de la colonización primaria, la longitud de raíz colonizada se incrementa durante el crecimiento y desarrollo de los cultivos (Land et al. 1993, Mozafar et al. 2000), y en momentos cercanos a la madurez se determina el valor máximo, fase de estabilización o plateau, que es resultado de la colonización secundaria, es decir la expansión de las hifas desde los puntos de entrada primarios hacia otras porciones de la raíz. El nivel de plateau es muy variable, y varios factores que afectan las tasas de crecimiento relativo del hongo y el hospedante pueden cambiar esta situación de equilibrio (Sieverding 1991). Wilson, Tommerup (1992) afirman que la colonización secundaria está en gran medida regulada por el flujo de carbohidratos desde la raíz hacia el componente fúngico de la simbiosis. Por todo esto, es posible que en los estados avanzados del cultivo variaciones en el ambiente físico-químico del suelo, el estado nutricional y crecimiento de las plantas hospedantes, que pueden determinarse por distintos sistemas de labranza, tengan incidencia en los porcentajes de colonización, arbuscúlos y vesículas relacionados con la colonización secundaria. Por otra parte, Schalamuk et al. (2003, 2004) en un cultivo de trigo observaron que las diferencias entre los porcentajes de colonización entre siembra directa y labranza convencional tienden a reducirse a medida que avanza el desarrollo del cultivo, y se hacen mínimas en las últimas etapas donde se determinan los niveles de plateau (i.e. llenado de granos).

Es importante aclarar que, tal como ocurre con la colonización, las diferencias en la abundancia de esporas dependen del momento donde se efectúan los muestreos. En agroecosistemas con cultivos anuales, el número de esporas generalmente se incrementa a lo largo del ciclo del cultivo (Cabello 1987) y por lo tanto la esporulación está frecuentemente ligada a la fenología del hospedante en el campo (i.e. la producción máxima de esporas ocurre a mediados o finales del ciclo de cultivo) (Morton et al. 2004). Varios estudios han hallado mayores densidades de esporas en siembra directa que en labranza convencional. (Crovetto 1985; Jansa et al. 2002; Schalamuk et al. 2003). Sin embargo, mientras que en los estados tempranos de los cultivos, generalmente se encuentran mayores densidades de esporas en los suelos no labrados, en estados fenológicos más avanzados las diferencias entre sistemas de labranza

se reducen (Schalamuk et al. 2003). Es bien conocido que las esporas pueden sobrevivir varios años en el suelo (Sieverding 1991). Por lo tanto, el número de esporas refleja tanto la esporulación como la acción de diferentes factores que afectan su supervivencia y acumulación. Consecuentemente, la densidad de esporas es el resultado de un complejo balance, y mientras la esporulación está relacionada con la actividad reciente de los HFMA, el número de esporas incluye estructuras formadas en momentos anteriores. Por otra parte, mientras que en sistemas naturales el banco de esporas en los suelos puede decrecer por causas tan variadas como predatorismo, parasitismo, germinación, entre otros factores, (ver Schalamuk, Cabello 2008), en sistemas agrícolas otro efecto que reduce directamente el número de esporas en el suelo es la dilución del suelo rico en esporas con las partes subsuperficiales más pobres en estas estructuras, ocasionada por la acción mecánica de las labranzas. Por estas razones, la supervivencia y acumulación tienen una gran influencia en el número de esporas, y las mayores densidades de estas estructuras halladas en siembra directa en los estados más tempranos del cultivo pueden ser el resultado tanto de una mayor o más rápida esporulación como de la presencia de esporas residuales producidas durante el barbecho o el cultivo antecesor. Teniendo en cuenta que la presencia de esporas no siempre implica la actividad reciente de los HFMA, y que los disturbios mecánicos pueden cambiar su distribución espacial en el perfil del suelo, el número de esporas puede ser considerado como un valioso indicador de utilidad de la presencia de HFMA *in situ*, sin embargo debido a que no refleja la actividad reciente de estos hongos, esta información debe ser tenida en cuenta con cautela.

En relación a la diversidad de *Glomeromycota*, la cantidad de estudios realizados sobre la temática en agroecosistemas de argentina son escasos. En un ensayo de siembra directa y labranza convencional en la provincia de Buenos Aires se hallaron 24 taxa de ese *phylum*, lo que representa un número de especies alto en comparación con los registrados en otros sistemas agrícolas (Schalamuk et al. 2006). Asimismo, se observó que los cambios en la composición del banco de propágulos de *Glomeromycota* pueden influir en su diversidad. Como se ha señalado, los disturbios relacionados con el laboreo pueden afectar a cada uno de los tipos de propágulos de distinta manera, y por otra parte, se conoce que las esporas e hifas externas e internas poseen distinta capacidad para producir nuevas unidades de infección (Klironomos, Hart 2002). Se considera que en muchos hábitats, fundamentalmente los no disturbados, las redes de hifas en el suelo junto con fragmentos de raíces son el principal medio por los cuales las plantas se colonizan, incluso en las situaciones donde existen poblaciones altas de esporas (Hepper 1981; Tommerup, Abbott 1981; Jasper et al. 1992). En los experimentos a campo mencionados se registraron contribuciones mayores de especies pertenecientes a la familia *Glomeraceae* sobre otras familias de *Glomeromycota* (*Acaulosporaceae* y *Gigasporaceae*) en suelos manejados con siembra directa con respecto a otros previamente laboreados (Schalamuk et al. 2006). A partir de material proveniente de esos experimentos, se efectuaron plantas trampa utilizando diferentes tipos de propágulos para observar las

especies y géneros de esporas que se formaban utilizando las distintas fuentes de inóculo (Schalamuk, Cabello, 2010b). Mientras que en los suelos de siembra directa y labranza convencional se registraban proporciones de esporas pertenecientes a la familia *Glomeraceae* de 69.9% y 54.4% respectivamente, los porcentajes de *Glomeraceae* encontrados en las plantas trampa que contenían propágulos compuestos de micelio intra o extra radical provenientes de ambos sistemas de labranza resultaron mayores al 90 %. Dichos resultados indican que los miembros de la familia *Glomeraceae* presentan ventajas en el uso de ese tipo de propágulos (hifas intra y extraradicales) sobre las especies pertenecientes a *Acaulosporaceae* y *Gigasporaceae*. Por lo tanto, se ha sugerido que la mayores contribuciones de *Glomeraceae* halladas en sistemas de siembra directa podrían ser explicadas, al menos en parte, por la falta de disrupción de la red de hifas en ese sistema y una diferente composición del banco de propágulos en los suelos que favorecen a especies pertenecientes a *Glomus spp.*

Fertilidad y Fertilización

En la agricultura argentina, el uso de fertilizantes se ha incrementado notablemente en los últimos años, aunque sigue siendo relativamente bajo cuando se la compara con el de los países europeos. Los productos más empleados son los que proveen nitrógeno (57%) y fósforo (36%) y se aplican fundamentalmente en cultivos de trigo y maíz (Satorre 2005).

Es ampliamente conocido que en suelos pobres en nutrientes los valores de colonización micorrícica suelen ser altos (Vivekanandan, Fixen 1991; Hayman 1975). Una de las hipótesis más aceptadas para explicar este hecho es la que señala que las plantas invierten y transfieren más C a los hongos micorrícicos en los suelos donde nutrientes, como el N o el P, son limitantes (Mosse, Phillips 1971). Consecuentemente, cuando la disponibilidad de estos nutrientes aumenta, se esperan disminuciones en la abundancia de micorrizas relacionadas con la partición de carbohidratos hacia otros destinos de las plantas que no son las raíces y subsiguientes limitaciones en el crecimiento del componente fúngico de la simbiosis, relacionadas con el menor suministro de C (Read 1991). Este comportamiento ha sido denominado «autorregulación de la colonización» (Vierheilig et al. 2000; Vierheilig, Piché 2002; Vierheilig 2004a, b), debido a que muestra similitud con la autorregulación de la nodulación en las interacciones rizobios-leguminosas. El mecanismo de autorregulación propone que una vez que la colonización llega a cierto nivel, se suprimen posteriores aumentos en este parámetro (Vierheilig, Piché 2002; Vierheilig 2004a, b). Si bien los mecanismos de autorregulación no han sido completamente dilucidados, se cree que las strigolactonas, un grupo de apocarotenoides exudados por las raíces en la rizósfera, cumplen un rol fundamental en esta regulación actuando como factores de ramificación en las etapas de pre-simbiosis (García Garrido et al. 2009).

Diversos estudios en condiciones controladas, con sustratos estériles, elementos marcados, inhibidores de la nitrificación, entre otros, han

confirmado los efectos negativos del agregado de P o N sobre los porcentajes de colonización y otros parámetros relacionados con la actividad de las micorrizas (Hawkins, George 2001), En ensayos a campo, los efectos de las adiciones de fertilizantes suelen ser más complejos, teniendo en cuenta que las respuestas en el crecimiento y el rendimiento de los cultivos y en la eficiencia de aplicación y absorción por la planta están influenciadas por numerosas variables, entre ellas la disponibilidad inicial del nutriente y de otros elementos que puedan interactuar en el suelo y en la nutrición de las plantas, las dosis de fertilizante aplicadas, las características edafoclimáticas de la zona que determinan el grado de mineralización de los nutrientes y sus pérdidas hacia zonas que están fuera del alcance de las raíces, el tipo de labranza, las fuentes de fertilizante utilizadas, su tecnología de aplicación, etc.

En la región pampeana argentina, la producción agrícola se encuentra limitada por una deficiencia generalizada de P, por lo tanto la fertilización con este nutriente constituye una práctica común (Echeverría, García 1998). Es ampliamente conocido que la formación de micorrizas se reduce en suelos con altas concentraciones de P (Jensen, Jakobsen 1980; Hicks, Loynachan 1987), por lo tanto varios mecanismos han sido propuestos con el objeto de explicar la modulación de la colonización micorrízica por el P del suelo, entre ellos: i) disminuciones en los exudados de la raíz (Kurle, Pflieger 1994) que afectan el desarrollo de la simbiosis entre los cuales se limitan los exudados de strigolactonas (García Garrido et al. 2009) y ii) efectos directos de altas concentraciones de P sobre el desarrollo de hifas externas de *Glomeromycota* (Miranda, Harris 1994). En Argentina, en ensayos a campo efectuados en la localidad de Balcarce, se registraron reducciones en la colonización micorrízica espontánea en cultivos de trigo en respuesta al agregado de fósforo, y se halló que aplicación de dosis crecientes de P en línea afectaron negativamente la micorrización en mayor medida que la aplicación de P al voleo en cultivos de trigo tanto bajo labranza convencional (Covacevich et al. 2005) como en siembra directa (Covacevich et al. 2008). Por otra parte, se encontró que la fuente de fertilizante fosfatada influye notablemente en la reducción de la colonización, ya que la colonización micorrízica de HFMA indígenas disminuyó con la aplicación de superfosfato soluble, mientras que cuando se utilizaba roca fosfórica como fertilizante la colonización no se reducía (Covacevich et al. 2006).

El incremento en la utilización de fertilizantes nitrogenados en Argentina está relacionado con la adopción generalizada de la siembra directa, que requiere de la adición de N para sostener los rendimientos de los cultivos, fundamentalmente de gramíneas (Alvarez, Steinbach 2009). Diversos estudios han hallado reducciones en la colonización micorrízica arbuscular con aplicaciones de nitrógeno (Hayman 1970; Kruckelmann, 1975; Jensen, Jacobsen 1980; Land et al. 1993). Treseder (2004), utilizando la metodología de meta-análisis, comparó los efectos de la adición de N y P sobre la colonización micorrízica obtenidos en estudios a campo y halló que las reducciones en la colonización relacionadas con la aplicación de N son menos consistentes que

las relacionadas con la fertilización con P. Numerosos factores pueden explicar la variabilidad de los efectos del N en comparación con los del P. Se conoce que el nitrato es más móvil en el suelo que el fosfato, por lo tanto cuando el N se encuentra en esta forma, la difusión o flujo masal suele abastecer a las plantas de N en tasas adecuadas y entonces en esos casos la inversión de la planta en la simbiosis micorrícica puede reducirse. Por otra parte, si bien existe abundante información que confirma que las asociaciones micorrícicas contribuyen a la captación de N, es posible que éstas no sean tan efectivas en facilitar la absorción de N inorgánico en comparación con el P inorgánico (Mosse, Phillips 1971; Smith, Read 2008). Es importante considerar que, ante la presencia de N en forma amoniacal, los resultados suelen presentar diferencias. Chambers et al. (1980) sostienen que el ión NH_4^+ tiene un efecto más deletéreo sobre la colonización micorrícica que el NO_3 . El mecanismo no es conocido completamente, pero Hawkins, George (2001) afirman que el NH_4^+ afecta el crecimiento de las hifas en forma directa.

En suelos de la región pampeana, en un ensayo a campo (Schalamuk et al. 2004) y en un bioensayo en macetas (Schalamuk et al. 2011) observaron que la fertilización nitrogenada generó efectos negativos sobre los porcentajes de colonización, arbuscúlos y vesículas en suelos provenientes de siembra directa. Las reducciones en sistemas de labranza convencional fueron mínimas, atribuyéndose este hecho a los escasos valores de potencial inóculo micorrícico en los sistemas laboreados. Por otra parte, la variabilidad de los efectos del nitrógeno sobre la colonización mencionada por Treseder (2004) ha sido también registrada en nuestro país, teniendo en cuenta que en un mismo ensayo, ante años con condiciones hídricas muy diferentes, los niveles de colonización se redujeron en menor medida en un año que presentó precipitaciones excesivas que favorecieron las pérdidas de nitrógeno (Schalamuk et al. 2003) que en otro año en el que se registraron normales para la zona (Schalamuk et al. 2004).

Barbecho químico, malezas y herbicidas

El sistema de siembra directa, ampliamente difundido en Argentina, implica la imposibilidad de controlar mecánicamente a las malezas, y por lo tanto se requiere la realización de un barbecho químico. Para el barbecho químico se utilizan herbicidas totales que afectan las malezas del lote. Cuando se utiliza la labranza convencional, En otros sistemas agrícolas se deja el suelo desnudo y disturbado. En siembra directa se eliminan las malezas, que son hospedantes de HFMA, pero el suelo no es disturbado físicamente. La presencia o ausencia de vegetación impacta fuertemente en las comunidades de *Glomeromycota*, debido fundamentalmente a sus características de simbiosis obligados. Las comunidades de malezas, a pesar de presentar diversas interacciones negativas con los cultivos, son también capaces de actuar como hospedantes de *Glomeromycota*. En efecto, existe evidencia que sugiere que la presencia de

malezas hospedantes en agroecosistemas puede mantener comunidades diversas de *Glomeromycota*, promover simbiosis efectivas con los cultivos y así compensar los efectos de la competencia (Feldman, Boyle 1998). Por lo tanto, las malezas hospedantes pueden constituir un puente efectivo para los HFMA entre distintas estaciones de cultivo (Gosling et al. 2006). En ese sentido, Kabir, Koide (2000) compararon los efectos de la utilización de un cultivo de cobertura de trigo y los relacionados con la presencia de *Taraxacum officinale* previo a un cultivo de maíz, y encontraron que los lotes enmalezados con esta especie generaban mayores porcentajes de colonización, absorción de fósforo y rendimiento en el maíz que los no enmalezados. En nuestro país, la mayoría de las especies que se presentan como malezas son hospedantes de *Glomeromycota*, a excepción de algunas pocas pertenecientes a las familias *Brassicaceae* (*Diplotaxis tenuifolia*, *Raphanus sativus*, *Brassica campestris*, *Rapistrum rugosum*), *Chenopodiaceae* (*Chenopodium spp.*, *Kochia scoparia*), *Caryophyllaceae* (*Stellaria media*) *Amarantaceae* (*Amaranthus spp.*) y *Polygonaceae* (*Polygonum convolvulus*). Por lo tanto, teniendo en cuenta que la mayoría de las especies de malezas son micotróficas, la utilización de herbicidas puede afectar negativamente las comunidades de HFMA. De hecho, Kurle, Pflieger (1994) hallaron un menor número de esporas en áreas de rotación maíz-soja donde el manejo pasado había reducido las poblaciones de malezas, y parte de la disminución en el número de esporas fue atribuida a la reducción de malezas hospedantes causada por los herbicidas.

Además de la eliminación de plantas hospedantes, los herbicidas pueden tener efectos directos sobre las estructuras externas de los HFMA o indirectos relacionados con cambios en la fisiología del hospedante. Estos aspectos, junto con otros como la diversidad de principios activos de herbicidas que se utilizan, formulaciones, dosis y momentos de aplicación, generan dificultades para señalar tendencias relacionadas con sus efectos sobre las asociaciones micorrícicas. Entre los distintos herbicidas que se utilizan en Argentina, el glifosato es en la actualidad el más difundido. Existen resultados dispares en cuanto a sus efectos sobre la colonización micorrízica. Varios estudios han hallado que el glifosato no afecta la colonización (Powell et al. 2009, Mujica et al. 1999, dos Santos Malty et al. 2006, Savin et al. 2009), mientras que otros señalan que la reduce (Ronco et al. 2008) o la incrementa (Morandi 1989). En medio agarizado, también se han encontrado diferencias entre los resultados de distintos estudios: mientras que dos Santos Malty et al. (2006) hallaron que el glifosato redujo el porcentaje de germinación de esporas y el tamaño de los tubos germinativos, Giovannetti et al. (2006) encontraron que este compuesto no afectó este parámetro, incluso cuando se lo aplicó a altas dosis. Sin embargo, ambos trabajos citados registraron inhibiciones relacionadas con el glifosato en el crecimiento de tubos germinativos. Por otra parte, Ronco et al. (2008) no han hallado efectos negativos del glifosato sobre la viabilidad de hifas de *Glomus mosseae*.

En cuanto a otros herbicidas, por ejemplo la atrazina, producto ampliamente utilizado para control de latifoliadas en presembrado y

preemergencia en maíz, los estudios reportan que la aplicación de este compuesto no posee efecto sobre la simbiosis micorrícica o incluso puede favorecerla (Trappe et al. 1984). Los herbicidas del grupo de las amidas, como el alaclor y acetoclor, que se encuentran muy difundidos para el control de gramíneas en presiembr y preemergencia en maíz, como también los pertenecientes al grupo de los hormonales, como el 2.4D o MCPA, que son utilizados para el control de malezas latifoliadas en trigo, pueden inducir reducciones significativas en la colonización cuando se aplican dosis altas (Trappe et al. 1984; Ocampo, Barea 1985). Sin embargo, no se han hallado efectos negativos de herbicidas hormonales, como MCPA, sobre la germinación de esporas in vitro, inclusive a altas dosis (Giovannetti et al. 2006). Los estudios relacionados con el efecto del herbicida diclofop metil, utilizado en trigo para el control de gramíneas anuales, no han mostrado concordancia. Mientras que Rejon et al. (1997) halló reducciones en el porcentaje de colonización relacionadas con dosis muy bajas de diclofop metil, Ryan et al. (1994) no encontró diferencias en este parámetro utilizando este compuesto. Los efectos sobre las asociaciones micorrícicas de los herbicidas de contacto, como el paraquat, el bromoxinil y el bentazon, presentan también resultados dispares. Existen estudios que reportan reducciones en el porcentaje de colonización relacionadas con aplicaciones de paraquat en dosis recomendadas a campo (Abd-Alla et al. 2000), mientras que otros no encontraron efectos negativos luego de la aplicación del producto de contacto bentazon (Bethlenfalvay et al. 1996). En relación al número de esporas, se registraron disminuciones luego de la aplicación de bromoxinil y paraquat (Abd-Alla et al. 2000).

Enfermedades y fungicidas

Las enfermedades de los cultivos y su control mediante la utilización de agroquímicos pueden generar múltiples efectos sobre las comunidades de *Glomeromycota*. Gran diversidad de organismos patógenos afectan las raíces de los cultivos, alteran el transporte, interfieren en los procesos fotosintéticos, producen un uso anormal de carbohidratos, entre otros efectos. Por lo tanto, reducciones en los niveles de enfermedad a través de la utilización de fungicidas provocan cambios en la fisiología de los hospedantes que impactan en su capacidad para asociarse con HFMA, principalmente teniendo en cuenta que la colonización es dependiente del flujo de carbohidratos desde la raíz hacia el componente fúngico de la simbiosis (Wilson, Tommerup 1992). Entre los plaguicidas que se utilizan para el control de adversidades bióticas, los fungicidas son lógicamente los que deberían presentar mayor efecto directo sobre los hongos pertenecientes a *Glomeromycota*. Sin embargo, diversos estudios han mostrado que los fungicidas pueden afectar a las asociaciones micorrícicas de manera negativa, neutral o incluso positiva (Samarbakhsh et al. 2009). Los fungicidas incluyen una enorme variedad de compuestos que difieren en su efecto sobre la fisiología de los hospedantes, modo de acción, espectro de control, mecanismo de acción, métodos de aplicación y formulación.

Consecuentemente, es difícil de generalizar sobre un grupo de compuestos, incluso sobre la aplicación de un compuesto en particular. En lo que respecta a la utilización de fungicida, es importante diferenciar fundamentalmente las aplicaciones al follaje, las que se destinan al suelo, o la que realizan sobre las semillas. En los cultivos extensivos de la región pampeana no es una práctica usual la aplicación de fungicidas al suelo. Sin embargo los productos en los denominados «curasemillas» toman contacto con ese medio. Del contacto con el suelo cabría esperar, además de efectos sobre aspectos fisiológicos y sanitarios en la planta hospedante, efectos directos sobre las hifas externas y/o esporas, que impactarán tanto en la funcionalidad de las asociaciones para explorar los recursos del suelo como también sobre el desarrollo de las fases presimbióticas que posibilitan la colonización de las raíces.

Entre los fungicidas clásicos que se utilizan como curasemillas se encuentra el thiram, perteneciente al grupo de los ditiocarbamatos, de acción preventiva y de contacto. Efectos inhibitorios sobre la colonización de las raíces y la producción de esporas de ditiocarbamatos aplicados el suelo o como curasemillas han sido ampliamente reportados en la literatura (Vijayalakshimi 1993; Sreenivasa, Bagyaraj 1989, Giovannetti et al. 2006, Hernández-Dorrego, Mestre Parés 2010).

Los triazoles constituyen un grupo más moderno de fungicidas sistémicos. Dentro de este grupo se encuentra el triadimenol, ampliamente utilizado como curasemillas en trigo. Los triazoles, como el triadimenol, actúan como inhibidores de la biosíntesis de ergosterol, un importante componente de las membranas fúngicas. Las cantidades relativas de ergosterol en los *Glomeromycota* son escasas en comparación con otros grupos de hongos, por lo tanto su efecto negativo sobre la micorrización es generalmente bajo o nulo (Schmitz et al. 1992, Frey et al. 1994). El metalaxyl es un principio activo sistémico ampliamente utilizado en curasemillas para soja. Se ha hallado que aplicaciones de metalaxyl incrementaron la colonización micorrícica y el crecimiento de las plantas (Groth, Martinson 1983, Sukarno et al. 1996). Este fungicida es específico en su control de fitopatógenos oomycetes, y no posee efectos sobre otros grupos de hongos. Por lo tanto, se ha sugerido que su efecto favorable para la colonización micorrícica es básicamente indirecto, a través de reducciones en las poblaciones de organismos antagonicos a los HFMA (Hetrick Wilson 1991) e incrementos en la disponibilidad de azúcares solubles en los hospedantes. Sin embargo, Giovannetti et al. (2006) documentaron efectos directos de este fungicida, ya que la aplicación de metalaxyl estimuló la germinación de esporas de *Glomeromycota* y el crecimiento hifal en la fase presimbiótica in vitro. Si bien estos estudios muestran tendencias interesantes, las condiciones de los medios de cultivos estériles son marcadamente diferentes a las que ocurren en suelos con raíces de plantas, a causa de una gran cantidad de factores, entre ellos la absorción de fungicidas por el suelo. Por otra parte, el fungicida fludioxonil, que es aplicado en curasemillas para soja en combinación con metalaxyl, parece promover la colonización a través la reducción de patógenos agresivos como

Rhizoctonia spp., organismos que son controlados por este fungicida (Murillo-Williams, Pedersen 2008).

Dentro de los fungicidas que se utilizan en aplicaciones foliares, tienen actualmente gran importancia los pertenecientes a los grupos de los triazoles y las estrubirulinas. Los triazoles y otros inhibidores de la biosíntesis del ergosterol constituyen un grupo de fungicidas que ha adquirido gran difusión en los cultivos de grano debido a su eficacia frente a patógenos foliares, y su efecto sistémico y persistente dentro de la planta. A pesar de su mecanismo de acción, a menudo se han encontrado efectos negativos de fungicidas triazoles a altas dosis o en aplicaciones repetidas (West et al. 1993; Kling, Jakobsen 1997; Schweiger, Jakobsen 1998). Sin embargo, en Argentina se ha hallado que la aplicación de triazoles a un cultivo de trigo no afectó negativamente los porcentajes de colonización micorrícica (Schalamuk et al. inédito). En la evaluación de los efectos de los fungicidas foliares sobre los HFMA debería tenerse en cuenta no sólo el efecto del compuesto *per se*, sino también la reducción en las enfermedades que genera, incrementando el área foliar verde y aumentando el suministro de fotoasimilados hacia las raíces. Otro grupo de fungicidas que está difundiendo rápidamente en la región agrícola argentina es el de las estrobilurinas, de acción translaminar o mesostémica. Los fungicidas de este grupo poseen un amplio espectro de acción al inhibir la respiración mitocondrial. Diedhiou et al. (2004) hallaron que las strobilurinas, a pesar de su amplio espectro, no afectan negativamente la micorrización de los cultivos cuando se aplican para el control de patógenos foliares a las dosis recomendadas. Schalamuk et al. (inédito), hallaron resultados similares en cultivos de trigo. Teniendo en cuenta que los fungicidas de este grupo se aplican en pulverización foliar y no son completamente sistémicos, es cuestionable que las aplicaciones de este grupo presenten algún efecto detrimental sobre los HFMA. Dentro de los fungicidas clásicos, que se reemplazan paulatinamente por los más modernos, se encuentran los pertenecientes al grupo de los benzimidazoles, como los fungicidas sistémicos benomyl y carbendazim. Los benzimidazoles son eficaces en el control de numerosas enfermedades causadas por una amplia variedad de hongos. El benomyl y otros benzimidazoles se descomponen a metil benzimidazol carbamato (carbendazim), y este último compuesto interfiere en la división de los núcleos de los hongos sensibles. El efecto deletéreo del benomyl y su producto de descomposición, carbendazim, sobre los HFMA es ampliamente conocido; se sabe que se une específicamente a las beta-tubulinas, inhibiendo la función de las tubulinas, que son cruciales para el crecimiento fúngico (Boatman et al. 1978; Hale, Sanders 1982; Thingstrup, Rosendahl 1994; Schweiger, Jakobsen 1998; Kjøller, Rosendahl 2000). Venedikian et al. (1999) observaron que la colonización puede resultar menos inhibida por aplicaciones de carbendazim que la germinación de las esporas y el crecimiento de hifas en medio agarizado. Esto sugiere que las distintas fases de crecimiento de estos hongos pueden tolerar diferentes concentraciones de fungicidas (Dodds, Jeffries 1989; Ocampo 1993; Schreiner, Bethlenfalvy 1997).

En cuanto al efecto de la aplicación de fungicidas sobre la diversidad de *Glomeromycota*, la información sobre este tema es escasa, aunque se reconoce que existen diferencias en la sensibilidad a distintos grupos de fungicidas entre taxas o aislamientos de *Glomeromycota* (Dodd, Jeffries 1989; Schreiner, Bethlenfalvay 1996).

Insecticidas

Al igual que lo ocurrido con otros pesticidas, el efecto de los insecticidas sobre los HFMA varía en función del principio activo, las dosis utilizadas y las especies involucradas en la simbiosis.

Menendez et al. (1999) estudiaron el efecto de dimetoato, un insecticida organofosforado de acción sistémica, sobre el porcentaje de colonización radical en soja. Estos autores hallaron que la colonización no se vio afectada en ninguna de las dosis utilizadas, cuando la planta creció en un suelo inoculado con *Glomus mosseae*. Sin embargo, al utilizar la comunidad nativa de HFMA el porcentaje de colonización radical se redujo al aplicarse la dosis recomendada a campo. Con respecto al porcentaje de germinación de las esporas, el dimetoato disminuyó este porcentaje en *Racocetra castaneae* en dosis de 5 ml/L, lo aumentó en *Gigaspora roseae* en la dosis de 0,5 ml/L y no lo afectó en *G. mosseae*. Menendez et al. (1999) atribuyen esta respuesta diferencial a que algunos ácidos orgánicos y azúcares inhiben la germinación de esporas de algunas especies pero estimula el crecimiento hifal de otras.

La mayor tolerancia de *G. mosseae* a la aplicación de un insecticida organofosforado coincide con los resultados de Burpee, Cole (1978). Pavarthi et al. (1985) encontraron efectos negativos sobre esta especie fúngica al aplicar un insecticida organoclorado (Endosulfan) sobre la misma leguminosa. El uso de Carbaryl, correspondiente al grupo de los carbamatos, no afectó a la colonización por *G. mosseae*. Martínez et al. (1998) demostró que la aplicación de triflumurón, un insecticida del grupo de las benzoilfenilureas, tuvo un efecto nulo en la germinación de esporas de *G. mosseae*, *R. castanea* y *Gigaspora rosea* en las dos dosis evaluadas. Con respecto al porcentaje de colonización radical, estos autores encontraron una disminución de este parámetro con suelo no tinalizado, ya sea que estuvieran o no inoculadas con *G. mosseae*. Sin embargo, en suelo tinalizado e inoculado con *G. mosseae*, no se observó ningún efecto del Triflumurón sobre la micorrización, en ninguna de las concentraciones ensayadas.

Conclusión

Bajo condiciones naturales la mayoría de los cultivos agronómicos están colonizados con hongos micorrícico-arbusculares. Sin embargo es difícil demostrar sus funciones a campo. Las prácticas agronómicas implican cambios

complejos en los cuales no se conoce en que medida afectan las poblaciones de HFMA y su simbiosis. Son necesarios más estudios a campo para evaluar su efecto sobre la composición cuali-cuantitativa de HFMA en los diferentes agrosistemas. Comprender los diferentes factores que influyen la biología de las poblaciones de *Glomeromycota* es esencial para cualquier intento de conservación del ambiente, usos biotecnológicos o agricultura sustentable. Para ello: i) es necesario conocer las especies fúngicas nativas del sitio específico a cultivar; ii) establecer métodos rápidos y precisos para evaluar la densidad de propágulos del área y la efectividad de las poblaciones de HFMA nativas; iii) diseñar modelos que predigan el efecto de las prácticas agronómicas a implementar sobre las poblaciones de HFMA nativas.

Bibliografía

- Abd-Alla M.H., Omar S.A., Karanxha S. 2000. The impact of pesticides on arbuscular mycorrhizal and nitrogen-fixing symbioses in legumes. *Appl Soil Ecol.* 14: 191–200.
- Alvarez R., Steinbach H.S. 2009. A review of the effects of tillage systems on some soil physical properties, water content, nitrate availability and crops yield in Argentine Pampas. *Soil Till Res.* 104: 1-15.
- Aon M.A., Sarena D.E., Burgos J.L., Cortassa S. 2001. (Micro)biological, chemical and physical properties of soils subjected to conventional or no-tillage management, and assessment of their quality status. *Soil Till Res.* 60:173-186.
- Augé R.M. 2001. Water relations, drought and VA mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza.* 11, 3–42.
- Bethlenfalvai G.J., Mihara K.L., Schreiner R.P., McDaniel H. 1996. Mycorrhizae, biocides, and biocontrol. 1. Herbicide-mycorrhiza interactions in soybean and cocklebur treated with bentazon. *Appl Soil Ecol.* 3:197-204.
- Boatman N., Paget D., Hayman D.S., Mosse B. 1978. Effects of systemic fungicides on vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and plant phosphate uptake. *Trans Br Mycol Soc.* 70: 443–450.
- Borowicz V.A. 2001. Do arbuscular mycorrhizal fungi alter plant–pathogen relations? *Ecology.* 82: 3057–3068.
- Brundrett M.C., Bougher N., Dell B., Grove T., Malajczuk N. 1996. Working with Mycorrhizal in Forestry and Agriculture. ACIAR Monograph 32. Canberra.
- Burpee L., Cole H. 1978. The influence of alachlo, trifluralin, and diazinon on the development of endogenous mycorrhizae in soybeans. *Bull Environ Contam Toxicol.* 19: 191-197.

- Cabello M.N. 1987. Micorrizas vesículo-arbusculares en un cultivo de girasol. Revista Facultad de Agronomía, La Plata. 63: 46–52.
- Covacevich F., Marino M.A., Echeverría H.E. 2006. The phosphorus source determines the arbuscular mycorrhizal potential and the native mycorrhizal colonization of tall fescue and wheatgrass. Eur J Soil Biol. 42:127-138.
- Covacevich F., Sainz Rozas H., Barbieri P., Echeverría H.E. 2005. Formas de colocación de fósforo sobre el crecimiento y la micorrización espontánea del cultivo de trigo. Ciencia del Suelo. 23: 39-45.
- Covacevich F., Sainz Rozas H., Barbieri P., Echeverría H.E. 2008. Crecimiento y micorrización arbuscular nativa de trigo en siembra directa bajo distintas formas de colocación de fósforo. Ciencia del Suelo. 26: 169-175.
- Crovetto C. 1985. Cero labranza, extraordinaria alternativa para el cultivo de cereales en suelos erosionados. VII International Conference of Soil Conservation, Maracaibo, Venezuela. IICA, Montevideo, Uruguay. pp. 461–472.
- Chambers C.A., Smith S.E., Smith F.A. 1980. Effects of ammonium and nitrate ions on mycorrhizal infection, nodulation and growth of *Trifolium subterraneum*. New Phytol. 85: 47-62.
- Diedhiou P.M., Oerke E.C., Dehne H.W. 2004. Effect of the strobilurin fungicides azoxystrobin and kresoximmethyl on arbuscular mycorrhizal. J Plant Dis Protect. 111: 545-556.
- Diosma G., Alicino M., Chidichimo H., Balatti P.A. 2006. Effect of tillage and N fertilization on microbial physiological profile of soils cultivated with wheat. Soil Till Res. 91: 236-243.
- Dodd J.C., Jeffries P. 1989. Effect of fungicides on three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with winter wheat (*Triticum aestivum* L.). Biol Fertil Soils. 7:120-128.
- Doran J.W., Sarrantonio M., Liebig M.A. 1996. Soil Health and Sustainability. Advances in Agronomy. Vol. 56. Academic Press, Inc. San Diego, California.
- Dos Santos Maly J, Siqueira O.J., Souza Moreira F.M. 2006. Efeitos do glifosato sobre microrganismos simbiotróficos de soja, em meio de cultura e casa de vegetação. Pesq agropec bras Brasília. 41: 285-291.
- Douds D.D. Jr., Galvez L., Janke R.R., Wagoner P. 1995. Effect of tillage and farming systems upon populations and distribution of vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi. Agric Ecosyst Environ. 52: 111–118.
- Echeverría H.E., García F.O. 1998. Guía para la fertilización fosfatada de trigo, maíz y soja. Boletín Técnico 149, EEA INTA Balcarce. pp. 16.
- Feldman F., Boyle C. 1998. Weed-mediated stability of arbuscular mycorrhizal fungi effectiveness in maize monocultures. J Appl Bot. 73: 1-5.

- Ferreras L.A., Costa J.L., García F.O., Pecorari C. 2000. Effect of no tillage on some soils physical properties of a structured degraded petrocalcic paleudol of the southern «pampa» of Argentina. *Soil Till Res.* 54:31-39.
- Fertilizar. 2010. <http://www.fertilizar.org.ar/>
- Frey B., Valarino A., Schuepp H., Arines J. 1994. Chitin and ergosterol content of extraradical and intraradical mycelium of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Soil Biol Biochem.* 26: 711–717.
- García-Garrido J.M., Lenzemo V., Castellanos-Morales V., Steinkellner S., Vierheilig H. 2009. Strigolactones, signals for parasitic plants and arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza.* 19: 449-459.
- Gavito M.E., Miller M.H. 1998. Changes in mycorrhiza development in maize induced by crop management practices. *Plant Soil.* 198:185–192.
- 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.
- Giovannetti M., Turrini A., Strani P., Sbrana C., Avio L., Pietrangeli B. 2006. Mycorrhizal fungi in ecotoxicological studies: Soil impact of fungicides, insecticides and herbicides. *Prevention Today.* 2: 47–61.
- Gosling P., Hodge A., Goodlass G., Bending G.D. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. *Agric Ecosyst Environ.* 113:17–35.
- Grimoldi A.A., Kavanová M., Lattanzi F.A., Schnyder H. 2005. Phosphorus nutrition-mediated effects of arbuscular mycorrhiza on leaf morphology and carbon allocation in perennial ryegrass. *New Phytologist.* 168: 435–444.
- Groth D.E., Martinson C.A. 1983. Increased endomycorrhizal colonization of maize and soybeans after soil treatment with metalaxyl. *Plant Dis.* 67:1377–1378.
- Hale M.G., Sanders F.E. 1982. Effects of benomyl on vesicular-arbuscular mycorrhizal infection of red clover (*Trifolium pratense* L.) and consequences for phosphorus inflow. *J Plant Nutr.* 5: 1355-1367.
- Harley J.L., Smith S.E. 1983. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, London.
- Hawkins H.J., George E. 2001. Reduced 15N-nitrogen transport through Arbuscular Micorrizae hyphae to *Triticum aestivum* L. supplied with ammonium vs. nitrate nutrition. *Ann Bot.* 87: 303-311.
- Hayman D.S. 1970. Endogone spore numbers in soil and vesicular-arbuscular mycorrhiza in wheat as influenced by season and soil treatment. *Trans Brit Mycol Soc.* 54: 53-63.

- Hayman D.S. 1975. The occurrence of mycorrhiza in crops as affected by soil fertility. En: Sanders EF, B. Mosse, P.B. Tinker, editors. Endomycorrhizas. London: Academic Press. pp. 495-509.
- Hendrix J.W., Guo B.Z., An Z.Q. 1995. Divergence of mycorrhizal fungal communities in crop production systems. Plant Soil. 170:131-140.
- Hepper C.M. 1981. Techniques for studying the infection of plants by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi under axenic conditions. New Phytologist 88. pp. 641-647.
- Hernández Dorrego A., Mestre Parés J. 2010. Evaluación del efecto de varios fungicidas sobre la simbiosis micorrícica entre dos especies de *Glomus* presentes en inóculos comerciales y plántulas de *Allium porrum* L. Sp J Agric Res. 8: 43-50.
- Hetrick B.A.D., Wilson G.W.T. 1991. Effects of mycorrhizal fungus species and metalaxyl application on microbial suppression of mycorrhizal symbiosis. Mycol. 83: 97-102.
- Hicks P.M., Loynachan T.E. 1987. Phosphorus fertilization reduces vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and changes nodule occupancy of field-grown soybeans Agron J. 79:841-844.
- Jansa J., Mozafar A., Anken T., Ruh R., Sanders I.R., Frossard E. 2002. Diversity and structure of AMF communities as affected by tillage in a temperate soil. Mycorrhiza. 12: 225-234.
- Jasper D.A., Abbott L.K., Robson A.D. 1992. Soil disturbance in native ecosystems – the decline and recovery of infectivity of VA mycorrhizal fungi. En: Read DJ, Lewis DH, Fitter AH, Alexander IJ (eds) Mycorrhizas in Ecosystems. CAB International, Wallingford, UK. pp. 151-155.
- Jeffries P., Dodd J.C. 1991. The use of mycorrhizal inoculants in forestry and agriculture. En: Handbook of applied Mycology, vol.1 Soil and Plants. Arora DK, Rai B, Mukerji KG, Knudsen, GR. (eds) Marcel Dekker, Inc, New York, Basel, Hong Kong. pp. 155-185.
- Jensen A., Jacobsen A. 1980. The occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhiza in barley and wheat grown in some Danish soils with different fertilizer treatments. Plant Soil. 55: 403-414.
- Johnson N.C. 1993. Can fertilization of soil select less mutualistic mycorrhizae? Ecol Appl. 3: 749-757.
- Johnson N.C., Graham J.H., Smith F.A. 1997 Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. New Phytologist. 135: 575-585.
- Kabir Z., Koide R.T. 2000. The effect of dandelion or a cover crop on mycorrhiza inoculum potential, soil aggregation and yield of maize Agric Ecosyst Environ. 78: 167-174.

- Karasawa T., Kasahara Y., Takebe M. 2001. Variable response of growth and arbuscular mycorrhizal colonization of maize plants to preceding crops in various types of soils. *Biol Fertil Soils*. 33: 286-293.
- Kjøller R., Rosendahl S. 2000. Effects of fungicides in arbuscular mycorrhizal fungi: Differential responses in alkaline phosphatase activity of external and internal hyphae. *Biol Fertil Soils*. 31:361-365.
- Kling M., Jakobsen I. 1997. Direct application of carbendazim and propiconazole at field rates to the external mycelium of three arbuscular mycorrhizal fungal species: effect on ³²P transport and succinate dehydrogenase activity. *Mycorrhiza*. 7:33–37.
- Klironomos J.N., Hart M.M. 2002. Colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi using different sources of inoculum. *Mycorrhiza* 12. pp. 181–184.
- Kruckelmann H.W. 1975 Effect of fertilizers, soils, soil tillage and plant species on the frequency of *Endogone* chlamidospores and mycorrhizal infections in arable soils. En: Sanders FE, B Mosse, PB Tinker, (eds.) *Endomycorrhizas*. Academic Press, New York. pp. 511.
- Kurle J.E., Pflieger F.L. 1994. The effects of cultural practices and pesticides on VAM fungi. En: Pflieger FL, Linderman RG (eds) *Mycorrhizae and plant health*. APS, St. Paul, Minn. pp. 101–132.
- Land S., von Alten H., Schonbeck F. 1993. The influence of host plant, nitrogen fertilization and fungicide application on the abundance and seasonal dynamics of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in arable soils of northern Germany. *Mycorrhiza* 2. pp. 157-166.
- Martinez A.E., Menendez A.B., Venedikian N., Chiocchio V., Godeas A. 1998. Influencia del insecticida Triflumurón sobre la germinación de esporas de hongos formadores de micorrizas vesículo-arbusculares y la colonización de las raíces de las plantas de soja (*Glycine max* var. sojaje). *Rev Fac Agron; La Plata*. 103: 135-140.
- McGonigle T.P., Miller M.H. 1996a. Mycorrhizae, phosphorus absorption, and yield of maize in response to tillage. *Soil Sci Soc Am J*. 60: 1856–1861.
- McGonigle T.P., Miller M.H. 1996b. Development of fungi below ground in association with plants growing in disturbed and undisturbed soils. *Soil Biol Biochem* 28. pp. 263–269.
- Menendez A., Martínez A., Chiocchio V., Venedikian N., Ocampo J.A., Godeas A. 1999. Influence of the insecticide dimethoate on arbuscular mycorrhizal colonization and growth in soybean plants. *Inter. Microbiol*. 2: 43-45.
- Miller D.D., Domoto P.A., Walker C. 1985. Mycorrhizal fungi at eighteen apple rootstock plantings in the United States. *New Phytologist* 100. pp. 379–391.

- Miranda J.C.C., Harris P.J. 1994. The effect of soil phosphorus on the external mycelium growth of arbuscular mycorrhizal fungi during the early stages of mycorrhiza formation. *Plant Soil* 166. pp. 271–280.
- Modjo H.S., Hendrix J.W. 1986 The mycorrhizal fungus *Glomus macrocarpum* as a cause of tobacco stunt disease. *Phytopathology*. 76: 688–691.
- Morandi D. 1989. Effect of xenobiotics on endomycorrhizal infection and isoflavonoid accumulation in soybean roots. *Plant Physiol Biochem*. 27: 697–701.
- Morton J.B., Koske R.E., Sturmer S.L., Bentivenga S.P. 2004. Mutualistic arbuscular endomycorrhizal fungi. En: Mueller GM, Bills GF, Foster MS. (eds) *Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods*. Elsevier Academic Press, Washington, DC. pp. 313–332.
- Mosse B., Phillips J.M. 1971. The influence of phosphate and other nutrients on the development of vesicular-arbuscular mycorrhiza in culture. *J Gen Microbiol*. 1971: 157–166.
- Mozafar A., Anken T., Ruh R., Frossard E. 2000. Tillage intensity, mycorrhizal and non-mycorrhizal fungi, and nutrient concentrations in maize, wheat, and canola. *Agronomy J*. 92: 1117–1124.
- Mujica M.T., Fracchia S., Ocampo J.A., Godeas A. 1999. Influence of the herbicides chlorsulfuron and glyphosate on mycorrhizal soybean intercropped with the weeds *Brassica campestris* or *Sorghum halepensis*. *Symbiosis*. 27: 73–81.
- Murillo-Williams A., Pedersen P. 2008. Arbuscular Mycorrhizal Colonization Response to Three Seed-Applied Fungicides. *Agron J*. 100: 795-800.
- Ocampo J.A. 1993. Influence of pesticides on VA mycorrhiza. En: «Pesticide-plant pathogen interactions in crop production: Beneficial and deleterious effects». (Ed. J. Altman), pp 213-216. CRC Press, Boca-Raton Florida.
- Ocampo J.A., Barea J.M. 1985. Effect of carbamate herbicide on VA mycorrhizal infection and plant growth. *Plant Soil*. 85:375- 383.
- Õpik M. 2004. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the roots of perennial plants and their effect on plant performance. PhD thesis, Faculty of Biology and Geography, University of Tartu, Estonia.
- Parvathi K., Venkateswarlu K., Rao A.S. 1985. Effects of pesticides on development of *Glomus mosseae* in groundnut. *Tran Br Mycol Soc*. 84:29-33.
- Powell J.R., Campbell R.G., Dunfield K.E., Gulden R.H., Hart M.M., Levy-Booth D.J., Klironomos J.N., Pauls K.P., Swanton C.J., Trevors J.T., Antunes P.M. 2009. Effect of glyphosate on the tripartite symbiosis formed by *Glomus intraradices*, *Bradyrhizobium japonicum*, and genetically modified soybean. *Appl Soil Ecol*. 41: 128-136.

- Read D.J. 1991. Mycorrhizas in ecosystems – Nature’s response to the ‘Law of the minimum’ In: Hawksworth DL, eds. *Frontiers in mycology*. Regensburg, Gemerany: CAB International. pp. 101–130.
- Read D.J. 1997. The ties that bind. *Nature*. 388:517-518.
- Rejon A., Garcia-Romera I., Ocampo J.A., Bethlenfalvay G.J. 1997. Mycorrhizal fungi influence competition in a wheat-ryegrass association treated with the herbicide diclofop. *Appl Soil Ecol*. 7: 51-57.
- Rillig M.C., Wright S.F., Eviner V.T. 2002. The role of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in soil aggregation: comparing effects of five plant species. *Plant Soil*. 238: 325–333.
- Rillig M.C., Wright S.F., Torn M.S. 2001. Unusually large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil organic matter pools in tropical forest soils. *Plant Soil*. 233: 167-177.
- Ronco M.G., Ruscitti M.F., Arango M.C., Beltrano J. 2008. Glyphosate and mycorrhization induce changes in plant growth and in root morphology and architecture in pepper plants (*Capsicum annuum* L.). *J Horticult Sci Biotech*. 83: 497-505.
- Ruiz-Lozano J.M., Azcón R., Palma J.M. 1996. Superoxide dismutase activity in arbuscular mycorrhizal *Lactuca sativa* plants subjected to drought stress. *New Phytologist* 134. pp. 327–333.
- Ryan M.H., Chilvers G.A., Dumaresq D.C. 1994. Colonisation of wheat by VA-mycorrhizal fungi was found to be higher on a farm managed in an organic manner than on a conventional neighbour. *Plant Soil*. 160: 33-40.
- Samarbakhsh S., Rejali F., Ardakani M.R., Paknejad F., Miransari M. 2009. The combined effects of fungicides and arbuscular mycorrhiza on corn (*Zea mays* L.). Growth and yield under field conditions *J Biol Sci*. 9: 372-376.
- Satorre E.H. 2005. Cambios tecnológicos en la agricultura argentina actual. *Ciencia Hoy* 87. pp. 24-31
- Savin M.C., Purcell L.C., Daigh A., Manfredini A. 2009. Response of mycorrhizal infection to glyphosate applications and P fertilization in glyphosate-tolerant soybean, maize, and cotton. *J Plant Nut*. 32: 1702-1717.
- Schalamuk S., Cabello M. 2008. Efecto de la labranza sobre la diversidad de *Glomeromycota*. En: *Tópicos sobre diversidad, ecología y biotecnología de los hongos microscópicos*. Heredia Abarca, G. (ed.). Red Iberoamericana sobre diversidad, ecología y uso de los hongos microscópicos (REDEMIC). Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED). PP. 196-216.
- Schalamuk S., Cabello M. 2010a. Effect of tillage systems on the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) propagule bank in soils. En: *Management of*

- Fungal Plant Pathogens: Current Trends and Progress. Arya A, Perelló A. (eds.) CABI Publishers. Gran Bretaña. pp. 162-170.
- Schalamuk S., Cabello M. 2010b. Arbuscular mycorrhizal fungal propagules from tillage and no-tillage systems: possible impacts on *Glomeromycota* diversity. *Mycologia*. 102: 261-268.
- Schalamuk S., Golik S., Chidichimo H., Cabello M. 2011. Effects of inoculation with *Glomus mosseae* in conventional tilled and non-tilled soils with different levels of nitrogen fertilization on wheat growth, arbuscular mycorrhizal colonization and nitrogen nutrition. *Com Soil Sci Plant Anal*. 42: 586-548.
- Schalamuk S., Velázquez S., Chidichimo H., Cabello M. 2003. Efecto de diferentes sistemas de labranza y fertilización sobre la simbiosis micorrizica arbuscular en cultivo de trigo. *Boletín micológico*. Valparaíso, Chile 18. pp. 15–19.
- Schalamuk S, S Velázquez, H Chidichimo, M Cabello, 2004 Effect of no-till and conventional tillage on mycorrhizal colonization in spring wheat. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 39, 13–20.
- Schalamuk S., Velázquez S., Chidichimo H., Cabello M. 2006. Fungal spore diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with spring wheat: effect of tillage. *Mycologia* 98. pp. 22–28.
- Schmitz O., Danneberg G., Hundeshagen B., Klingner A., Bothe H. 1992. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhiza by biochemical parameters. *J. Plant Physiol*. 139:106–114.
- Schreiner R.P., Bethlenfalvay G.J. 1996. Mycorrhizae, biocides, and biocontrol. 4. Response of a mixed culture of arbuscular mycorrhizal fungi and host plant to three fungicides. *Biol Fertil Soils*. 23:189–195.
- Schriener R.P., Bethlenfalvay G.J. 1997. Plant and soil response to single and mixed species of arbuscular mycorrhizal fungi under fungicide stress. *Appl Soil Ecol*. 7:93-102.
- Schübler A., Schwarzott D., Walker C. 2001. A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. *Mycol Res*. 105: 1413-1421.
- Schweiger P.F., Jakobsen I. 1998. Dose-response relationships between four pesticides and phosphorus uptake by hyphae of arbuscular mycorrhizas. *Soil Biol Biochem*. pp. 1415-1422.
- Sieverding E. 1991. Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza Management in Tropical Agrosystems. *Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit*, GTZ No 224, Eschborn.
- Smith S.E., Read D.J. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. Third Edition. Academic Press, London.

- Solbrig O.T. 2005. La historia del concepto de paradigma en la ciencia y la agricultura. En: *El Futuro y los Cambios de Paradigmas. Proceeding del XIII Congreso Anual de AAPRESID*. Rosario. pp. 11-13.
- Sreenivasa M.N., Bagyaraj D.J. 1989. Use of pesticides for mass production of vesicular–arbuscular mycorrhizal inoculum. *Plant Soil* 119, 127–132.
- Sukarno N., Smith S.E., Scott E.S. 1996. The effect of fungicide on vesicular–arbuscular mycorrhizal symbiosis. II. The effects on area of interface and efficiency of P uptake and transfer to plant. *New Phytologist*. 132: 583-592.
- Thingstrup I., Rosendahl S. 1994. Quantification of fungal activity in arbuscular mycorrhizal symbiosis by polyacrylamide gel electrophoresis and densitometry of malate dehydrogenase. *Soil Biol Biochem*. 26: 1483–1489.
- Tommerup I.C., Abbott L.K. 1981. Prolonged survival and viability of VA mycorrhizal hyphae after root death. *Soil Biol Biochem*. 13: 431–433.
- Trappe J.M., Molina R., Castellano M. 1984. Reactions of mycorrhizal fungi and mycorrhiza formation to pesticides. *Ann Rev Phytopathol*. 22: 331-359.
- Treseder K.K. 2004. A meta-analysis of mycorrhizal responses to nitrogen, phosphorus, and atmospheric CO₂ in field studies. *New Phytol*. 164: 347-355.
- Venedikian N., Chiocchio V., Martinez A., Menendez A., Ocampo J.A., Godeas A. 1999. Influence of the fungicides carbendazim and chlorothalonil on spore germination, arbuscular mycorrhizal colonization and growth of soybean plants. *Agrochimica* 43. pp. 105–109.
- Vierheilig H., Garcia-Garrido J.M., Wyss U., Piché Y. 2000. Systemic suppression of mycorrhizal colonization of barley roots already colonized by AM fungi. *Soil Biol Biochem*. 32:589–595.
- Vierheilig H., Piché Y. 2002. Signalling in arbuscular mycorrhiza: facts and hypotheses. En: Buslig B, Manthey JA (eds) *Flavonoids in cell function*. Kluwer Academic, New York. pp. 23–39.
- Vierheilig H. 2004a. Regulatory mechanisms during the plant–arbuscular mycorrhizal fungus interaction. *Can J Bot*. 82: 1166–1176.
- Vierheilig H. 2004b. Further root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi in already mycorrhizal plants is suppressed after a critical level of root colonization. *J Plant Physiol*. 161:339–341.
- Vijayalakshmi M., Rao A.S. 1993. Influence of fungicides on vesicular–arbuscular mycorrhizae in *Sesamum indicum* L. *Microbiol Res*. 148: 483-486.

- Vivekanandan M., Fixen P. 1991. Cropping systems effects on mycorrhizal colonization, early growth, and phosphorus uptake of corn. *Soil Sci Soc Am J.* 55: 136- 140.
- Wilson J.M., Tommerup I.C. 1992. Interactions between fungal symbionts: VA mycorrhizae. En: Allen MF (ed) *Mycorrhizal functioning, an integrated plant-fungal process.* Chapman and Hall, New York. pp. 199–248.
- Wright S.F., Franke-Snyder M., Morton J.B., Upadhyaya A. 1996. Time-course study and partial characterization of a protein on hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi during active colonization of roots. *Plant Soil.* 181: 193–203.
- Wright S.F., Starr J.L., Paltineanu I.C. 1999. Changes in aggregate stability and concentration of glomalin during tillage management transition. *Soil Sci Soc Am J.* 63: 1825-1829.
- Wright S.F., 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.