Naturalis
Repositorio Institucional
http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar

Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Naturales y Museo

Dinámica y biodiversidad de hongos formadores de micorrizas arbusculares [HFMA] : efecto de sistemas de labranza y fertilización en cultivos extensivos

Schalamuk, Santiago
Doctor en Ciencias Naturales

Dirección: Cabello, Marta Noemí
Co-dirección: Chidichimo, Hugo O.

Facultad de Ciencias Naturales y Museo
2005

Acceso en:
http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar/id/20120126000069

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional

Naturalis Repositorio Institucional
FCNyM - UNLP

Tesis Doctoral

Facultad de Ciencias Naturales y Museo

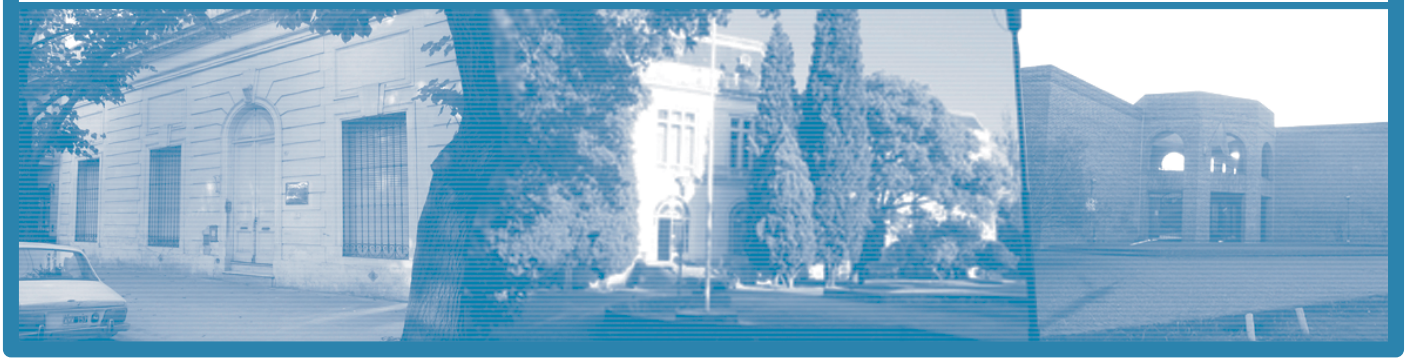
Universidad Nacional de La Plata

Dinámica y biodiversidad de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA): efecto de sistemas de labranza y fertilización en cultivos extensivos

Santiago Schalamuk

Director: Dra. Marta N. Cabello
Co-Director: Ing. Agr. Hugo. O. Chidichimo

Abril de 2005



A mis padres, a mi hermano Fabio,

a mi abuela, mi tía Raquel,

a Lydia y Johan

a Satomi

Agradecimientos

A la Dra. Marta N. Cabello, por iniciarme en el estudio de los hongos formadores de micorrizas arbusculares, guiar y supervisar el desarrollo de toda la investigación, permitir mi integración en el ámbito del Instituto de Botánica "Carlos Spegazzini" y haberme brindado valiosas sugerencias

Al Ing. Agr. Hugo O. Chidichimo, por sus consejos y apoyo constante en la ejecución del presente trabajo de tesis, y por facilitar la realización de tareas en la Cátedra de Cerealicultura.

A los integrantes del Instituto de Botánica "Carlos Spegazzini", especialmente a las Doctoras Angélica M. Arambarri, Cecilia Cazau, Mónica Steciow, Vilma Rosatto y al Dr. Mario Saparrat, por su colaboración, apoyo y oportunos consejos. A los licenciados Ana María Bucsinszky, Gabriela Irrazabal, Silvana Velásquez, Natalia Allegrucci, Lorena Elíades, Eugenia González Ibáñez, Agostina Marano, Daniel Melendi y a Jorge Chayle, Hugo Perla y Alicia Bargas por la ayuda en distintas tareas de laboratorio y gabinete y por tantas horas de trabajo compartidas.

A todo el personal de la Cátedra de Cerealicultura, particularmente al Ing. Agr. (MSc) Horacio Acciaresi, por las interesantes discusiones sobre el tema de investigación, a la Ing. Agr. Silvina Golik, por la información brindada y ayuda en tareas de campo y laboratorio, a la Dra. Ing. Agr. María Rosa Simón, Ingenieros Agrónomos María Ethel Sempé, Alfonso Vidal, María Soledad Zuluaga, Cecilia Fuse y Lic. Laura Almaraz por su buena predisposición y cordialidad. A la Sra. Mirta Castaño

por la realización de los análisis de nitrógeno en raíces. Al Ing. Agr. Martín Pardi y Sr. Carlos Gonzalez por su colaboración en trabajos de campo.

A la Dra. Cristina Cordo, por el material fotográfico y bibliográfico suministrado.

A la Lic. Dora Gentilini, por la realización de análisis de fósforo en raíces.

A mis amigos, especialmente a Esteban, Diego y Carlos

Finalmente, quiero expresar mi agradecimiento a la Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires, por haberme otorgado las becas de Estudio y Perfeccionamiento que permitieron la realización del presente trabajo.

INDICE

RESUMEN 1

1 INTRODUCCIÓN 4

1.1 Micorrizas 5

1.2 Micorrizas arbusculares 7

1.3 Características generales de los HFMA 8

1.4 Desarrollo de la colonización 12

1.5 Taxonomía 18

1.6 Efectos de las micorrizas arbusculares sobre las plantas y el ambiente 20

1.7 Manejo agronómico de HFMA 23

1.8 Prácticas agronómicas: Sistemas de labranza, fertilización y rotación 24

1.9 Roles funcionales en Glomeromycota? 32

1.10 Efecto de las prácticas agronómicas sobre los HFMA 34

1.11 Fundamentos de la elección del tema de investigación 38

1.12 Hipótesis de trabajo 38

1.13 Objetivo general 38

1.14 Objetivos particulares 39

2 MATERIALES Y METODOS 41

2.1 Caracterización de la zona de estudio 41

2.2 Ensayos de campo 44

2.3 Estudios de gabinete y laboratorio 51

2.4 Descripción de las técnicas y ensayos realizados en laboratorio 55

2.4.1 Tinción de raíces micorrizadas 55

2.4.2 Cuantificación del porcentaje de longitud de raíz micorrizada por el método de Giovannetti & Mosse (1980) 56

2.4.3 Cuantificación del porcentaje de longitud de raíz micorrizada, arbúsculos y vesículas por el método de McGonigle *et al.* (1990) 56

2.4.4 Extracción de esporas 57

2.4.5 Identificación taxonómica de esporas de *Glomeromycota* y estudios de biodiversidad 58

2.4.6 Determinación de la infectividad micorrízica del suelo (MSI_{50}) (Plenchette *et al.*, 1989) 59

2.4.7 Aislamientos de *Glomeromycota* a partir de distintos tipos de propágulos 60

2.4.8 Viabilidad y Número de esporas totales 63

2.4.9 Bioensayo en macetas con bloques de suelo intactos 63

3 RESULTADOS EXPERIMENTALES 67

3.1 Colonización, arbúsculos, vesículas e infectividad micorrízica del suelo 67

3.2 Número de esporas y viabilidad 74

3.3 Biodiversidad de esporas de *Glomeromycota* 78

3.4 Aislamientos de *Glomeromycota* a partir de distintos tipos de propágulos 102

3.5 Bioensayo en macetas con bloques de suelo intactos, fertilización nitrogenada e inoculación 104

4 DISCUSIÓN 112

4.1 Colonización e infectividad micorrízica del suelo 112

4.2 Número de esporas y su viabilidad 120

4.3 Biodiversidad de *Glomeromycota* 128

4.4 Aislamientos utilizando diferentes fuentes de propágulos de HFMA: relación entre fuente de propágulo y *taxas* de *Glomeromycota* 135

4.5 Absorción de N, estudio de la biomasa aérea y radical y efecto de la inoculación 140

5 CONCLUSIONES 149

6 BIBLIOGRAFÍA 151-190

RESUMEN

En un ensayo a campo efectuado en la Estación Experimental "Ing. Agr. Hirschhorn" (La Plata) durante los años 2001, 2002 y 2003 se evaluaron los efectos de dos sistemas de labranza: labranza convencional (LC) y siembra directa (SD) y dos niveles de fertilización nitrogenada: testigo sin fertilizar (N0) y aplicación de 90 kg de N/Ha (N90) sobre la infectividad micorrízica del suelo, los porcentajes de colonización, arbúsculos y vesículas, el número de esporas y la diversidad de HFMA evaluada a través de la caracterización morfológica de estas estructuras, en cultivo de trigo, en tres estados fenológicos: macollaje, floración y llenado de granos y en el barbecho, durante dos años. Se comparó la biodiversidad de esporas en el cultivo con la hallada en suelos no disturbados con vegetación espontánea. Se determinó el porcentaje de viabilidad de las esporas durante un ciclo de cultivo y el barbecho posterior. También se analizó el contenido de fósforo en raíces de las plantas de trigo en el estado de floración, en los distintos tratamientos. Por otra parte, se efectuaron aislamientos utilizando suelo, micelio, segmentos de raíces y plantas de trigo provenientes del campo como fuentes de inóculo, y se determinaron taxonómicamente las esporas formadas. Asimismo, se efectuó un bioensayo en macetas con bloques de suelo extraídos de los tratamientos de siembra directa y labranza convencional, en donde se sembró trigo y se evaluó la inoculación con *Glomus mosseae* y la aplicación de 2 dosis de fertilizante nitrogenado, equivalentes a 80 y 160 kg N/Ha respectivamente. En dicho bioensayo se determinaron los porcentajes de colonización, arbúsculos y vesículas, el número de esporas, la biomasa aérea y radical de las plantas de trigo, contenido de N en raíces y la resistencia a la penetración del suelo de siembra directa y labranza convencional.

La labranza convencional y la fertilización nitrogenada afectaron negativamente la colonización micorrízica. En siembra directa se registró una mayor infectividad micorrízica del

suelo, y la colonización micorrízica de las plantas de trigo ocurrió en forma más rápida, ya que en los estados más tempranos del cultivo los valores de colonización en este sistema superaron a los correspondientes a la labranza convencional. A partir de los resultados se infiere que el efecto conjunto de la disrupción de la red hifal, de la dilución de la parte superior del suelo rica en propágulos y de la descomposición acelerada de raíces en la labranza convencional afectó la actividad de todos los tipos de propágulo, reflejándose esto en una disminución en la infectividad micorrízica del suelo y la colonización en estados tempranos.

El efecto negativo de la fertilización nitrogenada sobre la colonización micorrízica fue más evidente a partir de floración, aunque registró variaciones entre los dos años evaluados. En floración del 2002 el tratamiento de siembra directa sin fertilización nitrogenada mostró los porcentajes más altos de colonización y arbúsculos. En este tratamiento también se registraron los mayores contenidos de fósforo en raíces.

Se observaron mayores densidades de esporas en siembra directa en varios de los muestreos efectuados a lo largo del ciclo del cultivo, y esta tendencia resultó más clara en los estados fenológicos más tempranos. En la labranza convencional, el menor número de estas estructuras se considera que está relacionado con la dilución de las porciones superiores de suelo ricas en propágulo con otras inferiores más pobres.

En las muestras de campo fueron identificadas 24 especies de *Glomeromycota* pertenecientes a los géneros *Acaulospora*, *Archaeospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Glomus* y *Scutellospora*. La contribución de los miembros pertenecientes a la familia *Glomeraceae* fue mayor en siembra directa que en labranza convencional. Los sistemas de labranza y el estado fenológico del cultivo influyeron sobre la diversidad (H), y en algunos muestreos se registraron mayores valores de este índice en labranza convencional. Los componentes del índice de biodiversidad: riqueza específica (S) y equidad (E), explicaron de manera similar los cambios en H.

En todos los aislamientos a partir de distintos tipos de inóculo se obtuvieron porcentajes de *Glomeraceae* superiores al 90 %. Esto muestra que los miembros de esta familia poseen ventajas con respecto a *Acaulosporaceae* y *Gigasporaceae* en la utilización de micelio intra y/o extraradical como propágulo. Se propone que la mayor contribución de *Glomeraceae* en siembra directa está relacionada con la no disrupción de la red hifal, que crea condiciones favorables para la dominancia de las especies pertenecientes a esta familia.

En el bioensayo con bloques de suelo de siembra directa y labranza convencional se corroboraron las tendencias observadas en el ensayo a campo en cuanto al efecto negativo sobre la colonización micorrízica de la fertilización nitrogenada y la labranza. La colonización generada por la inoculación con *Glomus mosseae* y/o los HFMA nativos no se reflejó en mayores valores de biomasa aérea y/o radical en las plantas de trigo. Esta falta de respuesta puede atribuirse a la escasa dependencia micorrízica del trigo, la reiteración del cultivo de esta especie en las parcelas del ensayo de labranza y las condiciones de estrés mecánico en siembra directa, entre otros factores. Las plantas de trigo provenientes de tratamientos no fertilizados e inoculados con *Glomus mosseae* presentaron mayores contenidos de N en raíces.

INTRODUCCIÓN

El suelo es un sistema vivo, dinámico, que constituye una condición vital 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. Los microorganismos del suelo descomponen la materia orgánica, liberan nutrientes en formas disponibles para las plantas, degradan residuos tóxicos, forman asociaciones simbióticas con las raíces, actúan como antagonistas de patógenos, influencian la solubilización de minerales y contribuyen a la estructura y agregación.

La vida de las plantas está condicionada por la existencia de una amplia gama de microorganismos que viven asociados a ellas. Las plantas, a través del aporte de los exudados radicales, fragmentos de tejidos y secreciones, crean un hábitat subterráneo único para los microorganismos el cual es denominado rizósfera (Bowen, 1980; Curl & Truelove, 1986) y en donde la microbiota es notoriamente diferente de la comunidad característica del suelo, debido a la presencia de raíces vivas. La rizósfera es una zona de intensa actividad microbiana que se localiza en torno a las raíces, cuya influencia estimula el crecimiento y aumenta la densidad de microorganismos respecto al resto del suelo. Esa zona tiene características físicas, químicas y biológicas diferentes al resto del suelo.

Los microorganismos de la rizósfera condicionan la nutrición y la sanidad de las plantas y por tanto el funcionamiento de la biosfera. A su vez, las plantas están marcadamente afectadas por las poblaciones que han estimulado, ya que los microorganismos inducen cambios en las condiciones físico-químicas del suelo y en la fisiología de los tejidos vegetales. Estos microorganismos pueden alterar la absorción de nutrientes, por efecto directo sobre las raíces, por efecto sobre el medio, y por competir directamente con los nutrientes del suelo. La rizósfera es dinámica y cambiante, por ello su

estudio es sumamente complejo, no sólo por el alto número de interacciones que ocurren en ella, sino también por la escala espacial y temporal de elementos y procesos.

El interés cada vez mayor de utilizar microorganismos para lograr una agricultura más sustentable reduciendo la utilización de insumos económicamente costosos y ecológicamente nocivos, conduce a una mayor atención hacia un manejo más efectivo de la rizósfera. Muchos de los microorganismos de la rizósfera contribuyen al crecimiento y sanidad de las plantas. En esta zona próxima a los tejidos radicales se dan varias asociaciones simbióticas, en donde dos organismos se benefician por esa relación. Tal es el caso de las micorrizas, las cuales constituyen una simbiosis entre hongos habitantes del suelo y raíces de plantas superiores. Muchos de los microorganismos que realizan simbiosis tienen importancia actual o potencial en agricultura y forestación. Entre ellos podemos nombrar varios fijadores de nitrógeno, por ejemplo bacterias Gram negativas tales como *Rhizobium, Bradyrhizobium, Azorhizobium, Sinorhizobium, Mesorhizobium* que viven en simbiosis con leguminosas, el actinomiceto *Frankia* que fija nitrógeno en determinados árboles y arbustos tales como *Alnus, Myrica, Eleagnus* y *Casuarina,* los hongos ectomicorrizicos que establecen simbiosis con un gran número de árboles, y las micorrizas arbusculares (MA), que se asocian a las raíces de la mayoría de las plantas superiores.

1.1 Micorrizas

Las micorrizas son asociaciones simbióticas entre plantas y hongos que colonizan el tejido cortical de las raíces durante periodos de activo crecimiento de las primeras. La palabra micorriza fue acuñada por el fitopatólogo alemán Frank (1888), y etimológicamente proviene del griego *mykes*: hongo y *rhiza*: raíz. Las simbiosis micorrízicas varían ampliamente en forma y función, sin embargo en todos los tipos de micorrizas se produce un movimiento bidireccional de nutrientes donde el carbono fluye hacia el hongo y los nutrientes inorgánicos se mueven hacia la planta. Actualmente, se conocen 7 subtipos distintos de micorrizas (Smith & Read, 1997): ectomicorrizas,

ectendomicorrizas, arbutoides, monotropoides, ericoides, orquidioides y endomicorrizas (arbusculares y vesículo-arbusculares). En las ectomicorrizas el hongo crece intercelularmente en la corteza de la raíz de la planta, pero nunca intracelularmente. En las endomicorrizas, el hongo crece tanto inter como intracelularmente y forma estructuras fúngicas específicas entre las células de la corteza. En las ectomicorrizas a menudo se forma un manto hifal grueso alrededor de las raíces las cuales se alteran en su morfología. Esta última es una característica comúnmente usada para identificar este tipo de micorriza, aunque algunas ectomicorrizas no presentan manto hifal y algunos subtipos de endomicorrizas lo hacen. Las ectendomicorrizas son sólo diferenciaciones estructurales de las ectomicorrizas, no funcionales. Micorrizas arbutoides, monotropoides, ericoides y orquidioides tienen solamente importancia regional, en ciertas especies de *Ericales*, *Monotropaceae* y *Orchidaceae*. Los grupos más estudiados de micorrizas son las micorrizas arbusculares (denominadas también micorrizas vesículo- arbusculares debido a la formación de vesículas en algunas especies de estos hongos) y las ectomicorrizas, ya que las primeras se encuentran en la mayoría de las plantas vasculares muchas de las cuales son especies agrícolas y hortícolas; y las segundas comprenden gran parte de especies arbóreas productoras de madera (Peterson *et al.*, 1984).

Se estima que un 95 % de las especies de plantas forman algún tipo de asociación micorrizica (Trappe, 1987). La condición micorrízica en las plantas es la regla, no la excepción y, en la mayoría de las plantas terrestres las micorrizas son, más que las raíces por sí mismas, los órganos de absorción de los iones fosfato poco lábiles (Smith & Read, 1997), así como de otros iones inorgánicos bajo ciertas circunstancias.

Las asociaciones micorrizas tienen un rol clave en facilitar tanto las funciones microbianas como las de las plantas, a través de su actuación como mediadores del intercambio entre ellos. Están documentados muchos beneficios de las asociaciones micorrizicas en el desarrollo de las plantas y el mejoramiento del ambiente. Las micorrizas aumentan la sanidad y crecimiento de las plantas mejorando la nutrición, modificando funciones fisiológicas de las mismas, reduciendo su respuesta al estrés ambiental, y modificando la química y biología de la rizósfera de manera que alteran los

ciclos de nutrientes y suprimen la actividad de los patógenos de las raíces. La fase extrarradical de las micorrizas se extiende en el suelo y genera cambios significativos en la agregación del mismo, acumulación de la materia orgánica y actividad microbiana en el suelo hifosférico; todo éstos cambios aumentan su estructura y sanidad (Sieverding, 1991). Si algún tipo de microorganismo puede inducir y orquestar interacciones y funciones del suelo en relación al crecimiento y sanidad de las plantas, éstos son los hongos micorrízicos.

1.2 Micorrizas arbusculares

Las micorrizas arbusculares (MA) constituyen el tipo de asociación más frecuente en la naturaleza y más ampliamente distribuido tanto geográficamente como en el reino vegetal (Harley, 1989, 1991). Se suele encontrar este tipo de asociación desde los polos (Cabello *et al.,* 1994, Williams *et al.,* 1994) hasta el ecuador (Huante *et al.,* 1993) y desde ambientes desérticos (Allen & Allen, 1986; Rincón *et al.,* 1993), hasta acuáticos (Khan, 1993).

Las micorrizas arbusculares están formadas por un grupo de hongos biótrofos pertenecientes al *phylum Glomeromycota* (Schüβler *et al.,* 2001b) y la mayoría de las especies vegetales conocidas. Las endomicorrizas están presentes en el 83 % de las Dicotiledóneas, en el 79 % de las Monocotiledóneas estudiadas y en todas las Gimnospermas (Newman & Reddell, 1987; Trappe, 1987). En un gran número de géneros pertenecientes a las familias *Amarantaceae*, *Brassicaceae*, *Caryophyllaceae*, *Chaenopodiaceae*, *Commelinaceae*, *Lecythidaceae*, *Portulacaceae*, *Proteaceae*, *Restionaceae*, *Sapotaceae* y *Zygophyllaceae* no se registran micorrizas arbusculares. Sin embargo, algunos géneros o especies pertenecientes a estas familias pueden formar micorrizas. Por otra parte, ciertas familias en las cuales casi todos sus géneros son micotróficos muestran unos pocos géneros no micorrizables, ejemplo de ello lo constituye el género *Lupinus* de las Leguminosas que no es micorrizable mientras que los restantes géneros son altamente dependientes de las micorrizas. No

existe aún una explicación definitiva sobre la resistencia de estas plantas a la infección por parte de los hongos formadores de micorrizas arbusculares.

Existe documentación que muestra que la mayoría de las plantas evolucionaron junto con las micorrizas (Brundrett, 2002). Las micorrizas arbusculares (MA) son tan antiguas como las propias plantas, y se las ha hallado en fósiles del periodo Devónico, es decir, de más de 400 millones de años (Taylor *et al.,* 1995). La existencia de tal coevolución ha dado lugar a diversas interdependencias entre las plantas y los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA), de modo tal que las plantas necesitan en un mayor o menor grado estar micorrizadas para captar nutrientes y crecer adecuadamente. La dependencia es aún más marcada por parte de los HFMA ya que no se ha logrado evidenciar que éstos sean capaces de completar su ciclo de vida en ausencia de la planta hospedadora. Por lo tanto todos los HFMA son, según se sabe hasta ahora, simbiontes obligados.

En ecosistemas naturales muchas plantas son altamente dependientes de las MA debido a su contribución en el crecimiento, sanidad y supervivencia. Las micorrizas están involucradas en muchos procesos fundamentales, constituyendo un nexo entre las plantas y el suelo e induciendo cambios en la fisiología de la planta hospedante.

1.3 Características generales de los HFMA

Los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) son simbiontes obligados y asexuales. Estos hongos obtienen sus nutrientes orgánicos a través de una simbiosis obligada con las plantas vasculares: la micorriza arbuscular (MA). La colonización se forma a partir de hifas aseptadas y multinucleadas provenientes de otras raíces o de esporas que se encuentran en el suelo. El desarrollo fúngico varía en detalle según el hospedador, pero en la mayoría de las asociaciones la hifa se diferencia para formar arbúsculos intracelularmente y vesículas tanto intra como intercelularmente. Las hifas pueden ramificarse exteriormente dando lugar a una red tridimensional

de micelio que suele extenderse a una distancia considerable de la superficie de la raíz. La relevancia de esta extensión hifal radica en el aumento de la superficie de absorción radical, la exploración de regiones del suelo que están por fuera de la zona de deficiencia de nutrientes y la traslocación de los nutrientes absorbidos hacia la raíz.

El micelio de los HFMA origina distintas estructuras dentro y fuera del sistema radical. Las estructuras internas que se forman son: arbúsculos, vesículas y circunvoluciones. En el suelo circundante a la raíz se forman, además de una extensa red de micelio, esporas y células auxiliares (Bonfante-Fasolo, 1984). Cada una de éstas estructuras fúngicas tiene una función particular (Morton *et al*., 1996).

Las estructuras internas mencionadas se forman al ingresar el micelio del hongo a la corteza radical del hospedante. El hongo inicialmente crece entre las células corticales, pero pronto penetra la pared celular y comienza a crecer dentro de la célula. Como ya se mencionó, el crecimiento intracelular es la característica por la cual la simbiosis MA se incluye dentro del término general "endomicorriza", y por lo que se distinguen del grupo de las ectomicorrizas. Las hifas intraradicales se distribuyen en la raíz y originan los arbúsculos, vesículas y circunvoluciones. La colonización del micelio se restringe al tejido epidérmico en la raíz del hospedante.

Los arbúsculos son estructuras muy ramificadas, que se forman dentro de las células corticales del hospedante y constituyen la característica diagnóstico de las micorrizas arbusculares. Las finas hifas que constituyen el arbúsculo se encuentran en estrecho contacto con el plasmalema de la célula hospedante, siendo los arbúsculos los órganos principales de intercambio de hidratos de carbono y nutrientes en la simbiosis. En la formación de los arbúsculos, simultáneamente al crecimiento intracelular del hongo, la membrana celular se invagina y envuelve a las hifas, a la manera de un guante. Las células que hospedan estas estructuras ramificadas no sufren alteraciones en la integridad de la membrana plasmática y la pared celular. Para el crecimiento del plasmalema alrededor de las delgadas ramificaciones se produce un aumento en la síntesis de material de membrana de la célula hospedante. En esta serie de eventos se crea, entonces, un espacio apoplástico

que evita el contacto directo entre la planta y el citoplasma del hongo y permite la transferencia de nutrientes entre los simbiontes. Las vesículas son estructuras globosas, de pared delgada y llenas de lípidos, que se forman en la raíz del hospedante inter o intracelularmente. Se generan por un hinchamiento intercalar o terminal de las hifas y se sugiere que su función principal es de reserva (Bonfante-Fasolo, 1984), sin embargo también se indica que tienen un rol como propágulos (Biermann & Linderman, 1983). Pueden encontrarse tanto en las capas internas o externas del parénquima cortical, y su tamaño es de 30-50 µm por 80-100 µm. Durante situaciones de estrés y bajo suministro de metabolitos desde la planta hospedante las reservas lipídicas de estos órganos son utilizadas por el hongo, ocurriendo luego la degeneración de las vesículas (Sieverding, 1991).

Las circunvoluciones son repliegues o enrollamientos de hifas intrarradicales cuya función se desconoce. Powell & Bagyaraj (1984) señalaron que estas estructuras podrían ser análogas a los arbúsculos, sin embargo no se ha demostrado que en ellas se produzca intercambio de fósforo.

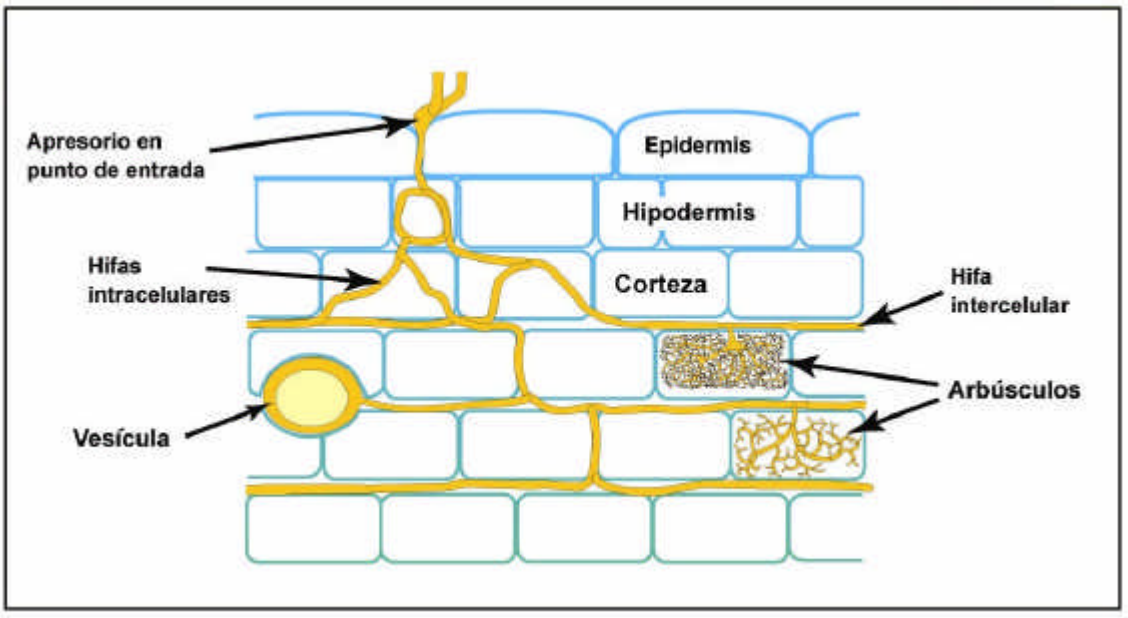


Figura 1: Esquema de las estructuras de los hongos micorrízicos arbusculares que se forman en las raíces

En la zona rizósférica los HFMA desarrollan un micelio externo a través del cual se absorben los nutrientes que se intercambian en la simbiosis. Las hifas del micelio externo pueden tener un crecimiento extenso, a distancias mayores de 8 cm. desde la raíz (Sieverding, 1991). A través del micelio externo, el contacto de las raíces con el medio en el cual estas crecen aumenta en forma considerable. Calculando que 1 cm. de raíz sin micorriza puede explorar alrededor de 1-2 cm^3 de volumen de suelo a través de los pelos radicales, este volumen puede aumentar potencialmente 5-200 veces a través del micelio externo de los HFMA, suponiendo un crecimiento radial de las hifas alrededor de la raíz. Aumentos de volumen rizosférico de suelo de hasta alrededor de 200 cm^3 por cm. de raíz infectado pueden ser excepcionales, pero 12-15 cm^3 por cm. de raíz colonizada se observan frecuentemente (Sieverding, 1991). Las hifas del micelio externo poseen un tamaño variable que oscila entre 2 y 27 µm de diámetro y sus paredes pueden ser gruesas o delgadas. Las de pared gruesa son de color amarillento, carecen de septos y poseen proyecciones angulares unilaterales típicas (Mosse, 1959; Nicolson, 1959). A partir de estas hifas de pared gruesa se desarrollan ramificaciones laterales de paredes delgadas (Bonfante-Fasolo, 1984; Koske & Gemma, 1992). El micelio extrarradical cumple varias funciones: al colonizar el suelo circundante a la raíz aumenta la captación de nutrientes y agua; se desarrolla alrededor de la raíz ("runner hyphae") generando puntos de entrada para la re-colonización, y cumple con la función reproductiva originando esporas asexuales. Las extensas redes de micelio subterráneo, debido a la poca especificidad que presentan los HFMA, son capaces de conectar diferentes plantas hospedantes por medio de las hifas y establecer simbiosis micorrízica con las diversas especies de plantas con las cuales se contactan (Graves *et al.,* 1997; Read, 1998; Van der Heijden *et al.,* 1998). Recientes investigaciones muestran que en esta red existe una frecuente ocurrencia de anastomosis, lo que genera un nivel de interconexión extremadamente alto (Giovannetti *et al.,* 2001) y que las redes de micelio micorrízico originadas en diferentes plantas de diversas especies, géneros y familias pueden fusionarse a través de éste mecanismo (Giovannetti *et al.,* 2004).

Durante el crecimiento del micelio extrarradical se pueden diferenciar esporas y células auxiliares. Las esporas de los HFMA se forman asexualmente por diferenciación de hifas vegetativas del suelo o las raíces. Estas estructuras contienen lípidos, citoplasma y hasta 2000-3000 núcleos. El diámetro de las mismas depende de la especie y varía entre 15 y 800 µm. En algunas especies las esporas desarrollan paredes gruesas con más de una capa. Las esporas pueden estar agregadas en grupos denominados esporocarpos. Las esporas funcionan como estructuras de reserva y propágulos. Para la germinación, se pueden formar en ellas estructuras especializadas, emerger la hifa a partir de otras hifas sustentoras, o crecer directamente a través de la pared.

Las células auxiliares son estructuras en forma de puño cuya función es desconocida y las mismas se forman terminalmente en hifas extrarradicales.

1.4 Desarrollo de la colonización

La colonización en sistemas radicales por los HFMA es un proceso dinámico, en el cual crecen y se desarrollan ambos componentes: las raíces y los hongos. Mientras el ápice de la raíz crece por división celular, elongación y diferenciación y se inician raíces laterales, al mismo tiempo el hongo inicia las unidades de infección primarias y secundarias, que crecen y colonizan la corteza de la raíz. Para estudiar el desarrollo de la colonización podemos diferenciar las siguientes etapas:

a) *Precolonización*

Las esporas, las hifas en el suelo y los fragmentos de raíces con estructuras fúngicas en su interior constituyen los propágulos a partir de los cuales comienza el desarrollo de los HFMA en el suelo. Las esporas de resistencia o clamidosporas son unidades biológicas preprogramadas en estado de quiescencia, que necesitan activarse para desencadenar los procesos normales de su biología

celular y las funciones metabólicas que sustentan su germinación y crecimiento del micelio (Azcón-Aguilar & Barea, 1992). La germinación de las esporas y el crecimiento primario del tubo germinativo están principalmente determinado por factores físicos (O_2, CO_2, temperatura, contenido de agua) y químicos (pH, nutrientes, fuente de nutrientes, efectos fungistáticos) del suelo (Sieverding, 1991). Diversos experimentos indican que ciertos exudados de la raíz pueden desencadenar o inhibir el proceso de germinación (Gadkar *et al.,* 2001), aunque no son imprescindibles para que éste se produzca (Chiocchio *et al.,* 2002). Durante el desarrollo del tubo germinativo no hay división nuclear y los 2000-3000 núcleos se distribuyen en las estructuras de germinación previamente formadas (Burggraaf & Beringer, 1987). Luego de la germinación, la hifa formada debe hallar una raíz para iniciar la colonización. La presencia o ausencia de una planta hospedante influye en la velocidad de crecimiento de la hifa (Bècard & Piché, 1989). Existe evidencia de que las raíces emiten señales volátiles que estimulan un crecimiento direccional de la hifa hacia la raíz (Koske, 1982). El CO_2 estimula el crecimiento del hongo hacia la raíz (Bècard & Piché, 1989), junto con compuestos químicos producidos por las raíces de las plantas (Chiocchio *et al.,* 2002). El crecimiento direccional de las hifas hacia las raíces se presenta cuando ellas se encuentran muy cerca del hospedante. (Mosse & Hepper, 1975). Los hongos arbusculares responden a los exudados con crecimiento hifal y posterior ramificación en la vecindad de la raíz hospedante, siendo éste uno de los primeros eventos de reconocimiento que ocurren en la fase pre-simbiótica (Mosse & Hepper, 1975; Bècard & Piché, 1989; Giovannetti *et al.,* 1993, 1996). En el caso de que el tubo germinativo no se contacte con una raíz de una potencial planta hospedadora, la capacidad de colonización de ese propágulo se pierde en un periodo que puede abarcar desde pocos días hasta varias semanas (Sieverding, 1991).

b) *Colonización primaria (penetración en la raíz)*

Debido a que los HFMA pueden colonizar un gran número de especies de plantas, es posible que no exista una especificidad en los mecanismos de reconocimiento del hongo para *taxa* específicas de plantas (Sieverding, 1991). Algunas familias de plantas *(Quenopodiaceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae)* o especies de ciertas familias *(Lupinus spp.)* no son colonizadas en circunstancias normales. El fenómeno de que existan plantas no hospedantes no ha sido explicado todavía, pero existen investigaciones que señalan la presencia de factores solubles exudados por raíces de plantas micotróficas que inducen a la ramificación de las hifas en la zona rizosférica, y que están ausentes en las especies no hospedantes (Giovannetti *et al.,* 1996; Buee *et al.,* 2000; Nagahashi & Douds, 2000).

Una vez que ocurre el contacto, se inicia la ramificación de las hifas sobre la superficie de la raíz. El hongo necesita un sitio fisiológicamente funcional para que la penetración sea efectiva, y no puede ingresar por heridas o por lugares en los que la epidermis de la raíz esta dañada (Hayman, 1983). La penetración en la célula se caracteriza por el ejercicio de una presión hidrostática por el extremo hifal (Bonfante & Perotto, 1995) y la producción localizada de enzimas hidrolíticas degradantes por el hongo (Anderson, 1992; García-Garrido *et al.* 2000). Varios trabajos han encontrado actividad de celulasas, pectinasas y xyloglucanasas en raíces colonizadas y en el micelio externo de los HFMA (García-Romera *et al.,* 1991; García-Garrido *et al.,* 1992; Rejón-Palomares *et al.,* 1996).

A menudo se diferencia un apresorio sobre las células de la epidermis y se evidencian una o más penetraciones de la hifa a partir de éste (Garriock *et al.,* 1989; Koske & Gemma, 1992). Para la formación del apresorio se requiere de señales bioquímicas y/o topográficas en la superficie de la raíz (Nagahashi & Douds; 1997). El apresorio es una alteración en la morfogénesis de la hifa que involucra señales entre la superficie de la raíz y la hifa (Hoch *et al.,* 1987; Anderson, 1992; Bonfante-Fasolo *et al.,* 1992). Es interesante el hecho de que el bloqueo al desarrollo de la colonización es posterior a la formación del apresorio, lo que indica que cuando se producen las

señales para el reconocimiento y formación del apresorio, puede ocurrir que no se den las condiciones para el subsiguiente desarrollo de la colonización.

c) *Formación de arbúsculos y vesículas*

A partir de la penetración en la raíz, la hifa comienza a crecer inter e intracelularmente, restringiéndose el crecimiento fúngico a la epidermis. La endodermis, xilema y floema, el tejido meristemático, tejido aéreo del tallo y las partes clorofilianas de la planta no son colonizados por las hifas de los HFMA. La colonización interna de las raíces comprende la formación de hifas intercelulares, circunvoluciones, y arbúsculos.

Los arbúsculos se generan dentro de las células poco después de la penetración (2-5 días), y su formación consiste en una profusa ramificación de una hifa luego de penetrar la pared celular. Esta ramificación posibilita un aumento en la superficie de contacto entre los miembros de la simbiosis, estando los arbúsculos involucrados en la transferencia de compuestos carbonados desde la planta hacia el hongo y de los nutrientes orgánicos desde el hongo hacia la planta (Saito, 2000). Las hifas finamente ramificadas de los arbúsculos están estrechamente rodeadas por el plasmalema de la célula. En las células donde se forman arbúsculos, el núcleo de la célula vegetal migra desde la periferia hacia el centro celular, con un aumento en tamaño y condensación de la cromatina. Estas modificaciones citológicas, asociadas con alteraciones en la localización de H^+-ATPasa y fosfatasa, muestran el notable grado de coordinación de la simbiosis micorrízica (Gadkar *et al.*, 2001). Los arbúsculos tienen una vida corta, y degeneran luego de 4-15 días de su formación, por lo que para la colonización de la raíz se requiere una constante formación de arbúsculos (Sieverding, 1991). Debido a que la formación de arbúsculos y su degeneración ocurren en forma simultánea, es posible observar en una misma raíz todos los estados de arbúsculos. Cuando estas estructuras degeneran son digeridas por la célula hospedante, para luego retomar ésta su actividad normal. En el mismo

momento en que se forman los arbúsculos, o a veces algo después, ciertos HFMA forman vesículas inter o intracelularmente. Estas estructuras son hinchamientos apicales o intercalares de hifas con alto contenido de lípidos. En situaciones de estrés (bajo suministro de metabolitos desde la planta hospedante) estos lípidos son utilizados como reserva por los HFMA y entonces las vesículas degeneran. Las especies que pertenecen a los géneros *Gigaspora* y *Scutellospora* nunca forman vesículas, pero producen células auxiliares en el micelio externo de la raíz.

d) *Extensión del hongo dentro de la raíz y en la rizósfera*

El desarrollo de la colonización MA sigue una curva sigmoidal típica en la que se observa una fase de latencia, una fase logarítmica de crecimiento y desarrollo, y una fase de estabilización (Smith & Read, 1997). La especie de planta y de hongo, y especialmente las condiciones físicas y químicas del suelo, determinan la duración de cada fase. En la fase de latencia ocurre la germinación de esporas, el crecimiento del micelio y su penetración en la raíz, culminando esta fase con la colonización primaria anteriormente descripta.

En la fase logarítmica de crecimiento, caracterizada por una rápida expansión del micelio en la raíz, el hongo crece inter e intracelularmente, especialmente en las raíces secundarias finas. Esta expansión de la colonización en el sistema radical tiene lugar también a través de hifas que corren a lo largo de la superficie de la raíz, siguiendo el crecimiento de éstas y penetrando las raíces a distancias irregulares. Wilson (1984) señala que existen diferencias entre las especies fúngicas en su forma de expansión, es decir si es interna o si se produce sobre la superficie de la raíz. La fase logarítmica de crecimiento y desarrollo está también asociada con la formación de un micelio externo en el suelo con capacidad para penetrar la raíz.

En la fase de estabilización la raíz y el hongo crecen a la misma velocidad (Sieverding, 1991). Esta fase se alcanza a una determinada edad de la simbiosis, que depende de la especie de planta. La longitud total de raíz colonizada rara vez sobrepasa el 80 %. No se reconocen las causas

que determinan esta estabilización, pero al igual que toda la dinámica de la colonización MA depende de las condiciones intrínsecas del sistema radical y de las condiciones ambientales en que se encuentra.

e) *Expansión del hongo en el suelo*

Luego de la infección primaria y durante la primera fase de la expansión de la colonización en la raíz, las hifas crecen hacia el exterior de la raíz y la rizósfera del suelo. El micelio externo cumple un rol importante en la absorción de nutrientes desde la solución del suelo y el transporte de los mismos hacia la raíz. En general, el micelio externo joven no es septado y se ramifica dicotómicamente, alcanzando las hifas principales un diámetro de 5-20 µm y las secundarias más finas 1-5 µm. Las especies de HFMA difieren marcadamente en la extensión del micelio externo; el crecimiento del micelio externo está también influenciado por factores abióticos y bióticos del suelo (Sieverding, 1991).

f) *Formación de estructuras reproductivas de los HFMA*

Los HFMA forman esporas en el micelio externo. Ciertas especies de HFMA de los géneros *Acaulospora*, *Glomus* y *Sclerocystis* forman esporocarpos. La formación de esporas puede comenzar pronto, desde 3-4 semanas luego de la colonización de la raíz en algunas especies de HFMA, hasta más de 6 meses en otras.

La magnitud de la esporulación y su momento de inicio dependen de la especie de HFMA, la planta hospedante, el suelo y las condiciones ambientales reinantes. La esporulación es un proceso dinámico; así pueden estar formándose esporas y germinando otras en el mismo momento. El micelio fúngico, dentro y fuera de la raíz, es también otra estructura reproductiva de los HFMA, por

lo que éste tiene la capacidad de infectar nuevas raíces. Sin embargo, mientras las esporas pueden sobrevivir hasta varios años en el suelo, la infectividad del micelio (separado de la planta hospedante o luego de la muerte de éste) dura solo 2-4 semanas.

1.5 Taxonomía

La taxonomía de estos hongos se basa en caracteres discretos de la estructura subcelular de las esporas (Morton, 1988; Morton & Bentivenga, 1994), debido a que existen pocas diferencias en la morfología y arquitectura de las hifas y estructuras internas para diferenciar los HFMA a nivel de especie. Sobre la base de características en la pared celular y ontogenia de las esporas, los HFMA se agrupan en géneros que abarcan aproximadamente las 150 especies descriptas hasta la fecha. Algunas características que se tienen en cuenta en la taxonomía basada en las esporas son: presencia de esporocarpos, forma, color y tamaño; existencia de peridio y características de éste; color de las esporas, tamaño y forma; número de paredes de las mismas, color, grosor y ornamentaciones; y características de la hifa sustentora, forma y tipo de oclusiones (Giovannetti & Gianinazzi-Pearson, 1994).

La posición taxonómica de los hongos MA es actualmente objeto de debate. Los HFMA fueron incluidos en la familia *Endogonaceae* del orden Mucorales debido a la semejanza existente entre las esporas de *Endogone* y las especies esporocárpicas de *Glomus* (Gerdemann & Trappe, 1974). Esta semejanza no fue un criterio válido para su agrupación ya que las especies pertenecientes a *Endogone* forman zigosporas sexuales, mientras que los HFMA producen únicamente esporas asexuales. Por lo tanto, estos hongos fueron agrupados dentro del orden *Glomales*, reconociendo su origen monofilético y su trayectoria evolutiva única (Morton & Benny, 1990). Sin embargo estos autores no desplazaron este grupo del *phylum Zygomycota.* Schüßler *et al.* (2001a) hallaron evidencias morfológicas y moleculares para separar a este grupo en un nuevo *phylum* monofilético, denominado *Glomeromycota.* El orden *Glomales,* según Morton & Benny (1990), consistía en dos

subordenes: *Glominae* (Familias *Glomaceae* y *Acaulosporaceae*) y *Gigasporineae* (Familia *Gigasporaceae*). Posteriormente, el mismo grupo de trabajo señala que el orden *Glomales* comprende a los géneros *Glomus*, *Acaulospora*, *Scutellospora*, *Gigaspora*, *Paraglomus* y *Archaeospora* (Morton & Redecker, 2001). Según Schüßler *et al*. (2001b) el *phylum Glomeromycota* tiene al menos dos órdenes, cada uno con más de tres familias. De las familias tradicionales, *Glomus* ha sido dividido y emplazado en tres diferentes órdenes, *Sclerocystis* ha colapsado en *Glomus*, permaneciendo dentro de este género una única especie, presumiblemente dentro de *Glomerales*. Dos miembros de *Acaulospora* han sido separados en un nuevo orden *Archaeosporales* (*Archaeosporaceae*), y el resto de las especies de *Acaulospora* y *Entrophospora* permanecen dentro de *Acaulosporaceae*, y han sido incluidas en *Diversisporales*. *Gigasporaceae* (con dos géneros: *Gigaspora* y *Scutellospora*) han sido también incluidos en *Diversisporales*. *Paraglomaceae*, con un solo género denominado *Paraglomus*, pertenece a *Paraglomerales*.

Es importante destacar que, teniendo en cuenta las normas del Código Internacional de Nomenclatura Botánica (Greuter *et al.*, 2000), el nombre de una familia se debe formar a partir del genitivo singular de un nombre legítimo de un género incluido, reemplazando la inflexión del genitivo singular con la terminación *–aceae*. El genitivo de *Glomus* es *Glomeris*, y por lo tanto el nombre que corresponde a la familia es *Glomeraceae.* Esto debe ser respetado para los nombres de todos los taxones superiores, y consecuentemente debería reemplazarse *Glomales* por *Glomerales.*

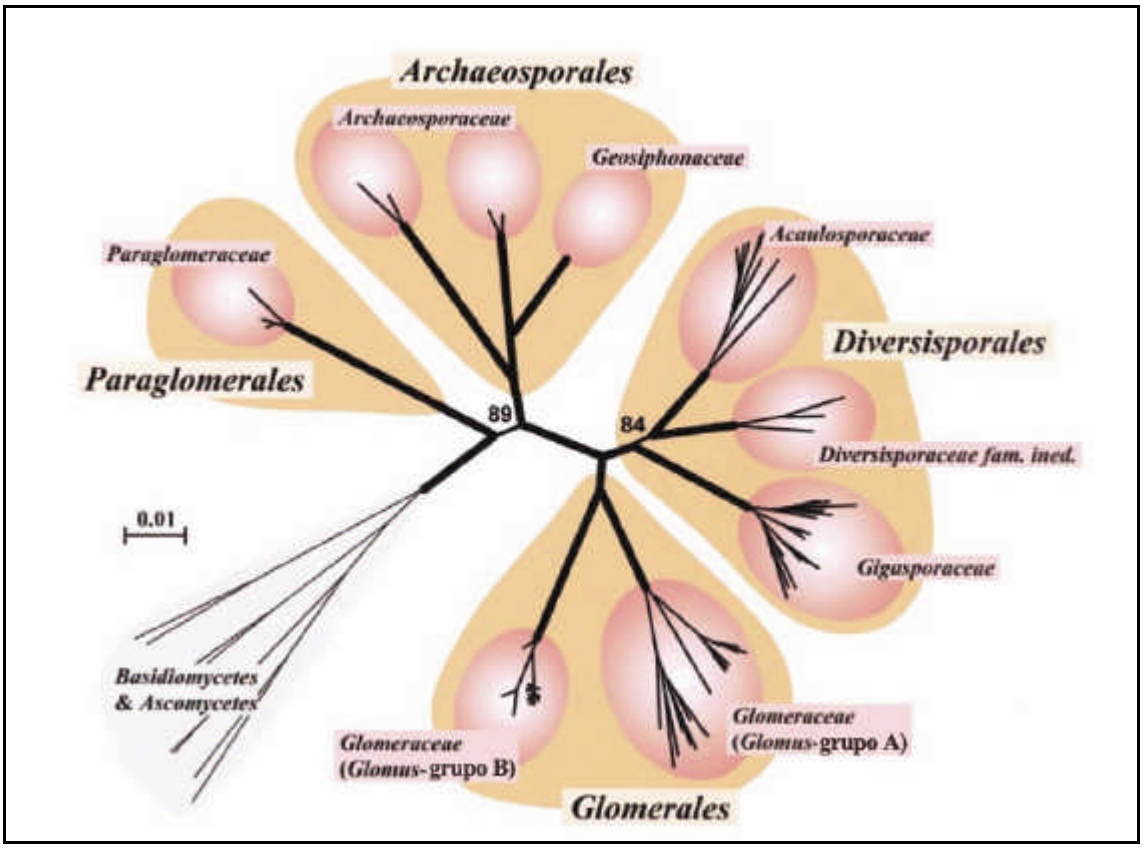


Figura 2: Estructura taxonómica general de los hongos formadores de micorrizas arbusculares y otros relacionados (*Glomeromycota*) propuesta por Schüßler *et al*. (2001a) basados en secuencias de genes de ARNr.

1.6 Efectos de las micorrizas arbusculares sobre las plantas y el ambiente

Los efectos de las micorrizas arbusculares varían según la especie de hospedante y de hongo y el ambiente físico. Se encuentran documentados muchos beneficios de las asociaciones micorrizicas para las plantas, de índole nutricional y no nutricional, y para el ambiente. Estos beneficios pueden ser de distinto grado, y en situaciones particulares esta asociación puede no ser benéfica para la planta, o incluso negativa.

Los hongos formadores de micorrizas arbusculares pueden ejercer un efecto positivo sobre el crecimiento de las plantas, particularmente en suelos que presentan deficiencias nutricionales o se encuentran alterados por acción antrópica (Sieverding, 1991). Este efecto se atribuye básicamente a: (*i*) mejorar la captación de nutrientes por las raíces micorrizadas, (*ii*) ampliar el volumen de suelo explorado, superando la zona de agotamiento de nutrientes y alcanzando zonas donde aún están disponibles (Sieverding, 1991; Cabello, 2001). Como resultado, las plantas micorrizadas son a menudo más competitivas y más capaces de tolerar estreses ambientales que las plantas no micorrízicas (Juniper & Abbott, 1993).

El efecto más importante sobre la nutrición se cree que consiste en el transporte por las hifas de iones de movilidad lenta. Las hifas, creciendo más allá de la rizósfera del suelo, aumentan la superficie de absorción de la raíz (George *et al.*, 1995). Por lo tanto, la actividad del micelio de HFMA en los suelos resulta en una mayor eficiencia de absorción de nutrientes (Smith & Gianinazzi-Pearson, 1988). El efecto más conocido de las MA es el que ejerce sobre la nutrición con fósforo (P), aunque también hay evidencias sobre un incremento en la captación de zinc (Zn), que también es un elemento de movilidad lenta y con deficiencias en algunos suelos, y cobre (Cu) (Smith & Read, 1997).

Recientemente ha aumentado el interés por el efecto de las MA en la absorción de nitrógeno (N), elemento que se presenta en los suelos en forma orgánica o inorgánica, en formas móviles y poco móviles. Dentro de las formas inorgánicas, a este elemento se lo encuentra en la solución del suelo en su forma poco móvil como amonio, y también como nitrato. Debido a la alta movilidad de los nitratos, se creyó que los HFMA no contribuían significativamente en la absorción de N por la planta (Ames *et al*.; 1983; Barea *et al*. 1987). Actualmente se reconoce que estos hongos intervienen en la dinámica del nitrógeno en el sistema suelo-planta (Subba Rao & Krishna, 1988; Patterson *et al.*, 1991; Johansen *et al.*, 1994) y existen trabajos que demuestran que la colonización micorrízica puede aumentar la captación de iones nitratos (Azcón *et al*., 1992; Johansen *et al.* 1993; Cuenca &

Azcón, 1994; Johansen *et al.*, 1994; Azcón *et al.*, 1996). Más aún, se ha sugerido que los nitratos serían la fuente de nitrógeno preferida por los hongos arbusculares. Sin embargo, el rol de estos microorganismos en la dinámica del N del suelo todavía no ha sido dilucidado.

Se pueden mencionar numerosos beneficios no nutricionales de las MA. Las MA incrementan la tolerancia al estrés causado por bajas temperaturas, anegamiento, sequía, salinidad (Juniper & Abbott, 1993), ayudan a controlar adversidades bióticas, como nemátodes y patógenos fúngicos (Azcón-Aguilar & Barea, 1996), además de estimular el desarrollo vegetal a través de la producción de factores de crecimiento.

Debido a su participación en la absorción de nutrientes, las micorrizas influyen sobre los ciclos biogeoquímicos, acumulando y transportando el fósforo y otros nutrientes minerales desde el suelo a la raíz e inmovilizando el nitrógeno en la biomasa fúngica por la formación de paredes fúngicas constituidas principalmente por quitina, previniendo así su pérdida por lixiviación y desnitrificación; y contribuyen a la fertilidad del mismo cuando son reciclados los nutrientes acumulados en la biomasa miceliar y en esporas de los hongos micorrízicos (Schüepp & Bodmer, 1991). Además, los HFMA interactúan con otros microorganismos de la rizósfera, constituyendo el llamado efecto micorrizósfera (Azcón-Aguilar & Barea, 1992).

Los HFMA tienen un rol importante en la fertilidad física del suelo. Estos hongos producen una glicoproteína específica recalcitrante, denominada glomalina (Wright *et al.*, 1996) que aumenta la agregación de los suelos (Wright & Upadhyaya 1998; Wright *et al.*, 1999; Rillig *et al.*, 2001) y protege a los compuestos carbonados de la degradación rápida (Rillig *et al.*, 1999). En suelos contaminados, estos hongos se asocian a las plantas favoreciendo su crecimiento (Cabello, 1997, 1999, 2001; Hildebrandt *et al.*, 1999), y disminuyen la acumulación de metales pesados en la biomasa aérea por la acumulación de estos elementos en raíces micorrizadas (Weissenhorn *et al.*, 1993, 1995).

Como se ha señalado, los HFMA favorecen el crecimiento, producción y supervivencia de las plantas en muchas situaciones y también contribuyen al mejoramiento del ambiente en distintos aspectos.

Se conoce que existen diferencias en la habilidad de distintas especies o cepas de HFMA para promover el crecimiento de las plantas, y hay referencias de que el nivel de formación de HFMA puede no ser un indicador confiable de los beneficios potenciales de los HFMA (McGonigle, 1988). De hecho, se ha demostrado que, en situaciones particulares, algunos HFMA pueden comportarse como patógenos (Howeler *et al.*, 1987; Jarstfer & Sylvia, 1992) y que los colonizadores menos efectivos son a veces mejores promotores del crecimiento de las plantas que algunos buenos colonizadores (Hetrick & Wilson, 1991). Es suficiente decir que no solo tiene valor conocer los estados, intensidad y oportunidad de colonización sino también las especies o cepas de HFMA que están involucradas en muchos ecosistemas naturales o agroecosistemas a ser manejados.

1.7 Manejo agronómico de HFMA

Debido a los cambios favorables que promueven las micorrizas arbusculares, los HFMA poseen una importancia económica potencial dentro de la agricultura, debido a su capacidad para asociarse con la mayoría de las plantas cultivables. Han sido documentados numerosos beneficios de las asociaciones micorrízicas arbusculares en los cultivos, especialmente relacionados con el aumento en la captación de fósforo (Gerdemann, 1968; Mosse, 1973). La contribución de los procesos biológicos en la dinámica de nutrientes es de especial interés en aquellos agroecosistemas donde los costos de producción y aplicación de fertilizantes son importantes, o en la agricultura de bajos insumos u orgánica (Oberson *et al.*, 1993).

Existen esencialmente dos formas para establecer y mantener poblaciones altas de HFMA en los suelos agrícolas:

i) Inoculación y manejo subsecuente de HFMA seleccionados por su eficiencia; y

ii) Promover la actividad de HFMA efectivos a través de prácticas agrícolas adecuadas (Sieverding, 1991)

Los investigadores en micorrizas han mostrado gran interés en el proceso de inocular plantas con HFMA eficientes (Bagyaraj, 1992). Hasta el presente, la inoculación de rutina en gran escala es dificultosa debido al alto costo de producción y el gran volumen del inóculo para el transporte (Wood, 1992). Por lo tanto, el manejo de los HFMA nativos en el campo a través del diseño de prácticas agrícolas apropiadas puede ser efectivo con el fin de aumentar el crecimiento y la absorción de P en los cultivos. Para este propósito, se requiere información sobre los HFMA indígenas que deben ser manejados. Así sería posible alterar la composición de especies de HFMA con esas prácticas, de manera que aumente la proporción de los hongos más efectivos.

El interés agronómico de estos microorganismos no se restringe a la promoción del crecimiento de los cultivos y el mejoramiento del medio ambiente. Los microorganismos del suelo son marcadores biológicos de alta sensibilidad y podrían ser utilizados en el futuro para la clasificación de sistemas disturbados o contaminados. Los procesos microbiológicos del suelo son una parte integral de la calidad del suelo, por lo tanto es necesaria una mayor comprensión de éstos y de la estructura de las comunidades de microorganismos. Las poblaciones de microorganismos son capaces de proveer evidencias avanzadas de 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).

1.8 Prácticas agronómicas: Sistemas de labranza, fertilización y rotación

En los cultivos extensivos se utilizan distintas prácticas agronómicas con el propósito de obtener elevados rendimientos, sanidad y calidad, a fin de alcanzar una óptima rentabilidad. Sin embargo, muchas de estas prácticas han generado un deterioro de los recursos naturales y del ambiente, tal es el caso de la capacidad productiva de los suelos de algunas regiones, por lo que

actualmente se considera de importancia la incorporación de técnicas de manejo de suelo y de cultivos que permitan una producción sustentable.

Las labranzas incluyen un conjunto de técnicas cuyos objetivos son promover en el suelo cambios favorables de orden físico, químico y biológico que permitan obtener las óptimas condiciones para el nacimiento y crecimiento de las plantas. Los sistemas de labranza utilizados para la producción de trigo en Argentina estuvieron tradicionalmente basados en la labranza convencional, en la cual el suelo es labrado 2 o 3 veces previamente a la siembra. En la actualidad existe una adopción creciente de la siembra directa, reportándose datos de 43,4 % de la superficie implantada de trigo con este sistema en la región pampeana en el año 2001 (INDEC, Encuesta Nacional Agropecuaria 2001).

El uso reiterado de la labranza convencional puede impactar negativamente en el largo plazo sobre varios aspectos que hacen a la calidad del suelo, como se refleja en la reducción en el porcentaje de materia orgánica (Grace *et al.*, 1994), pérdida de estructura (Steed *et al.*, 1993), mayor riesgo de erosión (Packer *et al.*, 1992) y disminución de la biota benéfica del suelo (Haines & Uren, 1990; Gupta *et al.*, 1994). El mayor o menor grado de laboreo altera de manera diferencial y directa las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, determinando la ubicación y distribución de los residuos de cosecha. Se establecen así diferentes relaciones entre el ambiente edáfico creado por la labranza y los residuos, que requieren de ajustes diferenciales del resto de las prácticas de manejo (rotaciones, fertilización, control de plagas, enfermedades y malezas, manejo de cultivo, manejo de suelos, etc.).

Mannering & Feuster (1983) definen a la labranza conservacionista como todo sistema que reduzca pérdidas de suelo y agua respecto a los sistemas convencionales. Este tipo de labranza constituye una de las principales alternativas tecnológicas para contribuir a revertir la tendencia a la degradación de suelos destinados a la producción. La técnica de siembra directa o labranza cero pertenece a este tipo de práctica, y se basa en la no remoción del suelo, a excepción de la línea de siembra roturada donde se deposita la semilla de cultivo.

Como ya se señaló, la adopción del sistema de siembra directa ha aumentado considerablemente en nuestro país. Las causas que motivan la adopción de ésta técnica por parte de los productores son diversas, y entre otras se pueden mencionar: la mayor seguridad en la oportunidad de siembra, el beneficio en la economía del agua, la protección de la estructura del suelo, la posibilidad de aumentar la duración de los ciclos agrícolas, la mayor capacidad de siembra y una reducción sustancial en las cantidad de horas de trabajo dedicadas a las labranzas (Méndez Duhau & Satorre, 1998). Para la realización de la siembra directa se requiere un adecuado manejo de los rastrojos y de las malezas, fundamentalmente a través de herbicidas, y comprender el funcionamiento de un ambiente en la superficie del suelo con características biológicas particulares en cuanto a macro y microbiota, generadas básicamente por la presencia de una cobertura de rastrojo permanente en la superficie.

El uso continuo de la siembra directa tiende a mejorar las condiciones en la capa superficial de algunos suelos, ya que los residuos en superficie junto con la ausencia de laboreo establecen una dinámica del carbono que se traduce en una más lenta disminución y, eventualmente, en un incremento en la materia orgánica a lo largo del tiempo bajo agricultura (Alvarez *et al*., 1998b; Cambardella & Elliot, 1992). La presencia de una cobertura con residuos en los sistemas de labranza conservacionista mejora el almacenamiento de agua en el suelo, básicamente a través de la reducción de la evaporación por el efecto aislante de la cobertura y del mejoramiento de la infiltración (Hill *et al*., 1985; Griffith *et al*., 1986; Enz *et al*., 1988). La cobertura con rastrojos junto con el, por lo general, mayor contenido de agua en el suelo afectan la dinámica de las propiedades térmicas del mismo (Chidichimo & Asborno, 2000). Las temperaturas más bajas del suelo en siembra directa se relacionan con el reflejo de buena parte de la radiación incidente por los rastrojos y con los mayores requerimientos de calor en los suelos húmedos para aumentar su temperatura (Gupta *et al*., 1981). Los efectos térmicos de la cobertura pueden influir sobre la velocidad de los procesos bioquímicos y biológicos que ocurren en los centímetros superiores del suelo. Varios autores señalan la presencia de bioporos en siembra directa, formados por la actividad biológica, principalmente por acción de

lombrices y raíces, que serían efectivos para el movimiento del agua (Hill & Meza-Monsalvo, 1990; Pierce *et al.,* 1994).

La siembra directa ha sido resistida, en algunos ámbitos, debido a su potencial efecto contaminante. De acuerdo con esta visión, los cultivos sembrados sin laboreo requieren un intenso uso de herbicidas, fertilizantes y pesticidas, cuyos residuos pueden terminar en los alimentos, cursos de agua y fauna. La contaminación debida a fertilizantes y pesticidas perdidos del sistema vía lixiviación puede constituir un aspecto importante. Los casos más habituales se dan con los nitratos y los herbicidas preemergentes de alta solubilidad (Mulin, 2000). En este sentido, los poros generados por la actividad de las raíces o la micro y mesofauna del suelo son a menudo responsables de pérdidas mayores a las esperables, al facilitar el movimiento de estos elementos a través de la matriz del suelo (Endres & Ahrens, 1995; Myers *et al.,* 1995).

Existen evidencias que en algunos sistemas agrícolas la compactación puede aumentar con la adopción de siembra directa (Ball *et al.,* 1989). Varios autores han registrado valores mayores de resistencia a la penetración en Argiudoles de la región pampeana bajo siembra directa con respecto a labranza convencional (Balbuena *et al.,* 1996; Taboada *et al,* 1998; Soza *et al.,* 2003) y/o de densidad aparente (Golik *et al.,* 2004b). Dickey *et al.* (1983), señalan que existe una relación inversa entre los índices de cono registrados con penetrómetro y el rendimiento de los cultivos.

Estudios realizados en zonas húmedas enfatizan la importancia de un volumen adecuado de macroporos para mantener una permeabilidad óptima y una saturación relativa menor al 60 % (Carter, 1988). La reducción del volumen de macroporos es generalmente el primer resultado de la compactación excesiva del suelo. La relación entre la saturación relativa, el volumen de macroporos y el contenido de humedad del suelo puede ser crítico en relación con el desarrollo de podredumbres en las raíces de cereales en climas húmedos donde el contenido hídrico del suelo es alto (Sturz *et al.,* 1997) Es posible que, en algunos casos, la presencia de bioporos generados por raíces y la fauna del suelo pueda compensar la reducción de la macroporosidad en siembra directa, no afectando el crecimiento de las raíces. Sin embargo, es bien conocido que la longitud de las raíces es

inversamente proporcional a la impedancia mecánica del suelo (Bennie & Krynauw, 1985; Misra *et al.*, 1986; Greacen, 1986) y en algunas localidades de la región pampeana se han registrado disminuciones en el crecimiento radical en siembra directa con respecto a labranza convencional (Lantazi & Marelli, 1982; Golik *et al.* 2004b).

En los sistemas laboreados, los poros se forman por el reordenamiento de la fase sólida, por efecto de las herramientas de labranza. Como ya se señaló, en sistemas bajo siembra directa continua, los poros se forman por la actividad biológica, principalmente por acción de lombrices y raíces (Hill & Meza-Monsalvo, 1990; Pierce *et al.*, 1994). Debido a los diferentes orígenes de formación de poros, la distribución por tamaño, la orientación, la continuidad y la estabilidad de los poros difiere entre sistemas de labranza (Benjamin, 1993). Varios autores observaron en siembra directa, además de la disminución de la macroporosidad, una tendencia de estos macroporos a ser más alargados y orientados paralelamente a la superficie (Pagliai *et al.*, 1983; Shipitalo & Protz, 1987; Senigagliesi & Ferrari, 1993; Van den Bygaart *et al.*, 1999; Sasal, 2003). Ball & Robertson (1994) afirman que la tendencia hallada de esos poros a orientarse horizontalmente les otorga menor efectividad para el movimiento de agua y el intercambio de gases que los poros de igual tamaño y forma orientados verticalmente, por lo que es posible que sean menos propicios para la proliferación de las raíces.

Otra característica desfavorable distintiva de los sistemas de siembra directa es la estratificación de los nutrientes poco móviles, básicamente P y K, en los primeros centímetros del suelo, debido a la falta de incorporación con herramientas. Esta acumulación en superficie puede limitar su absorción por las plantas (Mallarino, 1998).

La respuesta del rendimiento de trigo a la reducción en las labranzas es dispar. Los rendimientos pueden incrementarse debido a la mayor humedad del suelo en las labranzas conservacionistas (Brandt, 1992; Peterson *et al.*, 1996). En otros casos, ocurren disminuciones de rendimiento en siembra directa (Senigagliesi & Ferrari, 1993; Sarandón *et al.*, 1997, Lázaro *et al.*, 2004), incluso en situaciones donde la disponibilidad de agua en el suelo aumenta (Bauer & Kucera,

1978). En los sistemas conservacionistas, las mayores cantidades de residuos en superficie pueden reducir la germinación del trigo y el stand de plantas debido al pobre contacto suelo-semilla generado y las condiciones menos uniformes de la cama de siembra respecto a la labranza convencional (Schillinger & Bolton, 1992; Soza *et al.*, 2003). Otras razones citadas para explicar los menores rendimientos en sistemas de labranza reducida incluyen las condiciones más frías y húmedas de los suelos (Papendick & Miller, 1977; Gauer *et al.*, 1982), las interacciones desfavorables entre las propiedades físicas del suelo y los sistemas conservacionistas (Cosper, 1983), la fototoxicidad de los residuos del cultivo anterior (Kimber, 1973; Cochran *et al.*, 1977), y el aumento de malezas, principalmente de gramíneas (Papendick & Miller, 1977). Asimismo, es frecuente que en los sistemas conservacionistas se produzcan incrementos en la intensidad de enfermedades foliares causadas por patógenos necrotróficos cultivos de trigo (Carmona & Reis, 1998; Krupinsky *et al.*, 2002; Cordo *et al.*, 2004). Se ha reportado que *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs. anamorfo *Drechslera tritici-repentis* (Died.) Schoem. suele incrementarse en labranza reducida (Kohli *et al.*, 1992; Simón *et al.*, 2001). También se han hallado mayores incidencias de *Gaeumannomyces graminis* en trigo en siembra directa (Prew, 1981; Sturz *et al.*, 1997).

Dinámica del N y sistemas de labranza

El nitrógeno se considera uno de los nutrientes más importante para la producción vegetal por las cantidades requeridas por los cultivos y por la frecuencia con que se observan deficiencias en suelos agrícolas, es así que la agricultura de altos rendimientos depende del uso de fertilizantes nitrogenados (Tisdale *et al.*, 1993). El ciclo del N presenta gran complejidad, debido a que este elemento se encuentra en la naturaleza en formas inorgánicas y orgánicas, a la vez que posee muchos estados de oxidación, lo que posibilita su movimiento en la atmósfera, la biosfera y la geósfera. Son conocidos los diversos tipos de pérdidas que ocurren luego de la aplicación de fertilizantes

nitrogenados, y por ello la respuesta a la fertilización nitrogenada en los cultivos depende de factores climáticos, edáficos, la fuente de fertilizante, la forma y momento de aplicación, entre otras causas (Tisdale *et al*, 1993).

La dinámica del nitrógeno en siembra directa difiere en muchos aspectos de la que ocurre en ambientes manejados con labranza convencional (Fox & Bandel, 1986). Como ya fue señalado, la siembra directa tiene consecuencias sobre las condiciones de temperatura, aireación y humedad del suelo y esto puede afectar la actividad de los microorganismos, muchos de los cuales intervienen en el ciclado de la materia orgánica (Aon *et al*., 2001; Diosma *et al.*, 2003). Asimismo, en los sistemas conservacionistas, la cantidad de residuos y la superficie de contacto reducida entre éstos y los microorganismos puede generar un microclima menos favorable para la mineralización de la materia orgánica y del N total que en la labranza convencional (Malhi *et al.*, 2001) que suele resultar en menores disponibilidades de N asimilable por las plantas (Doran, 1980; Daniel *et al.*, 1984). En ese caso, la adición de este nutriente en forma de fertilizante es una práctica que puede suplir las deficiencias. Sin embargo, es importante señalar que los cambios en el ambiente generados por los sistemas conservacionistas también afectan la eficiencia en la aplicación de los fertilizantes (Fox & Bandel, 1986).

La ausencia de remoción del suelo, la permanencia durante más tiempo de los residuos en proceso de descomposición, la mayor actividad biológica en superficie y los mayores contenidos hídricos que suelen registrarse en los suelos en siembra directa inciden sobre algunos procesos que pueden llevar a la pérdida de N del sistema (volatilización, desnitrificación, lavado) y/o a la menor disponibilidad de sus formas asimilables por los cultivos por inmovilización (Alvarez *et al*., 1998a). La cubierta protectora de los residuos produce diversos cambios en el suelo, afectando también la eficiencia de uso del nitrógeno. El mayor contenido de humedad frecuente en siembra directa, relacionado con la mayor cobertura de residuos que reduce el escurrimiento, aumenta la infiltración y disminuye la evaporación (Griffith *et al*., 1986) y la menor temperatura en el suelo (Gupta *et al.*, 1981) incrementan las posibilidades de pérdidas de nitrógeno por lixiviación de nitratos. Los

macroporos de origen biológico que se originan en este sistema pueden generar "flujos preferenciales" que aumenten las pérdidas de nitratos por ésta vía (Dimes *et al.*, 1996). Es dable esperar en siembra directa mayores pérdidas de N por desnitrificación debido a que las condiciones generales suelen ser de mayor anaerobiosis relativa como resultado de los mayores contenidos de humedad (Thomas, 1990).

Rotación de cultivos

La práctica de rotación consiste en la sucesión de cultivos en un lote en forma recurrente, y se considera que la composición de esta secuencia de cultivos constituye uno de los aspectos más determinantes del funcionamiento de los agroecosistemas (Altieri, 1999). La rotación es una práctica favorable ya que puede reducir pérdidas por malezas, plagas y epidemias de enfermedades (Baliddawa, 1985, Finckh & Wolfe, 1998). Las diferencias entre los requerimientos nutricionales de los cultivos incluidos en la rotación, la cantidad de residuos y la composición química de éstos, la profundidad de exploración de las raíces y su arquitectura son aspectos que influyen en el balance de nutrientes de los sistemas agrícolas (Reganold *et al.*, 1990; Campbell & Zentner, 1996; Grant *et al.*, 2002). El aumento de la diversidad en los cultivos, sea en forma espacial a través del policultivo (Sarandón & Chamorro, 2003) o temporal a través de la rotación, genera cambios ecológicamente favorables en el reciclaje de nutrientes, el control y regulación del microclima y los procesos hidrológicos locales, y la supresión de organismos indeseables (Altieri, 1999). Por lo tanto, la rotación de cultivos se considera una práctica de manejo que contribuye a la sustentabilidad de los sistemas agrícolas (Bullock, 1992).

Desde el punto de vista fitopatológico, el principio de rotación con especies no afines o disímiles en una sucesión de cultivos para minimizar el efecto de las enfermedades ha sido ampliamente estudiado (Reis, 1990; Sutton, 1990; Reis, 1992; Reis *et al.*, 1992). En casos de cultivo continuo o reiterado de una especie, se considera que la presencia de inóculo en los restos del cultivo

precedente aumenta el riesgo de algunas enfermedades, por ejemplo de la mancha amarilla del trigo producida por *Drechslera tritici-repentis* (Carmona, 2001) y otras causadas por agentes necrotróficos (Carmona & Reis, 1998). Como ya se mencionó, la siembra directa también crea condiciones propicias para el desarrollo de este tipo de enfermedades, por lo que reiteración del mismo cultivo en este sistema conservacionista constituye una situación desfavorable (Reis *et al.*, 2002).

1.9 Roles funcionales en Glomeromycota?

En el campo de la ecología del Reino Fungi, se han realizado pocas clasificaciones basadas en el estado sucesional (Dighton & Mason, 1985; Last *et al.*, 1987; Frankland, 1998; Hart *et al.*, 2001), características de historia de vida (Boddington & Dodd, 1999), características generalistas *vs.* especialistas (Wallenda & Kottke, 1998), y estrategias ecológicas (es decir: ruderales, competitivas, y tolerantes al stress) (Pugh, 1980). Estas clasificaciones fueron originalmente desarrolladas para las plantas (Clements, 1912; Grime, 1979; Tilman, 1985) y luego adaptadas para los hongos.

Existe abundante evidencia de la importancia ecológica de los HFMA, sin embargo el conocimiento sobre los distintos roles de las especies individuales de *Glomeromycota* es aún limitado. Numerosos trabajos señalan diferencias en la biología de las *taxa* pertenecientes este *phylum.* Algunas de esas diferencias están bien estudiadas, por ejemplo las existentes entre la ontogenia de las esporas y presencia o ausencia de esporocarpos (Morton & Benny, 1990; Walker, 1992). También se reconocen diferencias entre los niveles de colonización logrados por distintas especies de HFMA y la eficiencia de su simbiosis (Gianinazzi & Gianinazzi-Pearson, 1986; Sieverding, 1991), aunque los autores han encontrado resultados dispares en estos dos aspectos, probablemente debido a que el rango de respuesta no sólo es afectado por las especies de hongo, sino también por las condiciones de la planta hospedante y/o del suelo (Abbott & Robson, 1984). La habilidad para germinar, el patrón de germinación y la cantidad de micelio producido son caracteres que muestran un alto grado de variación entre las *taxa* de HFMA (Hepper, 1981), sin embargo los

registros de los diferentes autores difieren, posiblemente en razón de que la germinación de las esporas suele estar influenciada por diversos factores ambientales, por ejemplo los nutrientes del medio, pH, humedad, temperatura o exudados del hospedante (Tommerup, 1983; Hetrick, 1984; Hepper, 1983; Siqueira *et al.*, 1982). Algunos estudios han mostrado que la promoción del crecimiento de las plantas por las especies individuales de *Glomeromycota* depende de la combinación entre la especie de hongo y de planta que forman la simbiosis (Streitwolf-Engel *et al.*, 1997; van der Heijden *et al.*, 1998). Las especies de HFMA pueden también tener diferentes respuestas de crecimiento en su asociación con distintas especies de plantas (Johnson *et al.*, 1992; Sanders & Fitter, 1992; Bever et al., 1996). La habilidad para contribuir a la agregación de las partículas de suelo puede también diferir entre las especies de *Glomeromycota* (Wright *et al.*, 1996). Wilson & Tommerup (1992) señalaron diferencias en la agresividad y habilidad competitiva de distintas especies de HFMA. Existen trabajos que señalan que las *taxa* de *Glomeromycota* pueden tener distintas estrategias de colonización, y que estas diferencias estarían dadas por la utilización de diferentes fuentes de propágulo -esporas, hifas y raíces colonizadas- (Tommerup & Abbott, 1981; Biermann & Linderman, 1983; INVAM, 1993; Abbott *et al.*, 1994; Braunberger *et al.*, 1996; Brundrett *et al.*, 1999; Klironomos & Hart, 2002). En una revisión de trabajos recientes, Treseder (2005) plantea la hipótesis de que los HFMA difieren también en sus estrategias para la adquisición de C, N y P, e intenta establecer grupos funcionales.

En definitiva, varios autores plantean hipótesis acerca de los roles de las especies de HFMA en los ecosistemas. Muchos de ellos señalan posibles grupos funcionales, sin embargo los resultados logrados hasta la fecha no son categóricos en cuanto a los *taxa* incluidos en estos grupos.

La característica de los HFMA de ser simbióticos obligados y la imposibilidad de multiplicarlos en medios de cultivo, las escasas diferencias morfológicas entre las especies de estos hongos en las hifas y estructuras internas que obligan a una taxonomía basada en esporas, la gran ubicuidad de estos hongos y su capacidad de asociarse con un amplísimo rango de hospedantes, son algunos de los factores que hacen que sea complejo, pero a la vez interesante su estudio.

1.10 Efecto de las prácticas agronómicas sobre los HFMA

La agricultura genera cambios que afectan de forma directa e indirecta a la comunidad de microorganismos que constituye la rizófera. Los cultivos extensivos anuales actualmente se basan en la introducción de altas densidades de individuos coetáneos de una misma especie y variedad, lo que en sí mismo implica un cambio por la disminución en la biodiversidad de hospedantes con respecto a un ecosistema natural. Las prácticas agronómicas como las labranzas, siembra, fertilización, control de plagas, malezas, enfermedades y cosecha se concentran secuencialmente en el tiempo y puede modificar el efecto de la estacionalidad. La repetición en el tiempo de ciclos de siembra y cosecha de uno o dos cultivos por año interrumpen la sucesión. La introducción de elementos externos como fertilizantes y biocidas, y los cambios físicos, químicos y biológicos ocasionados por la labranza genera variaciones muchas veces complejas e impredecibles en la comunidad de microorganismos del suelo.

Los disturbios ocasionados por la agricultura pueden afectar directa o indirectamente la dinámica y biodiversidad de HFMA. Los HFMA, debido a su característica de simbiontes obligados, son profundamente afectados por los cambios en las especies de plantas hospedantes y poblaciones. En sistemas agrícolas, los cambios que ocurren anualmente y resultan en la eliminación completa de una especie de planta y su reemplazo, y las secuencias de cultivos que incluyen períodos de barbecho de distintas características y duración pueden producir efectos marcadamente positivos o negativos en la población de HFMA. Las prácticas agrícolas alteran la población de HFMA, la composición de especies y la colonización micorrízica (Kurle & Pflegger, 1994). El cultivo y sus prácticas, al afectar las comunidades de HFMA, pueden ocasionar variaciones en la absorción de P y la producción de biomasa.

Las especies cultivables difieren en su asociación con los HFMA y su dependencia micorrízica (Plenchette *et al.,* 1983), y las secuencias de cultivo pueden modificar el status

micorrízico del suelo (Hendrix *et al.*, 1995). En una secuencia de cultivos, la dependencia micorrízica de un cultivo antecesor puede afectar la formación de MA y el crecimiento del cultivo subsiguiente (Gavito & Miller, 1998; Arihara & Karasawa, 2000). Es ampliamente conocido que el cultivo antecesor afecta el crecimiento y rendimiento del cultivo siguiente (Karlen *et al.*, 1994; Bourgeois & Entz, 1996; Singer & Cox, 1998). En situaciones donde la disponibilidad de P es limitante, la diferencia en la colonización MA posiblemente sea uno de los determinantes principales del el efecto del cultivo antecesor sobre el crecimiento del siguiente (Thompson, 1991).

El efecto de la inclusión de un cultivo sobre las comunidades de HFMA de un suelo difiere si la especie introducida es hospedante o no de éstos hongos. Algunas plantas cultivables, como los miembros de la familia *Brassicaceae* y *Chenopodiaceae*, se consideran no-hospedantes. El cultivo con no-hospedantes disminuye las poblaciones de HFMA (Ocampo & Hayman, 1980), mientras que la monocultura de algunos cultivos agrícolas, como el trigo, aumenta la población de HFMA (Strzemska, 1975). Se ha demostrado que el cultivo previo con no-hospedantes reducen el potencial inóculo micorrízico, afectando el crecimiento y la absorción de P del cultivo posterior (Karasawa *et al.*, 2001).

Periodos de barbecho son a menudo incluidos dentro de las secuencias de cultivo. La ausencia de cultivos hospedantes en un barbecho puede reducir la población de HFMA, y este hecho probablemente constituya una de las causas del desorden de barbecho de largo plazo o "long fallow disorder" en maíz y otros cultivos (Thompson, 1987, 1991).

La secuencia de cultivos que se incluyen en la rotación parece cambiar la composición de especies de las comunidades fúngicas y reducir su diversidad, pero el impacto de esos cambios en la producción del cultivo no han sido evaluados en forma adecuada (Black & Tinker, 1979; Allen *et al.*, 1995; Hendrix *et al.*, 1995).

Poco es lo que se conoce acerca de los cambios de las propiedades microbiológicas del suelo con la siembra directa. La siembra directa modifica el ambiente suelo respecto a las labranzas convencionales, generando cambios en su biología y el desarrollo radical. Los cambios que generan

los distintos sistemas de labranza en los procesos funcionales inherentes a los agroecosistemas afectarían la dinámica de colonización de estos microorganismos y la esporulación. Miller *et al.* (1995) documentaron un caso interesante donde el disturbio en un suelo no labrado produjo un desarrollo reducido de los hongos formadores de micorrizas arbusculares y consecuentemente una menor absorción de fósforo en plántulas de maíz.

La aplicación de fertilizantes y enmiendas puede modificar las comunidades de HFMA en el suelo. Altas dosis de fertilizante fosfatado disminuyen el tamaño de las poblaciones de HFMA (Kruckelman, 1975). Un mayor abastecimiento de P es detrimental para la colonización y el crecimiento de las hifas (Abbott *et al.*, 1984; Thompson *et al.*, 1986).

En el caso del N, se ha reportado que muchos fertilizantes nitrogenados disminuyen la colonización en macetas y a campo en suelos bajo labranza convencional (Lanowska, 1966; Hayman, 1970; Chambers *et al.*, 1980; Land *et al.*, 1993). Debido a que el nitrógeno (N), fósforo (P) y carbono (C) son requeridos por los hongos micorrízicos, en muchos trabajos se postula que la disponibilidad de cada uno de esos nutrientes controla la abundancia de HFMA. Una de las hipótesis más aceptadas en ecología de micorrizas es la que señala que las plantas invertirían más C en los HFMA en suelos donde el N o el P limitan el crecimiento de las plantas (Mosse & Phillips, 1971). En caso de que la disponibilidad de N o P aumente, se esperaría una disminución en la abundancia de micorrizas al particionar las plantas los carbohidratos hacia otros destinos y entonces el crecimiento de los HFMA sería limitado por el C (Read, 1991). Sin embargo, existe la posibilidad de que los HFMA se encuentren limitados por la disponibilidad de nutrientes y proliferen siguiendo las adiciones de N o P. (Treseder & Allen, 2002).

Aunque se registra poca información acerca de los cambios en la composición de especies de HFMA teniendo en cuenta el tipo de labranza, esa relación existe (Menéndez *et al.*, 2001; Jansa *et al.*, 2002). Los cambios en el manejo del suelo pueden generar condiciones para que los cultivos sean prácticamente independientes de los HFMA, o eliminar ciertas especies de HFMA debido a que

aquellas i) no toleran las nuevas condiciones, o ii) no son capaces de colonizar las plantas hospedantes bajo esa situación; o iii) no son capaces de competir con otras especies de HFMA que dominan en las nuevas condiciones de crecimiento (Sieverding, 1991). Kurle & Pfleger (1994) señalaron que cuando se utiliza un sistema de labranza más intenso, al ser mayores los disturbios en el suelo, las especies de HFMA que esporulan más rápidamente serían favorecidas y las especies más dependientes de la red miceliar serían afectadas debido a la disrupción de ésta red. Jansa *et al.* (2002) hallaron una mayor biodiversidad de HFMA en sistemas de siembra directa. Los escasos trabajos a campo sobre biodiversidad de HFMA existentes muestran resultados muchas veces contradictorios. Existe también una tendencia a la generalización en el *phylum Glomeromycota*, sin tener en cuenta los diferentes grupos taxonómicos que comprende. El sistema de manejo en siembra directa, debido al menor grado de disturbios y el mantenimiento de los residuos en el suelo, probablemente genere cambios cualitativos en el banco de propágulos de HFMA en el suelo, favoreciendo distintos agrupamientos de especies de HFMA.

Los efectos de las prácticas agronómicas sobre las comunidades micorrízicas no han sido aún extensamente estudiados en condiciones de campo. La información sobre este tema es escasa para las áreas cultivables de nuestro país (Menéndez *et al.*, 2001). El presente trabajo tiene como finalidad incrementar el conocimiento sobre los efectos de la siembra directa y la labranza convencional y de la fertilización nitrogenada en la dinámica y biodiversidad de hongos formadores de micorrizas arbusculares y su manejo.

1.11 Fundamentos de la elección del tema de investigación

Las asociaciones micorrízicas ejercen una gran influencia en diversos procesos ecológicos y tienen una importancia actual y potencial en la agricultura. La mayoría de las investigaciones a campo sobre hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) realizadas en Argentina se han desarrollado en ecosistemas naturales, en consecuencia existe escasa información sobre las comunidades de HFMA en sistemas agrícolas. En otros países se han efectuado trabajos sobre estos hongos en agroecosistemas, sin embargo el conocimiento sobre el tema sigue siendo limitado. Asimismo, los resultados de dichos trabajos no son extrapolables si se tiene en cuenta que existen diferencias regionales en las comunidades de *Glomeromycota*, las condiciones edafo-climáticas y las prácticas de manejo de suelo y de los cultivos. Los estudios del efecto de la siembra directa sobre la biodiversidad de *Glomeromycota* son aún más escasos. El sistema de manejo de siembra directa en Argentina ha tenido una creciente difusión, por lo que actualmente nuestro país está ubicado entre los primeros en cuanto a la extensión de áreas cultivadas utilizando ésta práctica. Los motivos mencionados y la posibilidad de realizar una investigación de carácter interdisciplinario que integre estudios micológicos y agronómicos, a través de ensayos a campo y en laboratorio, han conducido a la elección del tema propuesto para el presente trabajo de tesis doctoral.

1.12 Hipótesis de trabajo:

Las diferentes prácticas agronómicas de labranza y fertilización afectarían la composición de las especies de hongos formadores de micorrizas arbusculares (diversidad de especies) y la cantidad de inóculo presentes en el suelo (densidad de propágulos). Dicho efecto tendría influencia sobre el éxito del establecimiento de la simbiosis intraradical.

1.13 Objetivo general

Evaluar el impacto de diversas prácticas agronómicas sobre la dinámica de colonización, densidad de propágulos y diversidad de especies integrantes de las comunidades nativas de hongos formadores de micorrizas arbusculares en cultivos extensivos.

1.14 Objetivos particulares

*Evaluar la dinámica de colonización de los hongos formadores de micorrizas arbusculares en diferentes estados fenológicos del cultivo de trigo, en distintos sistemas de labranza y fertilización.

*Establecer el nivel de infectividad micorrízica del suelo en los distintos tratamientos de manejo de suelo.

*Evaluar el efecto de la fertilización nitrogenada sobre la colonización micorrízica en plantas de trigo en siembra directa y labranza convencional en ensayos de campo y corroborar estas observaciones efectuando bioensayos en condiciones de laboratorio.

*Determinar el número de esporas de HFMA en situaciones de siembra directa y labranza convencional con distintas alternativas de fertilización nitrogenada, en diferentes estados fenológicos de un cultivo de trigo. Comparar con situaciones no disturbadas con vegetación espontánea. Analizar la viabilidad de estas estructuras.

*Estudiar la diversidad (H) de especies de hongos formadores de micorrizas arbusculares en los tratamientos mencionados, cuantificando dos de sus componentes: riqueza específica (S) y equidad (E). Determinar la contribución de las familias de *Glomeromycota* en cada una de esas situaciones. Caracterizar la estructura de las comunidades de HFMA en las situaciones evaluadas, estableciendo las tendencias de agrupamiento de las *taxa*.

*Aislar HFMA en laboratorio utilizando suelo, micelio, segmentos de raíces y plantas de trigo provenientes del campo como fuente de inóculo e identificar taxonómicamente las especies que se establecen a partir de los distintos tipos de propágulos. Relacionar las estrategias de las diferentes *taxa* de *Glomeromycota* en la utilización de propágulos con las variaciones observadas en las comunidades micorrízicas arbusculares en los sistemas de manejo de suelo evaluados.

*Determinar el efecto conjunto de la inoculación con hongos micorrízicos y la fertilización nitrogenada en distintas dosis sobre el crecimiento de plantas de trigo en bloques de suelo sin esterilizar provenientes de parcelas de siembra directa y labranza convencional, estudiando la biomasa aérea, radical y el contenido de nitrógeno en raíces.

MATERIALES Y MÉTODOS

En este apartado se enumeran en forma cronológica las tareas efectuadas a campo, en laboratorio y en gabinete, orientadas a obtener un mayor conocimiento acerca de la dinámica y biodiversidad de HFMA en distintos sistemas de labranza y fertilización nitrogenada en trigo. Posteriormente, se describen las distintas técnicas y materiales utilizados en el desarrollo de la presente investigación.

2.1 Caracterización de la zona de estudio

Los ensayos a campo, en los cuales se evaluó la comunidad de HFMA, se realizaron en la estación experimental "Ing. Agr. Hirschhorn" (Lat.: 34º 59' S, Long.: 57º 59'), perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata. Dicha estación experimental se encuentra ubicada en la localidad de Los Hornos, partido de La Plata.

Suelo

La estación experimental está ubicada en una loma con pendientes inferiores a 1%, comunes en la zona Sur de la Pampa Ondulada y Norte de la Pampa Deprimida. El suelo donde se realizó el ensayo responde a las características de un Argiudol típico con ligeras limitaciones en el drenaje interno, de textura franco limosa, y se lo incluye dentro de la serie Centeno fase por pendiente (Lanfranco & Carrizo, 1987). La tabla 1 muestra un perfil de suelo representativo de la Estación Experimental "Ing. Agr. Hirschhorn".

Horizonte	**Ap**	**BA**	**2Bt1**	**2Bt2**	**2BC1**	**2BC2**	**3BC3**
Profundidad (cm)	0-18	18-29	29-50	50-90	90-130	130-170	170-230
Agua útil (mm)		29,29		162,61		38	
Carbono org. (%)	1,33	0,6					
Nit. Total (%)	0,18						
Arcilla (%<0,002 mm)	21,3	32,6	49,8	51,8	46,6	38,3	35,8
Limo (% 0,002-0,05 mm)	53,2	45,6	38	36	44,5	48,2	47
Arena (% 0,05 - 0,1 mm)	22,4	20	12	12,2	8,9	12	15,2
Arena (% 0,1 - 0,25 mm)	3,1	1,8	0,2	0	0	1,5	2
Arena (% 0,25 - 0,5 mm)	0	0	0	0	0	0	0
pH agua rel 1:1	5,3	5,8	6	6,2	6,5	6,1	6,1
Ca (cmol + /kg)	11,2	17,2	24,5	25,1	25,2	25,1	25,8
Mg (cmol + /kg)	2,1	2,4	4,2	5,1	4,3	4,7	2,9
Na (cmol + /kg)	0,3	0,5	0,9	0,7	1,1	0,7	0,9
K (cmol + /kg)	1,8	1	1,8	1	0,9	2	0,8
Suma de Bases (cmol + /kg)	15,4	21,1	31,4	31,9	31,5	32,6	33,4
CIC (cmol + /kg)	16,2	23,1	33	32,4	29,1	27,6	27
Saturación de bases (%)	95	91,3	95,1	98	100	100	100

Tabla 1: Perfil del suelo de la Estación Experimental “Ing. Agr. Hirschhorn”

Clima

El clima del lugar donde se realizó el ensayo corresponde a **C Br**, subhúmedo, mesotérmico según Thornwaite & Mather (1957). La temperatura media mensual histórica del mes más cálido, enero, es de 24.2 º C y la del mes más frío, julio, es de 10.5 º C. Las precipitaciones oscilan entre los 800 y 1000 mm/año, y están concentradas en otoño y primavera, generando un balance hidrológico equilibrado o con ligeros excesos, aunque es manifiesta la sequía estival. Las temperaturas medias y precipitaciones totales mensuales históricas se muestran en la **figura 3**.

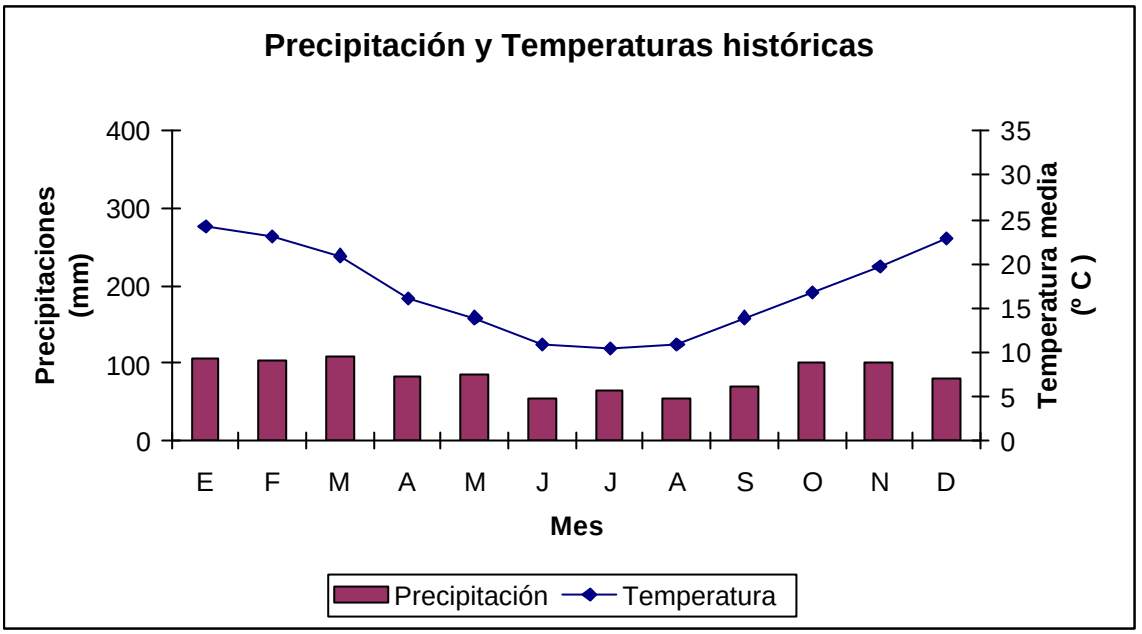


Figura 3: Temperaturas medias y precipitaciones totales mensuales históricas, promedio de 30 años, registradas por la estación meteorológica de la Estación Experimental "Ing. Agr. Hirschhorn"

Historia del lote donde se realizó el ensayo de labranza y fertilización

En el lote donde se realizó el ensayo de labranza, los distintos sistemas de laboreo se implementaron a partir del año 1993, manteniéndose desde esa fecha hasta la actualidad los tratamientos de siembra directa y labranza convencional en cada una de las parcelas. Desde la iniciación de estos ensayos se alternaron cultivos de soja de primera, trigo y maíz, y a partir del año 1999 se reiteró el cultivo de trigo en los sucesivos años. Por lo tanto, durante los años evaluados en la presente investigación se cultivó trigo, que fue hospedante de las comunidades de HFMA analizadas. En relación a los tratamientos de fertilización dentro de las parcelas de labranza, se mantuvieron las diferentes alternativas de fertilización nitrogenada.

2.2 Ensayos de campo:

Ensayos de labranza y fertilización nitrogenada:

El ensayo de labranza y fertilización nitrogenada donde se evaluaron las comunidades de HFMA en los años 2001, 2002, 2003 y 2004 estuvo compuesto de dos tratamientos de labranza: siembra directa (SD) y labranza convencional (LC) (**fig. 4**). Para el tratamiento LC se efectuó una labranza primaria con arado de reja y vertedera en otoño y labranzas secundarias que consistieron en un pasaje de rastra de discos de doble acción y una segunda labor con rastra de dientes antes de la siembra. Para la siembra se utilizó una sembradora modelo Deutz agroline. Los tratamientos de fertilización fueron: testigo sin fertilización nitrogenada (N0) y 90 kg/ha N (N90). El fertilizante nitrogenado utilizado, urea granulada, fue aplicado al voleo, en el momento de la siembra. La fertilización nitrogenada fue realizada teniendo en cuenta la ubicación de las parcelas de fertilización en los años anteriores. Por lo tanto, el ensayo consistió en 2 tratamientos de labranza y 2 de fertilización, en un ensayo de bloques al azar con 3 repeticiones y un arreglo factorial de 2x2. Las dimensiones de cada parcela fueron de 3.8 x 12 m. El control químico de malezas se realizó con una aplicación de Glifosato al 48 % 15 días antes de la siembra, y otra de Misil® (Dicamba 57.7% +Metsulfuron Metil A 60%) cuando el trigo presentaba 2-3 hojas expandidas.

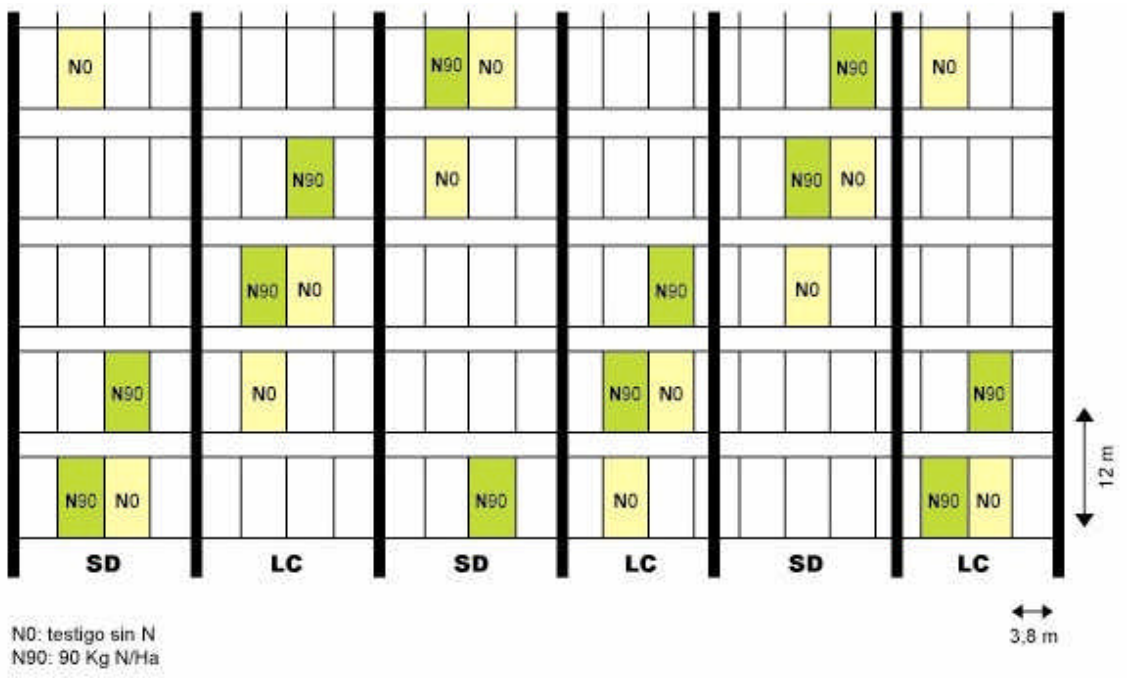


Figura 4: Esquema del ensayo a campo evaluado durante el presente trabajo.

SD: Siembra Directa; **LC**: Labranza Convencional

Figura 5: Fotografía del ensayo de labranza y fertilización donde se estudiaron las comunidades de HFMA (Estación Experimental "Ing. Agr. Hirschhorn").

Figura 6: Fotografía del ensayo de labranza y fertilización donde se estudiaron las comunidades de HFMA (Estación Experimental "Ing. Agr. Hirschhorn").

Figura 7: Fotografía del ensayo donde se estudiaron las comunidades de HFMA en el periodo de barbecho (Estación Experimental "Ing. Agr. Hirschhorn").

Ensayo de campo año 2001

El 5 de julio de 2001 se sembró trigo (*Triticum aestivum L.)* variedad Buck Pronto, con una densidad de 300 pl/m^2. Los análisis químicos de suelo en ese año a una profundidad de 20 cm mostraron la siguiente composición: **Labranza convencional**: MO: 3.38 %, P asimilable (Bray Kurtz): 11 ppm, Nitrógeno total: 0.18 %, Nitratos (ppm) 29, pH 5.8; **Siembra directa:** MO: 3.72 %, P asimilable (Bray Kurtz): 9 ppm, Nitrógeno total: 0.16 %, Nitratos (ppm) 30, pH 5.5.

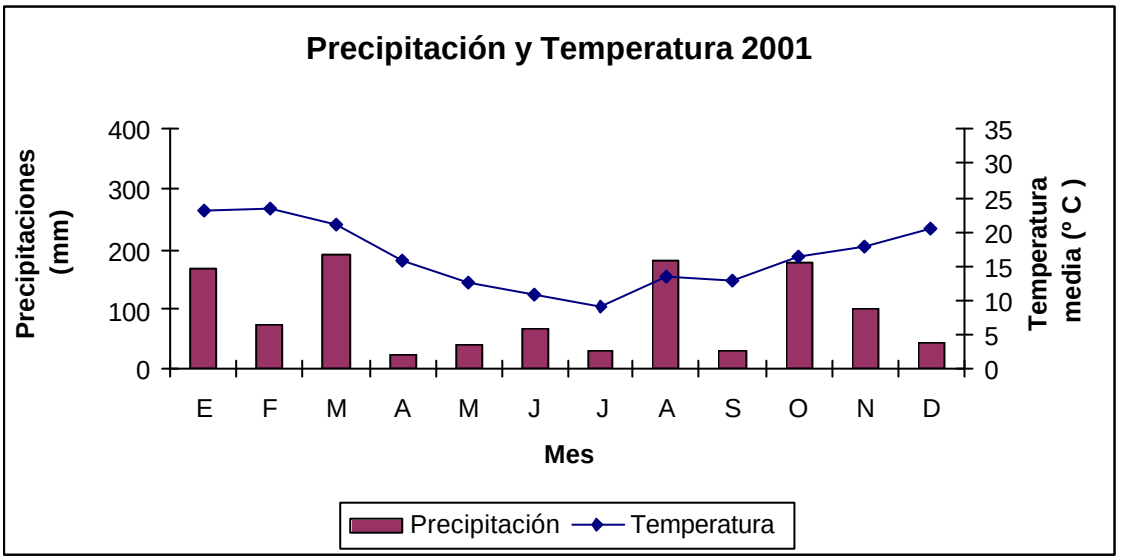


Figura 8: Temperaturas medias y precipitaciones totales mensuales registradas por la estación meteorológica de la Estación Experimental "Ing. Agr. Hirschhorn", año 2001.

En la **figura 9** se exponen los valores de densidad aparente y resistencia a la penetración en siembra directa y labranza convencional obtenidos por Golik *et al.* (2004a), así como la humedad del suelo en el momento en que se efectuaron estas mediciones.

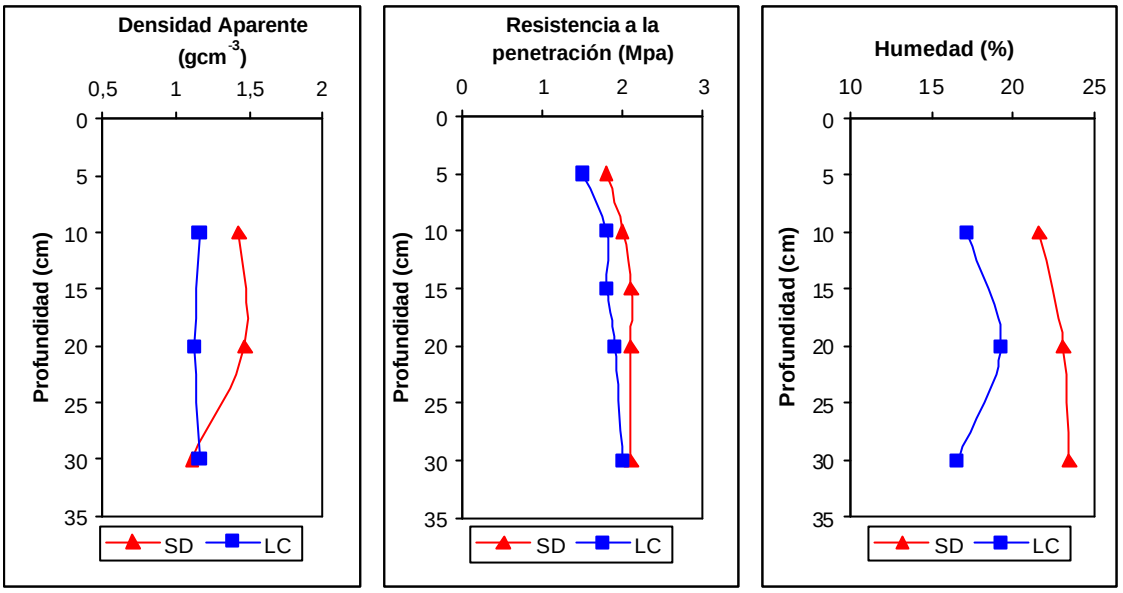


Figura 9: Densidad aparente (g cm^3), resistencia a la penetración (Mpa = Megapascales) y humedad (%) determinados en el ensayo de labranza

Durante ese año se realizaron muestreos en 3 estados fenológicos del cultivo de trigo: macollaje, floración, llenado de granos, y en el barbecho posterior. Se colectaron muestras de raíces y suelo rizósférico en cada uno de los bloques y tratamientos mediante un muestreo compuesto al azar, utilizando el método de serpentina (Dick *et al*., 1996). Para ello, se tomaron 5-6 submuestras dentro de un cuadro de 3 m^2, que fueron mezcladas para constituir una muestra compuesta. Las raíces y suelo rizósférico muestreado fueron utilizados para los estudios de colonización, número de esporas de HFMA y evaluación de la biodiversidad de estos hongos.

Ensayos de campo 2002

El 31 de julio de 2002, en el ensayo de labranza y fertilización, se sembró el cultivar Buck Pronto con la misma densidad de siembra que en el 2001. Los valores de los análisis químicos del suelo al momento de la siembra a una profundidad de 20 cm. en ese año fueron: **Labranza**

convencional: MO: 3.95 %, P asimilable (Bray Kurtz): 10.8 ppm, Nitratos (ppm) 41.07; **Siembra directa**: MO: 4.31 %, P asimilable (Bray Kurtz): 8.2 ppm, Nitratos (ppm) 23.4.

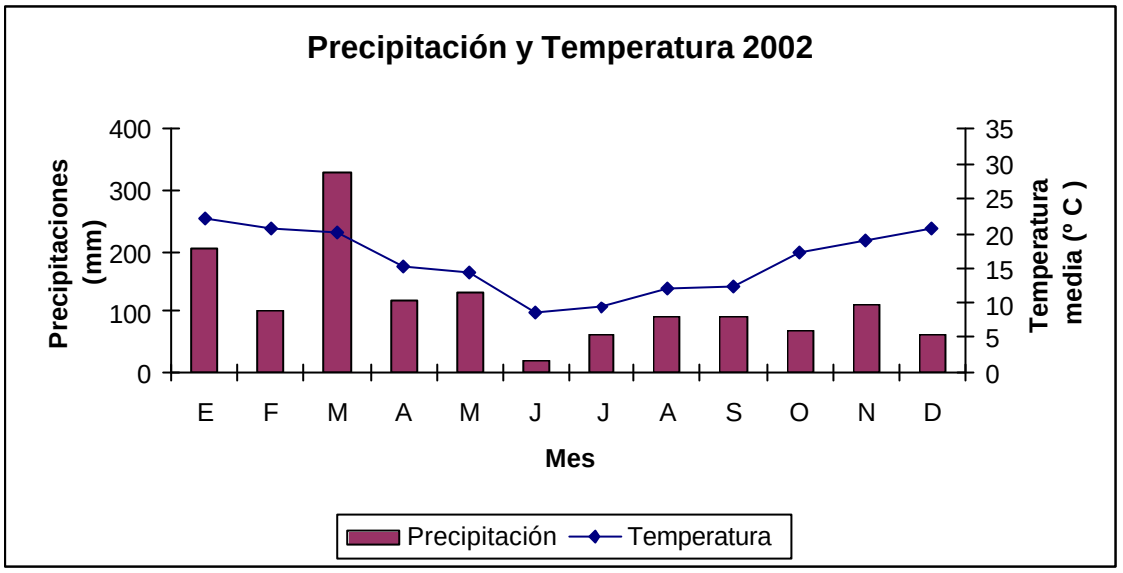


Figura 10: Temperaturas medias y precipitaciones totales mensuales registradas por la estación meteorológica de la Estación Experimental "Ing. Agr. Hirschhorn", año 2002.

Durante ese año se llevaron a cabo muestreos en 3 estados fenológicos del cultivo de trigo: macollaje, floración, llenado de granos, y en el barbecho posterior. El muestreo se efectuó de la misma manera que en año 2001. El material muestreado fue utilizado para los estudios de colonización, número de esporas y biodiversidad de HFMA, determinación del nivel de propágulos y análisis de contenido de P en raíces en floración.

En los meses de octubre y noviembre de ese año se evaluaron también las comunidades de HFMA en áreas cubiertas con vegetación, que se encuentran en los márgenes del ensayo y que no han sido cultivadas desde hace más de 20 años. Esta situación constituyó el tratamiento denominado campo no disturbado (CND). En este último tratamiento fueron identificadas las siguientes especies de plantas: *Ammi visnaga* (L.) Lam., *Avena fatua* L., *Briza minor* L., *Cynara cardunculus* L., *Cynodon dactylon* (L.) Pers., *Deyeuxia viridiflavescens* (Poir) Kunth, *Ipomea purpurea* L. (Roth), *Lolium perenne* L., *Plantago lanceolata* L., *Vicia sp* y *Xanthium cavanillesii* Schouw. En este tratamiento se evaluó la biodiversidad de esporas de HFMA.

Ensayos de campo 2003

El 16 de julio de 2003 se sembró nuevamente el cultivar de trigo Buck Pronto a la misma densidad que en los años anteriores.

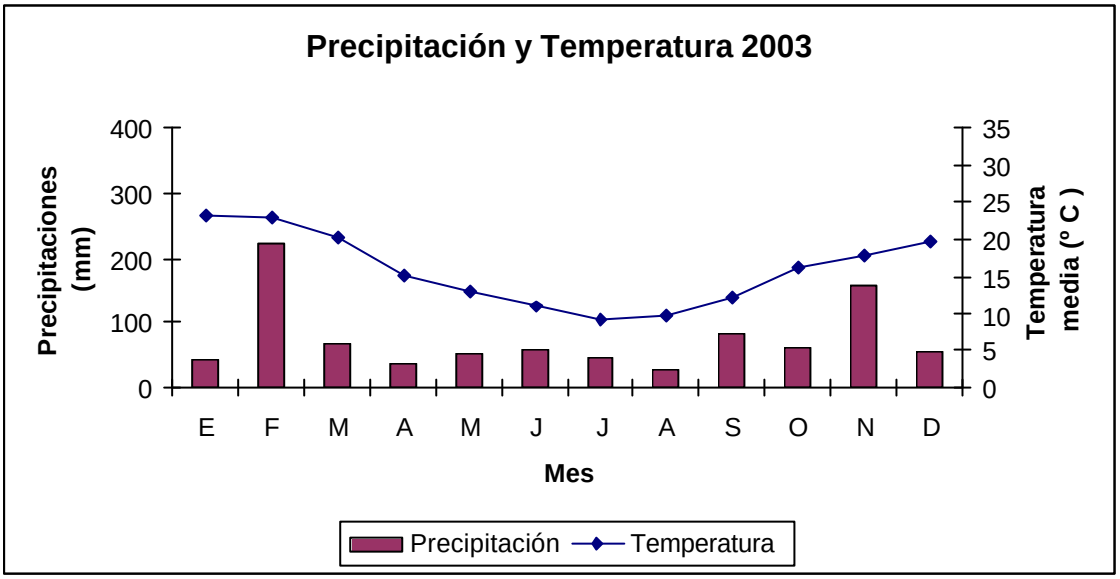


Figura 11: Temperaturas medias y precipitaciones totales mensuales registradas por la estación meteorológica de la Estación Experimental "Ing. Agr. Hirschhorn", año 2003.

En ese año se realizó un muestreo en el mes de septiembre, en forma similar a los efectuados en años previos, para determinar la biodiversidad de esporas en los tratamientos LCN0, SDN0 y CND. A partir de ese mes se cuantificó bimestralmente el número de esporas y su viabilidad.

El material para la realización de los aislamientos a partir de distintos propágulos, es decir suelo, plantas vivas y raíces, fue extraído del ensayo en el mes de septiembre de ese año.

Ensayos de campo 2004

Durante el año 2004 se continuaron con los muestreos bimestrales para la determinación del número de esporas y su viabilidad en los tratamientos LCN0, SDN0 y CND hasta el mes de julio, en el barbecho previo a la siembra de maíz que tuvo lugar durante el mes de septiembre.

En el mes de junio de ese año se extrajeron los bloques de suelo sin disturbar para la efectuar un bioensayo en macetas con suelo de los distintos tratamientos de labranza. En el citado bioensayo se realizaron tratamientos con inoculante de HFMA y distintas dosis de fertilizante nitrogenado.

2.3 Estudios de gabinete y laboratorio:

Los estudios de gabinete y laboratorio se llevaron a cabo en el Instituto de Botánica "Carlos Spegazzini", perteneciente a la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de la Universidad Nacional de La Plata.

Año 2001

Durante ese año fueron evaluadas las comunidades de HFMA en muestras de suelo y raíces tomadas en tres estados fenológicos del trigo: macollaje, floración y llenado de granos, y en el barbecho subsiguiente.

Para determinar la colonización de HFMA, las raíces de trigo fueron teñidas según el método utilizado por Phillips & Hayman (1970) (este trabajo, Sección 2.4.1, Pág. 55), observadas con microscopio estereoscópico, y luego se calcularon los porcentajes de colonización de acuerdo con la metodología propuesta por Giovannetti & Mosse (1980) (Sección 2.4.2, Pág. 56).

La extracción de esporas de suelo se efectuó mediante tamizado húmedo y decantado, siguiendo la técnica de Gerdemann & Nicolson (1963) y posterior centrifugado en gradiente de sacarosa (Walker *et al*., 1982) (Sección 2.4.4, Pág. 57). Las esporas de *Glomeromycota* se identificaron taxonómicamente (Sección 2.4.5, Pag. 58) comparando los especimenes con descripciones originales de las especies, especimenes voucher y aislamientos de referencia descriptos por International Culture Collection of Arbuscular and Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi. Posteriormente se calculó la dominancia y los índices de Shannon & Weaver: biodiversidad (H), riqueza específica (S) y regularidad (E) (Magurran, 1988).

Previamente al análisis estadístico, los porcentajes de colonización micorrízica fueron normalizados efectuando el arcoseno de la raíz de la proporción. Los datos del número de esporas fueron transformados utilizando la fórmula log (X+1). Estos resultados y los índices H resultantes de cada momento de muestreo se analizaron estadísticamente (ANOVA + LSD $P< 0.05$) empleando el programa Statgraphics plus version 3.0.

Año 2002

Las muestras de raíces y suelo rizosférico se recolectaron siguiendo la misma metodología que el año precedente. Se efectuaron muestreos en los mismos tratamientos que en año anterior, en tres estados fenológicos del cultivo: macollaje, floración y llenado de granos y el barbecho subsiguiente. Durante los meses de octubre y noviembre se realizaron también dos muestreos de suelo rizosférico en el tratamiento CND.

Para determinar la colonización micorrízica arbuscular, las raíces fueron clarificadas y teñidas (Phillips & Hayman, 1970) (Sección 2.4.1, Pág. 55) para luego ser examinadas con un microscopio Wild M20 mediante la técnica de McGonigle *et al*. (1990) (Sección 2.4.3, Pág. 56) que permite la

observación de diferentes estructuras fúngicas presentes en las raíces: hifas, puntos de entrada, arbúsculos y vesículas, calculándose los porcentajes en cada caso.

Se efectuaron análisis del contenido de P en raíces del trigo en floración, por el método de propuesto por Chapman & Pratt (1973). Se eligió este estado fenológico para efectuar las determinaciones debido a que normalmente en ese momento cesa el crecimiento de las raíces, manteniéndose su funcionalidad (Keulen & Seligman, 1987; Penning de Vries et al., 1989).

Ese mismo año se realizó la determinación del nivel de propágulos utilizando la metodología propuesta por Plenchette *et al.* (1989) (Sección 2.4.6, Pág. 59).

Como en 2001, se determinaron taxonómicamente las esporas de *Glomeromycota*, para luego calcular la dominancia y los índices de Shannon & Weaver (Sección 2.4.5, Pág. 58).

Los resultados obtenidos se transformaron y analizaron estadísticamente de la misma forma que en el 2001. Las pendientes resultantes de la evaluación la infectividad micorrízica del suelo, fueron comparadas utilizando la prueba LSD, con una significancia del 0.05.

Año 2003-2004

A partir de septiembre de 2003, y hasta julio de 2004 se determinó el porcentaje de viabilidad y el número de esporas totales de HFMA en los tratamientos LCN0, SDN0 y CND, en intervalos de 60 días, abarcando distintos estados fenológicos del trigo y el barbecho como también los cambios estacionales en la vegetación. Se extrajeron muestras en cada uno de los 3 bloques del ensayo. Para la extracción de esporas se utilizó la técnica de tamizado en húmedo y decantado (Gerdemann & Nicolson, 1963) y centrifugación en gradiente de sacarosa (Walker *et al*., 1982) (Sección 2.4.4, Pág. 57). Para la determinación de viabilidad se utilizó la técnica de An & Hendrix (1988) (Sección 2.4.8, Pág. 63). Los porcentajes de viabilidad de esporas fueron transformados por el arcoseno de la raíz de la proporción. El número de esporas se normalizó con la fórmula log (X+1). Los datos transformados

fueron procesados por análisis de la varianza y comparados utilizando el test LSD con una significancia del 0.05.

En el mes de septiembre de 2003, las esporas obtenidas los 3 tratamientos evaluados fueron identificadas y se calcularon los índices de biodiversidad de Shannon & Weaver (Sección 2.4.5, Pág. 58).

En el mismo mes se efectuaron los aislamientos con distintos tipos de propágulos, utilizando plantas trampa con suelo rizosférico, micelio obtenido de cada tratamiento, plantas transplantadas y raíces colonizadas (Sección 2.4.7, Pág. 60). Estos aislamientos fueron realizados con el fin de evaluar las especies de *Glomeromycota* que se obtienen a partir de dichas formas de propágulo proveniente de cada uno de los tratamientos del campo. En el año 2004, luego del crecimiento y senescencia de las plantas hospedantes, se extrajeron las esporas por tamizado húmedo y decantado (Sección 2.4.4, Pág 57), con la finalidad de identificarlas taxonómicamente (Sección 2.4.5, Pág. 58).

En junio de 2004 se realizó un bioensayo en macetas con bloques de suelo extraídos de los tratamientos LCN0 y SDN0 del ensayo a campo (Sección 2.4.9, Pág. 63). Dichos bloques de suelo fueron colocados en macetas, sin disturbar, y en éstas se sembró trigo. Se efectuaron tratamientos de inoculación con *Glomus mosseae* y se aplicaron distintas dosis de fertilización nitrogenada. Este ensayo fue realizado con el objeto de verificar las respuestas de los sistemas de labranza y fertilización sobre la colonización de HFMA y número de esporas obtenidas en el campo, evaluar la respuesta a la inoculación con HFMA en estos suelos y obtener información sobre la biomasa aérea y radical y la nutrición nitrogenada de las plantas de trigo. En las plantas de trigo y en suelo donde se efectuó el bioensayo se realizaron estudios de colonización (McGonigle *et al.*, 1990) (Sección 2.4.3, Pág. 56), extracción de esporas por tamizado (Gerdemann & Nicolson, 1963) y centrifugación en gradiente de sacarosa (Walker *et al.*, 1982) (Sección 2.4.4, Pág. 57), determinación de biomasa aérea y radical de las plantas de trigo, análisis de N y P en el suelo y contenido de N en raíces. Los porcentajes de colonización, arbúsculos, y vesículas, y el número de esporas fueron normalizados de

la misma forma que en los años anteriores. Estos resultados y la biomasa aérea y radical se procesaron con análisis de la varianza, y sus medias fueron separadas por ANOVA con un nivel de significancia de 0.05.

2.4 Descripción de las técnicas y ensayos realizados en laboratorio

2.4.1 Tinción de raíces micorrizadas

Para evaluar la extensión del sistema radical colonizada por MA se cortaron segmentos de raíces de 1 cm de longitud. Esta fracción fue tratada y teñida de acuerdo con la técnica descripta por Phillips & Hayman (1970). Este método consiste en sumergir las raíces en KOH al 10% y mantenerlas durante 20 minutos a 90º C. Una vez atacadas las cubiertas celulósicas de la raíz por ese procedimiento, se lavan los trozos de raíz repetidamente con agua para eliminar los restos de KOH y posteriormente se tratan 3 minutos con HCL 0.1 N a temperatura ambiente, con objeto de neutralizar su pH. Luego de ese procesamiento se procede a la tinción de las raíces. El colorante utilizado para visualizar las estructuras fúngicas es azul de tripano. Este colorante presenta afinidad por la quitina de la pared fúngica. El azul de tripano se disuelve al 0.05 % en ácido láctico y se mantiene en contacto con las raíces neutralizadas durante 5 minutos a ebullición. Pasado este tiempo se elimina el colorante y se conservan las raíces en ácido láctico. Esta tinción permite visualizar claramente las estructuras fúngicas en la raíz, ya que aparecen con un intenso color azul, fácilmente distinguibles.

2.4.2 Cuantificación del porcentaje de longitud de raíz micorrizada por el método de Giovannetti & Mosse (1980)

Esta técnica se utilizó para la cuantificación del porcentaje de raíz colonizada en el ensayo a campo en el año 2001, y en la determinación de la infectividad micorrízica del suelo (Plenchette *et al*., 1989), realizada en el año 2002.

Para realizar la cuantificación del porcentaje de longitud colonizada según Giovannetti & Mosse (1980) se extendieron al azar segmentos de raíces teñidas en cajas de Petri de 9 cm con grillas de 1 cm por lado. Estas raíces fueron examinadas con microscopio estereoscópico Wild M3, en donde se observó si eran portadoras o no del endófito formador de MA, a través de la visualización de la morfología diferenciada que presentan las estructuras características de la asociación y el color resultante de la tinción.

Para el cálculo del porcentaje de la longitud de raíces colonizadas, se determinó el número de intersecciones de las raíces con las líneas de las cuadrículas de las cajas, contando tanto las intersecciones de los trozos de raíz que presentaban micorrización en ese punto de cruce como las que no la presentaban. De acuerdo con los últimos autores citados y en base a un modelo matemático, el porcentaje de intersecciones que muestran micorrización con respecto al total de intersecciones se considera el porcentaje de longitud de raíz colonizada.

2.4.3 Cuantificación del porcentaje de longitud de raíz micorrizada, arbúsculos y vesículas por el método de McGonigle *et al.* (1990)

Este método se utilizó para la evaluación de la colonización MA en raíces del ensayo a campo en el año 2002, como también del ensayo con macetas efectuado durante el 2004. Se tiñeron segmentos de raíces de 1 cm. con azul de tripano según la metodología ya descripta (Phillips & Hayman, 1970). Luego, 10 segmentos de raíces fueron alineados en forma paralela a lo largo del eje

mayor de portaobjetos, montados en glicerina y cubiertos por cubreobjetos de 24 X 50 mm. Se montaron y observaron 10 portaobjetos por cada muestra. Las observaciones se realizaron con una magnificación de 200 X, utilizando un microscopio Wild M20. Se efectuaron 3 corridas completas a lo largo de cada portaobjeto, perpendicularmente al eje de los segmentos. Por lo tanto, se consideró la micorrización de 30 intersecciones en cada portaobjeto, es decir 300 intersecciones por cada una de las repeticiones.

Las intersecciones se cuantificaron según las siguientes categorías: "negativo" (ausencia de estructuras de HFMA en las raíces), "arbúsculos", "vesículas" e "hifas". El porcentaje de arbúsculos y de vesículas se calculó dividiendo el número de intersecciones con arbúsculos o vesículas por el número total de intersecciones examinadas. El porcentaje de colonización se calculó como la proporción de intersecciones no negativas.

Este método, a diferencia del método de Giovanneti & Mosse (1980) utilizado para los estudios de colonización en el 2001, permite la contabilización de arbúsculos y vesículas en las raíces.

2.4.4 Extracción de esporas

Para la extracción de esporas se realizó tamizado en húmedo y decantación de 100 g de suelo (peso seco) de cada submuestra, siguiendo la metodología propuesta por Gerdemann & Nicolson (1963), utilizando mallas de distinto tamaño (425, 250 y 75 µm). El material resultante fue centrifugado en gradiente de sacarosa al 80 % (Walker *et al*., 1982). La cuantificación se efectuó en cajas de Petri de 9 cm de diámetro con grillas de 1 cm por lado en un microscopio estereoscópico Wild M3 a 50 X. Se contaron diez divisiones, y se relacionaron con el número total de esporas, utilizando el método modificado por McKenney & Lindsey (1987).

La extracción de esporas fue necesaria para el estudio del número de esporas totales, diversidad y viabilidad en la comunidad de HFMA presente en los ensayos a campo y laboratorio.

2.4.5 Identificación taxonómica de esporas de *Glomeromycota* y estudios de biodiversidad

Para la identificación taxonómica, las esporas fúngicas fueron montadas en los portaobjetos utilizando PVA (Omar *et al.*, 1979) con y sin reactivo de Melzer (Morton, 1988). Los especimenes fueron comparados con las descripciones de las especies originales y aislamientos de referencia descriptos por la International Culture Collection of Arbuscular and Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM, West Virginia, USA, http://invam.caf.wvu.edu). En la mayoría de los casos, la identificación de las muestras fue corroborada a través de la observación de características morfológicas de las esporas obtenidas luego del tamizado y decantación. Estas observaciones se reconfirmaron a través de la comparación con esporas frescas de cultivos trampa. Muchas de estas especies se aislaron en cultivos monoespecíficos y se incorporaron al banco de germoplasma, colección de cultivo vivo de HFMA en el Instituto de Botánica "Carlos Spegazzini".

La dominancia de cada especie de HFMA identificada fue calculada a través de la fórmula: X_i/X_0 x 100, donde X_i = es la densidad de esporas de una especie y X_0 = el total de la población de esporas. Las diferentes especies taxonómicamente determinadas y sus dominancias permitieron calcular el índice de biodiversidad de Shannon & Weaver (H*)*; riqueza específica (S*)* y equidad (E*)*. La riqueza específica (S*)* es el número de taxa encontrados en las diferentes muestras. La diversidad específica (H*)*, que comprende la riqueza específica (S*)* y la equidad (E*)* pueden ser cuantificada de acuerdo con Magurran (1988)

$$H = \sum_{i=1}^{S} p_i \ (log_2 \ p_i) \qquad [1]$$

Donde p_i es la relación del número de individuos encontrados de la especie 1 sobre el total de individuos encontrados en todas las muestras analizadas.

La equidad "evenness" (E) mide la regularidad de la distribución de cada especie en los muestreos y está dada por:

$$E = \frac{H}{log_2 S} \qquad [2]$$

De la ecuación 2 puede deducirse que:

$$H = E\, log_2 S \qquad [3]$$

en la cual el índice de Shannon & Weaver aparece como el producto de los dos principales componentes de la biodiversidad: la regularidad de distribución o equidad y el número de especies. De esta manera, un incremento en la diversidad implica no sólo un aumento en el número de especies sino que también debe considerarse su distribución en la muestra (Frontier & Pichod-Viale, 1995).

El índice de Shannon-Weaver fue utilizado suponiendo una similar probabilidad de captura/encuentro de las especies debido al alto número de muestras analizadas.

Los resultados del índice H se procesaron estadísticamente utilizando análisis de la varianza, y las medias fueron comparadas utilizando el test de diferencias mínimas significativas (LSD), con un nivel de significancia de 0.05, utilizando el programa Statgraphics plus versión 3.0.

2.4.6 Determinación de la infectividad micorrízica del suelo (MSI_{50}) (Plenchette *et al.*, 1989)

El nivel de propágulos de HFMA fue determinado en el año 2002 a través de un bioensayo basado en el trabajo de Plenchette *et al.* (1989). Muestras de suelo de cada tratamiento (LCN0,

LCN90, SDN0, SDN90) se secaron al aire y luego se pasaron por un tamiz de 2 mm. de malla. Se realizaron cuatro diluciones mezclando el suelo original en distintas proporciones (100, 30, 10 y 3 %) con el mismo suelo autoclavado (1 hora a 120ºC repetidendo tres veces luego de un intervalo de 24 horas) para proveer una escala logarítmica de concentración. Macetas plásticas fueron llenadas con 150 ml de cada suelo o dilución y replicadas cuatro veces. Semillas de puerro (*Allium porrum* L.) fueron esterilizadas en superficie por 5 minutos con 5.5 % NaOCl diluído en nueve partes de agua esteril y cuidadosamente lavadas con agua esteril. Luego de cinco días de germinadas en arena esteril, se plantaron 10 plántulas en cada macetas que contenía las diluciones del suelo de cada tratamiento. Las macetas fueron ubicadas en invernadero a 24 $\pm$ 1ºC durante el día y 20 $\pm$ 1ºC durante la noche, y 16 horas de fotoperiodo provisto por lámparas halógenas. Las plantas de puerro se colonizaron dependiendo del nivel de inóculo de cada uno de los tratamientos de suelo. Cuatro semanas después del transplante, las plantas de puerro fueron cosechadas, y entonces se evaluó la colonización radical (Phillips & Hayman, 1970). La infectividad micorrízica del suelo (IMS_{50}) fue calculada utilizando análisis de regresión (Plenchette *et al*., 1989) y las pendientes *b* resultantes fueron comparadas utilizando la prueba LSD, con una significancia del 0.05.

2.4.7 Aislamientos de *Glomeromycota* a partir de distintos tipos de propágulos

En este ensayo se realizaron aislamientos con plantas trampa a partir de suelo, raíces colonizadas, plantas de trigo transplantadas y micelio provenientes de los distintos tratamientos de labranza (LC0N: Labranza convencional; SD0N: Siembra Directa) y CND (Campo no disturbado), para determinar y cuantificar las especies de HFMA que predominan a partir de diferentes tipos de propágulos.

Obtención de especies de *Glomeromycota* a partir de suelo

Muestras de suelo proveniente de cada uno de los tratamientos del campo fueron mezcladas con sustrato perlita-vermiculita tindalizado (1:1 v/v) y colocadas en macetas, y posteriormente se transplantó en ellas plántulas de sorgo y alfalfa pre-germinadas en sustrato esteril. El transplante se realizó el 29 de septiembre de 2003. Se realizaron 12 repeticiones por cada uno de los tratamientos, en las cuales en 6 se transplantó sorgo y en 6 alfalfa. Se efectuaron riegos periódicos con agua filtrada. Luego de la senescencia de las plantas, se identificaron las esporas de *Glomeromycota* formadas a partir de los propágulos del suelo, extrayéndolas mediante tamizado húmedo (Gerdemann & Nicolson, 1963) y centrifugado en gradiente de sacarosa (Walker *et al*., 1982). Cabe aclarar que en este tipo de aislamiento están presentes las 3 formas principales de propágulos: esporas, micelio y segmentos de raíces colonizadas.

Obtención de especies de *Glomeromycota* a partir de raíces

Las raíces de plantas de trigo de 50 días, provenientes de cada uno de los tratamientos del ensayo a campo, fueron lavadas, cortadas en segmentos de igual tamaño y esterililizadas en superficie con hipoclorito de sodio al 5 %, siguiendo el mismo criterio que se utiliza para esterilizar esporas en superficie (Wartud, 1982). Se colocaron 1-3 g de raíces en sustrato perlita-vermiculita esterilizado. Posteriormente, fueron transplantadas plántulas de sorgo y alfalfa como se describió anteriormente. También se utilizaron raíces de la vegetación espontánea para el tratamiento CND. Se realizaron 6 repeticiones para cada uno de los tratamientos, donde en 3 macetas se plantó sorgo y en 3 alfalfa. Se realizaron riegos frecuentes con agua filtrada y se aplicaron semanalmente 10 ml de solución nutritiva (Cabello, 1997) en cada maceta. Dicha solución nutritiva estaba compuesta por: $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.75 mM; $NaNO_3$, 1 mM; K_2SO_4, 1 mM; $CaCl_2 \cdot 2H_20$, 2 mM; $Na_2HPO4 \cdot 12H_20$, 3.2

µM; FeNa-EDTA, 0.025 mM; $MnSO_4 \cdot 4H_20$, 5 µM; $CuSO_4 \cdot 5H_20$, 0.25 µM; $ZnSO_4 \cdot 7H_20$, 0.5 µM; H_3BO_3, 0.025 mM; $NaMoO_4 \cdot 2H_20$, 0.1 µM.

Obtención de especies de *Glomeromycota* a partir de plantas transplantadas

Plantas de trigo de 50 días provenientes de cada uno de los tratamientos del ensayo a campo fueron transplantadas en macetas conteniendo sustrato perlita-vermiculita tindalizado. Estas plantas, que habían sido colonizadas en el campo por las especies más infectivas, formaron esporas en las macetas, las cuales fueron extraídas e identificadas. Además de los riegos con agua filtrada, se aplicaron 10 ml de solución nutritiva (Cabello, 1997) en cada maceta, con frecuencia semanal.

Obtención de especies de Glomeromycota a partir de micelio proveniente de tamizados

En estos aislamientos se utilizó como propágulo de HFMA el micelio de *Glomeromycota* proveniente cada uno de los tratamientos del campo. Se efectuaron 2 tamizados húmedo (Gerdemann & Nicolson, 1963) y centrifugado en gradiente de sacarosa (Walker *et al*., 1982) con 25 g de suelo para cada una de las repeticiones de los aislamientos. En cada uno de los tamizados, se extrajeron las esporas utilizando una micropipeta hasta la ausencia de las mismas en el líquido. El micelio contenido en ese líquido proveniente del tamizado de suelo de cada tratamiento del campo, fue colocado con una pipeta en macetas que contenían sustrato perlita-vermiculita tindalizado. Posteriormente, se transplantaron plantas de sorgo y alfalfa, constituyendo el micelio aplicado el único tipo de propágulo de HFMA para esas plantas. Se realizaron 6 repeticiones de cada tratamiento, donde en 3 se transplantó sorgo, y en 3 alfalfa. Semanalmente se aplicaron 10 ml por maceta de solución nutritiva (Cabello, 1997).

Pasados los 6 meses de los transplantes, se realizaron tamizados con las técnicas descriptas anteriormente y se identificaron taxonómicamente las esporas presentes en los 4 tipos de aislamientos llevados a cabo.

2.4.8 Viabilidad y Número de esporas totales

A partir de septiembre de 2003, y hasta julio de 2004 se determinó el porcentaje de viabilidad y el número de esporas totales de HFMA en los tratamientos LC0N, SD0N y CND, en intervalos de 60 días (6 muestreos). Se extrajeron muestras de cada uno de los 3 bloques del ensayo de labranza, totalizando 3 repeticiones por tratamiento. La viabilidad de esporas se determinó mediante el procedimiento de An & Hendrix (1988). Las suspensiones de esporas fueron diluídas 1:1 con solución stock de 0.5 mg MTT ml^{-1} e incubadas por 40 horas. Con este método las esporas viables desarrollan un color rojo con la tintura vital de bromuro de tetrazolio MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-yl) 2,5-difenil-2H-bromuro de tetrazolio].

Para la determinación de las esporas totales se secó el suelo en estufa a 70 º C durante 24 horas para expresar los resultados en número de esporas/100 g suelo seco. Luego, se realizó la transformación Log (X+1) y se efectuaron los análisis estadísticos.

2.4.9 Bioensayo en macetas con bloques de suelo intactos

El 15 de junio de 2004 se extrajeron bloques enteros de suelo siguiendo la metodología de Bellgard (1993) en los tratamientos de LC0N y SD0N, y se colocaron cuidadosamente, sin disturbar, dentro de macetas plásticas de 3000 cm^3. Las macetas con suelo no disturbado de cada tratamiento de labranza fueron trasladadas al Instituto Spegazzini, lugar donde se realizó el ensayo. En el mismo

sitio donde se extrajeron los bloques se colectaron muestras de campo, en las cuales se determinó el número de esporas/100 g suelo seco de suelo de cada uno de los tratamientos de labranza evaluados.

El ensayo consistió en 2 tratamientos de labranza: Labranza Convencional (LC) y Siembra Directa (SD), 3 tratamientos de fertilización: sin fertilizante nitrogenado (0), fertilizado con una cantidad equivalente a 80 kg N/ha (80), y con un equivalente a 160 kg/ha (160); y 2 tratamientos de inoculación: sin inoculante (N) e inoculado con *Glomus mosseae* (I). Por lo tanto las 12 combinaciones de los tratamientos fueron denominadas: LC0N, LC0I, LC80N, LC80I, LC160N, LC160I, SD0N, SD0I, SD80N, SD80I, SD160N, SD160I.

Se realizaron 5 repeticiones de cada tratamiento, de las cuales 3 fueron utilizadas para la evaluación del porcentaje de colonización, número de esporas y determinación de la biomasa aérea y 2 para cuantificar la biomasa radical y el contenido de nitrógeno en la raíz.

Una semana previa a la siembra del trigo, se colocó el inoculante con HFMA, en el centro de la maceta, perforando con un sacabocados de 1 pulgada de diámetro, sin disturbar la zona adyacente a la perforación. En cada maceta se colocaron 40 g de inoculante con una densidad de 20120 esporas de *Glomus mosseae* (speg) en 100 g de sustrato seco (densidad de esporas promedio de 3 repeticiones). Luego, el inoculante fue cubierto con el mismo suelo extraído de la maceta. Se utilizó perlita-vermiculita 50% v/v como sustrato del inoculante. En los tratamientos no inoculados se colocó perlita-vermiculita autoclavada (1 hora a 120º C repitiendo tres veces luego de un intervalo de 24 horas), de la misma manera que se dispuso el inoculante. El 24 de junio de 2004 se sembraron 6 semillas de trigo por maceta, dispusiendose éstas radialmente al orificio donde se aplicó en sustrato. La variedad sembrada de trigo fue Buck Pronto. La fertilización nitrogenada se realizó al día siguiente a la siembra, colocando cantidades de urea granulada equivalentes a 80 y 160 Kg N/Ha. Se incorporó el fertilizante nitrogenado en forma superficial para evitar pérdidas por volatilización.

Luego de la emergencia de las plantas, ocurrida el 10 de julio, se realizó un raleo para obtener 2 plantas por maceta.

Se realizaron riegos periódicos con agua filtrada, aplicando el mismo volumen de agua para cada maceta. Se utilizó lámparas incandescentes blanco-frías y Grolux® para complementar la radiación natural durante 8 horas diarias. Se rotaron las macetas diariamente, para obtener condiciones similares de luz en cada uno de los tratamientos.

Las plantas fueron cosechadas el 8 de octubre, en el estado de crecimiento 31 de Zadoks *et al.* (1974), cuando presentaban el primer nudo aéreo visible. Al momento de cosecha se determinó la resistencia a la penetración con un penetrómetro de cono bajo norma ASAE S 313.2 (ASAE, 1992), y el contenido hídrico del suelo mediante el sensor de humedad Hidrosense Soil Moisture. De las 5 repeticiones efectuadas para cada tratamiento, 2 fueron utilizadas para evaluar la biomasa radical. Para la obtención de la totalidad de raíces en las macetas, el suelo de éstas se procesó en laboratorio mediante lavados sucesivos y filtrados con mallas de 450 µ. El material de raíces obtenido fue secado a estufa a 70º C durante 48 horas y pesado en balanza analítica. Posteriormente a la determinación de la biomasa radical, se determinó el N total en raíces mediante el método Kjeldahl.

Las raíces de 3 repeticiones por cada tratamiento fueron teñidas (Phillips & Hayman, 1970) y se observaron y cuantificaron las estructuras internas para calcular el porcentaje de colonización, de arbúsculos y de vesículas (McGonigle *et al.*, 1990). Los datos de colonización fueron transformados por el arcoseno de la raíz de la proporción, y analizados estadísticamente en un análisis de la varianza por el método de las diferencias mínimas significativas, con un nivel de significancia de 0.05 utilizando el programa Statgraphics plus version 3.0.

En 3 repeticiones de cada tratamiento se extrajeron las esporas de HFMA del suelo mediante tamizado en húmedo (Gerdemann & Nicolson, 1963) y decantación con gradiente de sacarosa (Walker *et al.*, 1982). Se cuantificaron las esporas nativas y las esporas de *Glomus mosseae* provenientes de la inoculación. El suelo se secó a estufa a 70º C por 24 horas, para determinar el porcentaje de humedad, y expresar el resultado en número de esporas/100 g de suelo seco. Los resultados del número de esporas/100 g de suelo seco fueron transformado por log (X+1) según aconseja Sieverding (1991) y se realizaron los análisis estadísticos por ANOVA.

Se efectuaron análisis de P (Bray Kurtz I) y N total (Kjeldahl) en las muestras de suelo al momento de la finalización del ensayo. También se llevaron a cabo análisis del contenido de N en raíz (Kjeldahl).

RESULTADOS EXPERIMENTALES

En este apartado se exponen los resultados de la colonización, infectividad micorrízica del suelo, biodiversidad, número y viabilidad de esporas, obtenidos de las muestras de suelo y raíces de los ensayos realizados en la estación experimental durante los años 2001, 2002 y 2003. También se muestran los resultados de los aislamientos efectuados a partir de distintos tipos de inóculo, y de las evaluaciones realizadas en el bioensayo con suelo intacto en macetas en el año 2004.

3.1 Colonización, arbúsculos, vesículas e infectividad micorrízica del suelo

Año 2001

El porcentaje de longitud de raíz colonizada en el año 2001, durante distintos estados fenológicos en los tratamientos de labranza y fertilización analizados se muestran en la **figura 12**. En ese año, este porcentaje registró diferencias significativas entre los distintos tratamientos en el estado de macollaje, donde los valores de colonización en siembra directa fueron superiores a los de labranza convencional. No se observaron diferencias entre los tratamientos fertilizados y no fertilizados durante esa etapa fenológica. En floración y llenado de granos no se diferenciaron significativamente los tratamientos. La colonización registró un incrementó desde el macollaje hasta la etapa de llenado de granos.

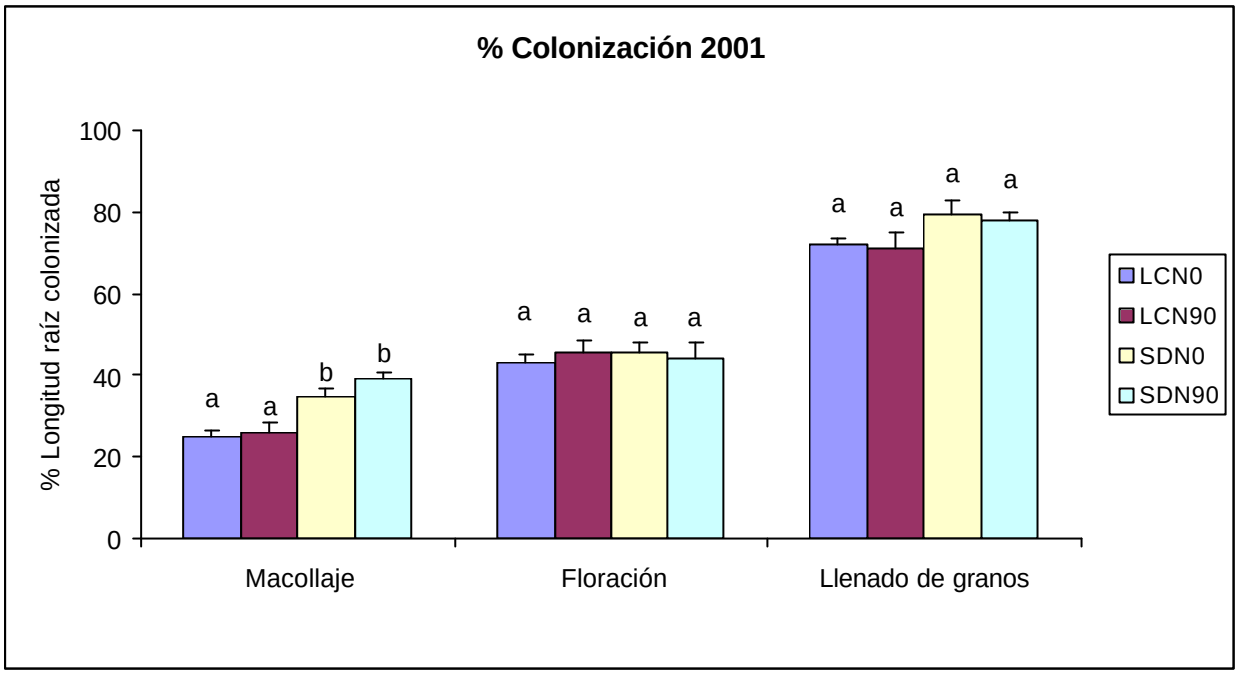


Figura 12: Porcentaje de raíz colonizada en distintos estados fenológicos del trigo, en los distintos tratamientos (LCN0: Labranza Convencional sin fertilizante nitrogenado; LCN90: Labranza Convencional con fertilizante nitrogenado; SDN0: Siembra directa sin fertilizante nitrogenado; SDN90: Siembra Directa con fertilizante nitrogenado). Diferentes letras en las columnas muestran diferencias significativas (LSD≤0.05). Los datos son promedios de tres repeticiones (bloques). Las barras de error indican la desviación estándar.

Año 2002

En ese año, durante el estado de macollaje, el porcentaje de colonización fue mayor en los tratamientos de siembra directa (**Fig. 13**). En floración y llenado de granos, la colonización resultó significativamente mayor en SDN0 que en el resto de los tratamientos, los cuales no se diferenciaron significativamente.

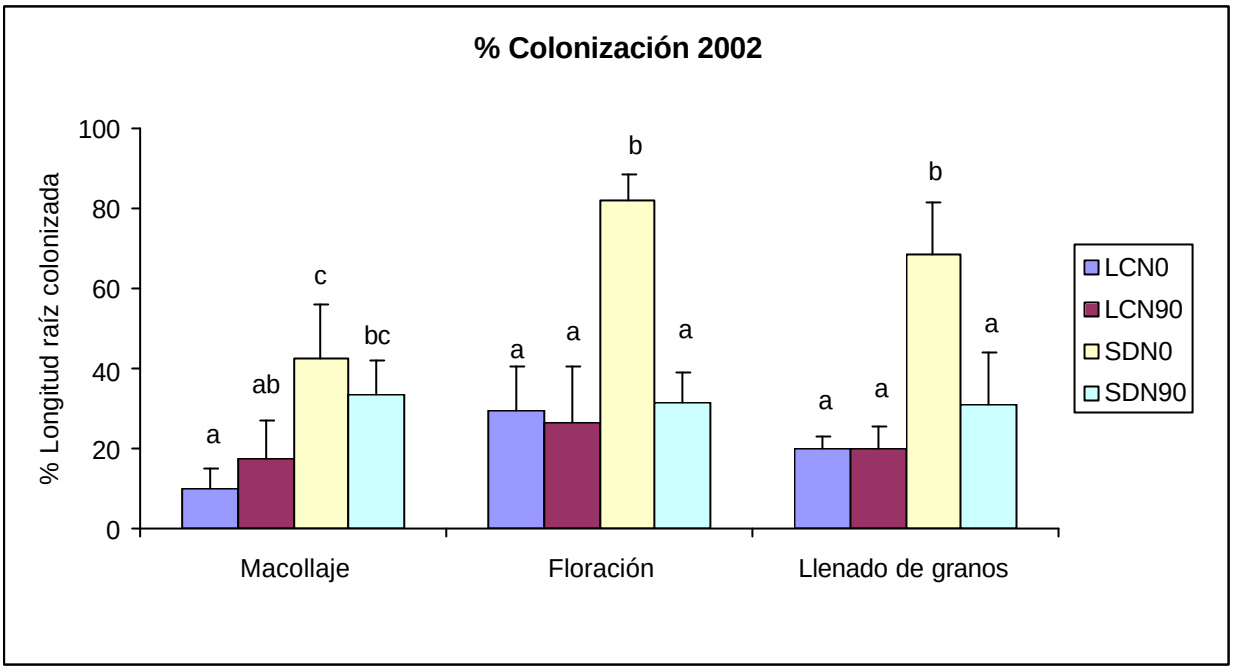


Figura 13: Porcentaje de longitud de raíz colonizada en el cultivo de trigo en los tres estados fenológicos analizados, en el año 2002. Los valores son promedio de tres muestras separadas. Las barras de error señalan en desvío estándar. La misma letra sobre las barras dentro cada estado fenológico indica que los valores no difieren significativamente utilizando ANOVA de una vía y LSD ($P<0.05$)

Los porcentajes de hifas + puntos de entrada (**Fig. 14**) de los tratamientos de siembra directa fueron significativamente mayores que los de labranza convencional durante el macollaje. En floración y llenado de granos, los valores más altos de este porcentaje se observaron en SDN0, el cual se diferenció en forma significativa de los demás tratamientos.

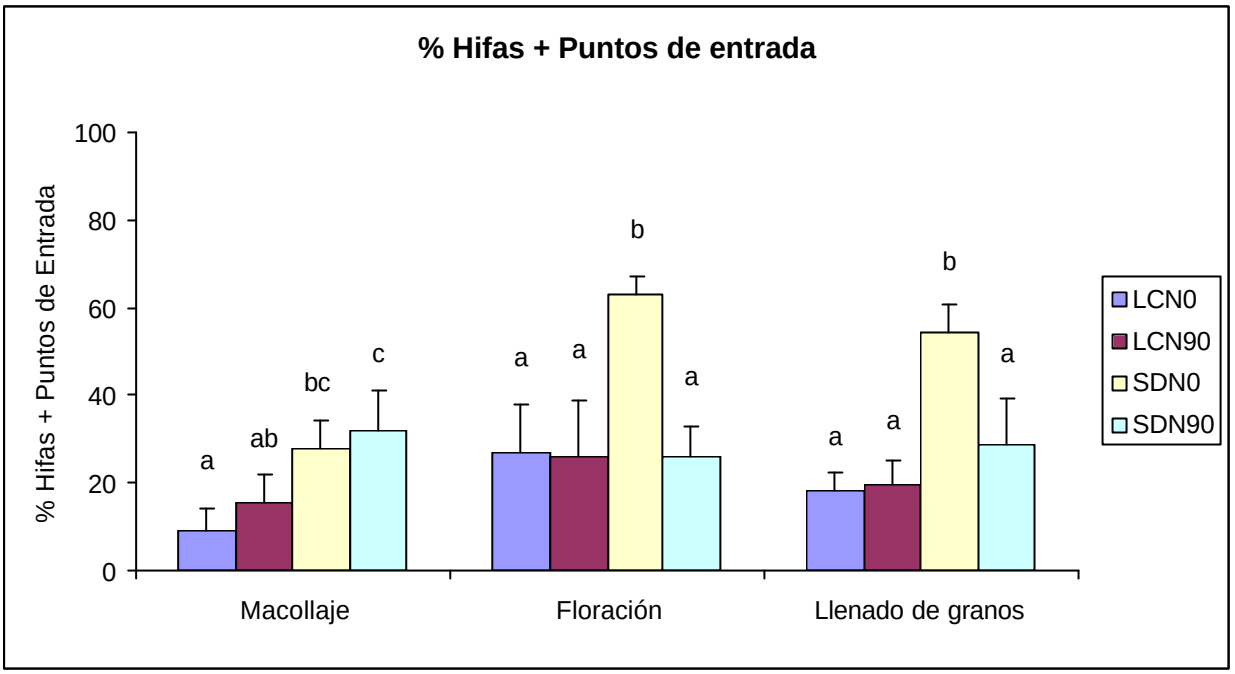


Figura 14. Porcentaje de hifas más puntos de entrada. Las notaciones son las mismas que en Fig. 12

El porcentaje de arbúsculos (**Fig. 15**) en el tratamiento de siembra directa sin fertilización nitrogenada fue alrededor de diez veces mayor que el registrado en los demás tratamientos durante los estados de macollaje y floración. En este último estado se registraron valores significativamente más bajos en LCN90. Durante el llenado de granos se encontraron pocos arbúsculos, y no se registraron diferencias significativas entre los tratamientos.

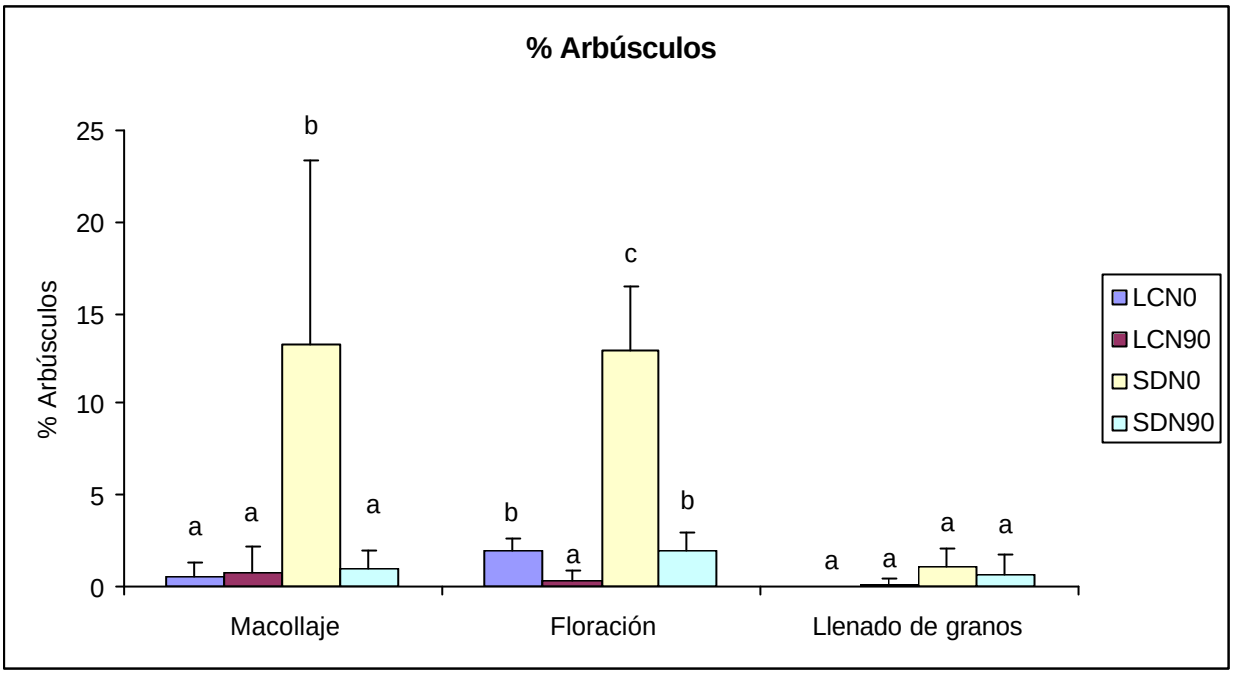


Figura 15. Porcentaje de arbúsculos. Las mismas notaciones que en Fig. 12

En cuanto al porcentaje de vesículas, se registraron pequeños valores en todos los tratamientos (**Fig. 16**). No se detectaron diferencias significativas entre estos porcentajes durante el macollaje, mientras que en floración y llenado de granos los valores fueron marcadamente mayores en el tratamiento de SDN0.

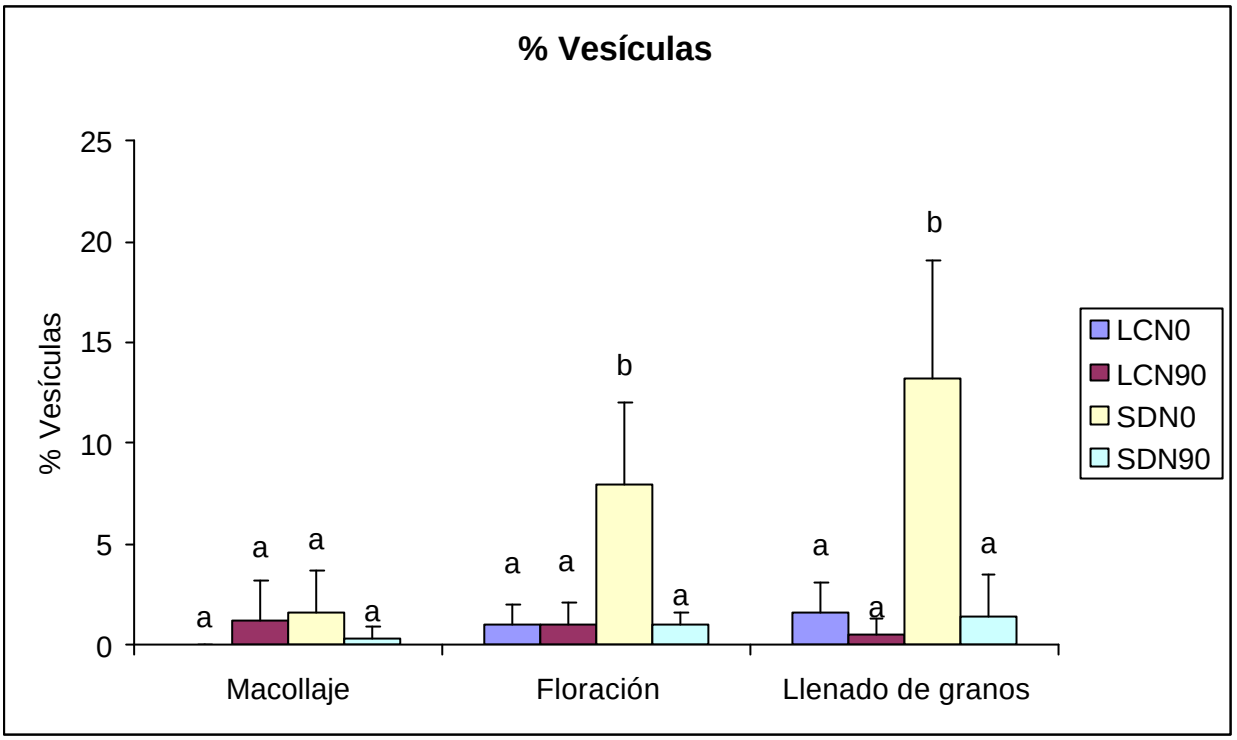


Figura 16: Porcentaje de vesículas. Las mismas notaciones que en Fig 12.

En relación al contenido de P en raíces, evaluado en el estado de floración, se destaca que el tratamiento SDN0 registró valores superiores, estadísticamente significativos (**Fig. 17**).

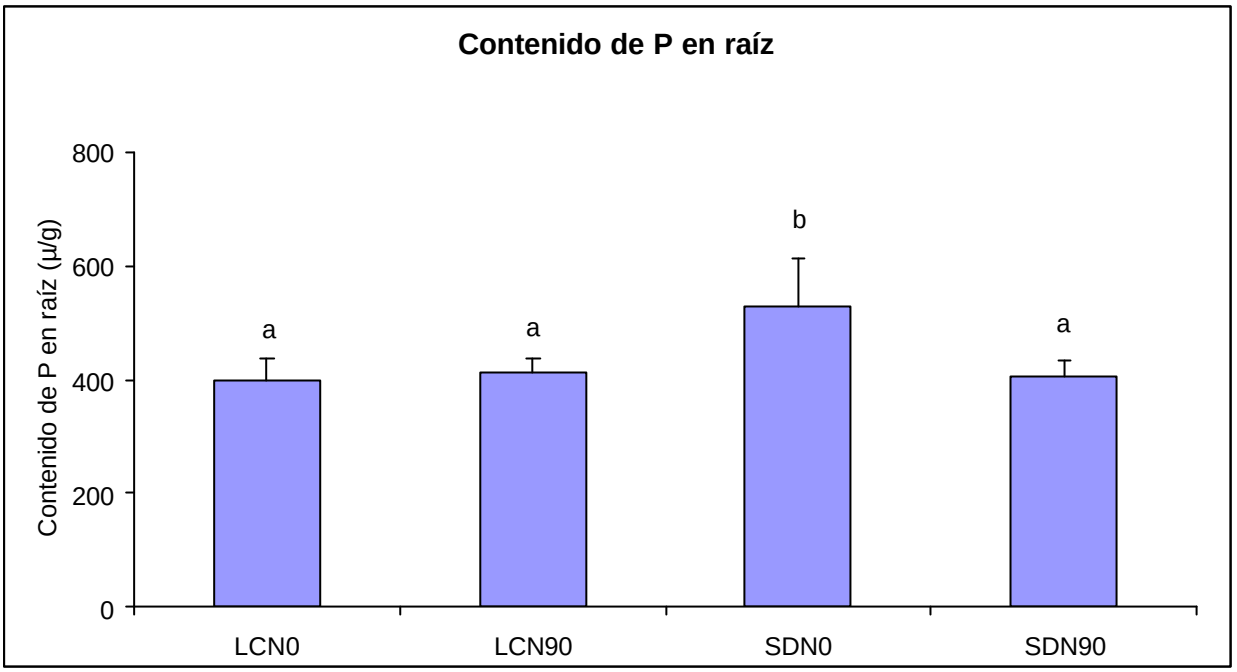


Figura 17: Porcentaje de fósforo en raíces. Las mismas notaciones que en Fig. 12.

El nivel de propágulos o infectividad micorrízica del suelo (IMS_{50}) y las pendientes *b* de los tratamientos de siembra directa fueron significativamente superiores a los de labranza convencional, mientras que no se hallaron diferencias entre los tratamientos fertilizados y no fertilizados (**Tabla 2**).

	r^2	*a*	*b*	IMS_{50}/100 g suelo
LCN0	0.74	-0.077	0.29 b	3.47
LCN90	0.8	-0.12	0.29 b	4.9
SDN0	0.86	0.027	0.52 a	12.3
SDN90	0.9	0.036	0.52 a	12.75

Tabla 2: Características de las curvas de regresión y estimación de la infectividad de los tratamientos estudiados. Nota: *a*: eje *Y*; *b*: pendiente; r^2: coeficiente de determinación. Dentro de las columnas, los valores no seguidos de la misma letra son significativamente diferentes mediante el test de LSD ($P<0.05$).

3.2 Número de esporas y viabilidad

Año 2001

El número de esporas en 100 g de suelo seco en el año 2001 presentó dinámicas diferentes según el sistema de labranza evaluado (**Fig. 18**).

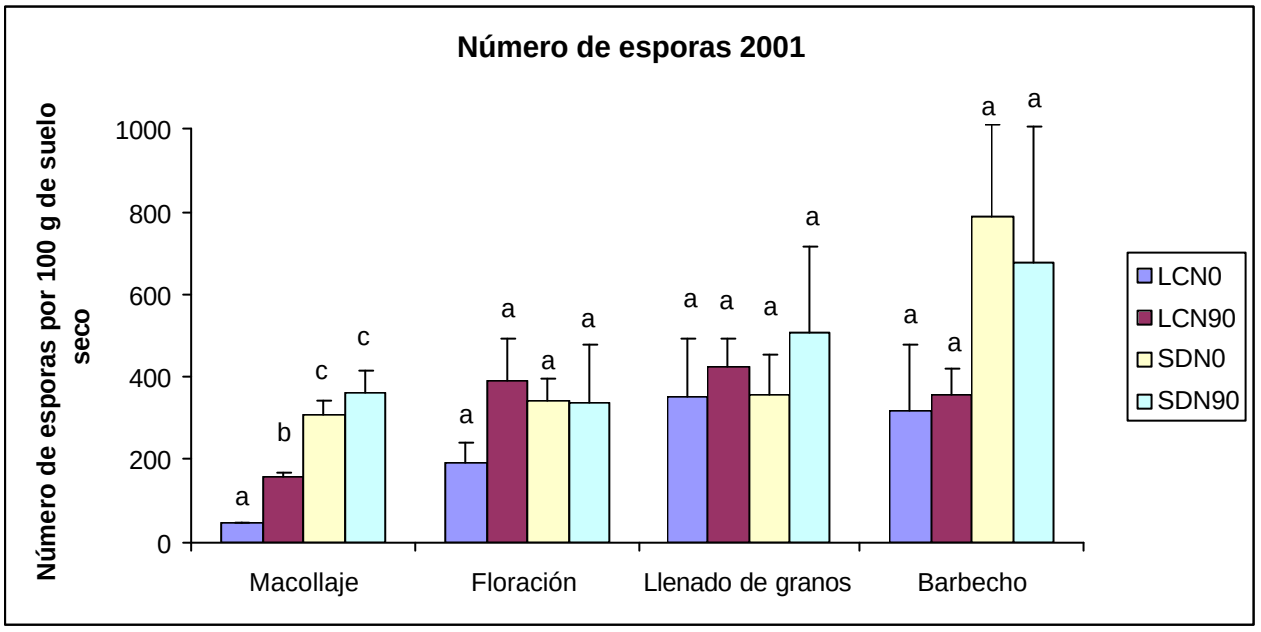


Figura 18: Número de esporas en 100 g de suelo seco en los estados fenológicos del trigo evaluados durante el año 2001, en los distintos tratamientos. Abreviaciones igual que figura 12. Diferentes letras en las columnas muestran diferencias significativas entre los tratamientos (LSD≤0.05).

En el tratamiento de labranza convencional sin fertilizante se partió de un nivel muy bajo de esporas en el macollaje que luego se incremento ampliamente hasta la floración y el llenado de granos. En cambio, en labranza convencional con fertilizante el número de esporas se duplicó desde el estado de macollaje hasta floración y se mantuvo en los mismos valores hasta llenado de granos y barbecho. En siembra directa, independientemente del nivel de fertilización, el número de esporas se mantuvo estable durante todo el ciclo del cultivo. Entre los tratamientos sólo se observaron

diferencias significativas en estado de macollaje, registrándose un mayor número de esporas en siembra directa con respecto a labranza convencional, así como también mayores valores en labranza convencional con fertilizante respecto a las parcelas no fertilizadas.

Año 2002

El número de esporas totales en los distintos estados fenológicos y el barbecho durante el 2002 se expone en la **figura 19**.

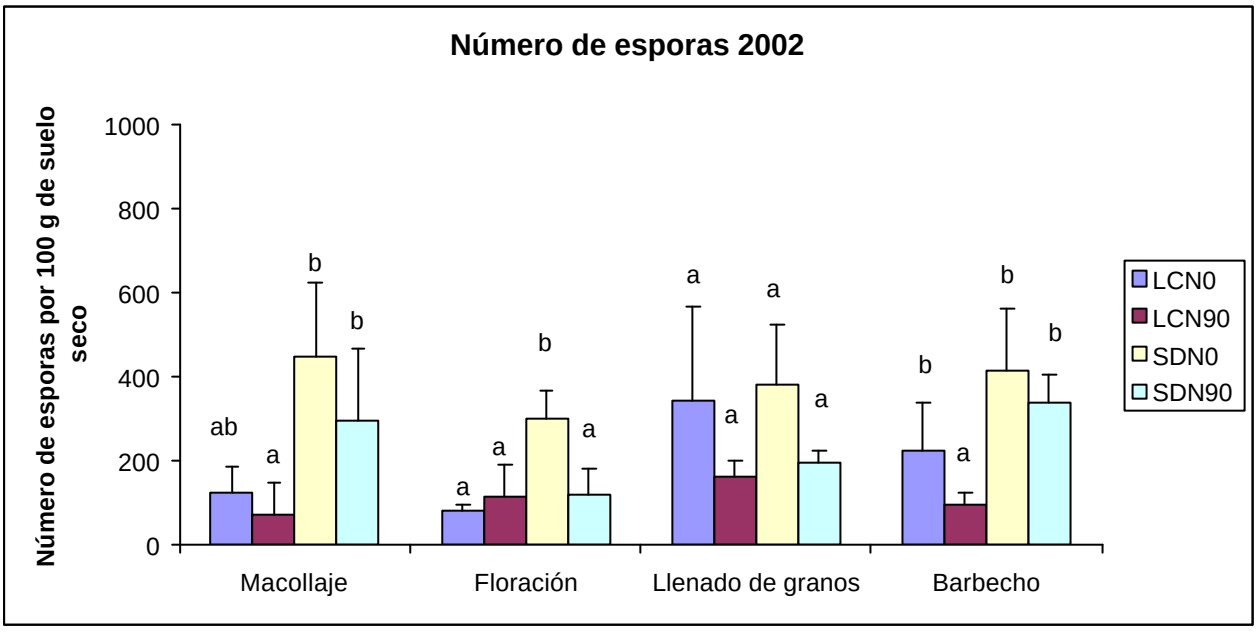


Figura 19: Número de esporas en 100 g de suelo seco en los estados fenológicos del trigo evaluados durante el año 2002, en los distintos tratamientos. Abreviaciones igual que figura 12. Diferentes letras en las columnas muestran diferencias significativas entre los tratamientos ($LSD \leq 0.05$).

En el macollaje de 2002 el número de esporas de los tratamientos de siembra directa fue significativamente mayor que los registrados en labranza convencional. En el estado de floración, en el tratamiento SDN0 se halló un número de esporas significativamente mayor que en los demás tratamientos. En llenado de granos no existieron diferencias significativas entre los tratamientos, mientras que en el barbecho LCN90 registró un número de esporas significativamente menor. Existió un incremento en el número de esporas en labranza convencional a lo largo del ciclo del

cultivo. En los tratamientos de siembra directa los valores se mantuvieron relativamente estables, aunque el registrado en macollaje fue levemente mayor que el de floración y llenado de granos.

Años 2003-2004

El número de esporas, evaluado bimestralmente desde septiembre de 2003 hasta julio de 2004 en los tratamientos de labranza convencional (LC), siembra directa (SD) y campo no disturbado con vegetación espontánea (CND) se grafica en la **figura 20**.

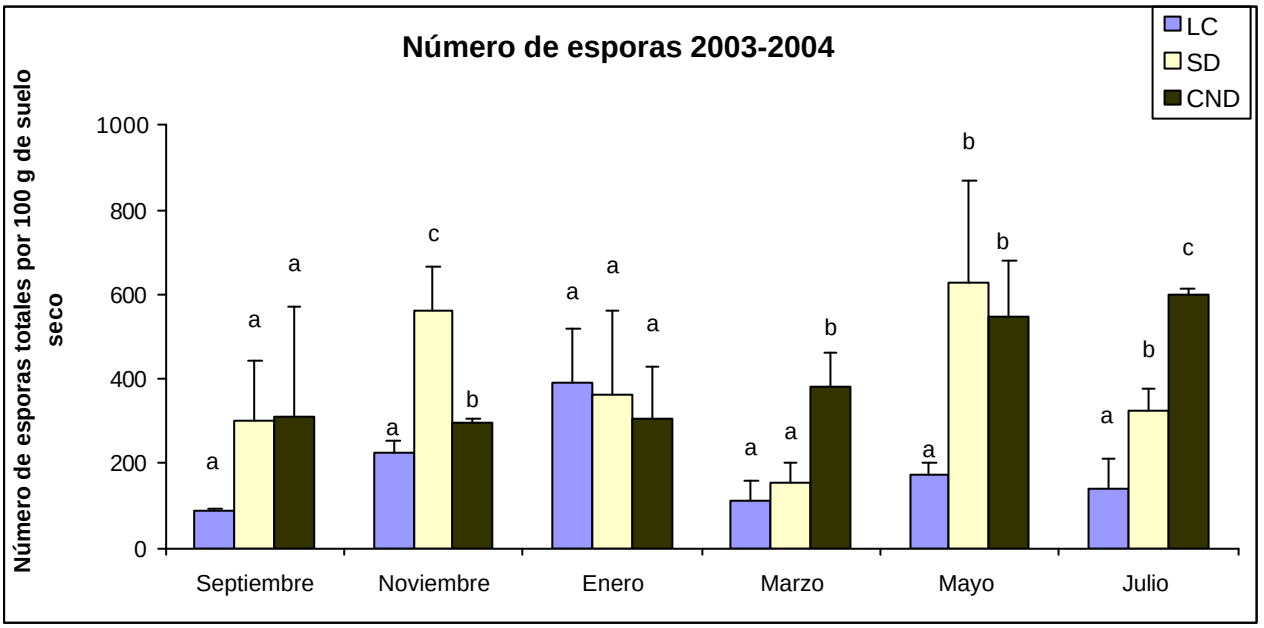


Figura 20: Número de esporas en 100 g de suelo seco en los tratamientos LC, SD y CND, desde septiembre de 2003 hasta julio de 2004, en muestreos con frecuencia bimestral. Diferentes letras en las columnas muestran diferencias significativas entre los tratamientos (LSD≤0.05).

En esta figura se observa un incremento del número de esporas durante el ciclo del cultivo. En LC este aumento fue más continuo que en SD, y se registró desde septiembre (macollaje) hasta enero (rastrojo temprano). En SD el número de esporas se incrementó desde septiembre hasta noviembre (llenado de granos). En el mes de septiembre no se registraron diferencias significativas entre los tratamientos. En noviembre el número de esporas en SD fue significativamente mayor que

el hallado en CND, y éste último que el de LC. Dos meses más tarde, en enero de 2004, no se diferenciaron significativamente los tratamientos. En marzo, CND registró cantidades de esporas significativamente mayores que las halladas en el rastrojo del cultivo en SD y LC. Posteriormente, CND y SD registraron un mayor número de esporas que LC en el mes de mayo. En julio, en el tratamiento CND se observó un número de esporas significativamente mayor que los hallados en los rastrojos de los tratamientos cultivados, diferenciándose también éstos últimos con un mayor número de esporas en SD con respecto a LC. En conclusión, en bs tratamientos LC y SD se registraron incrementos en el número de esporas, coincidentes con el ciclo del cultivo de trigo, y una disminución en el barbecho, mientras que en el tratamiento de CND los mayores valores fueron hallados en el otoño, y los menores en primavera.

La viabilidad de esporas registró variaciones significativas en los momentos muestreados (**Fig. 21**).

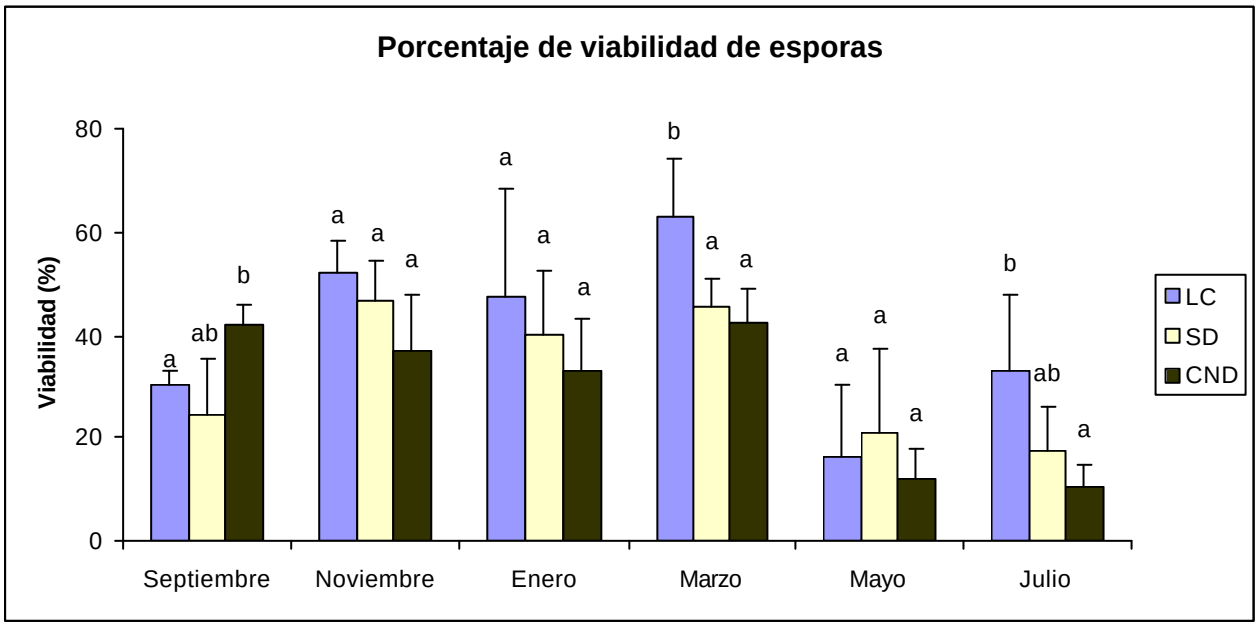


Figura 21: Porcentaje de viabilidad de esporas en los tratamientos LC, SD y CND, en los muestreos bimestrales efectuados desde el mes de septiembre de 2003 hasta julio de 2004. Diferentes letras en las columnas muestran diferencias significativas entre los tratamientos (LSD≤0.05).

El porcentaje de viabilidad resultó significativamente mayor en CND que el registrado en LC en el mes de septiembre. En los meses de noviembre y enero no se diferenciaron en forma significativa los tratamientos. Luego, en marzo, LC registro un mayor porcentaje de viabilidad que SD y CND. En mayo, los tratamientos no mostraron diferencias. En julio, el porcentaje de esporas viables de LC resultó significativamente mayor que CND.

3.3 Biodiversidad de esporas de *Glomeromycota*

En bs estudios de biodiversidad se encontraron esporas de 24 especies de HFMA en las muestras provenientes de campo, pertenecientes a 6 géneros de *Glomeromycota*: *Acaulospora, Archaeospora, Entrophospora, Gigaspora, Glomus* y *Scutellospora.*

Las especies halladas durante los 2 años de muestreo fueron las siguientes: *Acaulospora bireticulata* Rothwell & Trappe; *Acaulospora delicata* Walker, Pfeiffer & Bloss; *Acaulospora excavata* Ingleby & Walker; *Acaulospora laevis* Gerdemann & Trappe; *Acaulospora mellea* Spain & Schenck; *Acaulospora spinosa* Walker & Trappe; *Archaeospora leptoticha* (Schenck & Smith) Morton & Redecker; *Entrophospora infrequens* (Hall) Ames & Schneider; *Gigaspora gigantea* (Nicolson & Gerdemann) Gerdemann & Trappe; *Gigaspora margarita* Becker & Hall; *Glomus ambisporum* Smith & Schenck; *Glomus claroideum* Schenck & Smith; *Glomus clarum* Nicolson & Schenck; *Glomus coronatum* Giovannetti; *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann; *Glomus microaggregatum* Koske, Gemma & Olexia; *Glomus mosseae* Nicolson & Gerdemann; *Glomus tortuosum* Schenck & Smith; *Scutellospora dipapillosa* (Walker & Koske) Walker & Sanders; *Scutellospora fulgida* Koske & Walker; *Glomus sp.; Acaulospora sp.*; *Gigaspora sp.* y *Scutellospora sp.*.

En la **tabla 3 (a, b, c y d)** se muestran las dominancias de las especies de *Glomeromycota* halladas en cada estado fenológico de trigo evaluado, en los tratamientos de labranza y fertilización. También se exponen las contribuciones de cada especie al índice de biodiversidad Hen labranza

convencional y siembra directa para los años 2001 y 2002, calculadas utilizando los promedios de las dominancias de los tres estados fenológicos evaluados y los tratamientos de fertilización.

LC 2001	Macollaje		Floración		Llenado de granos		Contribución de las Sps al índice H
	LCN0	LCN90	LCN0	LCN90	LCN0	LCN90	
Glomus etunicatum	25.53	41.16	18.43	33.9	15.15	9.88	0.49
Glomus clarum	15.6	6.86	12	17.21	26.66	24.08	0.44
Glomus claroideum	8.51	19.54	18.43	9.93	16.66	21.12	0.42
Scutellospora dipapillosa	10.64	5.82	5.39	10.96	6	3.48	0.27
Glomus coronatum	2.12	4.37	9.91	6.76	12.07	4.6	0.26
Scutellospora fulgida	18.44	9.15	6.43	3.08	1.54	0	0.25
Acaulospora excavata	2.12	4.37	7.65	5.74	8	4.7	0.23
Acaulospora mellea	4.96	1.25	12	5.22	2.51	3.48	0.21
Gigaspora margarita	8.51	3.12	8.7	4.11	0.5	2.91	0.21
Glomus mosseae	3.55	1.04	1.04	1.03	5.5	9.46	0.17
Acaulospora laevis	0	3.33	0	2.05	3.97	5.83	0.13
Glomus tortuosum	0	0	0	0	0	5.83	0.06
Archaeospora leptoticha	0	0	0	0	0	2.91	0.04
Glomus ambisporum	0	0	0	0	0.5	1.69	0.03
Gigaspora gigantea	0	0	0	0	0.97	0	0.01
Indice de Biodiversidad Total							**3.22**

Tabla 3a: Dominancia de especies de HFMA halladas en LC con y sin fertilización nitrogenada, año 2001. Las especies están ordenadas según su contribución al índice de biodiversidad de Shannon-Weaver (H)

SD 2001	Macollaje		Floración		Llenado de granos		Contribución de las Sps al índice H
	SDN0	SDN90	SDN0	SDN90	SDN0	SDN90	
Glomus etunicatum	48.39	54.77	12.44	40.91	14.22	27.79	0.53
Glomus claroideum	6.17	15.85	22.39	13.83	22.5	0.84	0.39
Glomus coronatum	6.45	0.74	17.78	6.13	11.3	24.95	0.35
Glomus clarum	5.33	2.87	2.14	10.77	17.89	20.49	0.33
Scutellospora dipapillosa	10.38	5	19.92	3.66	11.3	2.9	0.31
Acaulospora excavata	4.2	9.92	3.98	3.16	5.84	5.4	0.23
Acaulospora mellea	7.57	3.06	5.05	2.96	1.69	4.5	0.19
Glomus mosseae	1.54	0.28	0	8.89	5.37	6.5	0.18
Scutellospora fulgida	1.12	1.95	10.88	2.47	0	1.23	0.15
Gigaspora margarita	6.59	2.69	2.53	0.69	0.56	2.07	0.13
Acaulospora laevis	0.42	1.85	2.33	1.98	0	2.45	0.09
Glomus tortuosum	0	0.56	0	0.79	7.06	0	0.09
Glomus ambisporum	0	0.46	0.58	3.75	1.69	0	0.07
Gigaspora sp	1.82	0	0	0	0	0	0.03
Archaeospora leptoticha	0	0	0	0	0.56	0	0.01
Glomus sp	0	0	0	0	0	0.84	0.01
Indice de Biodiversidad Total							**3.09**

Tabla 3b: Dominancia de especies de HFMA halladas en SD con y sin fertilización nitrogenada, año 2001. Las especies están ordenadas según su contribución al índice de biodiversidad de Shannon-Weaver (H)

LC 2002	Macollaje		Floración		Llenado de granos		Contribución de las Sps al índice H
	LCN0	LCN90	LCN0	LCN90	LCN0	LCN90	
Acaulospora sp	8.51	0	11.9	20.69	17.69	24.92	0.4
Glomus clarum	19.15	0	16.67	6.9	31.14	7.29	0.39
Glomus etunicatum	17.02	23.08	9.52	3.45	8.04	15.5	0.38
Acaulospora excavata	14.89	7.69	4.76	17.24	16.81	6.99	0.36
Glomus claroideum	14.89	11.54	4.76	6.9	8.77	8.81	0.32
Glomus mosseae	8.51	15.38	7.14	13.79	0.88	1.82	0.29
Acaulospora mellea	0.00	0	23.81	0	6.14	7.29	0.25
Scutellospora dipapillosa	2.13	19.23	2.38	0	3.51	5.47	0.23
Acaulospora bireticulata	0	0	7.14	17.24	1.75	1.82	0.21
Acaulospora delicata	0	0	9.52	0	0	7.29	0.14
Acaulospora laevis	0	15.38	0	0	0	0	0.14
Scutellospora fulgida	10.64	3.85	0	0	0.88	0	0.14
Gigaspora margarita	4.26	3.85	0	0	0	0	0.08
Gigaspora gigantea	0	0	0	0	2.63	5.47	0.08
Glomus ambisporum	0	0	0	6.9	0	0	0.07
Archaeospora leptoticha	0	0	0	3.45	0	0	0.04
Entrophospora infrequens	0	0	2.38	0	0.88	0	0.04
Gigaspora sp	0	0	0	0	0	3.65	0.04
Glomus tortuosum	0	0	0	0	0	3.65	0.04
Glomus sp	0	0	0	0	0.88	0	0.01
Scutellospora sp	0	0	0	3.45	0	0	0.04
Indice de Biodiversidad Total							**3.69**

Tabla 3c: Dominancia de especies de HFMA halladas en LC con y sin fertilización nitrogenada, año 2002. Las especies están ordenadas según su contribución al índice de biodiversidad de Shannon-Weaver (H)

SD 2002	Macollaje		Floración		Llenado de granos		Contribución de las Sps al índice H
	SDN0	SDN90	SDN0	SDN90	SDN0	SDN90	
Glomus etunicatum	33.30	14.24	6.36	4.55	26.36	19.22	0.44
Glomus mosseae	26.43	16.08	9.09	27.27	4.01	8.85	0.41
Glomus clarum	2.26	0.00	22.73	6.82	16.04	11.76	0.33
Acaulospora excavata	12.94	11.18	6.36	18.18	2.37	4.42	0.32
Glomus claroideum	6.15	13.17	15.45	2.27	11.31	4.42	0.31
Acaulospora mellea	3.26	8.42	14.55	2.27	8.02	7.33	0.28
Acaulospora sp	0	14.09	4.55	6.82	10.39	8.85	0.28
Scutellospora dipapillosa	9.05	0	5.45	6.82	4.8	1.39	0.2
Acaulospora laevis	2.26	0	5.45	0	0	17.83	0.19
Scutellospora sp	0	22.82	0	0	0	0	0.18
Glomus tortuosum	1.63	0	0	13.64	5.65	0	0.17
Acaulospora delicata	0	0	3.64	6.82	4.73	2.78	0.15
Glomus coronatum	0	0	1.82	0	1.58	4.55	0.08
Scutellospora fulgida	0	0	0.91	2.27	1.58	2.78	0.08
Entrophospora infrequens	0	0	1.82	2.27	0	0	0.05
Gigaspora gigantea	0	0	0.91	0	1.58	1.39	0.05
Glomus ambisporum	0.54	0	0	0	0.79	3.03	0.05
Acaulospora bireticulata	0.54	0	0.91	0	0.79	1.39	0.04
Gigaspora margarita	1.63	0	0	0	0	0	0.02
Indice de Biodiversidad Total							**3.63**

Tabla 3d: Dominancia de especies de HFMA halladas en SD con y sin fertilización nitrogenada, año 2002. Las especies están ordenadas según su contribución al índice de biodiversidad de Shannon-Weaver (H)

En el año 2001, en los dos sistemas de labranza analizados los valores del indice de biodiversidad total H fueron 3.09 en siembra directa 2001, que fue el menor valor registrado, y 3.22 en labranza convencional. Durante el 2002 los índices de biodiversidad alcanzaron valores más altos que en el 2001, resultando éstos 3.63 y 3.69 en siembra directa y labranza convencional respectivamente. En 2002, aparecieron especies que no habían sido halladas en 2001, lo que ayuda a explicar del aumento del índice H en ese año. Estas especies fueron *A. bireticulata, A. delicata, E. infrequens* y *Scutellospora sp.* Dentro de éstas últimas, *A. bireticulata* fue notablemente frecuente en la labranza convencional de 2002, mientras que *Scutellospora sp.* fue frecuente en siembra directa.

Las dominancias de las especies aparecidas en el tratamiento CND en los dos muestreos efectuados, se exponen en la **tabla 4.**

Campo no disturbado	Octubre	Noviembre	Contribución de las Sps al índice H
Acaulospora sp.	29.14	11.41	0.47
Scutellospora dipapillosa	10.74	16.73	0.39
Glomus etunicatum	9.51	16.35	0.38
Glomus mosseae	8.28	14.45	0.36
Acaulospora mellea	1.84	12.55	0.27
Glomus claroideum	8.28	3.04	0.23
Acaulospora excavata	5.83	4.18	0.22
Acaulospora delicata	8.59	0	0.20
Entrophospora infrequens	7.06	1.14	0.19
Scutellospora fulgida	0.92	6.46	0.18
Glomus clarum	1.53	4.18	0.15
Glomus coronatum	1.23	3.8	0.13
Gigaspora sp.	4.6	0	0.13
Gigaspora margarita	1.23	2.66	0.11
A bireticulata	0.92	0.76	0.06
Glomus sp	0	1.14	0.04
Scutellospora sp	0.31	0.38	0.03
Acaulospora spinosa	0	0.38	0.02
Glomus ambisporum	0	0.38	0.02
Indice de Biodiversidad Total			**3.56**

Tabla 4: Dominancia de especies de HFMA halladas en CND, año 2002. Las especies están ordenadas según su contribución al índice de biodiversidad de Shannon-Weaver (H)

Como se observa en esta tabla, el índice de biodiversidad de CND, calculado utilizando el promedio de las dominancias de las especies aparecidas en octubre y noviembre de 2002, fue 3.56,

resultando este valor levemente inferior a los obtenidos en ese mismo año para SD y LC que se muestran en la **tabla 3**. En este tratamiento con vegetación espontánea se encontraron altas dominancias de especies de *Glomeromycota* pertenecientes a *Acaulosporaceae* y *Gigasporaceae*. Estos resultados contrastan con los obtenidos en los tratamientos cultivados, en los cuales las especies de *Glomeraceae* mostraron los mayores valores de dominancia.

La **figura 22 (a, b, c, d, e, f, g y h)** muestra la contribución en el índice H de cada familia de *Glomeromycota* en los tres estados fenológicos del cultivo de trigo evaluados y en el barbecho.

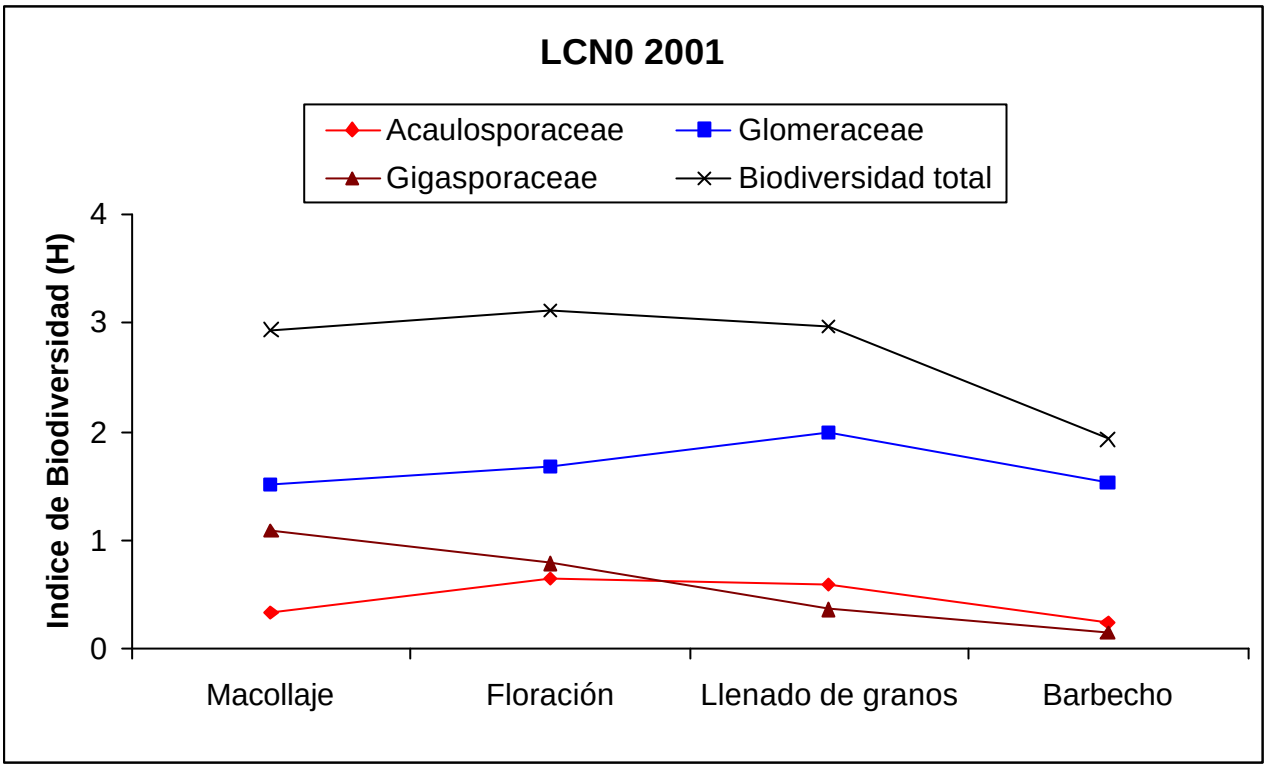


Figura 22a: Biodiversidad de *Glomeromycota* y contribución a la biodiversidad total de las familias *Acaulosporaceae, Gigasporaceae* y *Glomeraceae* en tres estados fenológicos del trigo y barbecho, en el tratamiento de labranza convencional sin fertilizante nitrogenado durante el año 2001.

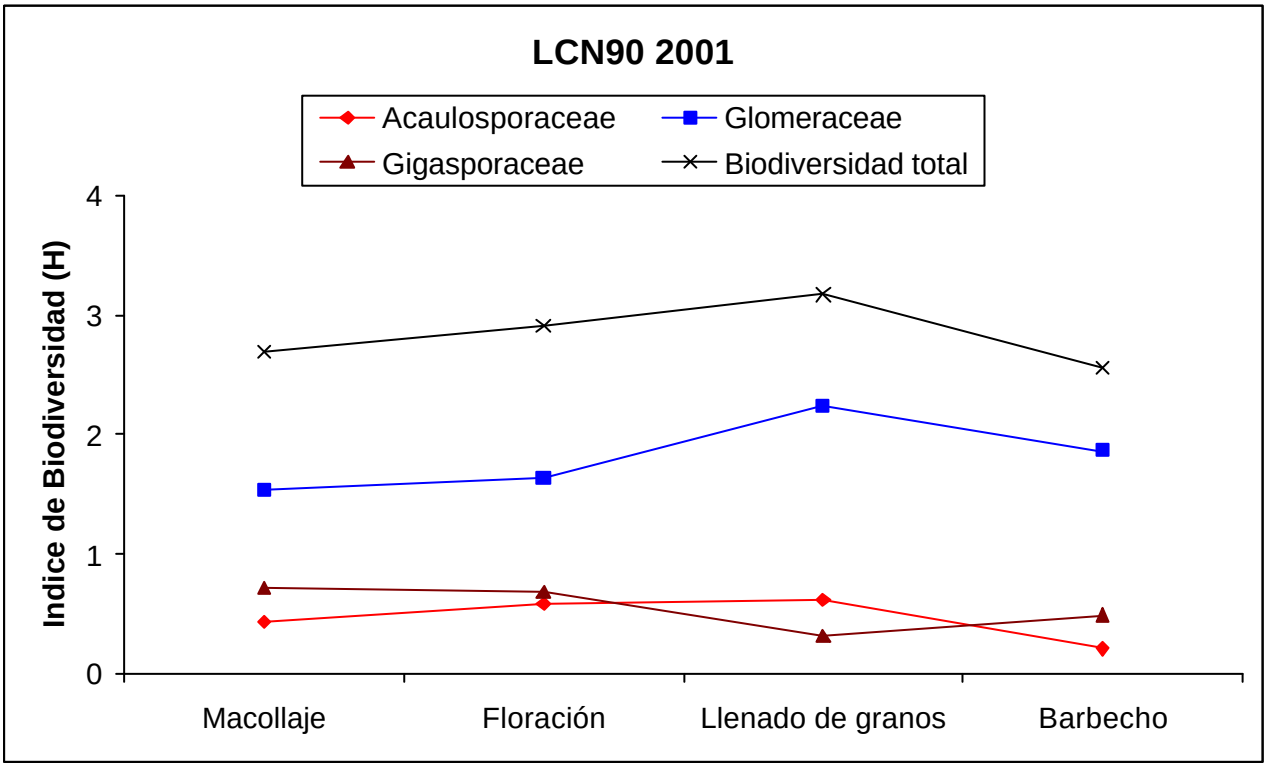


Figura 22b: Biodiversidad de *Glomeromycota* y contribución a la biodiversidad total de las familias *Acaulosporaceae, Gigasporaceae* y *Glomeraceae* en tres estados fenológicos del trigo y barbecho, en el tratamiento de labranza convencional con 90 kg de N Ha^{-1} durante el año 2001.

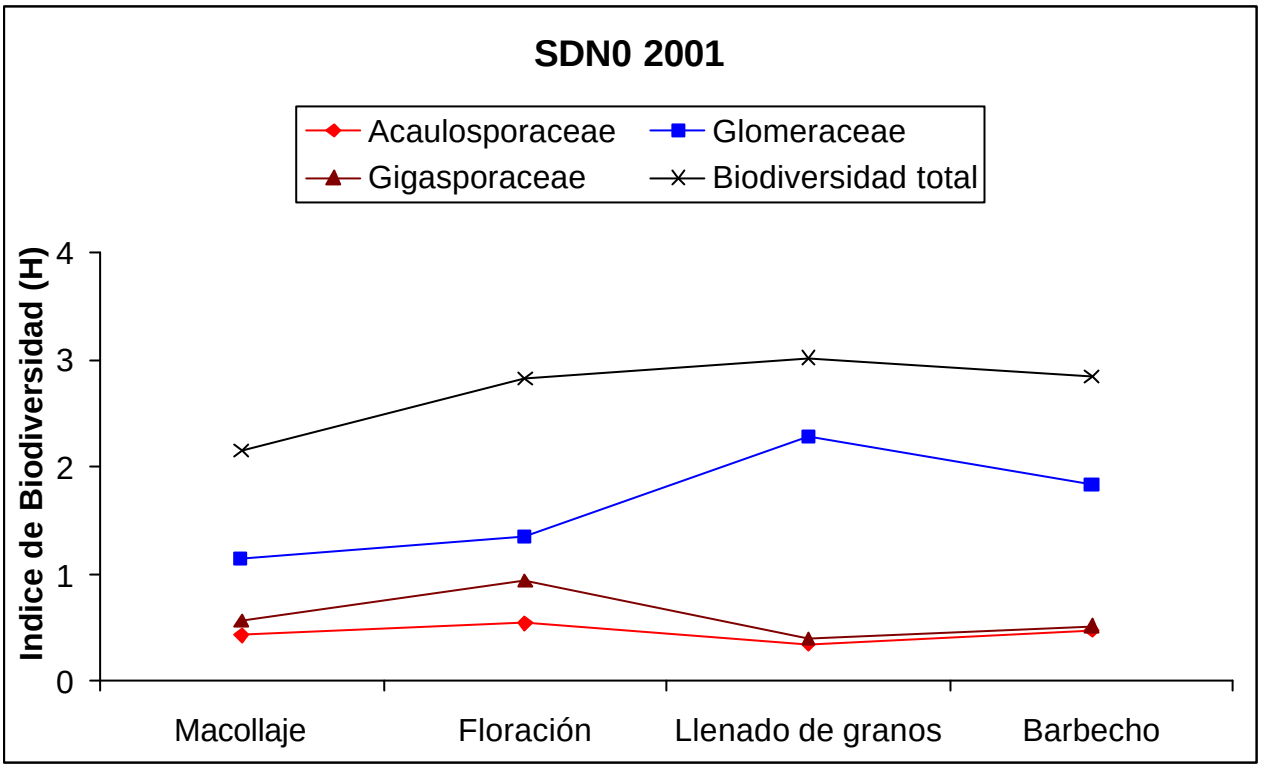


Figura 22c: Biodiversidad de *Glomeromycota* y contribución a la biodiversidad total de las familias *Acaulosporaceae*, *Gigasporaceae* y *Glomeraceae* en tres estados fenológicos del trigo y barbecho, en el tratamiento de siembra directa sin fertilización nitrogenada durante el año 2001.

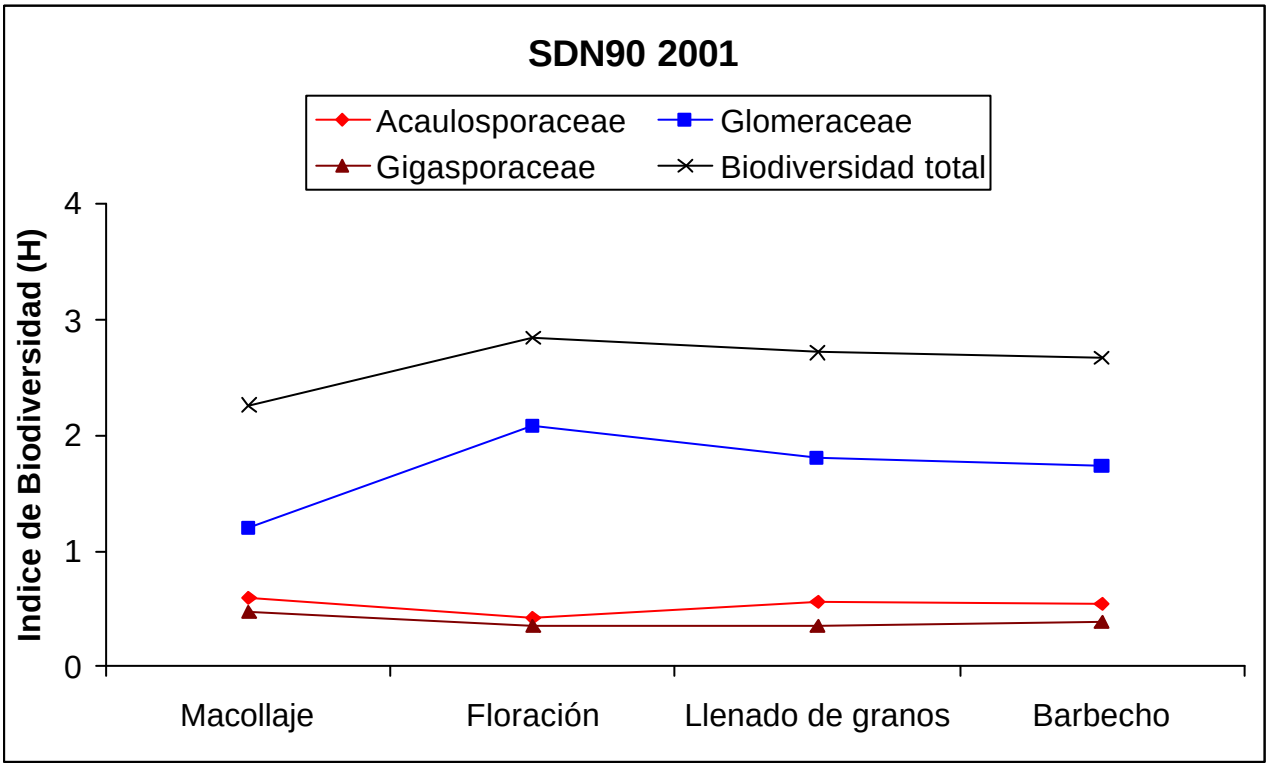


Figura 22d: Biodiversidad de *Glomeromycota* y contribución a la biodiversidad total de las familias *Acaulosporaceae*, *Gigasporaceae* y *Glomeraceae* en tres estados fenológicos del trigo y barbecho, en el tratamiento de siembra directa con 90 kg de N Ha^{-1} durante el año 2001.

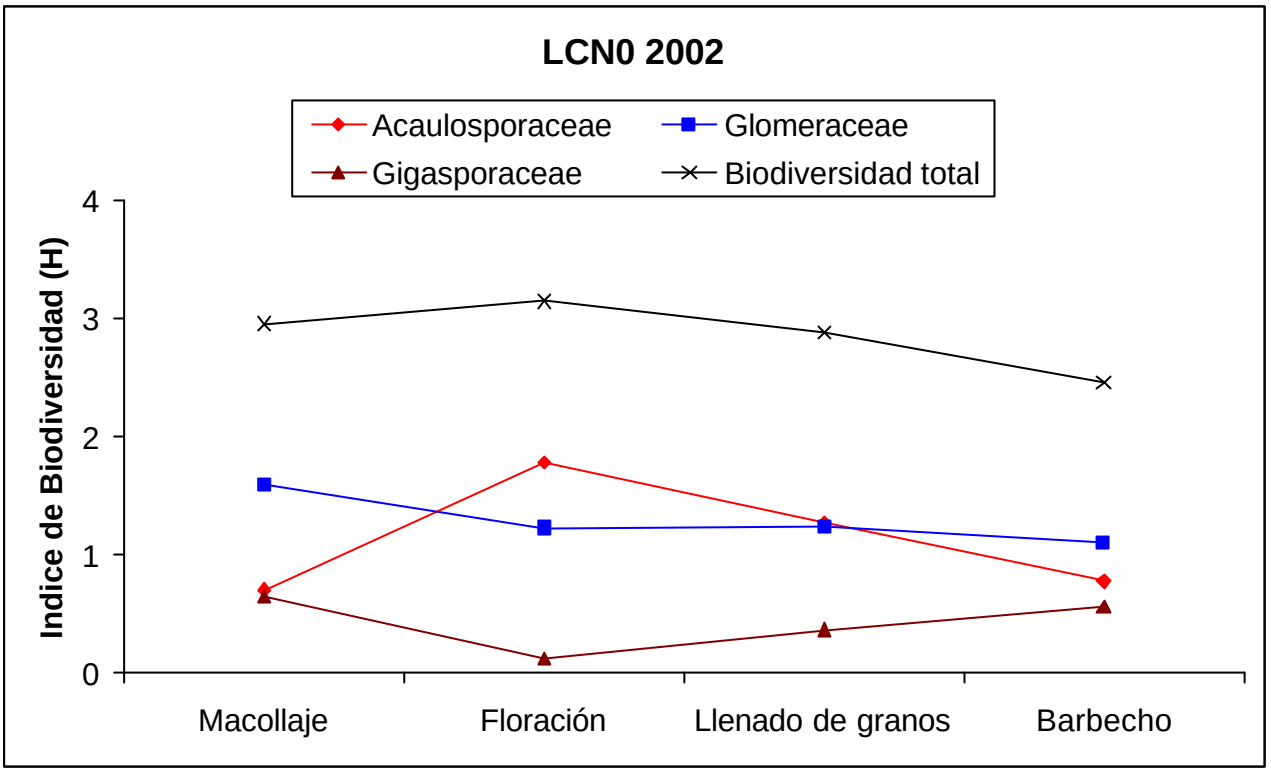


Figura 22e: Biodiversidad de *Glomeromycota* y contribución a la biodiversidad total de las familias *Acaulosporaceae, Gigasporaceae* y *Glomeraceae* en tres estados fenológicos del trigo y barbecho, en el tratamiento de labranza convencional sin fertilizante nitrogenado durante el año 2002.

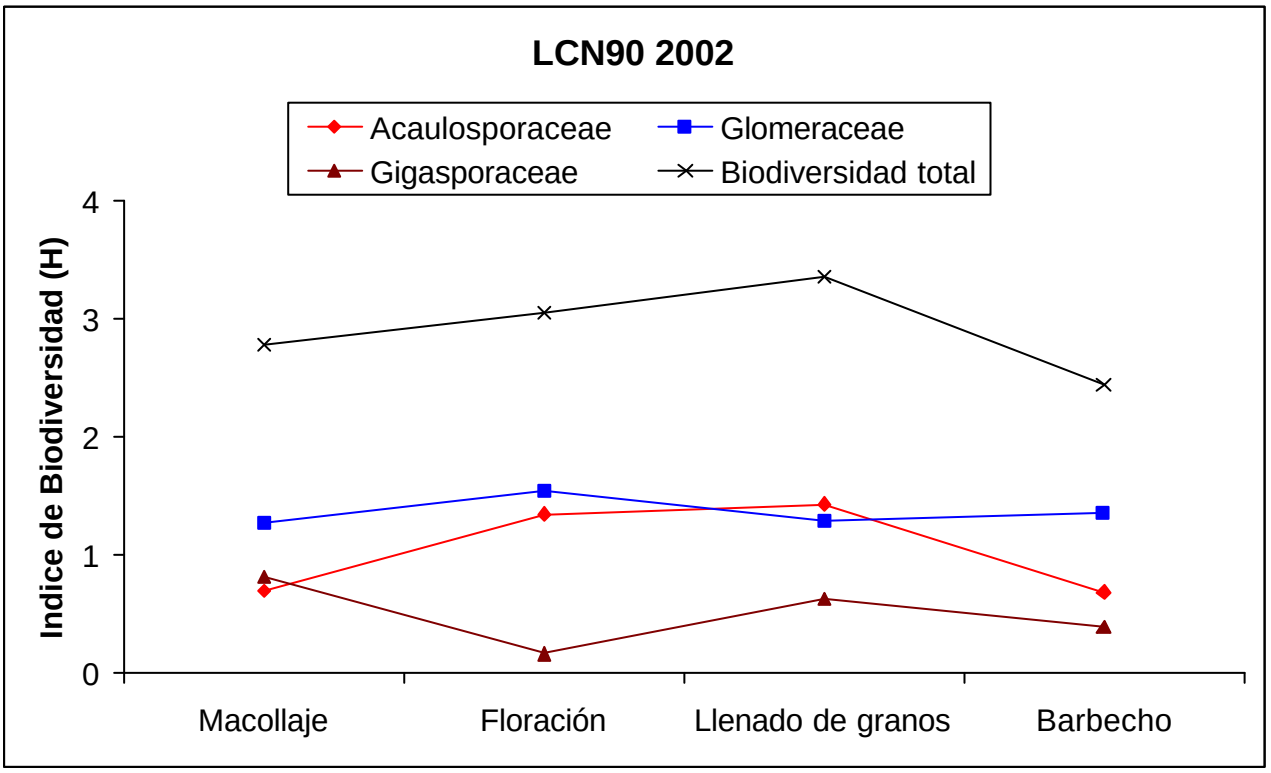


Figura 22f: Biodiversidad de *Glomeromycota* y contribución a la biodiversidad total de las familias *Acaulosporaceae, Gigasporaceae* y *Glomeraceae* en tres estados fenológicos del trigo y barbecho, en el tratamiento de convencional con 90 kg de N Ha^{-1} durante el año 2002.

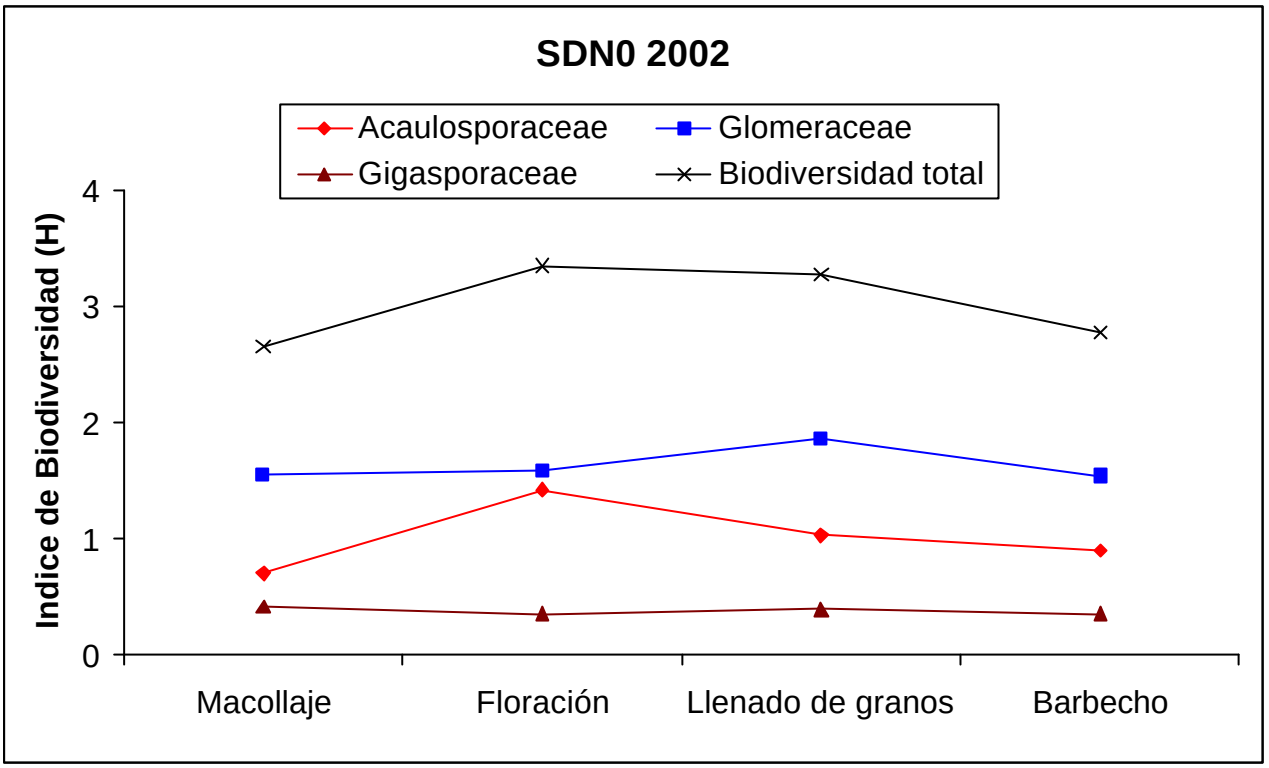


Figura 22g: Biodiversidad de *Glomeromycota* y contribución a la biodiversidad total de las familias *Acaulosporaceae*, *Gigasporaceae* y *Glomeraceae* en tres estados fenológicos del trigo y barbecho, en el tratamiento de siembra directa sin fertilización nitrogenada durante el año 2002.

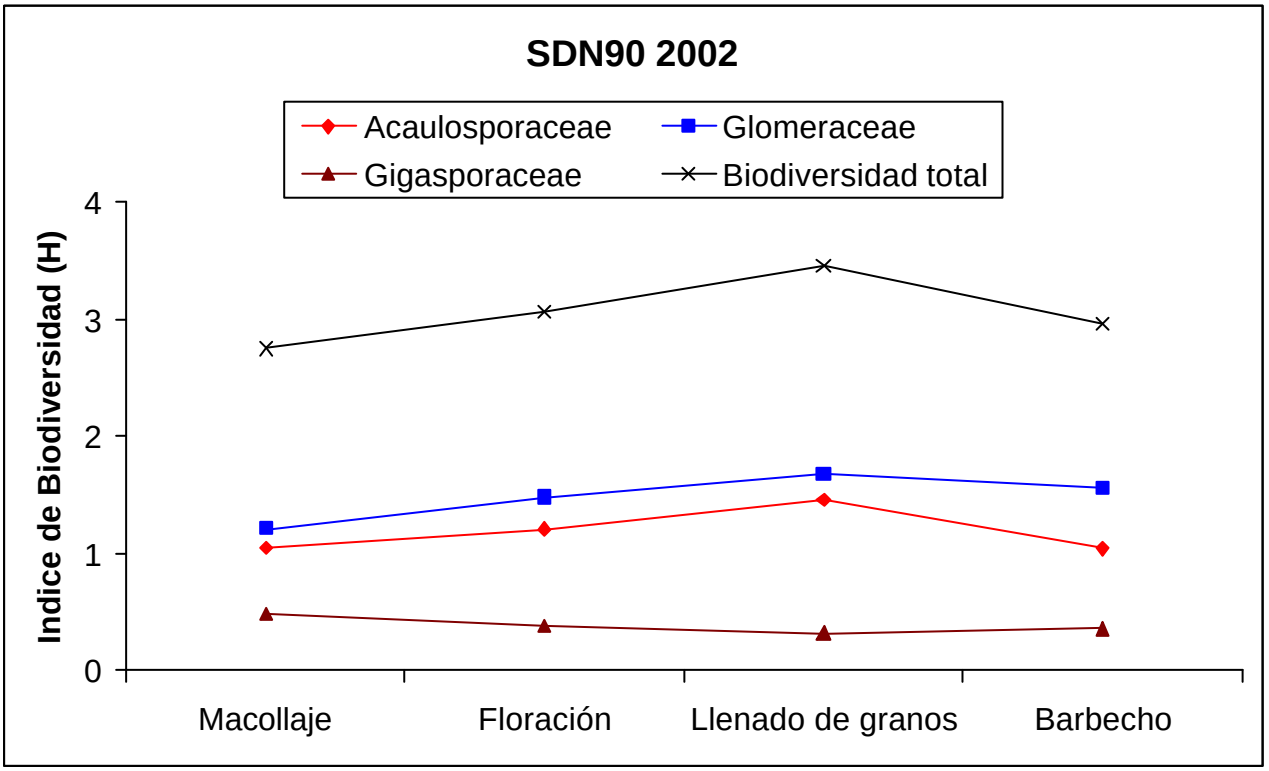


Figura 22h: Biodiversidad de *Glomeromycota* y contribución a la biodiversidad total de las familias *Acaulosporaceae*, *Gigasporaceae* y *Glomeraceae* en tres estados fenológicos del trigo y barbecho, en el tratamiento de siembra directa con 90 kg de N Ha^{-1} durante el año 2002.

En 2001, la contribución de *Glomeraceae, Acaulosporaceae* y *Gigasporaceae* al índice H total fue: 1.91, 0.57 y 0.74 en labranza convencional y 1.96, 0.51 y 0.62 en siembra directa, respectivamente. En 2002 la contribución al índice H para las mismas familias fue 1.58, 1.5 y 0.61 en labranza convencional y 1.79, 1.31 y 0.53 en siembra directa. La contribución de *Acaulosporaceae* en el 2002 fue más importante que la registrada en el 2001. En 2002 *Acaulosporaceae* y *Glomeraceae* contribuyeron en forma similar en labranza convencional, mientras que en siembra directa la contribución de las *Glomeraceae* fue mayor que la de *Acaulosporaceae*. En los dos años analizados el aumento de *Glomeraceae* en siembra directa resultó detrimental para las otras dos familias. Las contribuciones de cada familia durante el macollaje no difirieron marcadamente entre los años 2001 y 2002. En floración, en cambio, existieron diferencias entre los dos años, siendo notorio el aumento de la contribución de *Acaulosporaceae* en 2002 durante este estado.

Las contribuciones de *Glomeraceae, Acaulosporaceae* y *Gigasporaceae* en CND, obtenidas en el año 2002, fueron 1.31, 1.42 y 0.83 respectivamente. En este tratamiento se puede observar una menor contribución de *Glomeraceae* y mayor de *Gigasporaceae* que las correspondientes a los tratamientos cultivados durante ese mismo año.

Las dominancias de las especies de *Glomeromycota* halladas en cada uno de los tratamientos y estados fenológicos del trigo evaluados se grafican en la **figura 23 (a, b, c, d, e, f, g y h).**

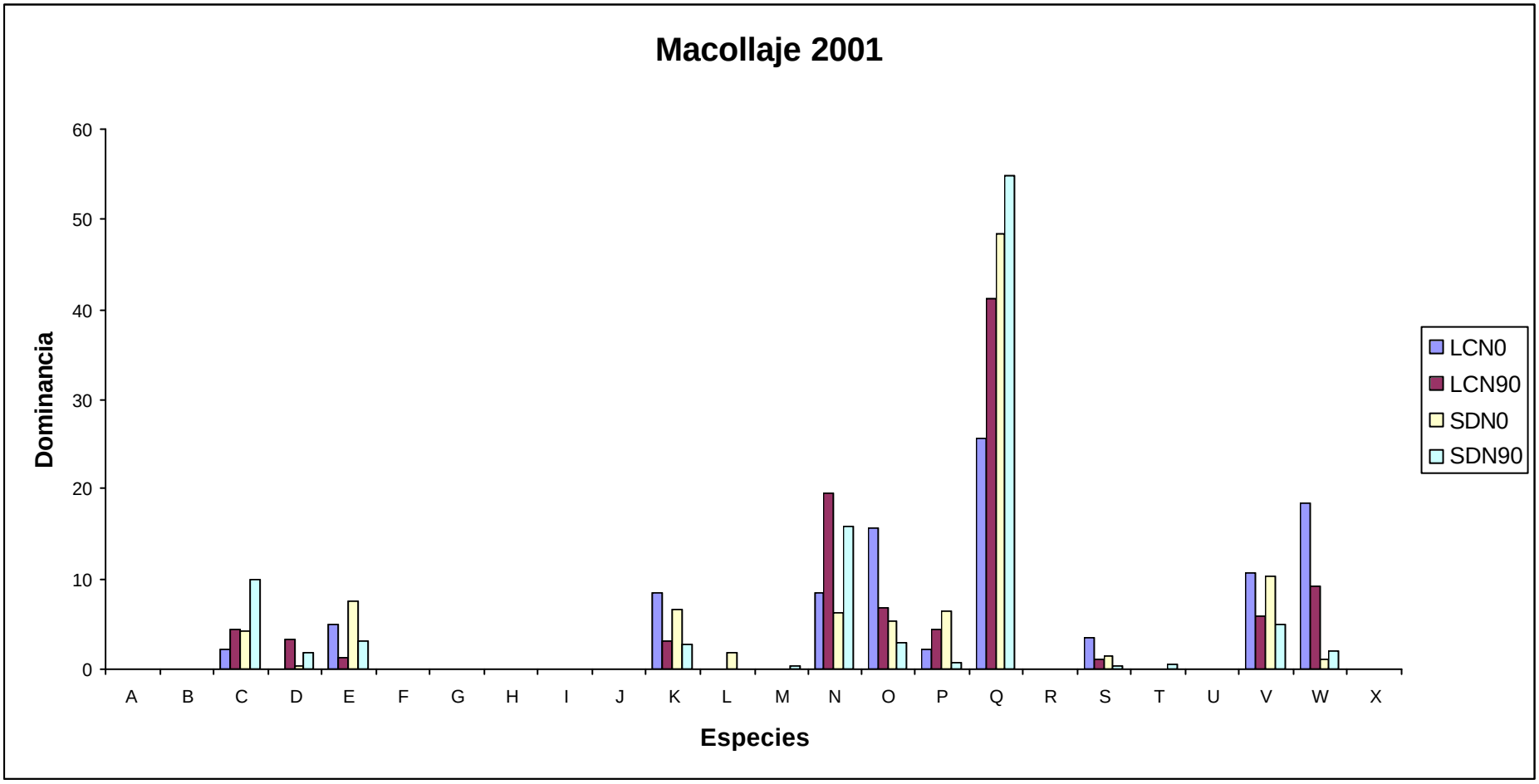


Figura 23a: Dominancia de diferentes especies de *Glomeromycota* registradas en el estado de macollaje en el año 2001, en los distintos tratamientos de labranza y fertilización. Abreviaciones: **A**. *Acaulospora bireticulata*; **B**. *A. delicata*; **C**. *A. excavata*; **D**. *A. laevis*; **E**. *A. mellea*; **F**. *A. spinosa*; **G**. *Acaulospora sp*.; **H**. *Archaeospora leptoticha*; **I**. *Glomus ambisporum*; **N**. *G. claroideum*; **O**. *G. clarum*; **P**.; *G. coronatum*; **Q**. *G. etunicatum*; **R**. *G. microagretatum*; **S**. *G. mosseae*; **T**. *G. tortuosum*; **U**. *Glomus sp*; **V**. *Scutellospora dipapillosa*; **W**. *S. fulgida*; **X**. *Scutellospora sp*.

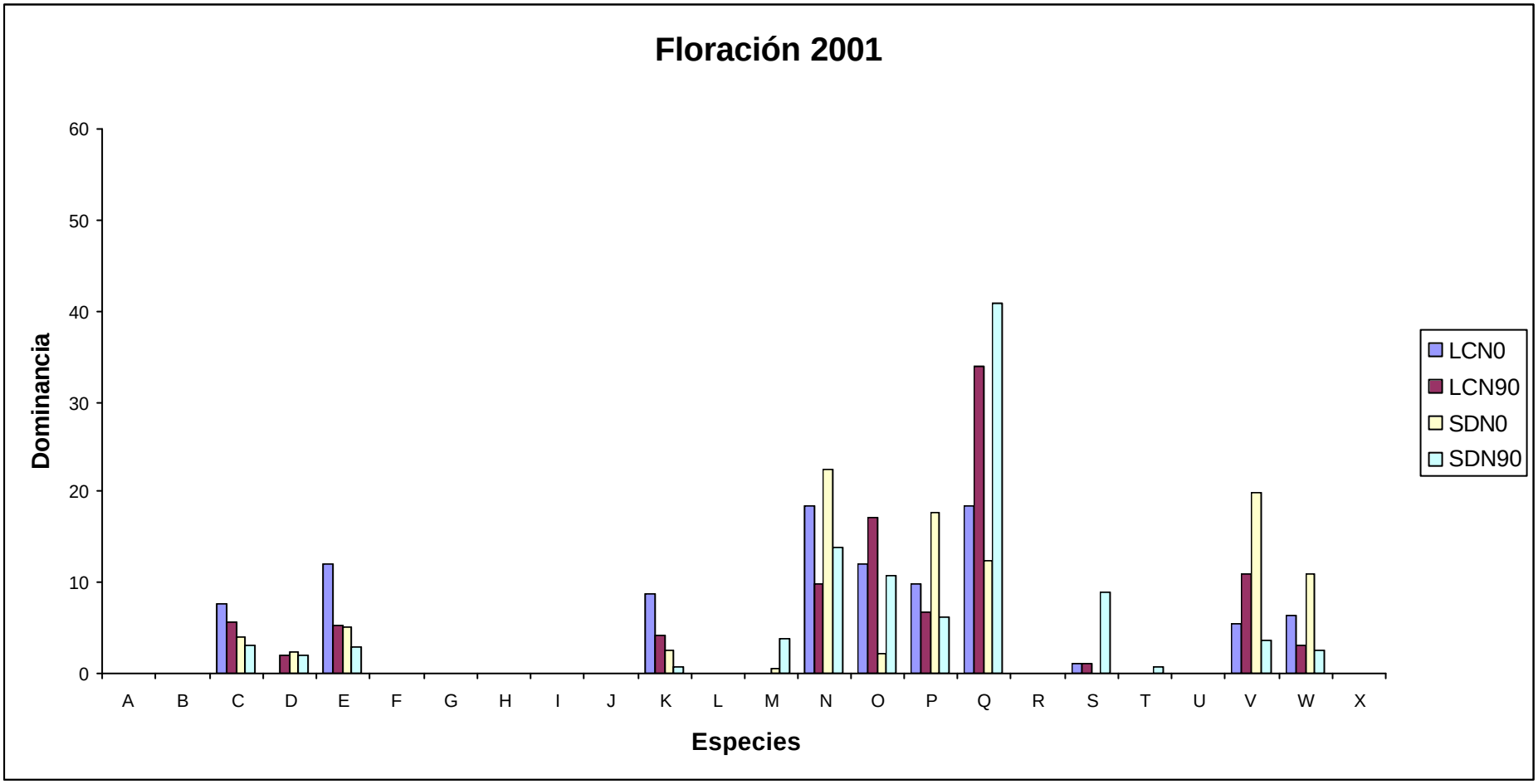


Figura 23b: Dominancia de diferentes especies de *Glomeromycota* registradas en el estado de floración en el año 2001, en los distintos tratamientos de labranza y fertilización. Abreviaciones: **A**. *Acaulospora bireticulata*; **B**. *A. delicata*; **C**. *A. excavata*; **D**. *A. laevis*; **E**. *A. mellea*; **F**. *A. spinosa*; **G**. *Acaulospora sp.*; **H**. *Archaeospora leptoticha*; **I**. *Glomus ambisporum*; **N**. *G. claroideum*; **O**. *G. clarum*; **P**.; *G. coronatum*; **Q**. *G. etunicatum*; **R**. *G. microagretatum*; **S**. *G. mosseae*; **T**. *G. tortuosum*; **U**. *Glomus sp*; **V**. *Scutellospora dipapillosa*; **W**. *S. fulgida*; **X**. *Scutellospora sp*.

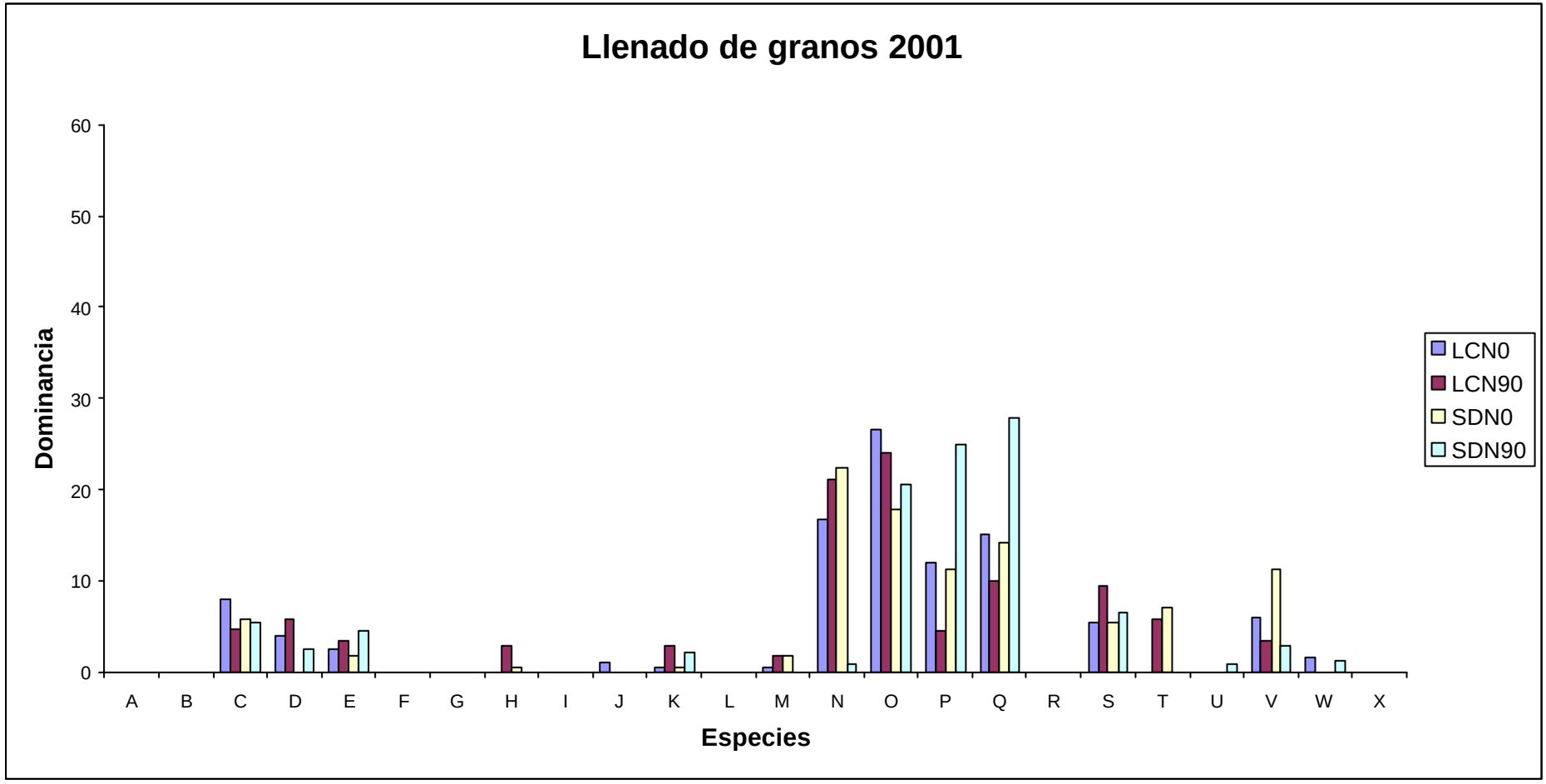


Figura 23c: Dominancia de diferentes especies de *Glomeromycota* registradas en el estado de llenado de granos, en los distintos tratamientos de labranza y fertilización. Abreviaciones: **A**. *Acaulospora bireticulata*; **B**. *A. delicata*; **C**. *A. excavata*; **D**. *A. laevis*; **E**. *A. mellea*; **F**. *A. spinosa*; **G**. *Acaulospora sp*.; **H**. *Archaeospora leptoticha*; **I**. *Glomus ambisporum*; **N**. *G. claroideum*; **O**. *G. clarum*; **P**.; *G. coronatum*; **Q**. *G. etunicatum*; **R**. *G. microagretatum*; **S**. *G. mosseae*; **T**. *G. tortuosum*; **U**. *Glomus sp*; **V**. *Scutellospora dipapillosa*; **W**. *S. fulgida*; **X**. *Scutellospora sp*.

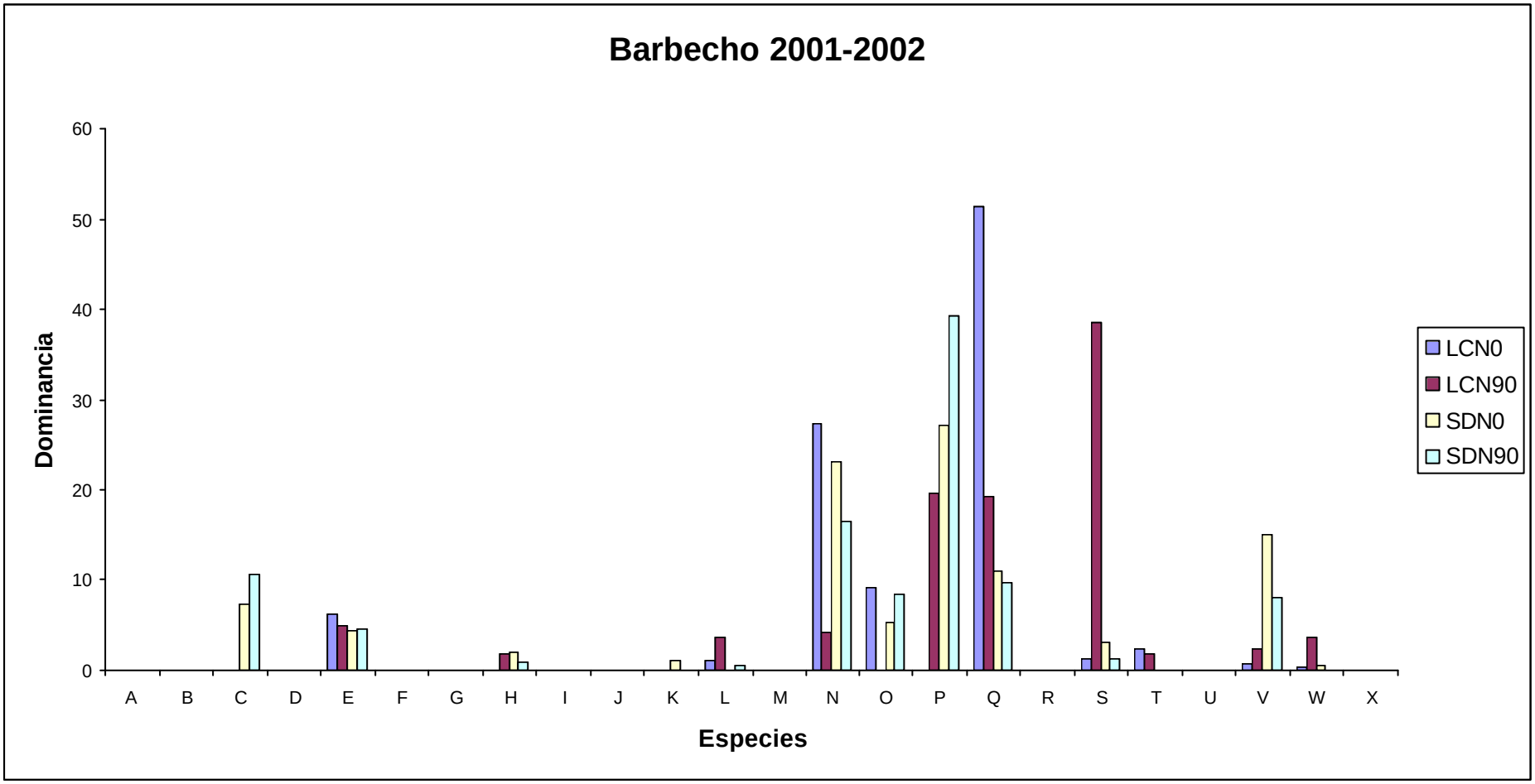


Figura 23d: Dominancia de diferentes especies de *Glomeromycota* registradas en el barbecho ubicado entre los ciclos de cultivo de los años 2001 y 2002, en los distintos tratamientos de labranza y fertilización. Abreviaciones: **A**. *Acaulospora bireticulata*; **B**. *A. delicata*; **C**. *A. excavata*; **D**. *A. laevis*; **E**. *A. mellea*; **F**. *A. spinosa*; **G**. *Acaulospora sp.*; **H**. *Archaeospora leptoticha*; **I**. *Glomus ambisporum*; **N**. *G. claroideum*; **O**. *G. clarum*; **P**.; *G. coronatum*; **Q**. *G. etunicatum*; **R**. *G. microagretatum*; **S**. *G. mosseae*; **T**. *G. tortuosum*; **U**. *Glomus sp*; **V**. *Scutellospora dipapillosa*; **W**. *S. fulgida*; **X**. *Scutellospora sp*.

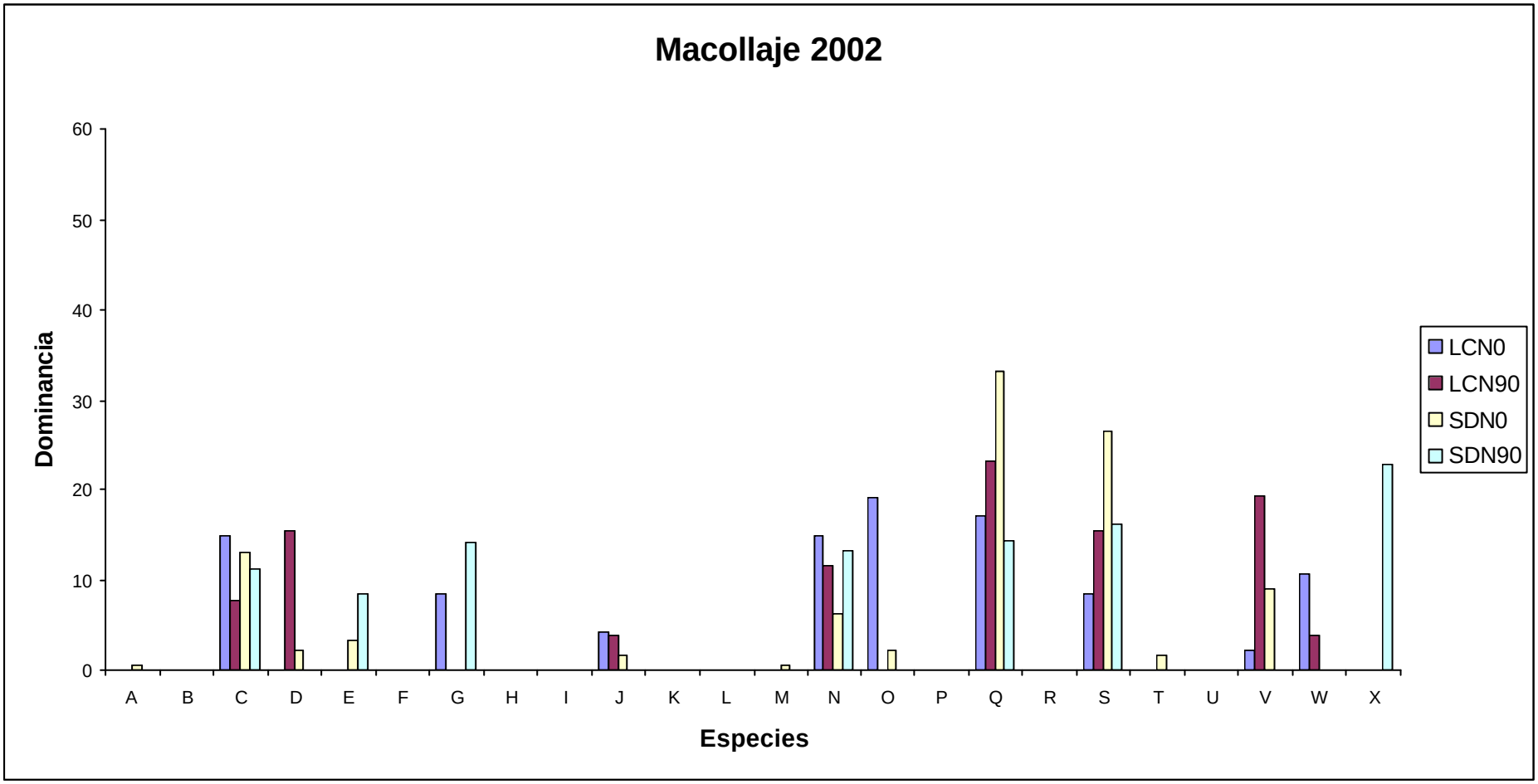


Figura 23e: Dominancia de diferentes especies de *Glomeromycota* registradas en el estado de macollaje en el año 2002, en los distintos tratamientos de labranza y fertilización. Abreviaciones: **A**. *Acaulospora bireticulata*; **B**. *A. delicata*; **C**. *A. excavata*; **D**. *A. laevis*; **E**. *A. mellea*; **F**. *A. spinosa*; **G**. *Acaulospora sp*.; **H**. *Archaeospora leptoticha*; **I**. *Glomus ambisporum*; **N**. *G. claroideum*; **O**. *G. clarum*; **P**.; *G. coronatum*; **Q**. *G. etunicatum*; **R**. *G. microagretatum*; **S**. *G. mosseae*; **T**. *G. tortuosum*; **U**. *Glomus sp*; **V**. *Scutellospora dipapillosa*; **W**. *S. fulgida*; **X**. *Scutellospora sp*.

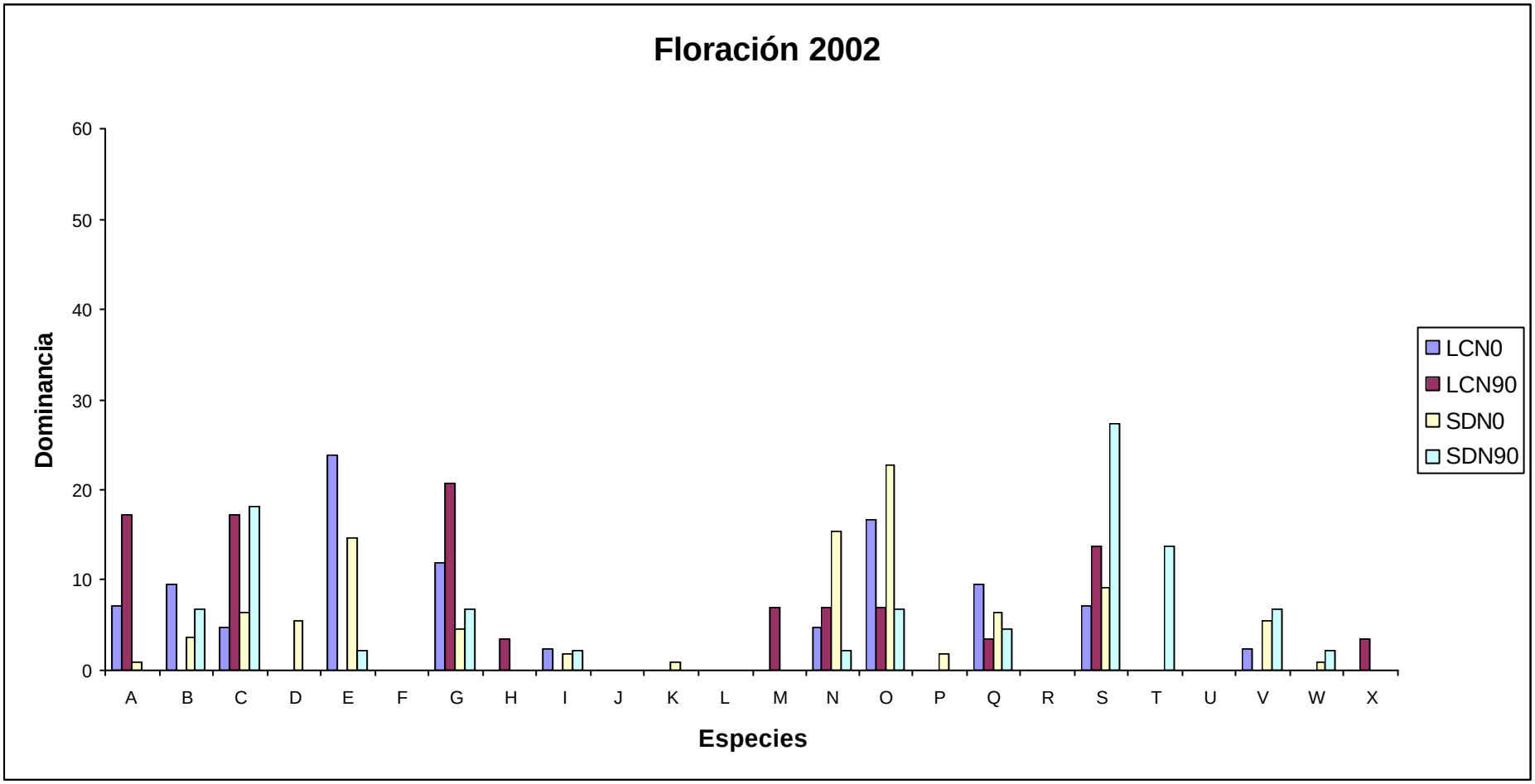


Figura 23f: Dominancia de diferentes especies de *Glomeromycota* registradas en el estado de floración en el año 2002, en los distintos tratamientos de labranza y fertilización. Abreviaciones: **A**. *Acaulospora bireticulata*; **B**. *A. delicata*; **C**. *A. excavata*; **D**. *A. laevis*; **E**. *A. mellea*; **F**. *A. spinosa*; **G**. *Acaulospora sp.*; **H**. *Archaeospora leptoticha*; **I**. *Glomus ambisporum*; **N**. *G. claroideum*; **O**. *G. clarum*; **P**.; *G. coronatum*; **Q**. *G. etunicatum*; **R**. *G. microagretatum*; **S**. *G. mosseae*; **T**. *G. tortuosum*; **U**. *Glomus sp*; **V**. *Scutellospora dipapillosa*; **W**. *S. fulgida*; **X**. *Scutellospora sp*.

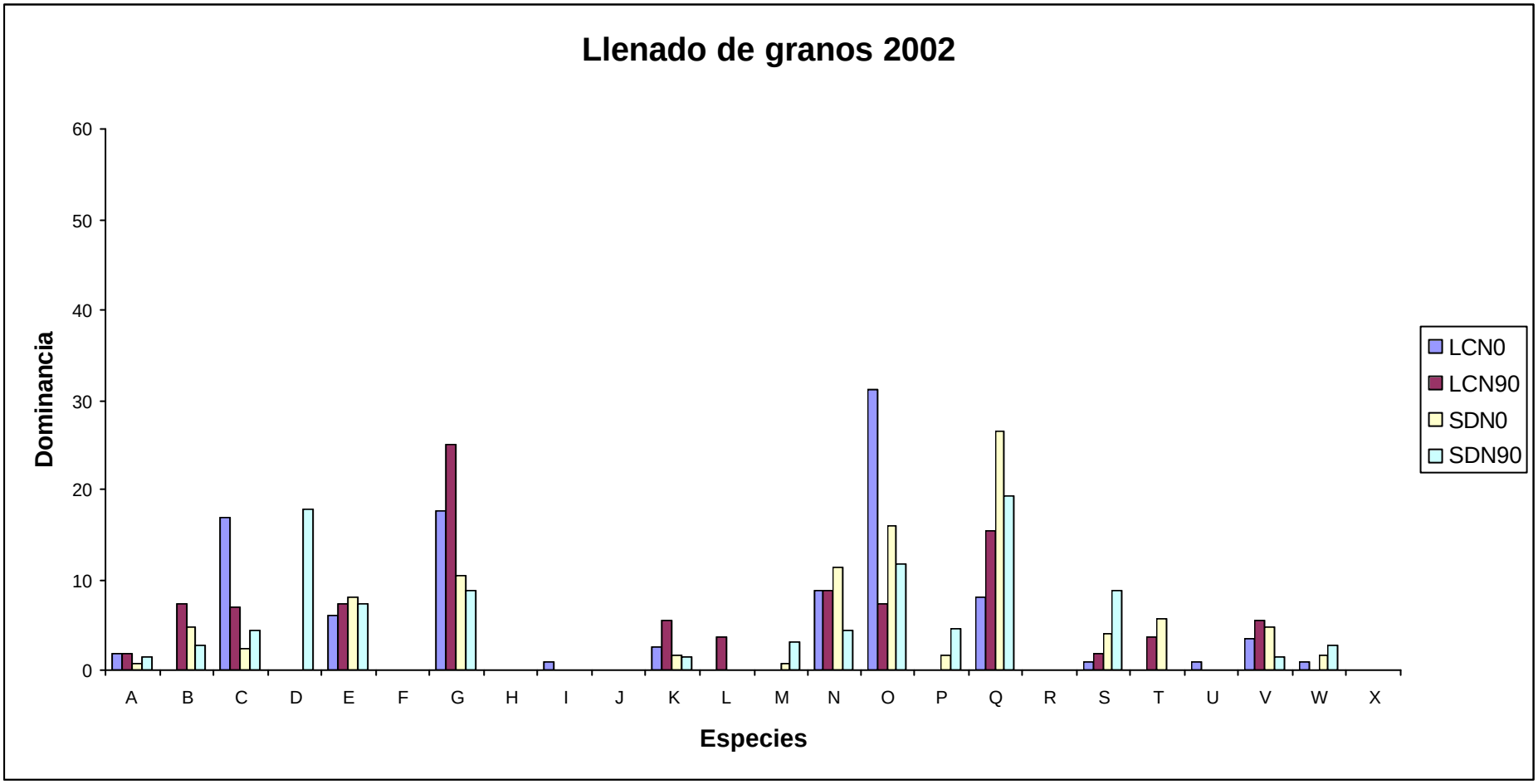


Figura 23g: Dominancia de diferentes especies de *Glomeromycota* registradas en el estado de llenado de granos en el año 2002, en los distintos tratamientos de labranza y fertilización. Abreviaciones: **A**. *Acaulospora bireticulata*; **B**. *A. delicata*; **C**. *A. excavata*; **D**. *A. laevis*; **E**. *A. mellea*; **F**. *A. spinosa*; **G**. *Acaulospora sp*.; **H**. *Archaeospora leptoticha*; **I**. *Glomus ambisporum*; **N**. *G. claroideum*; **O**. *G. clarum*; **P**.; *G. coronatum*; **Q**. *G. etunicatum*; **R**. *G. microagretatum*; **S**. *G. mosseae*; **T**. *G. tortuosum*; **U**. *Glomus sp*; **V**. *Scutellospora dipapillosa*; **W**. *S. fulgida*; **X**. *Scutellospora sp*.

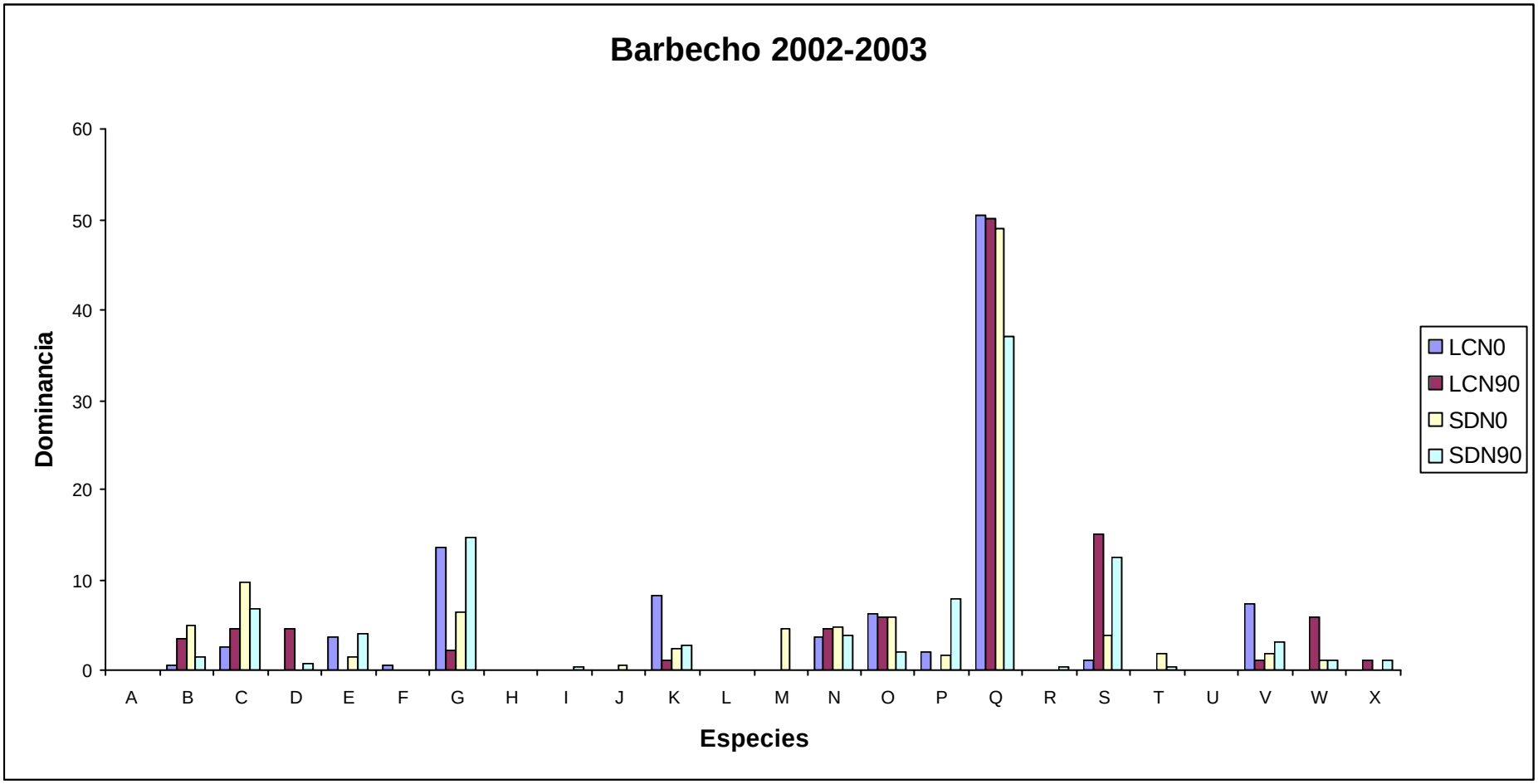


Figura 23h: Dominancia de diferentes especies de *Glomeromycota* registradas en el barbecho ubicado entre los ciclos de cultivos de los años 2002 y 2003, en los distintos tratamientos de labranza y fertilización. Abreviaciones: **A**. *Acaulospora bireticulata*; **B**. *A. delicata*; **C**. *A. excavata*; **D**. *A. laevis*; **E**. *A. mellea*; **F**. *A. spinosa*; **G**. *Acaulospora sp.*; **H**. *Archaeospora leptoticha*; **I**. *Glomus ambisporum*; **N**. *G. claroideum*; **O**. *G. clarum*; **P**.; *G. coronatum*; **Q**. *G. etunicatum*; **R**. *G. microagretatum*; **S**. *G. mosseae*; **T**. *G. tortuosum*; **U**. *Glomus sp*; **V**. *Scutellospora dipapillosa*; **W**. *S. fulgida*; **X**. *Scutellospora sp*.

Durante el macollaje, la especie más representada en todos los tratamientos cultivados fue *G. etunicatum*. En floración predominaron *G. claroideum, G. clarum, G. coronatum* y *G. etunicatum*. La contribución de *G. mosseae* a la biodiversidad fue particularmente alta en LCN90 durante el barbecho 2001-2002.

En la **figura 24 (a y b)** se ilustran las dominancias de las especies en el tratamiento CND en los muestreos efectuados en octubre y noviembre de 2002. En este tratamiento se observó una gran dominancia de *Acaulospora sp.* en el muestreo de octubre. En noviembre, las especies más frecuentes fueron *Acaulospora sp., A. mellea, Glomus etunicatum, G. mosseae* y *Scutellospora dipapillosa*.

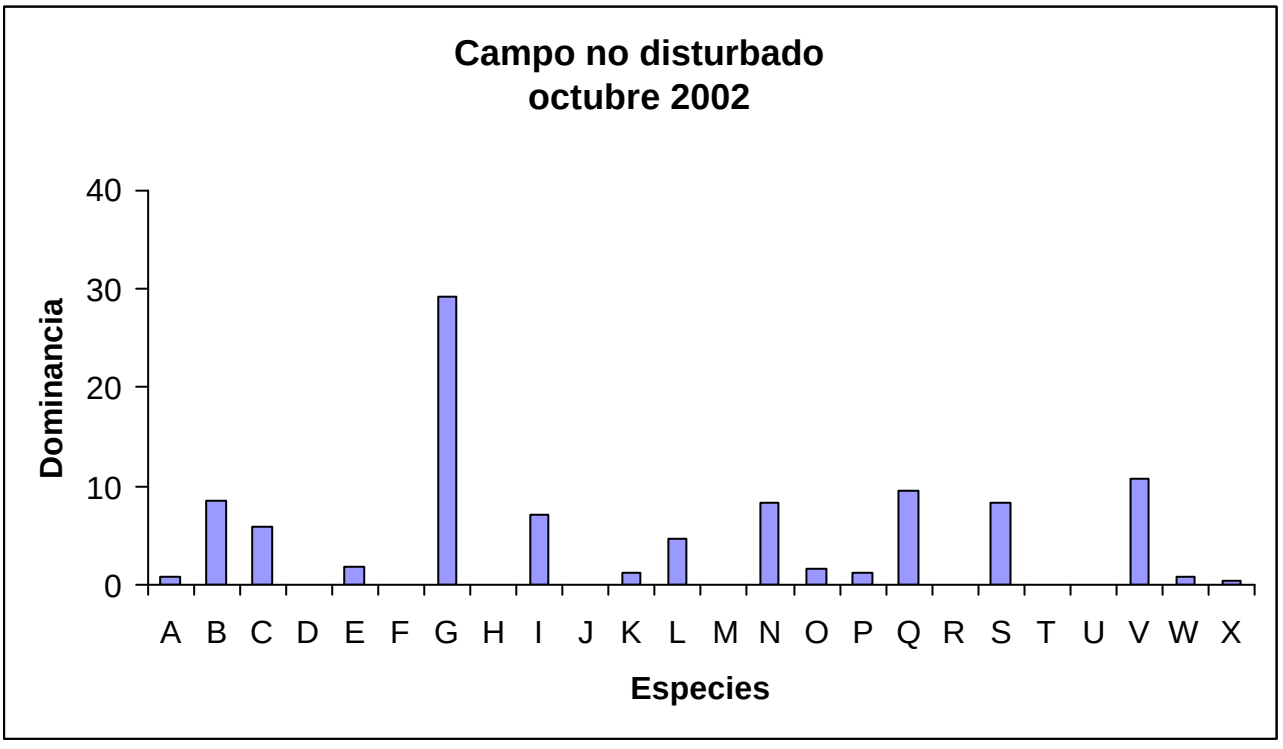


Figura 24a: Dominancia de diferentes especies de *Glomeromycota* en el muestreo efectuado en octubre de 2002 en el tratamiento CND. Abreviaciones: **A**. *Acaulospora bireticulata*; **B**. *A. delicata*; **C**. *A. excavata*; **D**. *A. laevis*; **E**. *A. mellea*; **F**. *A. spinosa*; **G**. *Acaulospora sp.*; **H**. *Archaeospora leptoticha*; **I**. *Glomus ambisporum*; **N**. *G. claroideum*; **O**. *G. clarum*; **P**.; *G. coronatum*; **Q**. *G. etunicatum*; **R**. *G. microaggretatum*; **S**. *G. mosseae*; **T**. *G. tortuosum*; **U**. *Glomus sp*; **V**. *Scutellospora dipapillosa*; **W**. *S. fulgida*; **X**. *Scutellospora sp*.

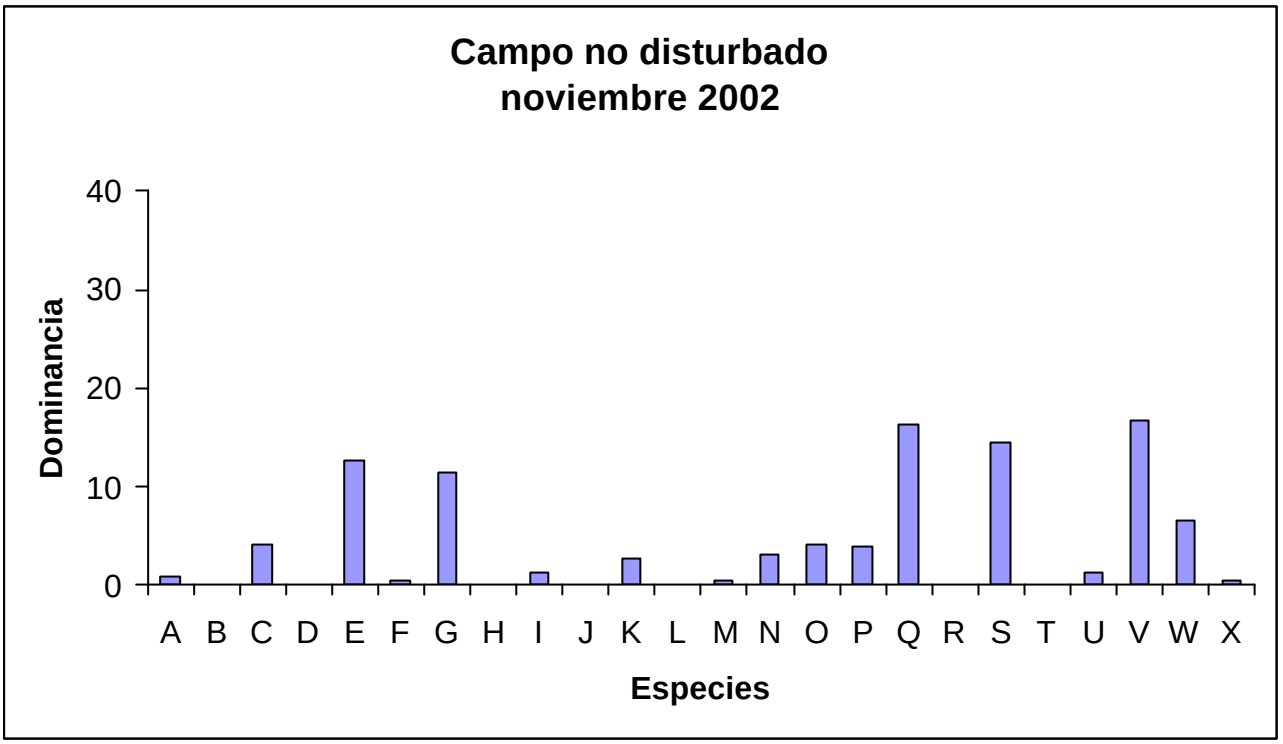


Figura 24b: Dominancia de diferentes especies de *Glomeromycota* en el muestreo efectuado en noviembre de 2002 en el tratamiento CND. Abreviaciones: **A**. *Acaulospora bireticulata*; **B**. *A. delicata*; **C**. *A. excavata*; **D**. *A. laevis*; **E**. *A. mellea*; **F**. *A. spinosa*; **G**. *Acaulospora sp*.; **H**. *Archaeospora leptoticha*; **I**. *Glomus ambisporum*; **N**. *G. claroideum*; **O**. *G. clarum*; **P**.; *G. coronatum*; **Q**. *G. etunicatum*; **R**. *G. microaggretatum*; **S**. *G. mosseae*; **T**. *G. tortuosum*; **U**. *Glomus sp*; **V**. *Scutellospora dipapillosa*; **W**. *S. fulgida*; **X**. *Scutellospora sp*.

En CND se hallaron esporas de 19 especies de *Glomeromycota*. Todas estas especies estuvieron también presentes en los tratamientos con cultivo de trigo. En los dos momentos de muestreo efectuados en CND no fueron halladas esporas de *Acaulospora laevis*, *Archaeospora leptoticha*, *Gigaspora gigantea*, *Glomus microaggregatum* y *G. tortuosum*, especies que habían sido encontradas en los tratamientos cultivados.

Los promedios de los indices de biodiversidad H de Shannon-Weaver de las muestras recolectadas en cada estado fenológico y en el barbecho, en los tratamientos de labranza y fertilización se representan en la **figura 25 (a y b)**

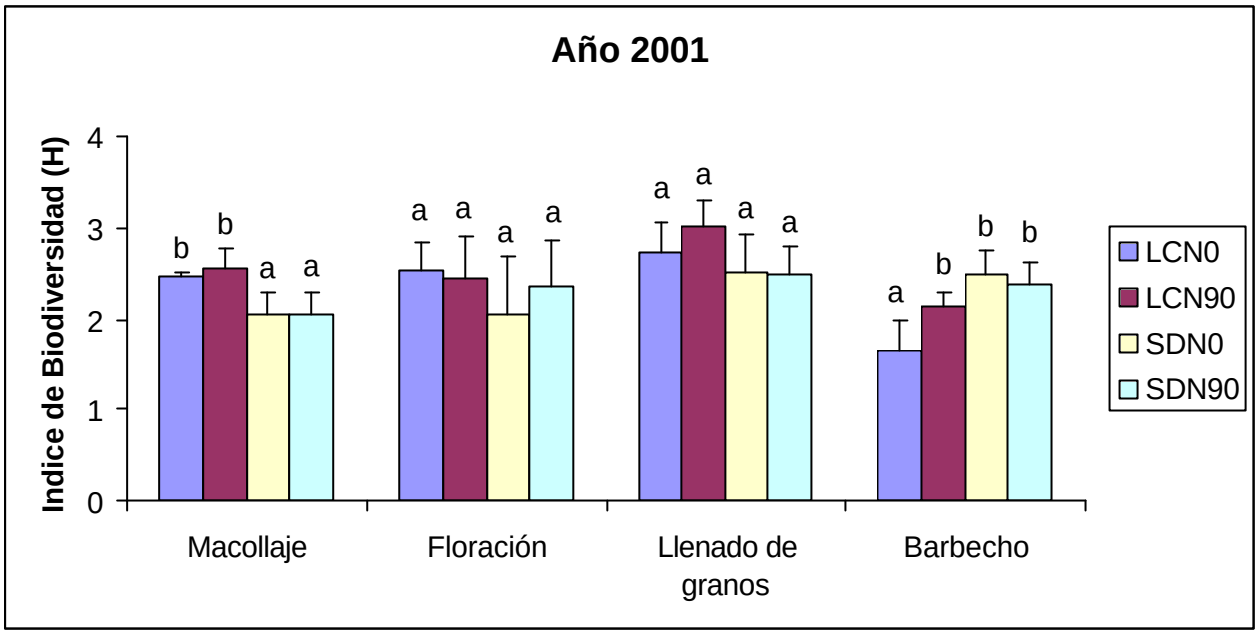


Figura 25a: Indices de biodiversidad Shannon-Weaver de las comunidades de esporas de HFMA, año 2001. Los datos son promedio de tres repeticiones. Las barras de error representan el desvío estándar. La misma letra sobre las barras indica que los valores no difieren significativamente con ANOVA de una vía y test de LSD (P<0.05)

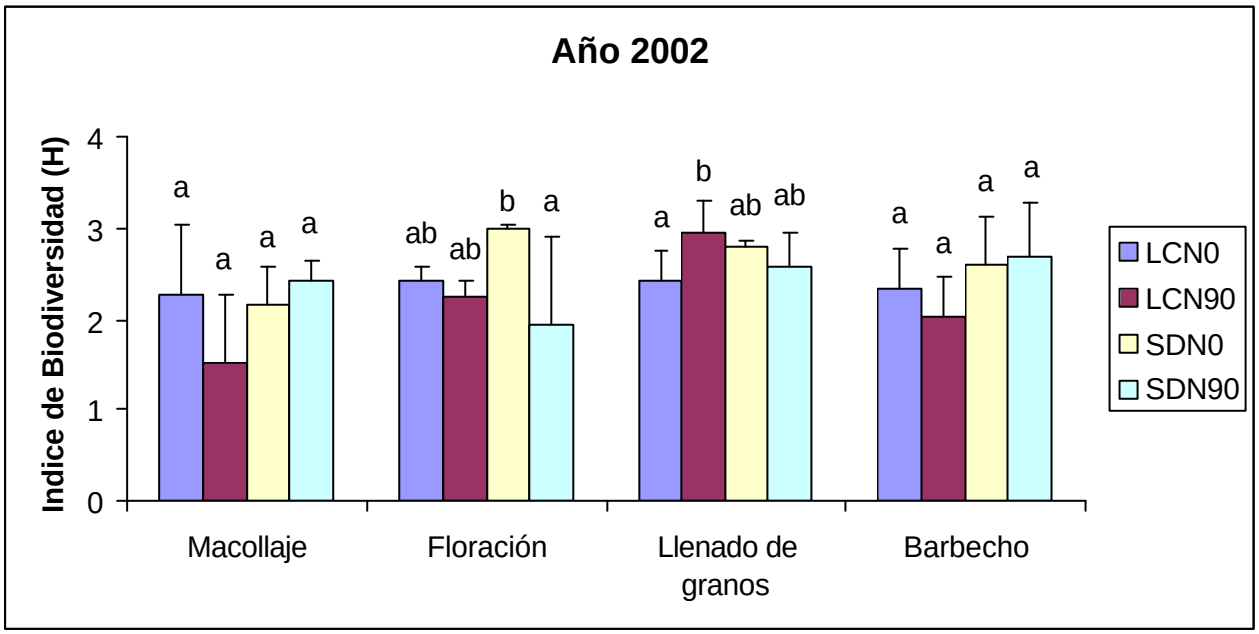


Figura 25b: Indices de biodiversidad Shannon-Weaver de las comunidades de esporas de HFMA, año 2002. Los datos son promedio de tres repeticiones. Las barras de error representan el desvío estándar. La misma letra sobre las barras indica que los valores no difieren significativamente con ANOVA de una vía y test de LSD (P<0.05)

En el año 2001, durante el estado de macollaje se registraron índices de biodiversidad superiores en los tratamientos de labranza convencional, siendo los correspondientes a LCN0 y LCN90 significativamente diferentes a los hallados en SDN0 y SDN90. En floración y llenado de granos las diferencias entre los tratamientos no fueron significativas, aunque las muestras de labranza convencional alcanzaron valores de biodiversidad mayores que las de siembra directa en estos estados fenológicos. En el barbecho 2001-2002, los índices de los tratamientos LCN90, SDN0 y SDN90 fueron significativamente mayores que el obtenido en LCN0. En macollaje del 2002 no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. En floración, el tratamiento SDN0 registró un índice significativamente superior al de SDN90, mientras que en llenado de granos la diversidad de LCN90 fue significativamente mayor que la de LCN0. En el barbecho 2002-2003 no se obtuvieron diferencias entre los índices de los tratamientos.

Se realizó un análisis de correlación entre los índices de biodiversidad H y la equidad (H) y riqueza específica (S) de cada muestra recolectada durante los 2 años, utilizando el coeficiente de correlación lineal *r* de Pearson. En el año 2001 el índice de biodiversidad (H) estuvo asociado a la equidad y a la riqueza específica, alcanzando los coeficientes *r* valores de 0.72 y 0.62 respectivamente. En el 2002 la correlación del índice H con la equidad fue $r = 0.68$ y con la riqueza específica $r = 0.70$. Los valores similares de *r* indican que la riqueza específica y la equidad contribuyeron de la misma manera a explicar los cambios en el índice de biodiversidad.

En la **tabla 5** se muestran las dominancias de las especies de *Glomeromycota* halladas, promedio de todos los muestreos efectuados durante los dos años evaluados en el cultivo de trigo en LCN0, LCN90, SDN0 y SDN90. También se expone la contribución de cada especie al índice de biodiversidad total, y el índice H en cada tratamiento, que es el resultado de la suma de las contribuciones. En esta tabla se resaltan con color las especies cuya contribución representa más del 10 % del índice total, considerandose estas especies como características de la comunidad de *Glomeromycota*.

LCN0	Dominancia	Contribución
Glomus clarum	20.20	0.47
Glomus etunicatum	15.62	0.42
Glomus claroideum	12.00	0.37
Acaulospora excavata	9.04	0.31
Acaulospora mellea	8.24	0.30
Acaulospora sp.	6.35	0.25
Scutellospora fulgida	6.32	0.25
Scutellospora dipapillosa	5.01	0.22
Glomus mosseae	4.44	0.20
Glomus coronatum	4.02	0.19
Gigaspora margarita	3.66	0.17
Acaulospora delicata	1.59	0.09
Acaulospora bireticulata	1.48	0.09
Acaulospora laevis	0.66	0.05
Gigaspora gigantea	0.60	0.04
Entrophospora infrequens	0.54	0.04
Glomus sp.	0.15	0.01
Glomus ambisporum	0.08	0.01
Biodiversidad H		**3.48**

LCN90	Dominancia	Contribución
Glomus etunicatum	21.16	0.47
Glomus claroideum	12.97	0.38
Glomus clarum	10.39	0.34
Acaulospora excavata	7.79	0.29
Acaulospora sp	7.60	0.28
Scutellospora dipapillosa	7.49	0.28
Glomus mosseae	7.09	0.27
Acaulospora laevis	4.43	0.20
Acaulospora bireticulata	3.18	0.16
Acaulospora mellea	2.87	0.15
Scutellospora fulgida	2.68	0.14
Glomus coronatum	2.62	0.14
Gigaspora margarita	2.33	0.13
Glomus tortuosum	1.58	0.09
Glomus ambisporum	1.43	0.09
Acaulospora delicata	1.22	0.08
Archaeospora leptoticha	1.06	0.07
Gigaspora gigantea	0.91	0.06
Gigaspora sp.	0.61	0.04
Scutellospora sp.	0.58	0.04
Biodiversidad H		**3.70**

SDN0	Dominancia	Contribución
Glomus etunicatum	23.51	0.49
Glomus claroideum	14.00	0.40
Glomus clarum	11.07	0.35
Scutellospora dipapillosa	10.15	0.33
Glomus mosseae	7.74	0.29
Acaulospora mellea	6.69	0.26
Glomus coronatum	6.49	0.26
Acaulospora excavata	5.95	0.24
Acaulospora sp	2.49	0.13
Scutellospora fulgida	2.42	0.13
Glomus tortuosum	2.39	0.13
Gigaspora margarita	1.89	0.11
Acaulospora laevis	1.74	0.10
Acaulospora delicata	1.40	0.09
Glomus ambisporum	0.60	0.04
Gigaspora gigantea	0.42	0.03
Acaulospora bireticulata	0.37	0.03
Entrophospora infrequens	0.30	0.03
Gigaspora sp.	0.30	0.03
Archaeospora leptoticha	0.09	0.01
Biodiversidad H		**3.48**

SDN90	Dominancia	Contribución
Glomus etunicatum	26.91	0.51
Glomus mosseae	11.31	0.36
Glomus clarum	8.79	0.31
Acaulospora excavata	8.71	0.31
Glomus claroideum	8.40	0.30
Glomus coronatum	6.06	0.25
Acaulospora sp	4.96	0.21
Acaulospora mellea	4.76	0.21
Acaulospora laevis	4.02	0.19
Scutellospora sp.	3.80	0.18
Scutellospora dipapillosa	3.30	0.16
Glomus tortuosum	2.50	0.13
Scutellospora fulgida	1.78	0.10
Acaulospora delicata	1.60	0.10
Glomus ambisporum	1.21	0.08
Gigaspora margarita	0.91	0.06
Entrophospora infrequens	0.38	0.03
Acaulospora bireticulata	0.23	0.02
Gigaspora gigantea	0.23	0.02
Glomus sp.	0.14	0.01
Biodiversidad H		**3.54**

Tabla 5: Dominancia y contribución al índice de Biodiversidad H de las especies de *Glomeromycota* en LCN0, LCN90, SDN0 y SDN90, promedio de todos los muestreos efectuados durante los años 2001 y 2002 en el ciclo del cultivo.

En la tabla anterior se observa que todas las especies características pertenecieron a la familia *Glomeraceae*, y que *Glomus etunicatum* formó parte este grupo de especies en todos los tratamientos de labranza y fertilización.

Los porcentajes de *Glomeraceae*, *Acaulosporaceae* y *Gigasporaceae*, resultantes de la suma de las dominancias promedio mostradas en la **tabla 5**, se grafican en la **figura 26**.

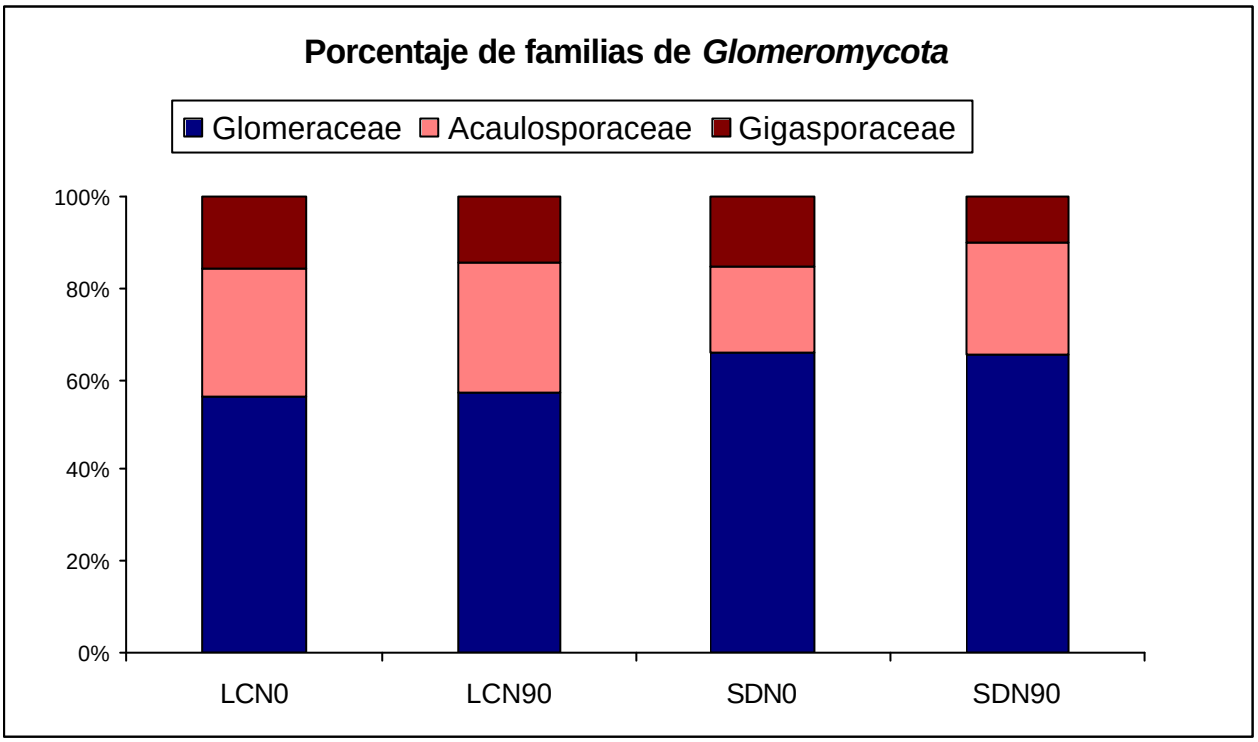


Figura 26: Porcentaje de *Acaulosporaceae*, *Gigasporaceae* y *Glomeraceae*, promedio de los muestreos realizados durante dos años, en cada uno de los tratamientos de labranza y fertilización.

Esta figura muestra claramente una mayor proporción de especies pertenecientes a *Glomeraceae* en las muestras de suelo provenientes de siembra directa.

3.4 Aislamientos de *Glomeromycota* a partir de distintos tipos de propágulos

Los aislamientos utilizando diferentes tipos de inóculo de HFMA mostraron distinta eficiencia para la recuperación de especies de *Glomeromycota*. Las especies presentes en las muestras de campo y las recuperadas en los tipos de aislamiento evaluados se exponen en la **tabla 6**.

Especies	Campo	Planta Trampa (Suelo)	Micelio	Raíz	Planta Transplantada
Acaulospora bireticulata	*		*		
Acaulospora delicata	*	*			*
Acaulospora excavata	*	*	*		*
Acaulospora laevis	*	*	*		
Acaulospora mellea	*	*	*		
Acaulospora sp	*				
Acaulospora spinosa	*				
Entrophospora infrequens	*				
Gigaspora gigantea	*				
Gigaspora margarita	*	*			
Gigaspora sp	*				
Glomus aggregatum			*		
Glomus ambisporum	*	*	*		
Glomus claroideum	*	*	*	*	*
Glomus clarum	*	*	*	*	*
Glomus coronatum	*	*	*		*
Glomus etunicatum	*	*	*	*	*
Glomus mosseae	*	*	*		
Glomus sp	*				
Scutellospora dipapillosa	*	*	*		
Scutellospora fulgida	*	*			

Tabla 6: Especies de *Glomeromycota* presentes en las muestras de campo y en los cuatro tipos de aislamiento evaluados. ***** indica presencia de la especie.

En los aislamientos a partir de suelo y micelio proveniente de tamizados se recuperaron 13 y 12 especies respectivamente de las 20 especies de *Glomeromycota* presentes en las muestras de suelo del campo. El aislamiento a partir de micelio permitió la recuperación de *Glomus*

aggregatum, especie que no había sido observada en las muestras de campo. Los aislamientos a partir de raíces y plantas transplantadas mostraron baja eficiencia, recuperándose 3 y 6 especies respectivamente. En estos dos últimos tratamientos se recuperaron las especies de HFMA que estaban presentes en raíces de plantas de trigo de 50 días. *Glomus etunicatum, G. clarum* y *G. claroideum* fueron halladas en todos los tipos de aislamientos evaluados.

Los porcentajes de esporas pertenecientes a las familias *Acaulosporaceae, Glomeraceae* y *Gigasporaceae* en las muestras de suelo y en los cuatro tipos de aislamiento efectuados a partir de muestras de los tratamientos de campo LC, SD y CN, se muestran en la **tabla 7.**

Tratamiento	Aislamiento	*Acaulosporaceae*	*Glomeraceae*	*Gigasporaceae*
LC	suelo	36.91	54.36	8.73
	trampa	0.6	98.73	0.67
	micelio	0.33	99.67	0
	raíz	0	100	0
	transplante	0	100	0
SD	suelo	26.18	69.9	3.92
	trampa	0.45	98.94	0.61
	micelio	0.57	99.03	0.4
	raíz	0	100	0
	transplante	10.35	89.65	0
CND	suelo	18.09	79.05	2.86
	trampa	3.01	95.93	1.06
	micelio	0	100	0
	raíz	0	100	0
	transplante	0	0	0

Tabla 7: Porcentaje de esporas pertenecientes a *Acaulosporaceae*, *Glomeraceae* y *Gigasporaceae* en muestras de campo y en los cuatro tipos de aislamientos efectuados a partir de los tratamientos LC, SD y CND.

De los datos expuestos en la tabla anterior se destaca que los porcentajes de esporas pertenecientes a *Glomeraceae* registrados en las muestras de campo resultaron 54.36; 69.9 y 79.05 % en LC, SD y CND respectivamente, mientras que en los cuatro tipos de aislamiento efectuados se hallaron porcentajes de *Glomeraceae* superiores al 90 %.

3.5 Bioensayo en macetas con bloques de suelo intactos, fertilización nitrogenada e inoculación

En esta sección se describen los resultados obtenidos para los porcentajes de colonización, arbúsculos y vesículas, número de esporas, biomasa aérea y radical y contenido de N en raíces del bioensayo efectuado en macetas con bloques de suelo intactos extraídos del ensayo de labranza de la estación experimental.

Contenido de N, P y fertilidad física del suelo al finalizar el bioensayo

Los niveles de N total y P en el suelo, en el momento de la extracción de las plantas de trigo de las macetas, se muestran en la **tabla 8**.

Determinación	LC0N	LC0I	LC80N	LC80I	LC160N	LC160I
Fósforo (ppm)	10	9	9	11	12	11
Nitrogeno total (%)	0,18	0,17	0,2	0,19	0,2	0,2

Determinación	SD0N	SD0I	SD80N	SD80I	SD160N	SD160I
Fósforo (ppm)	8	10	10	11	11	12
Nitrógeno total (%)	0,19	0,18	0,2	0,19	0,21	0,2

Tabla 8: Contenido de Fósforo (ppm) y Nitrógeno total (%) en el suelo al momento de la extracción de las plantas de trigo.

La resistencia a la penetración se determinó también en el mismo momento en que extrajeron las plantas. Al realizar la determinación de resistencia a la penetración, el suelo presentaba un porcentaje de humedad promedio de 27 %. A 5 cm. de profundidad el penetrómetro de cono registró valores de 0.39 Mpa (megapascales) para labranza convencional y 1.06 MPa para siembra directa. A los 10 cm., la resistencia a la penetración fue de 0.45 y 1.21 Mpa para labranza convencional y siembra directa respectivamente. Las diferencias entre los valores de siembra

directa y labranza convencional resultaron estadísticamente significativas para las dos profundidades evaluadas.

Porcentaje de colonización, arbúsculos y vesículas

Los resultados de porcentaje de colonización en el bioensayo en macetas con bloques de suelo intactos se muestran en la **figura 27**.

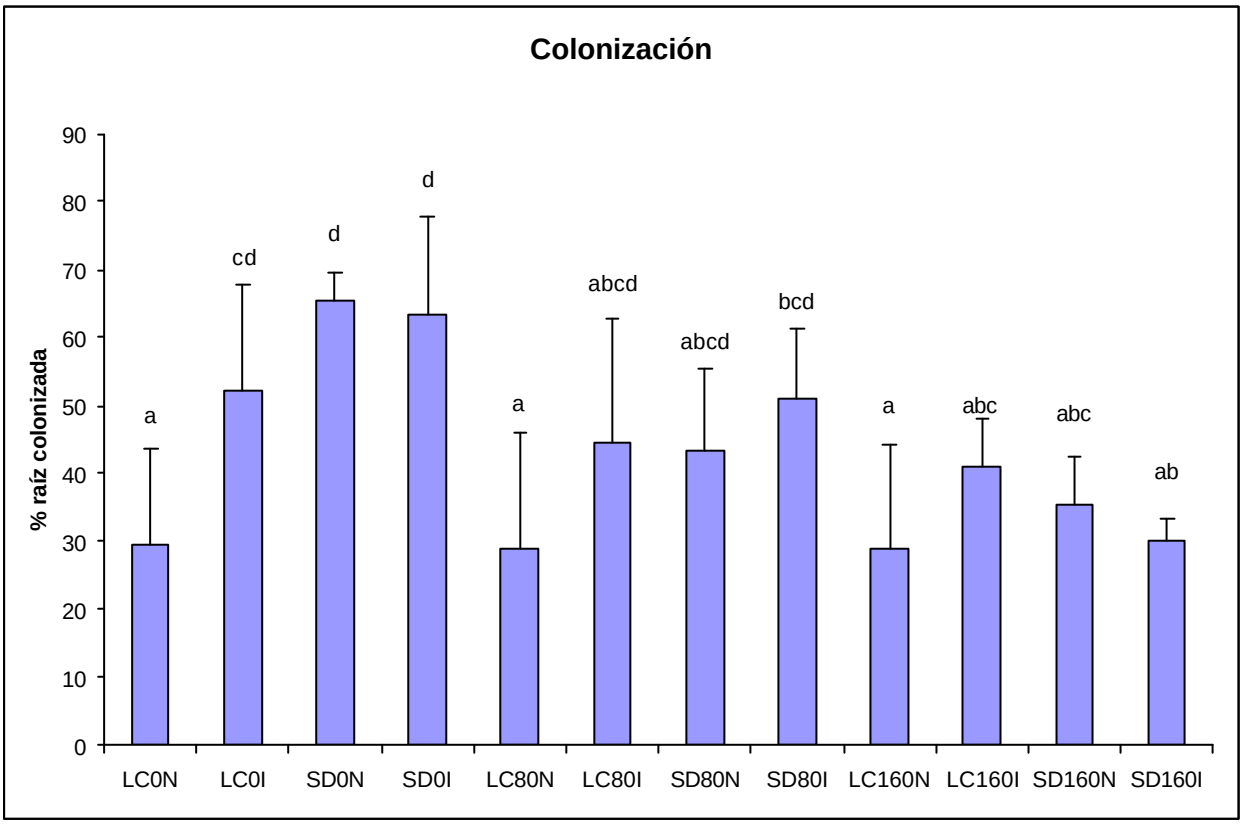


Figura 27: Porcentaje de longitud de raíz colonizada en plantas de trigo. Los valores son promedio de tres muestras separadas. Las barras de error señalan el desvío estándar. La misma letra sobre las barras dentro cada estado fenológico indica que los valores no difieren significativamente utilizando ANOVA de una vía y LSD (P<0.05). Abreviaciones: **LC**: Labranza Convencional; **SD**: Siembra Directa; **0**: Sin fertilizante nitrogenado; **80**: Fertilizado con una cantidad equivalente a 80 kg N/ha ; **160**: Fertilizado con una cantidad equivalente a 160 kg/N ha; **N**: sin inoculante; **I**: inoculado con *Glomus mosseae*

Los tratamientos SD0N y SD0I obtuvieron los mayores niveles de colonización, diferenciándose significativamente de LC0N. Se observó un efecto negativo de la fertilización sobre el porcentaje de colonización en los tratamientos de siembra directa, resultando este porcentaje significativamente mayor en SD0N y SD0I que en SD160N y SD160I respectivamente. En los tratamientos de labranza convencional el agregado de fertilizante no afecto negativamente la colonización. Los valores de los tratamientos de labranza convencional sin inocular mostraron los porcentajes de colonización micorrízica más bajos, independientemente del agregado de N. El tratamiento LC0I registró una mayor colonización que LC0N, sin embargo en los tratamientos de labranza convencional fertilizados la inoculación no generó incrementos en la colonización. En siembra directa no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos inoculados y no inoculados.

El porcentaje de arbúsculos se grafica en la **figura 28**.

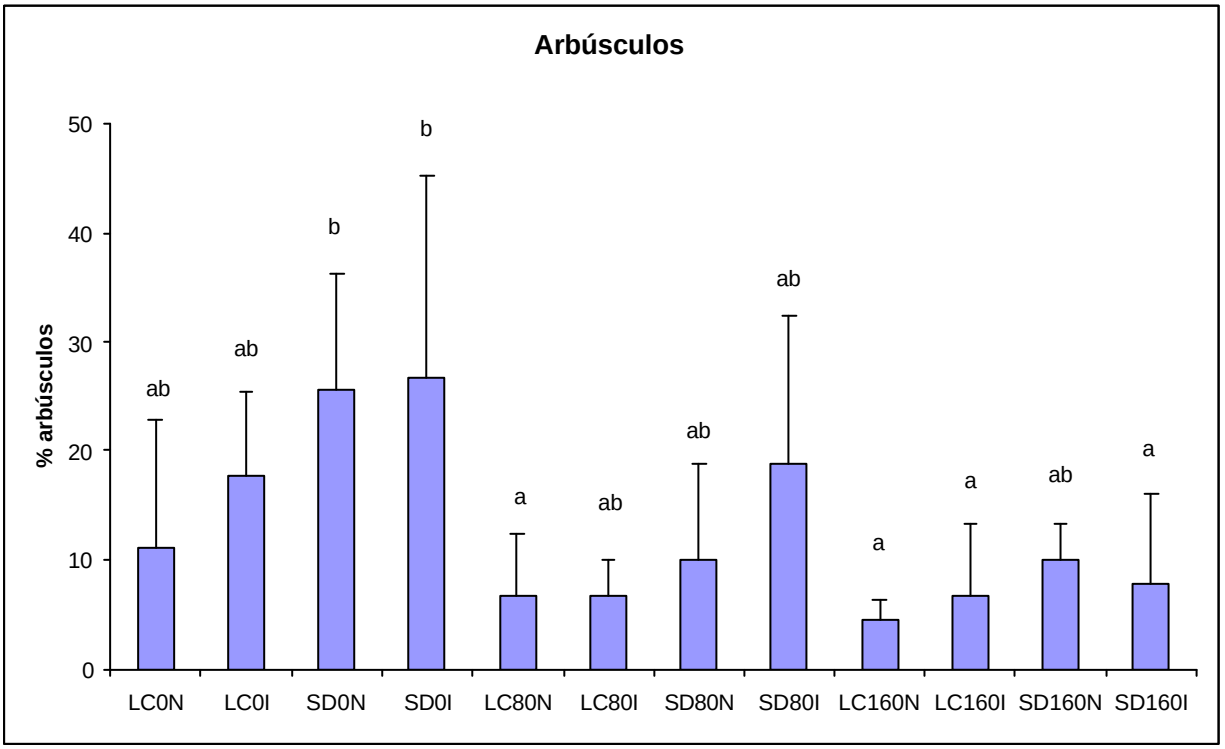


Figura 28: Porcentaje de arbúsculos. Las mismas notaciones que en Fig. 27

La proporción de arbúsculos resultó mayor en los tratamientos SD0N y SD0I, diferenciándose significativamente de los tratamientos LC80N, LC160N, LC160I y SD160I.

Se registraron porcentajes muy bajos de vesículas, con un máximo de 2% en el tratamiento LC0I.

Los resultados de este ensayo muestran un efecto negativo de la fertilización nitrogenada en siembra directa sobre la colonización micorrízica, menores valores de longitud de raíz colonizada en labranza convencional en todos los niveles de fertilización, un mayor porcentaje de colonización y arbúsculos en los tratamientos SD0N y SD0I, y un aumento en la colonización micorrízica con el agregado de inoculante en el tratamiento de labranza convencional sin fertilización nitrogenada.

Número de esporas totales y de *Glomus mosseae*

Al momento del inicio del bioensayo, previamente a la siembra de las plantas de trigo, el número de esporas en 100 g de suelo seco para los bloques de suelo extraídos del ensayo de campo ya descripto era de 321 $\pm$ 15 en siembra directa y 155 $\pm$ 12 en labranza convencional, siendo estos valores promedio de 3 repeticiones.

Los valores del número de esporas totales, y pertenecientes a *Glomus mosseae* luego del crecimiento de las plantas de trigo en las macetas se muestran en la **figura 29**.

Comparando los valores iniciales con los expuestos en la figura citada, se observa que el número de esporas en 100 g de suelo seco se incrementó junto con el crecimiento de las plantas de trigo.

Los tratamientos SD0N, SD0I, SD80N y SD80I registraron los mayores números de esporas totales, diferenciándose significativamente de LC80N y LC160N. Estos dos últimos tratamientos, junto con LC0N obtuvieron los valores de número de esporas más bajos. No existieron diferencias

significativas para el número de esporas totales entre estos tratamientos de labranza convencional sin inocular.

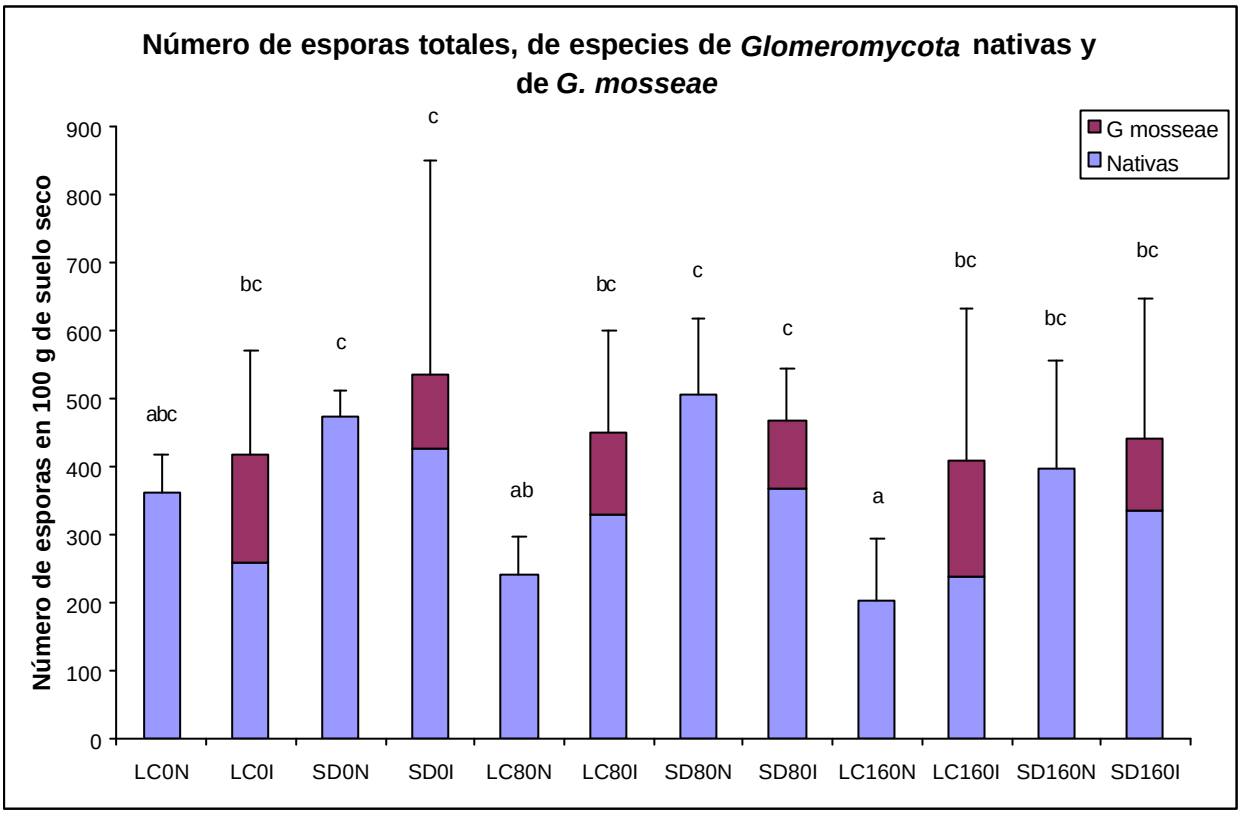


Figura 29: Número de esporas en 100 g de suelo seco totales y *Glomus mosseae* en los distintos tratamientos. Los valores son promedio de tres muestras separadas. Las barras de error señalan en desvío estándar del número de esporas totales. La misma letra sobre las barras dentro cada estado fenológico indica que los valores del número de esporas totales no difieren significativamente utilizando ANOVA de una vía y LSD ($P<0.05$). Las mismas abreviaciones que en Fig. 27.

En los tratamientos sin fertilización nitrogenada, la labranza y la inoculación con *Glomus mosseae* no se reflejó en diferencias significativas. En cambio, en los tratamientos fertilizados se diferenciaron los tratamientos de labranza convencional sin inocular de los provenientes de bloques de suelo de siembra directa. Este hecho muestra un efecto negativo de la fertilización nitrogenada sobre el número de esporas totales en labranza convencional. En siembra directa y en

los tratamientos inoculados la fertilización no afectó significativamente el número de esporas totales. En cuanto al número de esporas de *Glomus mosseae* en los tratamientos inoculados, este permaneció en un rango entre 97 a 172 esporas, no registrándose diferencias significativas entre los tratamientos.

Biomasa radical, aérea y contenido de nitrógeno en raíces

Las plantas de trigo de los tratamientos LC160N, LC160I y SD160I registraron biomasas aéreas significativamente mayores que SD0N, SD0I, LC0I y LC0N (**Figura 30**).

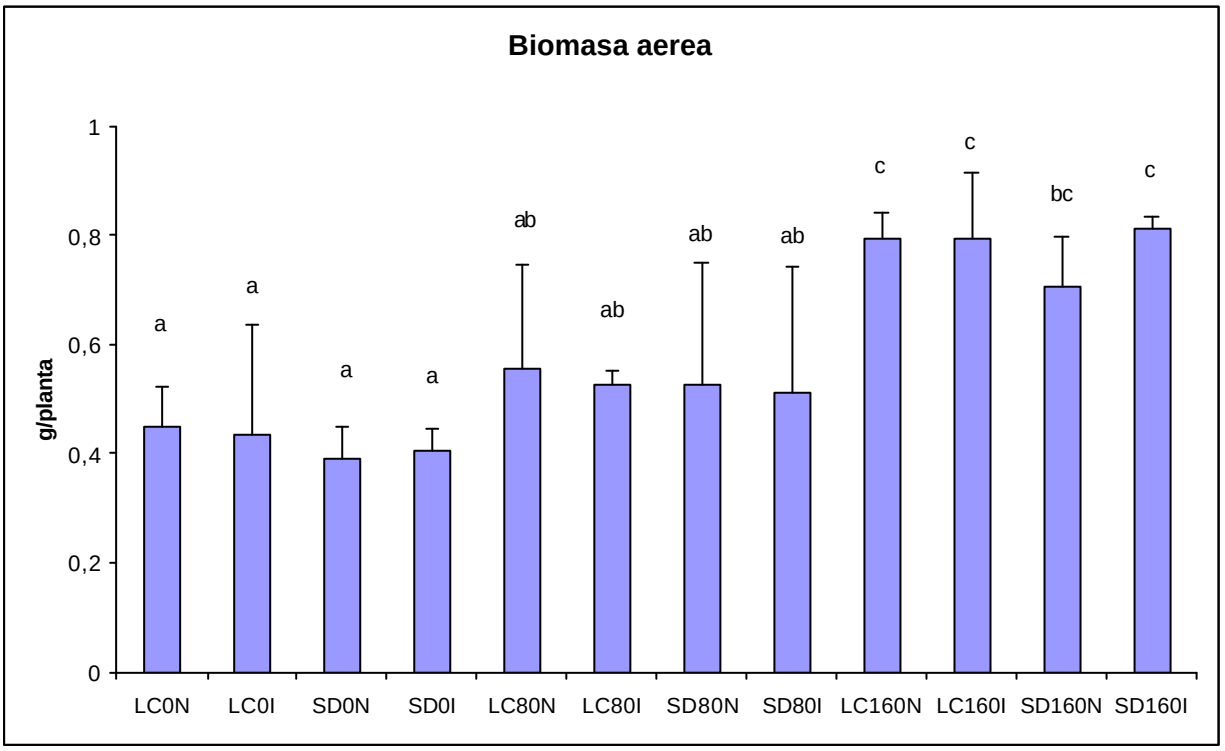


Figura 30: Biomasa aérea de las plantas de trigo. Las mismas notaciones que Fig. 27.

Existió una respuesta positiva de la fertilización nitrogenada sobre la biomasa aérea, aunque no se registraron efectos de los tratamientos de labranza o inoculación sobre la misma.

Con respecto a la biomasa radical, los tratamientos LC80I, LC160N y LC160I mostraron valores significativamente mayores que SD0N, SD0I y SD80N (**Figura 31**), obteniéndose respuestas favorables de la fertilización nitrogenada y la labranza convencional sobre el crecimiento radical.

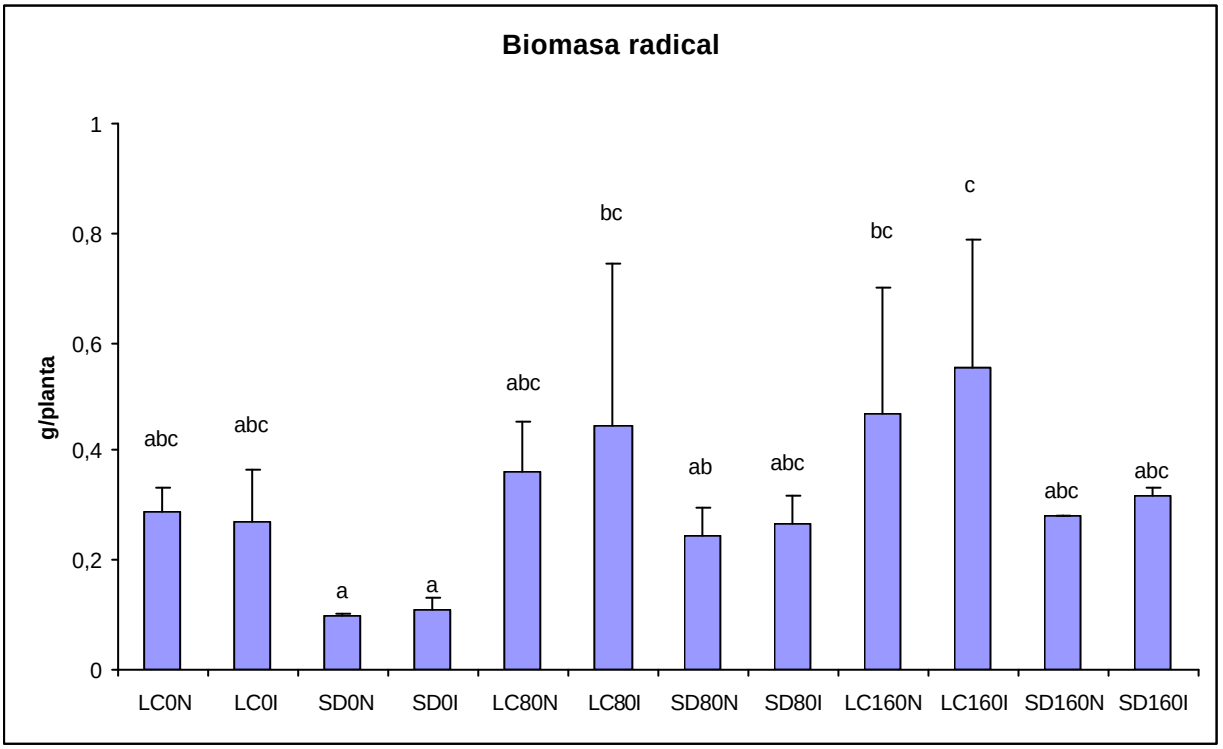


Figura 31: Biomasa radical de las plantas de trigo. Las mismas notaciones que Fig. 27.

La relación biomasa radical/ biomasa aérea fue mayor en los tratamientos de labranza convencional y se muestra en la **tabla 9**

LC0N	LC0I	SD0N	SD0I	LC80N	LC80I	SD80N	SD80I	LC160N	LC160I	SD160N	SD160I
0.64	0.62	0.26	0.28	0.65	0.85	0.46	0.52	0.59	0.7	0.39	0.39

Tabla 9: Relación biomasa radical/biomasa aérea de las plantas de trigo en los distintos tratamientos.

En la **figura 32** se muestra el contenido de N en las raíces de trigo en los tratamientos evaluados.

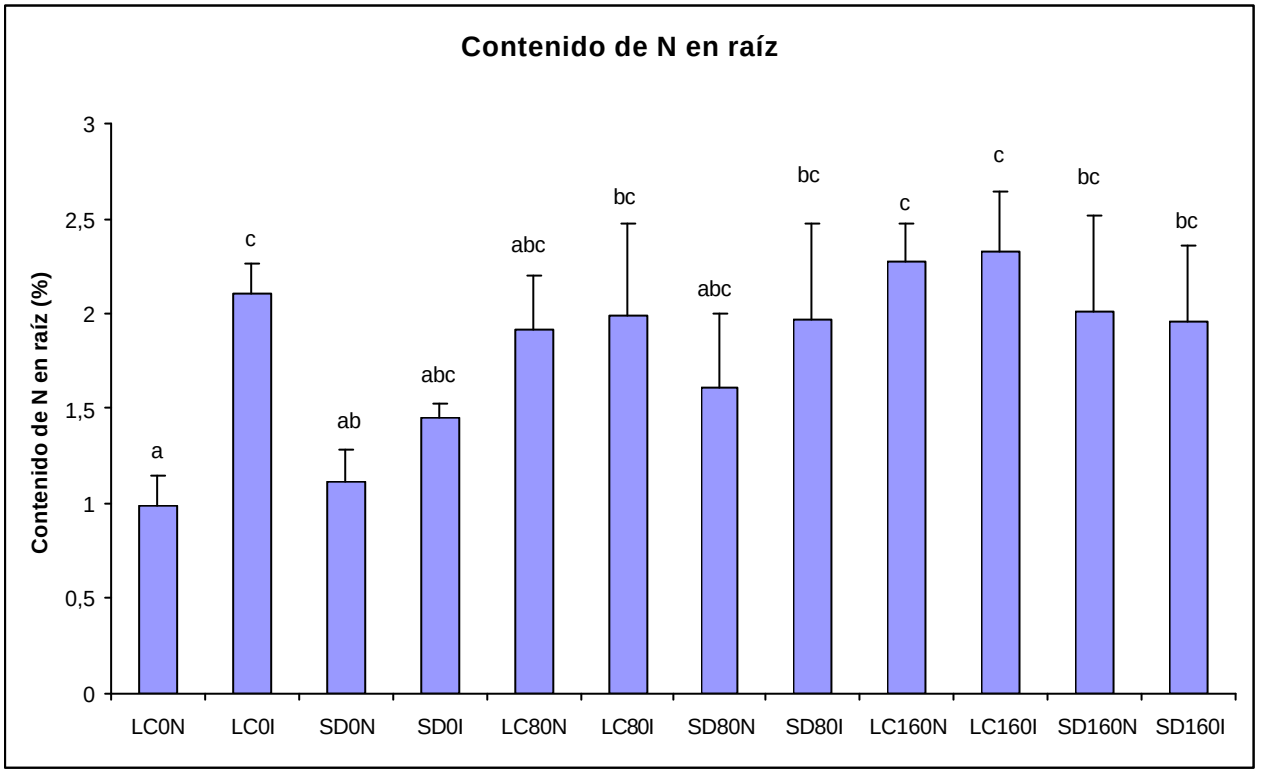


Figura 32: Contenido de N en raíz (%). Las mismas notaciones que Fig. 27.

En esta figura se observa un aumento en el contenido de nitrógeno en raíz en los tratamientos fertilizados. Se destaca un efecto positivo de la inoculación con HFMA en los tratamientos sin fertilizante nitrogenado. En labranza convencional, el contenido de nitrógeno en raíces de trigo del tratamiento inoculado LC0I resultó significativamente mayor que el valor registrado por el no inoculado LC0N.

DISCUSIÓN

4.1 Colonización e infectividad micorrízica del suelo:

Los resultados obtenidos de los ensayos de campo en 2001 y 2002 muestran que el manejo de siembra directa influyó positivamente en la colonización micorrízica en el cultivo de trigo. En este sistema conservacionista se registraron mayores porcentajes de estructuras internas como arbúsculos y vesículas en las raíces. El bioensayo con bloques de suelo intacto en macetas efectuado en el año 2004 mostró las mismas tendencias, corroborando los resultados obtenidos a campo. Las diferencias entre los sistemas de labranza fueron más marcadas durante los primeros estados del cultivo de trigo. Esto demuestra que bajo siembra directa los eventos y procesos necesarios para iniciar la colonización ocurrieron en forma más rápida que en los tratamientos de labranza convencional.

Las asociaciones micorrízicas reflejan interacciones complejas entre la planta hospedante, los hongos y el ambiente (Brundrett *et al*., 1996). Se conoce que la cantidad de propágulos en el suelo tiene gran influencia en la velocidad de inicio de las primeras colonizaciones (Daft & Nicolson, 1969; Rich & Bird, 1974). Plenchette *et al.* (1989) definieron a la infectividad micorrizica del suelo (IMS_{50}) como “la habilidad de un suelo que contiene HFMA para inducir la colonización micorrízica en una planta hospedante”. Según este autor, este concepto incluye no sólo el potencial inóculo tal como lo define Garret (1956) sino también las posibles interacciones que ocurren entre el simbionte y los componentes abióticos y bióticos del ambiente suelo-hospedante. Los resultados obtenidos en este trabajo de tesis utilizando el método propuesto por el citado autor (**Tabla 2**), muestran una IMS_{50} significativamente mayor en los tratamientos de siembra directa con respecto a los obtenidos en labranza convencional, independientemente de la aplicación de

fertilizante nitrogenado. Este dato concuerda con lo enunciado por Jasper *et al*. (1987, 1989, 1992) que señalan que la labranza y otros tipos de disturbios, como el barbecho desnudo, pueden reducir la población de propágulos viables.

En cuanto a la colonización, se mencionó que las diferencias entre los sistemas de labranza fueron notables durante el macollaje en los dos años evaluados en el ensayo a campo (**Figuras 12 y 13**), y que la siembra directa mostró mayores valores. Los resultados en la colonización y la suma de las hifas y puntos de entrada en este estadio temprano de crecimiento registraron las mismas tendencias que las halladas para la infectividad micorrízica del suelo (IMS_{50}) en todos los tratamientos. Carling *et al*. (1979) y Smith & Walker (1981) en ensayos en macetas encontraron una relación lineal entre el número de puntos de entrada y la densidad de propágulos en el suelo. Los datos que se presentan en este trabajo de tesis concuerdan con lo hallado por estos autores, pudiéndose concluir que la mayor IMS_{50} registrada en siembra directa se reflejó en una mayor colonización micorrízica en las primeras etapas del cultivo de trigo, resultando la infectividad del suelo un factor determinante.

Como se ha mencionado en la introducción, existen diferentes tipos de propágulo de HFMA en el suelo (esporas, hifas y raíces colonizadas). Estos propágulos pueden no tener la misma capacidad para producir nuevas unidades de infección (Klironomos & Hart, 2002). La IMS_{50} compara la capacidad de distintos suelos para inducir colonización en las plantas, lo que depende de la actividad de todas las formas de propágulos existentes. Sin embargo, este indicador no aporta información sobre la contribución relativa de cada uno de los diferentes tipos de propágulos en la colonización de los sistemas radicales. Se ha señalado que los fragmentos de raíces colonizadas (Rives *et al*., 1980); las esporas (Gould & Liberta, 1981; Jasper *et al*., 1987, 1988) y las hifas (Jasper *et al*., 1989) pierden capacidad para iniciar la colonización con los disturbios del suelo. Esta pérdida puede deberse a que los mismos resultan físicamente dañados por el disturbio y/o a que luego de este quedan expuestos a condiciones desfavorables para la germinación o colonización (Stahl *et al*., 1988; Bellgard, 1993). En situaciones de campo, la contribución de cada tipo de

propágulo en la colonización resulta difícil de distinguir (Smith & Read, 1997). Se considera que en muchos hábitats 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; Smith & Smith, 1981; Tommerup & Abbott, 1981; Birch, 1986; Jasper *et al.*, 1992). Estudios en macetas y a campo han demostrado que las hifas extraradicales de los HFMA resultan severamente afectadas por disturbios en el suelo como la labranza (Fairchild & Miller, 1990; McGonigle & Miller, 1996b; Kabir *et al.*, 1997; Wright & Upadhyaya, 1998). Jasper *et al.* (1989) afirman que, dada la importancia de la red de hifas de HFMA como inóculo en suelos no disturbados, la disminución de la infectividad de los propágulos del suelo luego de los disturbios probablemente esté determinada por los daños sobre esa red, más que sobre las esporas y fragmentos de raíces colonizadas, estructuras consideradas más robustas que las hifas.

Otro efecto de la labranza sobre los HFMA, que actúa en conjunto con la disrupción de la red hifal, es la dilución de la parte superior del suelo rica en propágulos con la parte subsuperficial más pobre (Sieverding, 1991). Resulta claro que la mezcla mecánica del suelo afecta a todos los tipos de propágulos de HFMA. De lo enunciado se infiere que el efecto conjunto de la disrupción de la red hifal, de la dilución de la parte superior del suelo rica en propágulos y de la descomposición acelerada de raíces en la labranza convencional repercute, en mayor o menor medida, en la actividad de todos los tipos de propágulo, reflejándose esto en una disminución en la infectividad micorrízica del suelo y la colonización en estados tempranos.

Existen trabajos que señalan un efecto positivo de la labranza reducida sobre la colonización micorrízica en comparación con técnicas convencionales de preparación del suelo, principalmente en cultivo de maíz (Douds *et al.*, 1995; McGonigle & Miller, 1996a). Mozafar *et al.*, (2000), en un ensayo de labranza en Suiza, hallaron un aumento en la colonización micorrizica con la siembra directa respecto a la labranza convencional en esta especie, sin embargo no encontraron diferencias entre los sistemas de labranza en raíces de trigo. En el presente trabajo de tesis, la prolongada duración del ensayo de labranzas, el cual fue iniciado en 1993, que implica una repetición de los

disturbios de la labranza convencional y una acumulación de los propágulos en siembra directa por varios años, seguramente fue un factor que contribuyó a las diferencias halladas entre los dos sistemas analizados.

La colonización micorrízica y la presencia de arbúsculos y vesículas mostraron dinámicas particulares en los ciclos de cultivo de 2001 y 2002, registrándose variaciones según los distintos estados fenológicos y tratamientos. En los dos años se observó un incremento de la colonización de las raíces a lo largo del ciclo de cultivo. Esto coincide con los trabajos de Land *et al*. (1993), Mohammad *et al*. (1998) y Mozafar *et al.* (2000), que hallaron un aumento de la longitud de raíz colonizada hasta la fase de llenado de granos.

Como se señaló, en las primeras etapas del cultivo las condiciones del banco de propágulos de HFMA son determinantes para la colonización rápida de las raíces. La expresión gráfica de la colonización a través del tiempo presenta una curva sigmoidal (Sieverding, 1991). Una mayor densidad de propágulos suele reducir la longitud de la fase de retraso o lag de esta la curva (Smith & Read, 1997), por lo tanto se considera que la mayor infectividad micorrízica del suelo registrada en siembra directa fue un factor decisivo en la mayor colonización observada en macollaje con respecto a labranza convencional.

En estados más avanzados de desarrollo de la colonización se determina el nivel 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 los factores que afectan las tasas de crecimiento relativo del hongo y el hospedante pueden cambiar esta situación de equilibrio (Sieverding, 1991). Amijee *et al*. (1986) señalan que la colonización secundaria está fuertemente determinada por el estado nutricional de las plantas, formulando estos autores el concepto de "crecimiento hifal controlado" por el hospedante. Wilson & Tommerup (1992) afirman que este aspecto está regulado por el flujo de carbohidratos desde la raíz hacia el componente fúngico de la simbiosis. Por todo esto, es posible que las variaciones en el ambiente físico-químico del suelo, el estado nutricional y

crecimiento de las plantas hospedantes, determinadas por la siembra directa, la labranza convencional y la fertilización nitrogenada, hayan tenido incidencia en los porcentajes de colonización de floración y llenado de granos, estados avanzados del cultivo en los cuales se produce la colonización secundaria y la fase de plateau o estabilización.

En el ensayo a campo efectuado en el año 2002 y en el bioensayo con suelo no disturbado en macetas se observó que la fertilización nitrogenada tuvo un efecto negativo sobre los porcentajes de colonización, arbúsculos y vesículas en los tratamientos de siembra directa (**Figuras 13, 14, 15 y 16**). En ese sentido, numerosos autores han hallado reducciones en la colonización micorrízica arbuscular con aplicaciones de nitrógeno, similares a las registradas en este trabajo (Hayman, 1970; Kruckelmann, 1975; Jensen & Jacobsen, 1980; Baltruschat & Dehne, 1982). Land *et al.* (1993), en un cultivo de trigo en Alemania, encontraron que un aumento en la fertilización con N resultó en una inhibición marginal de la colonización micorrízica. En suelos eutrofizados en California el porcentaje de colonización de HFMA en raíces de arbustos nativos y herbáceas anuales declinó con el aumento de N (Egerton-Waburton & Allen, 2000; Singüenza, 2000). Treseder & Allen (2002) analizaron varios experimentos a campo publicados por numerosos autores en donde se efectuaron aplicaciones de N, y señalan que existe una gran disparidad entre los resultados de dichos trabajos, ya que algunos reportan disminuciones en la biomasa de micelio de HFMA como respuesta a las fertilizaciones con este nutriente mientras que otros señalan incrementos en este aspecto. Treseder (2004) realizó un meta-análisis de la bibliografía publicada recientemente con el fin de comparar las respuestas de los hongos micorrízicos a la acumulación de nitrógeno, fósforo y CO_2 atmosférico en estudios a campo. En dicho análisis, la autora señala que en la mayoría de los trabajos la fertilización nitrogenada disminuyó la actividad de las micorrizas. En esa misma revisión, se afirma que las respuestas de los HFMA a la fertilización con N son menos consistentes que las obtenidas con la aplicación de fertilizantes fosfatados, ya que existe mucha variación entre las investigaciones sobre el efecto de éste elemento y se señala que, por este mismo motivo, resulta difícil efectuar predicciones en condiciones de campo sobre este aspecto.

Algunos autores consideran que el efecto del nitrógeno sobre los HFMA y su colonización depende del estado de ese elemento en el suelo. Chambers *et al.* (1980) sostienen que el ión NH_4^+ tiene un efecto más deletéreo sobre la colonización micorrízica que el $N0_3^-$. El mecanismo no es conocido completamente, pero Hawkins & George (2001) afirman que el NH_4^+ afecta el crecimiento de las hifas en forma directa.

La absorción de N es un parámetro sensible a la compactación de suelo (Alakukku & Elonen, 1995; Douglas & Crawford, 1993). En los suelos de la estación experimental "Ing. Agr. Hirschhorn", en siembra directa se han registrado altos valores de resistencia a la penetración (Balbuena *et al.* 1996, Golik *et al.*, 2004b) y una menor producción de materia seca radical con respecto a labranza convencional en trigo (Sarandón *et al.*, 1994; Golik *et al.*, 2004b). Las diferencias en resistencia a la penetración y densidad aparente medidas en las parcelas con siembra directa y la labranza convencional en los suelos de textura fina de la estación experimental son generalmente altas (**Fig. 9**), por lo que es importante considerarlas en esta discusión. Sarandón *et al.* (1997), analizando ensayos efectuados en la estación experimental donde se desarrolló esta investigación, y Bergh *et al.* (1996) afirman que la menor capacidad de exploración radical en siembra directa podría generar impedimentos para la captación del nitrógeno. Dicho efecto, sumado a una disponibilidad de N más baja, por una menor mineralización (Doran, 1980; Daniel *et al.*, 1984) y/o mayor inmovilización de N (Alvarez *et al.*, 1998a; Carefoot *et al.*, 1990) frecuentes en los sistemas de labranza conservacionista, probablemente generen situaciones de deficiencia nutricional e influyan sobre el crecimiento de las plantas de trigo en siembra directa, que por cierto registró menor biomasa aérea y radical en el tratamiento sin fertilización en el año 2002 (Golik *et al.* 2004a,b). De acuerdo al concepto de "crecimiento hifal controlado" por el hospedante (Amijee *et al.*, 1986) todas estas condiciones podrían haber influido en forma indirecta sobre las respuestas de los porcentajes de colonización, arbúsculos y vesículas a la fertilización en siembra directa.

Durante el ciclo de cultivo del año 2002 se obtuvieron mayores porcentajes de arbúsculos en el tratamiento de siembra directa sin fertilización nitrogenada (**Fig. 15**). En el bioensayo en macetas con bloques de suelo se registró la misma tendencia en el porcentaje de estas estructuras. Wilcox (1996) señala que la planta hospedante posee medios para regular el número de arbúsculos y la densidad de los mismos por unidad de longitud de raíz. La degradación selectiva de arbúsculos y la regulación de los carbohidratos transferidos a través de las interfaces arbusculares constituyen los mecanismos a través de los cuales el hospedante controlaría el número de estas estructuras (Koide & Schreiner, 1992).

En la situación de siembra directa sin fertilización nitrogenada del ensayo a campo, los análisis del contenido de P en raíces mostraron mayores valores de ese elemento en el estado de floración de 2002 (**Fig. 17**), coincidentemente con el mayor número de arbúsculos hallado. Los arbúsculos tienen un rol importante en la transferencia de nutrientes entre los simbiontes (Smith & Smith, 1989). El aumento de la absorción de P en raíces colonizadas es uno de los beneficios más conocidos de las asociaciones micorrízicas (Sieverding, 1991; Smith & Read, 1997), y ha sido señalado en la bibliografía desde hace muchos años (Baylis, 1959).

Varios autores señalan que la formación de un arbúsculo en *Triticum aestivum* demora alrededor de 2 o 3 días y la totalidad del ciclo arbuscular ocurre en un periodo de 7 días (Bevenge & Bowen, 1975; Brundrett *et al.*, 1985). En las raíces del ensayo a campo realizado en el 2002 se observaron estas estructuras desde el muestreo de macollaje hasta el estado de floración, es decir por un periodo de más de 60 días, lo que indica que la formación de arbúsculos es un proceso dinámico. Por otro lado, el aumento en el número de vesículas es coincidente con los últimos estados del cultivo en donde las plantas comienzan su senescencia. Las vesículas son estructuras de resistencia (Bonfante-Fasolo, 1984) y su número aumenta en raíces senescentes o muertas. El mayor porcentaje de vesículas registrado en el tratamiento SDN0 con respecto a SDN90 coincide

con lo reportado por Treseder & Allen (2002), en donde hallaron mayores porcentaje de vesículas en suelos con limitaciones en la disponibilidad de N que en suelos fertilizados.

En el año 2001 se registraron precipitaciones de 390.6 mm desde la siembra hasta el momento de floración del cultivo, que constituyen un 171.6 % de la precipitación histórica registrada para ese periodo. La precipitación acumulada del mes de agosto resultó 183 mm. (**Fig. 8**), que representa cuatro veces la precipitación histórica para ese mes (55.6 mm) y la de octubre 178 mm, casi el doble que su histórica (101 mm). Es sabido que la impedancia mecánica de los suelos decrece con aumentos en el contenido hídrico del suelo (Greacen, 1960; Mirreh & Ketcheson, 1972; Payne, 1973; Bennie & Burger, 1988), y ya se mencionó que la alta resistencia a la penetración fue una característica distintiva en los tratamientos de siembra directa del ensayo. Por lo tanto, los excesos hídricos podrían dificultar la expresión de las diferencias entre los sistemas de labranza evaluados. El ciclo del nitrógeno es de gran complejidad, y numerosos trabajos señalan que los excesos hídricos predisponen a pérdidas de nitrógeno importantes, vía lixiviación de N (Kanwar *et al*., 1985; Melenik *et al*., 1990; Hubbard *et al*., 1991; Jones & Schwab, 1993; Ritter *et al.*, 1993), volatilización de NH_3 a partir de aplicaciones de N en forma de urea (Keller & Mengel, 1986; Urban *et al.*, 1987; Lightner *et al.*, 1990; Stecker *et al.*, 1993) o desnitrificación por bacterias anaerobias (Linn & Doran, 1984). Teniendo en cuenta esto, sería riesgoso formular conclusiones sobre el efecto de la fertilización nitrogenada en un año con las características del 2001. En dicho año, a partir de floración no se registraron diferencias entre los sistemas de labranza y fertilización en el porcentaje de colonización. Se ha señalado que en estados avanzados del cultivo las características físico-químicas del suelo, el estado nutricional y crecimiento de las plantas ejercerían influencia sobre la colonización secundaria. Los excesos hídricos registrados podrían haber enmascarado las diferencias entre los tratamientos de labranza y fertilización, por lo tanto se considera que los porcentajes de colonización obtenidos en ese año no son representativos de las situaciones evaluadas. Por todo esto, el análisis y la discusión sobre el efecto de la labranza y la

fertilización sobre los porcentajes de colonización, arbúsculos y vesículas se centraron en los datos obtenidos en el año 2002 y en el bioensayo en macetas con suelo no disturbado.

Los resultados de las determinaciones de porcentaje de colonización, arbúsculos, vesículas e infectividad micorrízica del suelo determinados en el 2002 mostraron que la siembra directa favoreció la actividad de los HFMA, siendo el menor grado de disturbio del suelo un factor decisivo. La fertilización nitrogenada registró un efecto negativo sobre la colonización micorrízica en plantas de trigo de los tratamientos de siembra directa cuando fue evaluada en condiciones hídricas normales. Por otra parte, las raíces que exhibían mayores porcentajes de colonización micorrízica y arbúsculos en el estado de floración del 2002 presentaron contenidos más altos de P.

4.2 Número de esporas y su viabilidad

La abundancia de esporas, determinada en los años 2001, 2002, 2003 y parte de 2004 registró valores que se encontraron dentro de los rangos señalados para sistemas agrícolas de otras regiones (**Figuras 18, 19 y 20**). El número de esporas en 100 gramos de suelo en el ensayo de labranza y fertilización registró valores mínimos de 47 y máximos de 788 en distintos momentos de muestreo. Estos valores son cercanos a los citados en la bibliografía. Land *et al*. (1993), en un cultivo de trigo en Alemania hallaron valores de 150 a 650 esporas/100 gramos de suelo y Oehl *et al*. (2003), en un cultivo de maíz encontraron 250 a 800 esporas. Cabello (1987) en un cultivo de girasol en el sudeste de la provincia de Buenos Aires halló desde 300 hasta 700 esporas en 100 gramos de suelo. Por otra parte, en ambientes muy diferentes como los pastizales de altura de la provincia de Córdoba, Lugo & Cabello (2002) hallaron valores de hasta 4083 esporas/100 mililitros de suelo, que son muy superiores a los encontrados en las parcelas no disturbadas evaluadas durante parte de los años 2003 y 2004, que alcanzaron valores de hasta 599 esporas/100 gramos de suelo.

Las diferencias en la abundancia de esporas entre los sistemas de labranza dependieron del momento en el cual se efectuaban los muestreos. En líneas generales, en las primeras etapas del

cultivo se observaron mayores valores en los tratamientos de siembra directa, mientras que en los estados fenológicos más avanzados no se registraron diferencias entre los sistemas de labranza evaluados. En labranza convencional, se observó en los 3 años analizados un aumento a lo largo del ciclo de cultivo, mientras que en siembra directa los valores se mantuvieron relativamente estables o registraron incrementos de menor magnitud.

El número de esporas que se determina en los suelos incluye estructuras de formación reciente, como también esporas formadas en periodos anteriores. Por lo tanto, la supervivencia de las esporas en el suelo tiene gran incidencia en las variaciones que se registran entre los distintos muestreos (Lee & Koske, 1994a).

En experimentos en macetas, se ha hallado que la producción de esporas depende principalmente del crecimiento de la planta hospedante, la aplicación de fertilizantes y la intensidad de luz (Furlan & Fortin, 1977; Douds & Schenck, 1990). En condiciones de campo, los aumentos en su número han sido relacionados con el crecimiento de las raíces (Hayman, 1970) y con la madurez o senescencia del hospedante (Hayman, 1970; Koske & Halvorson, 1981; Giovannetti, 1985, Gemma *et al.*, 1989). También, incrementos en la cantidad de esporas han sido asociados con el progreso de la colonización del hongo dentro de las raíces de los hospedantes (Gazey *et al.*, 1992; Abbott & Gazey, 1994). La relación entre el número de estas estructuras y la colonización en las raíces es poco clara (Smith & Read, 1997), y algunos autores han hallado correlaciones positivas entre estas dos variables (Hayman, 1970; Sutton & Barron, 1972; Giovannetti, 1985; Jakobsen & Nielsen, 1983), mientras que otros no encontraron ninguna asociación (Powell, 1977; Daniels Hetrick & Bloom, 1986) o incluso han observado relaciones inversas entre estos aspectos (Louis & Lim, 1987).

Los agroecosistemas poseen características particulares que influyen en la actividad de los HFMA. Mientras que en ecosistemas naturales existen plantas de diversas especies con distintas edades y estacionalidad hospedando los HFMA, en sistemas agrícolas con cultivos anuales, como el trigo evaluado, 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, 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. La producción de esporas depende del suministro de fotoasimilados de la planta hospedante hacia el hongo (Furlan & Fortin, 1977; Daft & El Giahmi, 1978), por lo que en los sistemas agrícolas suele concentrarse en el tiempo y la ausencia de plantas hospedantes en los periodos de barbecho impacta sobre la comunidad de *Glomeromycota* (Troeh & Loynachan, 2003). Algunas prácticas agronómicas generan disturbios que afectan la esporulación de los HFMA (Kurle & Pfleger, 1994). La labranza, a través de cambios generados en la colonización micorrízica, como los registrados en este trabajo, o por medio de efectos indirectos tales como variaciones en características físicas y químicas del suelo, en el crecimiento de las plantas y/o de otros organismos, seguramente constituye una práctica que incide sobre la formación de estas estructuras.

Se conoce que las esporas pueden sobrevivir varios años en el suelo (Sieverding, 1991). La supervivencia de una espora en el suelo depende de características en su morfología, determinadas principalmente por su edad y la especie de *Glomeromycota* a la que pertenece, como también de factores bióticos y abióticos del ambiente. La muerte de esporas constituye uno de los factores principales que determina las variaciones estacionales en su cantidad, sin embargo la bibliografía sobre el tema es escasa en comparación con la que trata sobre la esporulación (Lee & Koske, 1994a). En ecosistemas naturales, las disminuciones en el número de estas estructuras han sido atribuidas principalmente a su germinación, actividad de la macro y microfauna y la destrucción por hongos de suelo y otros parásitos (Gerdemann & Trappe, 1974; McIlveen & Cole, 1976; Ross & Ruttencutter, 1977; Ross & Daniels, 1982; Rabatin & Stinner, 1985, 1988) Los HFMA son comúnmente infectados por otros hongos (Daniels & Menge, 1980; Lee & Koske, 1994a; Rousseau *et al*., 1996) o por actinomycetes (Lee & Koske, 1994b). Las condiciones ambientales tienen influencia sobre estos procesos; Janos (1980) y Koske (1988) informan que la predación y la degradación de esporas de HFMA son generalmente mayores en suelos tropicales y dunas que en

sitios templados. En un agroecosistema, las prácticas agronómicas también pueden generar disminuciones en la densidad de esporas en el suelo. La inversión del pan de tierra en la labranza convencional, al diluir el suelo rico en propágulo con otro más pobre, afecta directamente la presencia de estas estructuras (Crovetto, 1985; Sieverding, 1991).

Las determinaciones del número de esporas totales reflejan entonces tanto la esporulación como también la acción de numerosos factores que afectan su supervivencia y acumulación en el suelo. Por lo tanto, su densidad es el resultado de un complejo balance y, si bien la esporulación seguramente está relacionada con la actividad reciente de los HFMA, el número de estas estructuras en el suelo puede no ser una información concluyente debido a que las mediciones incluyen esporas formadas en distintos momentos.

En los 3 años de evaluación del ensayo de campo, en los primeros estados de desarrollo del cultivo se registró un mayor número de esporas en siembra directa con respecto a la labranza convencional. La mayor cantidad de estas estructuras en siembra directa en los muestreos de macollaje puede ser producto de una mayor o más rápida esporulación como también de la existencia de esporas remanentes formadas durante el ciclo de trigo anterior o en el barbecho previo. Como ya se ha mencionado, la producción de estas estructuras se asocia a estados cercanos a la madurez y senescencia del hospedante. Entre las especies de *Glomeromycota*, se conoce que existen diferencias en su rapidez para formar esporas (Gazey *et al.*, 1992), y hay trabajos que señalan que algunas especies son capaces de producir estas estructuras reproductivas muy temprano, es decir a partir de 3-4 semanas luego de la colonización primaria en la raíz, mientras que otras especies de *Glomeromycota* requieren más de 6 meses para iniciar este proceso (Sieverding, 1991). De acuerdo a lo enunciado por estos autores, se puede inferir que buena parte de las esporas registradas en los muestreos de macollaje, cuando el cultivo tenía alrededor de 60 días, no habrían sido formadas en ese mismo estado fenológico, sino en momentos previos a la instalación del cultivo. No ha sido el objetivo de la presente tesis determinar la edad o el momento de formación de las esporas, y hasta la fecha no se conoce una metodología que permita efectuar esa diferenciación.

Las tinciones vitales de esporas con colorantes basados en sales de tetrazolio son útiles para determinar su capacidad para actuar como propágulo, sin embargo una reacción positiva utilizando esta técnica no constituye evidencia de la formación reciente de la estructura, y su asociación con la edad de las esporas es meramente especulativa (An *et al.*, 1998). Tomando como supuesto que buena parte de las esporas halladas en macollaje habrían sido formadas en periodos anteriores, el mencionado efecto de "dilución" efectuado por el arado podría considerarse entre los factores que determinaron una menor densidad de esporas en labranza convencional en los muestreos de macollaje.

Douds *et al*. (1993) señalan que la producción de esporas de hongos MA puede reducirse cuando el suelo ha sido labrado. En estados más avanzados del cultivo, cuando la simbiosis micorrízica esta bien establecida, es dable considerar que la producción de esporas reciente tendría una incidencia creciente en la cantidad de las mismas en el suelo en relación con las esporas remanentes de periodos anteriores, lo que conduce a inferir que diferencias en la densidad de las mismas entre los tratamientos pueden ser producto de diferentes tasas de esporulación. Como ya fue expuesto en los resultados y discutido en la sección 4.1, en siembra directa la colonización micorrízica ocurrió más rápidamente que en labranza convencional y se determinó en el suelo bajo este sistema una mayor infectividad micorrízica. Resulta riesgoso efectuar inferencias sobre la población de esporas y su producción en base a datos sobre colonización (Smith & Read, 1997) y debido a la dificultad para determinar el momento de formación de las esporas, no se pretende en este trabajo establecer relaciones causales. Sin embargo, es interesante señalar que las diferencias entre los tratamientos de labranza y fertilización en el porcentaje de colonización a partir de floración muestran tendencias similares a las halladas para el número de esporas en 100 g de suelo seco, por lo que es muy probable que en estados avanzados del ciclo de cultivo de trigo haya existido una mayor formación de esporas en siembra directa.

En el presente trabajo, se registró un aumento en el número de esporas totales a lo largo del ciclo de cultivo, principalmente en labranza convencional. Estas observaciones coinciden con los

resultados de determinaciones a campo efectuadas en cultivos de trigo (Land *et al*., 1993) y maíz (Troeh & Loynachan, 2003) con este sistema de labranza.

En la sección de resultados se muestra que en los años 2001 y 2003 la densidad de esporas en siembra directa se mantuvo relativamente estable durante el ciclo de cultivo. En la mayoría de los estudios publicados que comparan el número de esporas en siembra directa y labranza convencional se efectuaron muestreos en un solo momento del año, por lo que existe escasa información para discutir sobre diferencias en el número de esporas a través del ciclo de cultivo entre los dos sistemas (Kabir *et al*, 1998; Jansa *et al.*, 2002; Crovetto, 1985). En el año 2002 en siembra directa el número de esporas registró una leve disminución desde macollaje hasta floración, seguida por un posterior aumento en llenado de granos. Las numerosas variables que determinan la cantidad de esporas en el suelo en condiciones de campo hacen que sea difícil ser concluyente respecto a este hecho. No obstante, es importante mencionar que cuando se efectúan varios muestreos a lo largo de un ciclo de cultivo es frecuente observar estas fluctuaciones (Saif, 1977; Cabello, 1987).

Los trabajos más difundidos que comparan el número de esporas en siembra directa y labranza convencional se llevaron a cabo en cultivos de maíz. En el trabajo de Jansa *et al.* (2002), que se efectuó sobre el rastrojo de un cultivo de esta especie, no se hallaron diferencias significativas entre los sistemas de labranza. Kabir *et al.* (1998), también en maíz, registró un mayor número de esporas en siembra directa con respecto a labranza convencional durante el llenado de granos. Crovetto (1985) señala una población de esporas tres o cuatro veces mayor en un cultivo de maíz luego de 6 años de siembra directa. En el cultivo de trigo evaluado en este trabajo se registraron en varios de los muestreos efectuados durante 2001, 2002 y 2003 mayores densidades de esporas en siembra directa que en labranza convencional, lo que en líneas generales coincide con lo señalado por los dos últimos autores citados, si bien éstos efectuaron las evaluaciones en cultivos de otra especie.

En cuanto a la relación entre la fertilización nitrogenada y la densidad de esporas, en condiciones de campo este aspecto presenta una complejidad aún mayor que la señalada en la sección 4.1 para la colonización. Sin embargo, en el año 2002, en el cual se registró un balance hídrico normal, el número de esporas en los distintos tratamientos en floración mostró las mismas tendencias que la colonización determinada en ese momento, y se obtuvo un menor número de esporas en el tratamiento de siembra directa fertilizado con respecto al no fertilizado. Una reducción en el número de esporas de HFMA en suelos fertilizados fue observada por Hayman (1970).

En el periodo septiembre 2003-junio 2004 se incluyó la parcela no disturbada en el análisis del número de esporas y se efectuaron determinaciones de viabilidad. Los resultados obtenidos para ese periodo ponen en evidencia diferencias en la dinámica de los HFMA en los tratamientos cultivados respecto al campo no disturbado con vegetación espontánea evaluado. Comparando los tratamientos a través del año, en labranza convencional y siembra directa se registraron incrementos en el número de esporas durante el ciclo del cultivo de trigo, mientras que en el tratamiento no cultivado los mayores valores fueron hallados en el otoño, y los menores en primavera. Variaciones estacionales con picos en la densidad de esporas en verano-otoño fueron observados por Lugo & Cabello (2002) en pastizales de altura en la provincia de Córdoba. En los tratamientos cultivados, el aumento en el número de esporas durante el ciclo de cultivo de trigo indica que tanto las prácticas agrícolas como el desarrollo del cultivo tuvieron gran influencia sobre la densidad de esporas en el suelo, y estos aspectos enmascararon los efectos de estacionalidad que fueron observados en los sistemas no disturbados.

Thompson (1987) y Troeh & Loynachan (2003) efectuaron estudios de la población de esporas en situaciones de barbecho en Queensland (Australia) y Iowa (EUA), y afirman que la densidad de estas estructuras en el suelo declina durante estos periodos. En el ensayo de labranza, el número de esporas no disminuyó en las determinaciones efectuadas en el barbecho de 2001-2002 y 2002-2003, y registró fluctuaciones en los muestreos del otoño-invierno de 2004. Las diferencias

entre lo señalado por estos autores y el presente ensayo pueden atribuirse a que las investigaciones citadas fueron efectuadas en situaciones con periodos de barbecho mayores a 12 meses, y ambientes semiáridos o con inviernos cubiertos de nieve, muy distintos a las condiciones templadas registradas en la región pampeana que permiten la presencia de vegetación espontánea. La influencia de la vegetación espontánea en el barbecho sobre los HFMA fue citada por otros autores, entre ellos Jansa *et al.* (2002).

Los porcentajes de viabilidad determinados durante el ciclo del trigo en los tratamientos cultivados oscilaron entre 25 y 52 %. Estos valores son inferiores a determinados por Velázquez & Cabello (2003), que obtuvieron 86 % de viabilidad en esporas almacenadas en condiciones de refrigeración. Los porcentajes de viabilidad registrados en los suelos de la estación experimental son similares a los valores de 35-60% reportados por An *et al*. (1998) en suelos de Kentucky y los determinados por Diop *et al.* (1994) en la rizósfera de ejemplares de *Acacia albida* en Senegal, cuyos porcentajes de viabilidad resultaron alrededor de 40 %. Como se ha mencionado, el banco de esporas en el suelo está constituido por estructuras de diferente edad y momento de formación y se encuentra sujeto a degradación y/o predación por diversos organismos. Por ello, se considera normal que los valores de viabilidad hallados en los suelos del ensayo hayan resultado muy inferiores a los determinados en esporas almacenadas con temperaturas bajas.

En general la viabilidad de esporas no mostró diferencias entre los tratamientos cultivados, aunque fue ligeramente mayor en el tratamiento de labranza convencional con respecto a siembra directa. Se ha señalado que la viabilidad no permite determinar el momento de formación de las esporas (An *et al.*, 1998), ya que el estado de conservación de las esporas depende no sólo de su edad, sino también de la acción de microorganismos u otros factores. No obstante, si se considera que la siembra directa, debido a la ausencia de efectos de dilución y mezcla de suelo, favorecería la presencia en el mismo de estructuras formadas en periodos anteriores, el porcentaje de viabilidad ligeramente mayor registrado en las esporas de labranza convencional apoya la suposición formulada.

Las tendencias en el número de esporas/100 g. de suelo seco, y su viabilidad, resultaron menos claras que las halladas para los porcentajes de colonización, arbúsculos, vesículas e infectividad micorrízica del suelo. La repetición de muestreos en el ensayo de labranza y fertilización en varios momentos durante 3 años muestra variaciones que no han sido señaladas por otros trabajos que comparan estos sistemas de labranza, ya que los mismos formulan conclusiones en base a datos de un solo momento de muestreo. Por otra parte, los resultados de la densidad de esporas reflejan la complejidad de las situaciones de campo, en donde existen numerosas variables que influyen sobre la colonización, esporulación y supervivencia de estas estructuras.

4.3 Biodiversidad de *Glomeromycota*:

Los muestreos efectuados en el ensayo de labranza y fertilización durante distintos estados del cultivo en los años 2001 y 2002 permitieron alcanzar un conocimiento completo de la comunidad de HFMA, registrándose diferencias entre las distintas situaciones evaluadas. Las 24 especies de *Glomeromycota* halladas en las muestras de campo constituyen un número relativamente alto, si se tiene en cuenta que otros trabajos efectuados en sistemas agrícolas reportan entre 8 y 20 especies (Land & Schönbeck, 1991; Douds & Millner, 1999; Fitter, 2001; Jansa *et al.*; 2002; Oehl *et al.*, 2003). En suelos con pastizales, pasturas implantadas con trébol rojo (*Trifolium pratense* L.), cultivos de trigo y cebada en la provincia de Buenos Aires, Menéndez et al. (2001) hallaron un total de 17 especies de HFMA, aunque en las parcelas cultivadas con trigo y cebada dichos autores encontraron 5 y 4 especies respectivamente.

Como se menciona en la seccion resultados (**pág. 99 y tabla 5**), las especies características del ensayo de labranza evaluado fueron *Glomus etunicatum*, *Glomus claroideum*, *Glomus clarum* y *Glomus mosseae*. *Glomus etunicatum* es una de las especies de *Glomeromycota* más cosmopolita, ya que han sido halladas esporas de esta especie en diversos ambientes, desde la tundra de Alaska hasta los desiertos de Namibia (http://invam.caf.wvu.edu). En Argentina, esta especie fue citada por

Fracchia (2002). Se conoce que *Glomus claroideum* está ampliamente distribuido en suelos arables del norte de Europa y EUA, y que forma micorrizas con un amplio rango de hospedantes (Walker & Vestberg, 1998). En Colombia, Sieverding (1991) halló esporas de *Glomus clarum* en un diverso rango de condiciones ambientales. En Argentina esta especie fue hallada en los bosques de *Celtis tala y Scutia buxifolia* ubicados en el partido de Magdalena (Irrazabal *et al.*, 2004). *Glomus mosseae* es una de las especies de HFMA más estudiadas, ya que la primera inoculación con HFMA exitosa fue efectuada utilizando esta especie (Mosse, 1953). Existen referencias de la presencia de *G. mosseae* en campos agrícolas de la provincia de Buenos Aires (Menéndez *et al.*, 2001) y en bosques de *Celtis tala en* Magdalena (Irrazabal *et al*, 2004).

Es importante resaltar que todas estas especies consideradas características pertenecen a la familia *Glomeraceae.* La prevalencia de *Glomeraceae* en suelos agrícolas fue observada por Blaszkowski (1993) y Talukdar & Germida (1993). Existen varios registros de las especies características mencionadas en sistemas cultivados de otras partes del mundo. En sistemas agrícolas de Europa y América del Norte se encuentran muy difundidas *Glomus etunicatum y G. mosseae* (Land *et al*., 1993; Kurle & Pfleger, 1996; Douds & Millner, 1999; Galvez *et al*., 2001; Jansa *et al.*, 2002; Oehl *et al*., 2003; 2004). *Glomus claroideum* ha sido hallada con alta dominancia en agroecosistemas de Finlandia, junto con *G. mosseae* (Kahiluoto & Vestverg, 1999). Con respecto a *Glomus clarum*, Sieverding (1991) halló esta especie en suelos cultivados de Colombia.

En los ensayos de labranza y fertilización efectuados en la estación experimental "Ing. Agr. Hirschhorn" la contribución de especies pertenecientes a la familia *Glomeraceae* resultó mayor en los tratamientos de siembra directa, en detrimento de *Acaulosporaceae* y *Gigasporaceae* (**Tablas 3 y 5, Figuras 22 y 26**), por lo que la equidad en la proporción de las tres familias de *Glomeromycota* fue menor en este sistema conservacionista. Es muy escasa la bibliografía existente sobre el efecto de los sistemas de labranza sobre la biodiversidad de *Glomeromycota*. Jansa *et al*. (2002), en un suelo de Suiza con manejo contínuo en siembra directa durante 13 años con rotación de cultivos encontraron una menor incidencia de *Glomus spp*. en parcelas con este sistema conservacionista

con respecto a labranza convencional, lo que no es concordante con los resultados de la presente investigación.

Los efectos de la labranza y la siembra directa difieren según las condiciones edafoclimáticas imperantes, la historia agronómica del lote y el manejo de los cultivos, por lo tanto es riesgoso generalizar, y se considera razonable que existan diferencias entre hallazgos de distintos autores. Algunas publicaciones señalan que la siembra directa, merced a la no-remoción del suelo, permitiría la recomposición de una parte importante de la biota del suelo y sus cadenas tróficas. Hendrix *et al.* (1990) afirmaron que este sistema conservacionista, debido a la ausencia del disturbio de la labranza, permite una mayor compartimentalización en el tiempo y en el espacio, creando oportunidades para el establecimiento de diversos organismos en un número muy superior al de los manejos convencionales. Esto puede cumplirse para algunos organismos, y en situaciones particulares, sin embargo otras prácticas culturales pueden tener gran influencia cuando actúan conjuntamente con la siembra directa. Como se ha señalado en la introducción, el cultivo continuo de la misma especie en un lote ejerce una importante influencia sobre la macro, meso y microbiota del suelo, por lo tanto el efecto combinado de la siembra directa y el cultivo reiterado de trigo en los últimos años del ensayo de labranza pudo haber sido determinante en los resultados del presente trabajo.

Muchos organismos se ven favorecidos en situaciones de cultivo continuo de una especie y siembra directa con respecto al manejo con labranza convencional o rotación. Debido a su importancia económica, se han efectuado numerosas investigaciones que señalan incrementos en la abundancia de hongos fitopatógenos en situaciones de siembra directa y cultivo reiterado de trigo, por ejemplo, en los hongos causantes de manchas foliares del trigo, como *Drechslera tritici-repentis*, *Septoria tritici* y *Septoria nodorum* (Reis *et al*., 1992) o en organismos que producen enfermedades en el sistema radical en esta especie como *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* y *Bipolaris sorokiniana* (Santos *et al*., 1998). El aumento de la incidencia de estas enfermedades en

siembra directa con la reiteración de un mismo cultivo es atribuido a la mayor disponibilidad de inóculo de los hongos que las producen (Carmona & Reis, 1998).

En el caso de los HFMA, el cultivo continuo de un mismo hospedante es señalado como un factor de gran influencia sobre las comunidades de estos hongos (Hetrick, 1984; Johnson *et al.*, 1991,1992; Wilson & Tommerup, 1992;). Aunque generalmente se afirma que la especificidad en las micorrizas arbusculares es baja (Gerdemann, 1965; Mosse, 1973) varios ensayos han verificado que las tasas de crecimiento de los HFMA pueden ser alteradas por la especie vegetal a la que se encuentran asociados, principalmente en condiciones de campo (Bever *et al*., 2001) y se considera que la falta de diversidad de hospedantes, es capaz de ejercer presiones de selección en las comunidades de *Glomeromycota* (Johnson *et al.*, 1991). La ausencia de disturbios en siembra directa continua podría favorecer dicha selección de especies de HFMA por el hospedante, impactando sobre la biodiversidad de HFMA. Por lo tanto, es dable considerar que la mayor contribución de especies pertenecientes a la familia *Glomeraceae*, registrada en siembra directa en los ensayos efectuados en la estación experimental, que indica una distribución menos equitativa entre las familias de *Glomeromycota*, puede haber sido favorecida por la reiteración del cultivo de trigo en los últimos años y la no disrupción de la red hifal en este sistema por el periodo ininterrumpido de varios años desde la implementación del ensayo.

Allen *et al.* (2003) señalan que la colonización de la raíces por *Glomeromycota* está mediada por interacciones interespecíficas que incluyen competencia, antagonismo y dominancia, por lo que la diversidad de esporas en el suelo seguramente esta influenciada por estas relaciones. Resultados de algunos estudios (Sylvia, 1986; Koske, 1987) sugieren que las especies individuales de HFMA compiten por recursos a través de una combinación de estrategias que resultan en el mantenimiento de una comunidad de HFMA diversa. Las especies de HFMA pueden tener diferencias ecológicas, ocupando diferentes nichos. Una especie individual de *Glomeromycota* puede ser competitivamente superior en su nicho específico, y la presencia de multiples nichos en el hábitat posibilita el mantenimiento de la diversidad fúngica (Bever *et al*, 2001). Es claro que esta multiplicidad de

nichos puede resultar reducida por la presencia de un único cultivo hospedante por varios años, reflejándose ésto en la biodiversidad de *Glomeromycota.*

Como se ha señalado en la introducción, el conocimiento de los distintos roles de las especies individuales de *Glomeromycota* es aún escaso. Algunos autores afirman que existen diferencias en las estrategias de vida de las *taxa* pertenecientes este *phylum* (Wilson & Tommerup, 1992; Brundrett *et al.* 1999; Hart & Reader, 2002; Klironomos & Hart, 2002). La presencia o ausencia del disturbio de la labranza durante varios años determina situaciones muy diferentes. Por todo esto, la mayor proporción de esporas pertenecientes a *Glomeraceae* en siembra directa puede estar relacionada con diferencias en habilidad competitiva u otras características funcionales entre las especies de HFMA.

En cuanto al efecto de la fertilización nitrogenada sobre la composición de la comunidad de *Glomeromycota*, los datos de los porcentajes de cada familia, promedio de los años 2001 y 2002, muestran una disminución de especies pertenecientes a *Gigasporaceae* con el aumento de fertilización en siembra directa (**Fig. 26**). En la introducción del presente trabajo se mencionó que la siembra directa está asociada a menores disponibilidades de N (Doran, 1980; Daniel *et al.*, 1984), por lo que es razonable que el efecto de la fertilización nitrogenada sea más notorio en este sistema conservacionista.

Aunque, como ya fue señalado, el conocimiento sobre diferencias funcionales entre las *taxa* de *Glomeromycota* es todavía escaso, algunos trabajos (Eom *et al.,* 1999; Egerton-Warburton & Allen, 2000) afirman que existen variaciones en la respuesta de las diversas especies de HFMA al enriquecimiento con N. Egerton-Warburton & Allen (2000), estudiando la diversidad de HFMA a lo largo de un gradiente de deposición de N por eutrofización en ecosistemas costeros de California, hallaron una disminución en el número de especies de *Glomeromycota* con el aumento de N. En el presente trabajo de tesis, no existieron diferencias entre el número de especies entre los tratamientos fertilizados y no fertilizados. En la publicación anteriormente citada, los autores mencionan que las especies con esporas más grandes, pertenecientes a los géneros *Scutellospora* y *Gigaspora*,

disminuyeron su incidencia o desaparecieron en las situaciones con elevada disponibilidad de N. Un patrón similar fue encontrado cuando se analizaron y compararon muestras de suelo guardadas desde el año 1937 con otras recolectadas recientemente en suelos eutrofizados en las cercanías a Los Angeles (Egerton-Waburton *et al.* 2001). En las muestras almacenadas la cantidad de esporas grandes resultó mayor que en los suelos actuales luego de la acumulación de nitrógeno por procesos de eutrofización. Johnson (1993) en pastizales de Minessota estudió el efecto de la aplicación de un fertilizante compuesto por varios elementos (N, P, K, Ca, Mg, Cu, Zn, Co, Mn, y Mo) y halló que las abundancias relativas de especies de *Gigasporaceae* como *Gigaspora gigantea, G. margarita y Scutellospora callospora* disminuyeron con la aplicación de este fertilizante compuesto. En una revisión de varios trabajos, Tresseder (2005) señala que las *Gigasporaceae* presentan características que les permiten tolerar bajas disponibilidades de N, siendo competitivos en esa situación. La mayor proporción de *Gigasporaceae* hallada en el tratamiento no fertilizado de siembra directa muestra las mismas tendencias que los trabajos citados.

En cuanto al índice de Shannon & Weaver (H), este indicador fue utilizado por Wardle (1995) para evaluar y comparar la biodiversidad de varios grupos taxonómicos y funcionales pertenecientes a la macro, meso y microbiota del suelo en sistemas de labranza convencional y siembra directa. Este autor analizó datos extraídos de 20 estudios de campo y concluyó que existía un menor efecto de la labranza sobre la diversidad (H) de los organismos de suelo más pequeños (hongos y nematodos) que sobre los índices correspondientes a la meso y macro fauna. En la presente investigación, se registraron diferencias en los valores de H entre los sistemas de labranza, aunque las mismas fueron variables según el estado fenológico analizado. En el año 2001 los tratamientos de labranza convencional mostraron mayores valores de H que los de siembra directa, principalmente en el estado de macollaje. Esta tendencia concuerda con las anteriormente señaladas para las contribuciones de las familias de *Glomeromycota* y apoya lo sugerido en cuanto a la existencia de una presión de selección en la comunidad de HFMA ejercida por la siembra directa que impacta negativamente en su biodiversidad.

Jansa *et al.* (2002) afirmaron que el índice H de Shannon-Weaver no refleja apropiadamente los cambios en la comunidad de *Glomeromycota.* Sin embargo, en el agroecosistema evaluado para esta investigación se encontró que este índice, que resulta del producto de dos componentes principales de la diversidad: equidad y riqueza específica, fue útil para explicar las diferencias halladas. En los casos donde existen diferencias notorias en la proporción de las especies en las muestras, la equidad de su distribución decrece, alterando el índice de biodiversidad H (Frontier & Pichod-Viale, 1995). Por lo tanto, incrementos en la biodiversidad no sólo implican aumentos en el número de especies, sino también en la equidad de su distribución. (Frontier & Pichod-Viale, 1995).

Los índices de biodiversidad mostraron mayores variaciones entre los distintos momentos del ciclo de cultivo que aquellas entre los diferentes tratamientos. En las **figuras 22 y 25** se pueden observar aumentos del índice H coincidentes con el ciclo de crecimiento del cultivo hospedante. Sieverding (1991) señala que existen diferencias entre las especies de *Glomeromycota* en cuanto al tiempo requerido para comenzar a producir esporas. Por lo tanto, es dable considerar que las especies de HFMA que presentan esporulacion tardía pueden tener mayor incidencia sobre los índices de biodiversidad en los estados finales del cultivo, reflejandose ésto en aumentos del índice H.

Durante el barbecho, se observó un aumento de las especies del género *Glomus*, tales como *Glomus coronatum, G. etunicatum, G. claroideum* y *G. mosseae* (barbecho 2001-2002), y *G. etunicatum* (barbecho 2002-2003). El predominio de especies pertenecientes a *Glomeraceae* en esa situación coincide con lo hallado en suelos barbechados de Iowa por Troeh & Loynachan (2003), donde también se registró una gran abundancia de *Glomus etunicatum.*

Generalmente se considera que cuando existe una mezcla de hospedantes, como en las parcelas sin disturbar con vegetación espontánea, la presencia de plantas de distinta especie permite el sustento de un mayor rango de especies de HFMA que los cultivos (Wilson & Tommerup, 1992). En el presente trabajo, en dicho tratamiento se hallaron valores de riqueza específica e índices de

diversidad de *Glomeromycota* similares a los registrados en los tratamientos cultivados. Sin embargo, cuando se efectuó el análisis de la proporción según familias se encontraron diferencias, ya que se halló una mayor contribución de especies pertenecientes a la familia *Gigasporaceae* en el tratamiento no cultivado con respecto a las encontradas en las distintas situaciones del ensayo de labranza. La disminución de la proporción de especies de *Gigasporaceae* en sistemas cultivados está de acuerdo con lo observado en Polonia por Blaszkowski (1993).

Finalmente, como se ha destacado, el análisis de biodiversidad efectuado teniendo en cuenta la contribución de cada familia de *Glomeromycota* mostró diferencias entre los sistemas de labranza, fertilización y entre las situaciones cultivadas y no cultivadas. Estos resultados llevan a considerar lo propuesto por Hart & Reader (2002), en cuanto a que las bases taxonómicas para la diferenciación de *Glomeromycota* a nivel familia tienen relación con aspectos funcionales.

4.4 Aislamientos utilizando diferentes fuentes de propágulos de HFMA: relación entre fuente de propágulo y *taxas* de *Glomeromycota*

En la sección 4.1 se sugirió que la red de hifas podría constituir un tipo de propágulo importante, principalmente en la situación de siembra directa en donde no existió el disturbio de la labranza. Los resultados de los estudios de biodiversidad de *Glomeromycota* efectuados en la estación experimental mostraron que en dicho sistema conservacionista se registró una mayor contribución de la familia *Glomeraceae*. Ya se ha mencionado que los conocimientos sobre diferencias funcionales entre las *taxa* de *Glomeromycota* son todavía escasos. Brundrett *et al.* (1999) y Klironomos & Hart (2002) afirman que la capacidad de las *taxa* de HFMA para utilizar distintos tipos de propágulo difiere entre los géneros o familias. Los aislamientos a partir de distintos tipos de propágulos fueron efectuados con la finalidad de comprender la importancia de las diferentes fuentes de inóculo en las *taxa* de *Glomeromycota* y relacionar los resultados con lo observado en los ensayos de campo. Varios trabajos publicados señalan que determinados

aislamientos, particularmente los realizados a partir de suelo diluído, denominados también "cultivos trampa", han permitido hallar especies que no habían sido observadas en muestras de campo (Miller *et al*., 1985; An *et al.*, 1990; Stutz & Morton, 1996). Por ello, otro objetivo de los aislamientos fue verificar lo postulado por estos trabajos utilizando como propágulo material proveniente del ensayo de labranza. En el momento donde se recolectó el material para los aislamientos se hallaban en los suelos porcentajes de *Acaulosporaceae, Gigasporaceae* y *Glomeraceae* similares a los obtenidos en los muestreos de los años 2001 y 2002 (**Tabla 6**). Sin embargo, es interesante resaltar que en los 4 tipos de aislamiento efectuados, es decir a partir de diluciones de suelo, micelio obtenido de tamizados, raíces colonizadas y plantas de trigo transplantadas, se registraron dominancias de *Glomeraceae* superiores al 90 %. La dominancia de especies de esa familia en los aislamientos pone en evidencia que existió una preferencia de los miembros de *Glomeraceae* para utilizar los propágulos presentes en los aislamientos evaluados y que las especies de *Acaulosporaceae* y *Gigasporaceae* que se encuentran en los suelos de la estación experimental tuvieron escaso éxito en su establecimiento a partir de dichas fuentes de inóculo.

Existen referencias de que las distintas *taxa* de *Glomeromycota* no utilizan los diferentes tipos de propágulo de la misma manera (INVAM, 1993), sin embargo los trabajos publicados muestran evidencias conflictivas sobre este tema. Abbott *et al.* (1994) hallaron que las piezas de raíces micorrizadas eran propágulos efectivos para lograr aislamientos de *Glomus* y *Acaulospora*, pero no para *Scutellospora*. Biermann & Lindermann (1983) reportaron resultados similares. Estos autores examinaron el rol de fragmentos de raíces como propágulos y encontraron alta infectividad a partir de aquellos que contenían especies de *Glomus* y *Acaulospora*, pero no obtuvieron colonización partiendo de fragmentos de raíces con especies de *Gigaspora.* Brundrett *et al*. (1999) testearon el éxito en el establecimiento de la diversidad de HFMA utilizando diferentes fuentes de inóculo y hallaron que las esporas colectadas a campo fueron útiles para el establecimiento de la mayoría de las especies de *Acaulospora, Gigaspora* y *Scutellospora*, mientras que los intentos de

obtener especies de estos géneros a partir de fragmentos de raíces no resultaron exitosos. Por otro lado, estos mismos autores encontraron que cuando se utilizaban esporas provenientes de campo como inóculo las especies de *Glomus spp.* eran dificilmente recuperadas, pero presentaron altas dominancia cuando se utilizaban fragmentos de raíces o porciones intactas de suelo. Klironomos & Hart (2002) encontraron que las especies de *Glomus* y *Acaulospora* eran igualmente capaces de colonizar raíces utilizando esporas, fragmentos de raíces e hifas. Oehl *et al*. (2003) reportaron alta dominancia de *Glomus etunicatum, G. mosseae* y *G. geosporum* en plantas trampa con suelo diluído provenientes de sistemas agrícolas del centro de Europa.

Mientras que la mayoría de los estudios sugieren que los miembros de *Gigaspora* y *Scutellospora* dependen de la existencia de esporas para el logro de una colonización exitosa, otros estudios han hallado resultados que contradicen estas afirmaciones. Tommerup & Abbot (1981) estudiaron la infectividad potencial de fragmentos secos de raíces de 6 meses, conteniendo especies de *Glomus, Scutellospora* y *Gigaspora* y hallaron que las hifas emergentes de los fragmentos de raíces muertas creaban nuevas infecciones tanto en *Glomus* como en *Scutellospora* y *Gigaspora*. Asimismo, Braunberger *et al.* (1996) encontraron que una especie de *Scutellospora* era capaz de colonizar nuevas raíces a partir de raíces secas.

En los aislamientos a partir de suelo y micelio efectuados para este trabajo de tesis se encontraron especies pertenecientes a *Acaulosporaceae* y *Gigasporaceae* (**Tabla 6**), sin embargo las proporciones de esporas pertenecientes a esas familias fueron muy pequeñas si se comparan con las obtenidas para especies de *Glomeraceae* (**Tabla 7**). En los aislamientos a partir de micelio, la ausencia de esporas disminuyó en forma drástica la presencia de *Acaulosporaceae* y *Gigasporaceae,* mientras que las especies de *Glomeraceae* no se vieron perjudicadas y alcanzaron las notables dominancias observadas utilizando hifas como única fuente de propágulo. Brundrett *et al.* (1999) señalaron que las esporas parecen tener escasa relevancia como propágulos para algunas especies de *Glomus,* pero su importancia es mayor en especies de *Acaulospora, Gigaspora* y

Scutellospora. Los resultados de los aislamientos efectuados para esta tesis coinciden con las afirmaciones de estos autores.

En los aislamientos a partir de suelo, el efecto de la dilución con sustrato estéril conduce a una disminución de la densidad de inóculo y cambia las condiciones de competencia a través de un aumento del espacio a ser colonizado por la microbiota del suelo, mientras que en el suelo no diluido la competencia ocurre dentro de nichos ecológicos, al ser más restringido el espacio para la colonización (Plenchette *et al.*, 1989). Los métodos de cultivo trampa con suelo diluido usualmente resultan en una mezcla de especies que cambia con las subsiguientes generaciones de cultivo (Morton *et al*., 1993; Bever *et al*., 1996). Varios autores señalan que los aislamientos basados en métodos de dilución permiten la recuperación de una mayor cantidad de especies que otros procedimientos (An *et al*., 1990; Watson & Milner, 1996). En el presente trabajo, este tipo de aislamiento permitió recuperar un número de especies superior a los efectuados a partir de raíces colonizadas o plantas transplantadas, lo que concuerda con los hallazgos de Brundrett *et al.* (1999).

Algunos trabajos señalan que los cultivos trampa pueden revelar especies no observadas en muestras de campo (Miller *et al*., 1985; An *et al*., 1990; Stutz & Morton, 1996, Oehl *et al*., 2004). En el presente trabajo, todas las especies obtenidas en el aislamiento con suelo diluido estaban también presentes en las muestras extraídas del ensayo de campo. El número de especies recuperadas en estos aislamientos (13 especies, **Tabla 6**) fue inferior al registrado en las muestras de campo (20 especies), mostrando la misma tendencia que Stutz & Morton (1996).

El aislamiento a partir de micelio proveniente de tamizados constituye una metodología novedosa, ya que fue efectuada por primera vez en la presente investigación. Dicho aislamiento permitió obtener un número de especies de *Glomeromycota* similar al alcanzado en el aislamiento con suelo diluido. Es interesante señalar que utilizando esta metodología se hallaron esporas de *Glomus aggregatum*, especie que no había sido encontrada en las muestras de campo.

En los aislamientos a partir de raíces de trigo colonizadas y plantas transplantadas se registró un numero bajo de especies, y no fueron encontradas especies de *Acaulospora, Gigaspora*

y *Scutellospora,* lo que coincide con lo hallado por Brundrett *et al.* (1999) utilizando inóculo proveniente de suelos de regiones tropicales de Australia. Las especies recuperadas en estos dos tipos de aislamiento, *Glomus etunicatum, G. clarum* y *G. claroideum*, estaban presentes en raíces de plantas de trigo de 50 días extraídas del ensayo de campo, por lo que se las considera de alta infectividad. Esporas de dichas especies fueron halladas en los 4 tipos de aislamientos evaluados. Como ya se mencionó en los resultados, estas tres especies, junto con *Glomus mosseae*, fueron consideradas características de la comunidad de *Glomeromycota* del ensayo de labranza y fertilización, ya que su contribución al índice de biodiversidad fue superior al 10 % del índice total.

El análisis de la proporción de miembros de las distintas familias de *Glomeromycota* (**Tabla 7**) muestra evidencia de que existen diferencias entre las *taxa* en la utilización de los distintos tipos de inóculo, coincidiendo con los autores citados. El hecho de que en todos los tipos de aislamiento efectuados se hayan registrado porcentajes de *Glomeraceae* mayores al 90 % muestra claras ventajas de las especies de dicha familia para el establecimiento a partir de las fuentes de inóculo evaluadas, por sobre los miembros de *Acaulosporaceae* y *Gigasporaceae* de los suelo de la estación experimental.

Las especies de *Glomus spp.* mostraron alta capacidad para producir esporas a partir del suelo diluído, micelio proveniente de tamizados, raíces colonizadas y plantas transplantadas. La dominancia de especies de *Glomus spp.* en aislamientos con suelo diluído ya fue observada por Brundrett *et al.* (1999), y en dicho trabajo los autores consideran que este procedimiento selecciona las especies de HFMA más competitivas. En los aislamientos a partir de micelio, raíces colonizadas y plantas transplantadas la fuente de propágulo está constituida por hifas intra y/o extraradicales, y ya fue mencionado en esta sección que varios autores coinciden en afirmar que el micelio constituye el tipo de propágulo más importante en las especies de *Glomus spp.*

Hart & Reader (2002) y Allen *et al.* (2003) señalan que dentro de las especies de *Glomeromycota,* los miembros de la familia *Glomeraceae* se caracterizan por ser los colonizadores más rápidos, produciendo colonización extensa y gran biomasa fúngica dentro de la raíz, mientras

que especies incluidas en la familia *Gigasporaceae* tienen una mayor capacidad para generar biomasa extraradical.

Los resultados de estos aislamientos mostraron ventajas de las especies pertenecientes a *Glomeraceae* en la utilización de micelio intra y/o extraradical. En los tratamientos de siembra directa del ensayo de labranza fueron observadas mayores proporciones de esporas de *Glomus spp.*, y fue ya discutido en la sección 4.1 la importancia de la red de hifas como propágulo en este sistema conservacionista. En base a estas informaciones, se puede inferir que la presencia de dicha red de micelio junto con la menor tasa de descomposición de raíces, debidas a la ausencia del disturbio de la labranza en la siembra directa favoreció a las especies de *Glomeraceae* y constituyó una desventaja para *Acaulosporaceae* y *Gigasporacea*, estando este hecho relacionado con diferencias en la utilización de distintos tipos de propágulos por los miembros de las familias mencionadas.

4.5 Absorción de N, estudio de la biomasa aérea y radical y efecto de la inoculación

El bioensayo en macetas con bloques de suelo, descripto en la sección 2.4.9, permitió evaluar la influencia de la aplicación de fertilizantes, la inoculación con HFMA y el sistema de labranza sobre la colonización, el porcentaje de arbúsculos, el número de esporas, la biomasa aérea y radical, y el contenido de nitrógeno en raíces de plantas de trigo. Uno de los objetivos de este bioensayo fue verificar los efectos ya observados en el campo de la fertilización con nitrógeno sobre los HFMA, en una situación de mayor control, con el fin de asegurar condiciones hídricas normales mediante el riego y lograr una mejor aplicación de fertilizante reduciendo las pérdidas. Otra finalidad fue determinar la biomasa aérea y radical en las plantas de trigo que crecieron en las situaciones de labranza y fertilización. La escala del bioensayo permitió efectuar tratamientos con

inoculación, que hubieran sido imposibles de realizar a campo debido al alto volumen de inóculo necesario. Es importante aclarar que se evitó alterar la estructura del suelo en la extracción de los bloques y durante todo el desarrollo del ensayo, con el propósito de mantener intacta la red de hifas de HFMA presente en ese suelo y la disposición de los propágulos, evaluando así los efectos de la aplicación del nitrógeno y la inoculación sobre la colonización de HFMA en labranza convencional y siembra directa, y la respuesta en el crecimiento y absorción de este nutriente en las plantas de trigo.

El efecto negativo de las aplicaciones de nitrógeno sobre la colonización micorrízica, observado en este bioensayo en macetas y en el ensayo a campo del 2002, ya fue discutido en la sección 4.1. En el presente apartado se pretende relacionar el efecto de los HFMA sobre la nutrición nitrogenada de la planta, observado en este trabajo, con los registros que se mencionan en la bibliografía.

Los resultados del bioensayo muestran que el contenido de nitrógeno en raíces aumentó con la inoculación con *Glomus mosseae* en los tratamientos sin fertilizante nitrogenado (**Fig. 32**). Esto coincide con otros trabajos que señalan que las asociaciones micorrízicas arbusculares de la mayoría de las plantas pueden estar involucradas en la movilización, absorción y asimilación N (Azcón *et al*., 1992; Johansen *et al*., 1994; Smith & Read, 1997; Subramanian & Charest, 1998).

La mayor colonización micorrízica registrada en el tratamiento SD0N con respecto a LC0N no se reflejó en aumentos en el contenido de N de las raíces. Los niveles de colonización en los tratamientos sin fertilización de labranza convencional inoculado y siembra directa sin inocular resultaron similares, sin embargo el contenido de N en raíz fue superior en tratamiento inoculado con *Glomus mosseae*. Se conoce que existen diferencias en la efectividad de las especies de *Glomeromycota* (Sieverding, 1991). De acuerdo con Johnson *et al.* (1992) y Sieverding (1991), la reiteración del mismo cultivo selecciona especies o cepas de HFMA con características de mutualistas inferiores, es decir que el beneficio que le otorgan a la planta hospedante es escaso o

nulo. Teniendo en cuenta estas afirmaciones, se puede inferir que las cepas de *Glomus mosseae* inoculadas mostraron una eficiencia superior a la de los HFMA nativos para la captación y transferencia de N.

En cuanto al rol de los HFMA en la nutrición nitrogenada de las plantas, existen diferencias en la información aportada por la bibliografía. Los trabajos publicados hace algunos años consideran que la contribución de los HFMA en la absorción de este elemento es poco significativa (Rhodes & Gerdeman, 1980), mientras que otros más recientes afirman que las asociaciones micorrízicas pueden cumplir un rol considerable en la nutrición nitrogenada a través de la absorción y transferencia de este nutriente hacia la planta hospedante. Smith (1980) y Sieverding (1991) sostienen que la importancia de esta simbiosis con respecto a la nutrición con N de las plantas se relaciona con la forma en que este elemento se encuentra en el suelo. La mayoría de los estudios sobre la absorción de dicho nutriente a través de hifas de HFMA han utilizado NH_4^+ como fuente de N (Johansen *et al.*, 1994; Tobar *et al.*, 1994) a pesar de que el ión $N0_3^-$ es la forma de N predominante en la mayoría de los suelos agrícolas (Marshner, 1995). Numerosos autores consideran que, debido a la baja solubilidad del NH_4^+ comparada con el NO_3^-, el efecto positivo de los HFMA en la nutrición nitrogenada de las plantas sería más evidente en los casos que el nitrógeno se encuentra en forma amoniacal (Ames *et al.*, 1983; Harley & Smith, 1983), por lo tanto en varios trabajos se utilizó NH_4^+ como fuente nitrogenada y se comprobó que las micorrizas arbusculares promueven el transporte de esta forma de N a través de las hifas (Ames *et al.*, 1983). Estudios más recientes señalan que las hifas de los HFMA también poseen capacidad para asimilar NO_3^- (Azcón *et al.* 1992; Vaast & Zasoski, 1992; Johansen *et al.*, 1993; Cuenca & Azcón, 1994; Bago *et al.*, 1996; Azcón & Tobar, 1998; Hawkins & George, 2001). Debido a las características de este ión, la tasa de utilización de NO_3^- por las micorrizas puede depender del balance hídrico o del status nutricional de la planta (Hawkins & George, 2001; Tobar *et al.* 1994).

Frey & Schüepp (1993) verificaron que las hifas de los HFMA contribuyen a la absorción de N por las plantas, mediante un aumento de abastecimiento de N por flujo masal hacia la superficie

de la raíz. Estos investigadores sostienen que los HFMA no son capaces de utilizar fuentes de N orgánico. Sin embargo, Hawkins *et al.* (2000), probando la absorción de aminoácidos marcados de tres aislamientos de *Glomus spp. in vitro*, y de *Glomus intraradices* en cultivo monoxénico de raíces modificadas de *Daucus carota*, hallaron que las hifas de HFMA de estas especies posibilitan la adquisición de N por el hospedante a partir de fuentes orgánicas, en ese caso ^{15}N-Gly. De ésta forma, a través de la colonización micorrízica el hospedante accede a fuentes de N que normalmente serían no disponibles para raíces no micorrizadas (Finlay *et al.*, 1992)

Subramanian & Charest (1998) estudiaron el efecto de la inoculación con *Glomus intraradices* en plantas de maíz sometidas a distintos regimenes hídricos, y hallaron un aumento en las enzimas involucradas en la asimilación del nitrógeno y otros compuestos nitrogenados. Estos autores señalan que este aumento puede indicar la transferencia de NO_3^- a través del micelio extraradical o un aumento en la asimilación de N debido a la simbiosis.

Debido a que en el bioensayo en macetas realizado para el presente trabajo se procuró simular las condiciones de los ensayos efectuados a campo, no fueron utilizados inhibidores de la nitrificación ni tampoco isótopos radiactivos. Por lo tanto, las fuentes de nitrógeno fueron las mismas que en el ensayo de la estación experimental, existiendo en los bloques de suelo N en formas orgánicas e inorgánicas, en diferentes estados de oxidación. Como fertilizante nitrogenado se utilizó urea, que al aplicarse al suelo se transforma en bicarbonato de amonio debido a la actividad de la enzima ureasa a través de la siguiente reacción:

$$(NH_2)CO + 2\ H_2O = NH_4HCO_3 + OH^-$$

Esta reacción química tiene lugar luego de que la urea se disuelve en el agua, y es capaz de completarse en 48 horas en condiciones de campo, considerándose por esto a la urea como un fertilizante amoniacal (James, 1993). Como se ha señalado, no se utilizaron inhibidores de nitrificación, por lo tanto seguramente existieron transformaciones en el estado de oxidación de este elemento. Las reacciones del N en el suelo constituyen procesos muy dinámicos, por lo tanto no se consideró efectuar la identificación de las formas de nitrógeno utilizadas por las plantas y los

HFMA. No obstante, como ya se ha mencionado, existen evidencias de que los HFMA pueden utilizar NH_4^+, $NO3^-$ e incluso formas orgánicas de N. La mayoría de los ensayos citados en la bibliografía fueron efectuados en sustrato previamente esterilizado y utilizando una sola fuente de nitrógeno, por lo que los resultados de estos trabajos no son comparables con los de este bioensayo, que fue efectuado con otros objetivos. Sin embargo, el hecho de que la inoculación con *Glomus mosseae* haya favorecido un incremento del contenido de N en las raíces de plantas de trigo de los tratamientos no fertilizados resulta de interés, debido a la semejanza del bioensayo con las condiciones complejas de los ensayos a campo.

No fueron registradas diferencias en el contenido de N en raíces entre los sistemas de labranza. En evaluaciones de N en biomasa aérea, Sarandón *et al.* (1997) tampoco encontraron diferencias en el porcentaje de N en siembra directa y labranza convencional.

La mayor colonización micorrízica y porcentaje de arbúsculos registrada en los bloques de suelo de siembra directa coincidió con lo observado en los ensayos a campo. Este tema ya fue discutido en la sección 4.1.

En siembra directa no se hallaron diferencias en los porcentajes de colonización y de arbúsculos entre los tratamientos inoculados y no inoculados. Wilson & Tommerup (1992) y Sieverding (1991) señalan que existe un nivel de colonización máximo o plateau, que ocurre a una densidad crítica de inóculo. Los tratamientos de siembra directa sin inocular mostraron niveles de colonización altos, determinados por la presencia de HFMA nativos. Por lo tanto, es dable considerar que en los bloques de suelo provenientes de siembra directa la densidad de propágulos de HFMA nativos resultó suficiente para alcanzar una densidad crítica de inóculo y un nivel de plateau a partir del cual el agregado de inoculante no se reflejó en aumentos en el porcentaje de colonización micorrízica. En el caso de los tratamientos de labranza convencional sin fertilizante, el aumento de la colonización micorrízica con la inoculación puede deberse a la existencia de una densidad de inóculo de HFMA nativos inferior a la crítica.

La inoculación con *Glomus mosseae* en los tratamientos fertilizados no obtuvo respuesta sobre la colonización micorrízica. En este bioensayo se observó un efecto negativo de la fertilización N sobre el porcentaje de longitud de raíz colonizada. Es interesante destacar que el fertilizante nitrogenado generó disminuciones en la colonización tanto en los tratamientos inoculados con *Glomus mosseae,* como en los no inoculados donde la colonización se debía únicamente a la presencia de especies de HFMA nativas. Varios autores afirman que una disponibilidad no limitante de N o su exceso (Chambers *et al.,* 1980; Sieverding, 1991) suele crear condiciones en las cuales el beneficio de la micorrización en la planta hospedante es escaso o nulo. Situaciones de alta fertilidad química se encuentran asociadas a una menor dependencia micorrízica (Kitt *et al.,* 1988) y este aspecto se puede relacionar con el efecto negativo de la fertilización sobre la colonización y porcentaje de arbúsculos, que ya había sido observado en los ensayos a campo y fue discutido en secciones anteriores. En las situaciones de labranza convencional sin inoculación, la fertilización con distintas dosis de N no se reflejó en disminuciones en la colonización, posiblemente debido a que los niveles de porcentaje de raíz colonizada en el tratamiento LC0N eran mínimos.

En este bioensayo no se observaron diferencias significativas en la biomasa aérea y radical de trigo entre los tratamientos inoculados y no inoculados con *Glomus mosseae*. El trigo es una especie considerada de dependencia micorrízica intermedia (Jeffries & Dodd, 1991) y existe gran variación en las respuestas a la inoculación de los distintos cultivares (Manske; 1989; Hetrick *et al.*, 1992a*;* Xavier & Germida, 1998; Yao *et al.* 2001; Zhu *et al.*, 2001). Según Hetrick *et al.* (1993) en los cultivares modernos, como el utilizado para los ensayos a campo y el bioensayo, se da una menor dependencia micorrízica, y las diferencias entre los cultivares se asocian con el mejoramiento genético.

Gerdemann (1975) definió a la dependencia micorrízica como el grado en el cual una especie requiere de la condición micorrízica para producir el máximo crecimiento a un nivel dado de fertilidad. Algunos trabajos señalan que esta dependencia está controlada por la arquitectura de

los sistemas radicales (Baylis, 1975) y los requerimientos de nutrientes (Ortas *et al.*, 2001). Numerosos autores han observado que las especies de plantas con sistemas radicales ramificados suelen obtener escasos beneficios de la simbiosis micorrízicas (Baylis, 1975, Koide *et al.*, 1988, Manjunath & Habte, 1991, Hetrick *et al.*, 1992b). En el caso de los cereales, se ha señalado que muchos de ellos muestran pocas respuestas a la colonización micorrízica, incluso cuando las raíces se encuentran extensamente colonizadas (Baon *et al.*, 1992; Smith & Read, 1997).

Algunos ensayos en condiciones controladas han hallado aumentos significativos en el crecimiento aéreo en ciertos cultivares de trigo con la inoculación de HFMA en sustrato estéril (Vierheilig & Ocampo, 1991; Hetrick *et al.*, 1992a; Hawkins & George, 1999; Mohammad & Malkawi, 2004), sin embargo resultados de estudios de campo, como el efectuado por Hetrick *et al.* (1984), señalan que los HFMA no tienen un efecto positivo en el crecimiento de esta especie. Existe abundante bibliografía sobre ensayos de inoculación en sustrato estéril, pero han sido pocos los que analizaron los efectos de la inoculación sobre suelos con presencia de propágulos de HFMA. Se conoce que la respuesta de la inoculación con HFMA sobre el crecimiento de los cultivos decrece a medida que aumenta la densidad de propágulos de estos hongos en el suelo (Sieverding, 1991, Wilson & Tommerup, 1992). La presencia de hifas, raíces colonizadas y esporas de *Glomeromycota* en los bloques intactos de suelo extraídos de la estación experimental fue seguramente uno de los factores que determinaron la falta de respuesta a la inoculación sobre la biomasa aérea. Es importante señalar que en situaciones donde existen hongos micorrízicos nativos la inoculación con *Glomeromycota* genera interacciones complejas que influyen en la efectividad de la simbiosis y la colonización (Wilson & Tommerup, 1992).

En cuanto a la biomasa radical, tampoco se registraron efectos positivos con la inoculación de HFMA sobre este aspecto, lo que coincide con observaciones de Mohammad & Malkawi (2004).

La mayor colonización en siembra directa con respecto a la labranza convencional no se reflejó en una mayor biomasa aérea o radical. Ya fue señalado que no todas las cepas o especies de HFMA le otorgan el mismo grado de beneficio al hospedante (Johnson *et al.*, 1997) y que en

situaciones de cultivo continuo de una especie en el mismo lote suelen predominar hongos micorrízicos mutualistas inferiores (Johnson *et al.*, 1992; Sieverding, 1991). De acuerdo a éstos autores, considerando la dependencia micorrízica intermedia del trigo y teniendo también en cuenta que la siembra directa implica numerosos cambios en las características físicas, químicas y biológicas de los suelos que inciden sobre el crecimiento vegetal, se puede comprender lo ocurrido en este bioensayo, en el cual la mayor colonización en la siembra directa no generó muchos de los beneficios de las asociaciones micorrízicas que son citados en la bibliografía.

La materia seca aérea y radical respondieron positivamente ante la aplicación de N. La biomasa radical presentó respuesta al agregado de fertilizante, coincidiendo con los resultados obtenidos por Prystupa *et al.* (2002) en cebada cervecera. La relación materia seca radical/materia seca aérea suele resultar muy variable, dependiendo de la disponibilidad de recursos (Hamblin & Tennant, 1979). Los valores de esta relación estuvieron de acuerdo con los citados en la bibliografía para el estado fenológico evaluado (Gregory, 1991).

La siembra directa registró una menor producción de raíces en relación a la labranza convencional, coincidiendo con lo obtenido por Golik *et al*. (2004b), que evaluaron la biomasa radical en el 2002 en el mismo ensayo donde se efectuó este trabajo de tesis. En el presente bioensayo se encontró una mayor resistencia a la penetración en los tratamientos de siembra directa, lo que concuerda con lo hallado en ensayos de campo por Mahboubi *et al* (1993), Chagas *et al.* (1994) y Balbuena *et al.* (1996). La mayor compactación en este sistema conservacionista dificulta el desarrollo radical (Sarandón *et al.* 1994).

Los resultados del bioensayo en macetas permitieron corroborar lo observado en el ensayo de labranza y fertilización, en situaciones de balance hídrico normal logradas mediante riego programado. También, las determinaciones efectuadas posibilitaron caracterizar los sistemas de siembra directa y labranza convencional, y se hallaron situaciones similares a las observadas en la estación experimental "Ing. Agr. Hirschorn" por Sarandón *et al*. (1994), Balbuena *et al*. (1996) y Golik *et al*. (2003, 2004a,b) en cuanto a la resistencia mecánica de este suelo, con gran contenido

de partículas finas, en siembra directa y el menor desarrollo radical de las plantas de trigo en este sistema. Por lo tanto se puede considerar que las condiciones de estrés mecánico determinadas en este sistema conservacionista, la dependencia micorrízica intermedia o baja del trigo señalada por numerosos autores, la reiteración del cultivo de la misma especie que, según Johnson *et al.* (1992) y Sieverding (1991) suele seleccionar cepas o especies de HFMA mutualistas inferiores, pudieron haber actuado en forma conjunta, impidiendo que la mayor colonización micorrízica hallada en siembra directa se refleje en una mayor biomasa vegetal.

CONCLUSIONES

-La siembra directa, como sistema de labranza, constituyó una condición favorable para el establecimiento de la simbiosis entre las plantas de trigo y los HFMA. Esto se evidenció a través de los mayores porcentajes de colonización, arbúsculos, vesículas e infectividad micorrízica del suelo en ese sistema.

-Se comprobó un efecto negativo de la fertilización nitrogenada sobre la colonización micorrízica de plantas de trigo en situaciones de siembra directa.

-Se registraron mayores densidades de esporas de HFMA en los tratamientos de siembra directa en varios de los muestreos efectuados a lo largo del ciclo de cultivo de trigo. Dicha tendencia fue clara en los estados fenológicos más tempranos.

-Fueron determinadas 24 especies de *Glomeromycota* en las muestras de campo provenientes del ensayo de labranza, lo que representa un número alto considerando la información consignada en la bibliografía para otros agroecosistemas. *Glomus etunicatum*, *G. claroideum*, *G. clarum* y *G. mosseae* fueron las especies más frecuentes.

-La contribución de las familias de *Glomeromycota* al índice de biodiversidad mostró diferencias entre los sistemas de labranza, fertilización y entre las situaciones cultivadas y no cultivadas. La familia *Glomeraceae* presentó mayores proporciones en los tratamientos de siembra directa. El índice de biodiversidad registró aumentos a lo largo del ciclo de cultivo, y en algunos muestreos se encontraron mayores valores en labranza convencional. Los componentes de la biodiversidad,

riqueza específica y equidad, contribuyeron de manera similar a explicar los cambios en dicho índice.

-Se registraron altas proporciones de especies pertenecientes a la familia *Glomeraceae* en los aislamientos efectuados a partir de suelo, micelio, raíces y plantas transplantadas. Este hecho muestra ventajas de los miembros de esta familia con respecto a *Acaulosporaceae* y *Gigasporaceae* en la utilización de micelio intra y/o extraradical como propágulo.

-Los miembros de *Glomeraceae*, *Acaulosporaceae* y *Gigasporaceae* hacen una utilización diferencial de los diversos tipos de propágulos; esto se pone de manifiesto en las variaciones observadas entre las distintas situaciones de manejo de suelo en la contribución de las familias de *Glomeromycota* al índice de biodiversidad.

-La mayor colonización de las plantas de trigo, generada por hongos micorrízicos nativos o inoculados (*Glomus mosseae*), no se reflejó en una mayor biomasa aérea o radical.

-La inoculación con *Glomus mosseae* en suelos provenientes del ensayo de labranza mostró un efecto positivo sobre el contenido de nitrógeno en raíces de plantas de trigo en los tratamientos no fertilizados de labranza convencional y siembra directa.

Santiago Schalamuk

Ing. Agr. Hugo O. Chidichimo Dra. Marta N. Cabello

BIBLIOGRAFÍA

Abbott L.K. & Gazey, C. (1994) An ecological view of the formation of VA mycorrhizas. Plant Soil 159: 69-69.

Abbott, L.K. & Robson, A.D. (1984) The effect of VA mycorrhizae on plant growth. 113–130 pp. En: Powell, L.I. & Bagyaraj, D.J. (eds.). VA Mycorrhiza. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.

Abbott, L.K.; Robson, A.D. & De Boer, G. (1984) The effect of phosphorus on the formation of hyphae in soil by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus fasciculatum.* New Phytol. 97: 437-446.

Abbott L.K.; Robson, A.D. & Gazey, C. (1994) Selection of inoculant vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. 461-482 pp. En: Norris, J.R.; Read, D. & Varma, A.K. (eds.) Techniques for mycorrhizal research. Academic, San Diego.

Alakukku, L. & Elonen, P. (1995) Long-term effects of a single compaction by heavy field traffic on yield and nitrogen uptake of annual crops. Soil Tillage Res. 36: 141-152.

Allen, E.B. & Allen, M.F. (1986) Water relations of xeric grasses in the field: interactions of mycorrhizae and competition. New Phytol. 104: 559-571.

Allen, E.B., Allen, M.F., Helm, D.J., Trappe, J.M., Molina, R. & Rincon, E. (1995) Patterns and regulation of mycorrhizal plant and fungal diversity. Plant Soil 170: 47-62.

Allen, M.F.; Swenson, W.; Querejeta, J.I.; Egerton-Warburton, L.M. & Treseder, K.K. (2003) Ecology of mycorrhizae: a conceptual framework for complex interactions among plants and fungi. Ann. Rev. Phytopathol. 41: 271-303.

Alvarez, R.; Alvarez, C.R.; Daniel, P.E.; Richter, V. & Blotta, L. (1998a) Nitrogen distribution in soil density franctions and its relation to nitrogen mineralization under different tillage systems. Aust. J. Soil Res. 36: 247-256.

Alvarez, R.; Russo, M.E.; Prystupa, P.; Scheiner, J.D. & Blotta, L. (1998b) Soil Carbon pools under Conventional and No-Tillage Systems in the Argentine Rolling Pampa. Agron. J. 90: 138-143.

Altieri, M.A. (1999) The ecological role of biodiversity in agroecosystems. Agric. Ecosyst. Environ. 74: 19-31.

Ames, R.N.; Reid, C.P.P.; Porter, L & Cambardella, C. (1983) Hyphal uptake and transport of nitrogen from two 15N-labelled sources by *Glomus mosseae,* a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. New Phytol. 95: 381-396.

American Society of Agricultural Engineers (1992) ASAE S313.2. Standard soil cone penetrometer. 611 pp. Saint Joseph.

Amijee, F.; Stribley, D.P. & Tinker, P.B. (1986) The development of endomycorrhizal root systems. VI. The relationship between development of infection, and intensity of infection in young leek roots. New Phytol. 12: 293-301.

An, Z.Q.; Guo, B.Z. & Hendrix, J.W. (1998) Viability of soilborne spores of glomalean mycorrhizal fungi. Soil Biol. Biochem. 30: 1133-1136.

An, Z.Q. & Hendrix, J.W. (1988) Determining viability of endogonaceous spores with a vital stain. Mycologia 80: 259-261.

An, Z.Q.; Hendrix, J.W.; Hershman, D.E & Henson, G.T. (1990) Evaluation of the "most probable number" (MPN) and wet-sieving methods for determining soil-borne populations of endogonaceous mycorrhizal fungi. Mycologia 82: 576-581.

Anderson, A.J. (1992) The influence of the plant root on mycorrhizal formation. 37-64 pp. En: Allen, M.F. (ed.) Mycorrhizal functioning: An integrative plant-fungal process. Chapman & Hall, New York.

Aon, M.A.; Sarena, D.E.; Burgos, J.L. & Cortassa, S. (2001) Microbiological, chemical and physical properties of soils subjected to conventional or no-till management: an assessment of their quality status. Soil Tillage Res. 60: 173-186.

Arihara, J. & Karasawa, T. (2000) Effect of previous crop on arbuscular mycorrhizal formation and growth of succeding maiza. Soil Sci. Plant Nutr. 46: 43-51.

Azcón-Aguilar, C. & Barea, J.M. (1992) Interactions between mycorrhizal fungi and other rhizosphere microorganisms. 163-198 pp. En: Allen, M.F. (ed.) Mycorrhizal Functioning. An integrative plant-fungal process. Chapman & Hall, New York.

Azcón-Aguilar, C. & Barea, J.M. (1996) Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens – an overview of the mechanisms involved. Mycorrhiza 6: 457-464.

Azcón, R.; Gómez, M. & Tobar, RM. (1992) Effect of nitrogen source on growth, nutrition, photosynthetic rate and nitrogen metabolism of mcorrhizal and P-fertilized plants of *Lactuca sativa* L. New Phytol. 121: 227-234.

Azcón, R.; Gómez, M. & Tobar, R.M. (1996) Physiological and nutritional responses by *Lactuca sativa* L. to nitrogen sources and mycorrhizal fungi under drought conditions. Biol. Fertil. Soils 22: 156-161.

Azcón, R. & Tobar, R. M. (1998) Activity of nitrate reductase and glutamine synthetase in shoot and root of mycorrhizal *Allium cepa*: effect of drought stress. Plant Sci. 133: 1-8.

Bago, B.; Vierheilig, H.; Piché, Y. & Azcón-Aguilar, C. (1996) Nitrate depletion and pH changes induced by the extraradical mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus itraradices* grown in monoxenic culture. New Phytol. 133: 272-280.

Bagyaraj, D.J. (1992) Vesicular-arbuscular mycorrhiza: Application in agriculture. Methods in Microbiology 24: 359-373.

Balbuena, R.H.; Aragón, A.; Mac Donagh, P.M.; Claverie, J.A. & Terminiello, A.M. (1996) Evolución de la resistencia a la penetración y la densidad aparente en tres sistemas de labranza. Actas del IV Congreso Argentino y II Internacional de Ingeniería Rural, Octubre de 1996. Neuquén: 197-202.

Baliddawa, C.W. (1985) Plant species diversity and crop pest control—an analytical review. Insect Sci. Appl. 6: 479–487.

Ball, B.C.; Lang, R.W.; O´Sullivan, M.F.; & Franklin, M.F. (1989) Cultivation and nitrogen requirements for continuous winter barley on a geysol and a cambisol. Soil Tillage Res. 13: 333-352.

Ball, B.C. & Robertson, E.A.G. (1994) Effects of soil water hysteresis and the direction of sampling on aeration and pore function in relation to soil compaction and tillage. Soil Tillage Res. 32: 51-60.

Baltruschat, H. & Dehne, H-W (1982) Zum Auftreten der endotrophen Mycorrhizen in verschiedenen Getreidefruchtfolgen und Düngesystemen. Meded Rijkfac Landbouwwet Gent 47: 831-839.

Baon, J.B; Smith, S.E.; Alston, A.M. & Wheeler, R.D. (1992) Phosphorus efficiency of three cereals as related to indigenous mycorrhizal infection. Aust. J. Agr. Res. 43: 479-491.

Barea, J.M.; Azcón-Aguilar, C. & Azcón, R. (1987) Vesicular-Arbúscular mycorrhiza improve both symbiotic N_2 fixation and N uptake from soil as assessed with a ^{15}N technique under field conditions. New Phytol. 106: 717-725.

Bauer, A. & Kucera, H.L. (1978) Effect of tillage on some soil physicochemical properties and on annually cropped spring wheat yields. North Dakota Agric. Exp. Stn. Bull. 506.

Baylis, G.T.S (1959) Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizas on growth of *Griselinia littoralis* (Corneaceae) New Phytol. 58: 274.

Baylis, G.T.S. (1975) The magnolioid mycorrhiza and mycotrophy in root systems derived from it. 373-389 pp. En: Sanders FE, Mosse B, Tinker PB (eds.) Endomycorrhizas. Academic Press, London.

Bècard, G. & Piché, Y. (1989) Fungal growth stimulation by CO_2 and root exudates in vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Appl. Environ. Microbiol. 55: 2320-2325.

Bellgard, S.E. (1993) Soil disturbance and infection of *Trifolium repens* roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Mycorrhiza 3: 25-29.

Benjamin, J.G. (1993) Tillage effects on near-surface soil hydraulic properties. Soil Tillage Res. 26: 277-288.

Bennie, A.T.P. & Burger, R. du T. (1988) Penetration resistance of fine sandy apedal soils as affected by relative bulk density, water content and texture. S. Afr. J. Plant Soil 5: 5-50.

Bennie, A.T.P. & Krynauw, G.N. (1985) Causes, adverse effects and control of soil compaction. S. Afr. J. Plant Soil 2: 109-114.

Bergh, R.; García, F.; Ferrari, J. & Rizzalli, R. (1996) Dinámica del nitrógeno, crecimiento y rendimiento de trigo bajo siembra directa y labranza convencional. Actas del XV Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. 19 al 24 de mayo de 1996. Santa Rosa, La Pampa. 41-42.

Bever, J.D.; Morton, J.B.; Antonovics, J. & Schultz, P.A. (1996) Host dependent sporulation and species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a mown grassland. J. Ecol. 84: 71-82.

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. BioScience 51: 923-931.

Bevenge, D.I. & Bowen, G.D. (1975) *Endogone* strain and host plant differences in development of vesicular-arbuscular mycorrhizas. 77-86 pp. En: Sanders, F.E.; Mosse, B. & Tinker, P.B. (eds.) Endomycorrhizas. Academic Press, London.

Biermann, B. & Linderman, R.G. (1983) Mycorrhizal roots, intraradical vesicles and extraradical vesicles as inoculum. New Phytol. 95: 97-105.

Birch, C.P.D. (1986) Development of VA mycorrhizal infection in seedlings in semi-natural grassland turf. 233-237 pp. En: Gianinazzi-Pearson, V & Gianinazzi, S (eds.) Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae. INRA, Paris, France.

Black, R. & Tinker, P.B. (1979) The development of endomycorrhizal root systems. II. Effect of agronomic factors and soil conditions on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in barley and on the endophyte spore density. New Phytol. 83: 401-413.

Blaszkowski, J. (1993) Comparative studies on the occurrence of arbuscular fungi and mycorrhizae (*Glomales*) in cultivated and uncultivated soils of Poland. Acta Mycol. 28: 93-140.

Boddington, C.L. & Dodd, J.C. (1999) Evidence that differences in phosphate metabolism in mycorrhizas formed by species of *Glomus* and *Gigaspora* might be related to their life-cycle strategies. New Phytol. 142: 531–538.

Bonfante-Fasolo, P. (1984) Anatomy and morphology of VA mycorrhizae. 5-33 pp. En: Powell, C.L. & Bagyaraj, D.J. (eds.) VA Mycorrhizae. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.

Bonfante, P. & Perotto, S. (1995) Strategies of arbuscular mycorrhizal fungi infecting host plants. New Phytol. 130: 3-21.

Bonfante-Fasolo, P.; Peretto, R. & Perotto, S. (1992) Cell surface interaction in endomycorrhizal symbiosis. 239-255 pp. En: Callow, J.A. & Green, J.R. (eds.) Perspectives in Plant Cell Recognition. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Bourgeois, L. & Entz, M.H. (1996) Influence of previous crop type on yield of spring wheat: analysis of commercial field data. Can. J. Plant. Sci. 76: 457-459.

Bowen, G. D. (1980) Mycorrhizal roles in tropical plants and ecosystems in Tropical Mycorrhiza Research. En: Mikola, P. (ed.) Clarendon Press, Oxford.

Brandt, S.A. (1992) Zero vs. conventional tillage and their effects on crop yield and soil moisture. Can. J. Plant Sci. 72: 679–688.

Braunberger, P.G.; Abbot, L.K. & Robson, A.D. (1996) Infectivity or arbuscular mycorrhizal fungi after wetting and drying. New Phytol. 134: 673-684.

Brundrett, M.C. (2002) Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. New Phytol. 154: 275-304.

Brundrett M.C.; Beegher, N.; Dell, B.; Groove, T. & Malajczuk, N. (1996) Working with mycorrhizas in Forestry and Agriculture. ACIAR Monograph 32: 374.

Brundrett, M.C.; Piché, Y. & Peterson, R.L. (1985) A developmental study of early stages in vesicular-arbuscular mycorrhiza development. Can. J. Bot. 63: 184-194.

Brundrett, M.C.; Abbot, L.K. & Jasper, D.A. (1999) Glomalean fungi from tropical Australia. I. Comparison of the effectiveness of isolation procedures. Mycorrhiza 8: 305-314.

Buee, M.; Rossignol, M.; Jauneau, A.; Ranjeva, R. & Bècard, G. (2000) The pre-symbiotic growth of arbuscular mycorrhizal fungi is induced by a branching factor partially purified from plant root exudates. Mol. Plant Microbe Interact. 13: 693-698.

Bullock, D.G. (1992) Crop rotation. Crit. Rev. Plant Sci. 11: 309-326.

Burggraaf, A.J.P. & Beringer, J.E. (1987) Nuclear division and VA mycorrhizal in-vitro culture. 190 pp. En: Sylvia, D.M.; Hung, L.L. & Graham, J.H. (eds.) Mycorrhizae in the Next Decade, Practical Applications and Research Priorities. Proceedings of the 7th NACOM. IFAS, University of Florida, Gainesville.

Cabello, M.N (1987) Mycorrizas vesiculo-arbusculares en un cultivo de girasol. Revista Facultad de Agronomía, La Plata 63: 46-52.

Cabello, M.N. (1997) Hydrocarbon pollution: its effect on native arbusular mycorrhizal fungi (AMF). FEMS Microbiology Ecology 22: 233-236.

Cabello, M.N. (1999) Effectiveness of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) isolated from hydrocarbon polluted soils. J. Basic Microbiol. (Germany) 39: 89-95.

Cabello, M.N. (2001) Mycorrhizas and Hydrocarbons. 456-471 pp. En: Gadd, G.M. Fungi in Bioremediation. G.M. Cambridge University Press. Cambridge.

Cabello, M.N.; Gaspar, L. & Pollero, R. (1994) *Glomus antarcticum sp*-nov, A vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus from Antarctica. Mycotaxon 58: 123-128.

Cambardella, C.A. & Elliot. E.T. (1992) Particulate soil organic matter chages across a grassland cultivation sequence. Soil. Sci. Soc. Am. J. 56: 777-783.

Campbell, C.A. & Zentner, R.P. (1996) Disposition of nitrogen in the soil–plant system for flax and spring wheat-containing rotations in the Brown soil zone. Can. J. Plant Sci. 76: 401–412.

Carefoot, J.M.; Nyborg, M. & Lindwall, C.W. (1990) Differential fertilizer N immobilization in two tillage systems influences grain N concentration. Can. J. Soil Sci. 70: 215-225.

Carling, D.E.; Brown, M.F. & Brown, M.F. (1979) Colonisation rates and growth responses of soybean plants infected by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Can. J. Bot. 57: 1769-1772.

Carmona, M. (2001) El control cultural como estrategia de manejo integrado de enfermedades del trigo. Actas de V Congreso Nacional de trigo y III Simposio Nacional de Cereales de Invierno. CD ROM. Villa Carlos Paz. Córdoba. Argentina.

Carmona, M.A & Reis, E.M. (1998) Las enfermedades y su manejo en siembra directa. 68-81 pp. Cuaderno de actualización técnica "Siembra Directa" de los CREA.

Carter, M.R. (1988) Temporal variability of soil macroporosity in a fine sandy loam under mouldboard ploughing and direct drilling. Soil Tillage Res. 12: 37-51.

Chagas, C.I.; Marelli, H.J. & Santanatoglia, O.J. (1994) Propiedades físicas y contenido hídrico de un Argiudol típico bajo tres sistemas de labranza. Ciencia del Suelo 12:11-16.

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.

Chapman, H.D. & Pratt F.P. (1973) Métodos de análisis para suelos, plantas y aguas. 195 pp. Ed. Trillas. Méjico.

Chidichimo, H.O. & Asborno, M.D. (2000) Influencia de la humedad y la temperatura del suelo sobre el crecimiento del trigo en dos sistemas de labranza. Revista Brasileira de Agrometeorología 8: 69-74.

Chiocchio, V.; Rodríguez, M.A.; Venedikian, N.; Martinez, A.; Menéndez, A.; Scervino, J.M. & Godeas, A. (2002) Una relación con beneficios mutuos: Las raíces de las plantas y los hongos micorrícicos arbusculares. Bol. Soc. Argent. Bot. 37: 265-275.

Clements, F.E. (1912) Plant Succession. An Analysis of the Development of Vegetation. 512 pp. Carnegie Institute of Washington.

Cochran, V.L.; Elliott, L.F. & Papendick, R.I. (1977) The production of phytotoxins from surface crop residues. Soil Sci. Soc. Am. J. 41: 903–908.

Cordo, C.A.; Simón, M.R.; Fernández, L.; Bayo, D. & Kripelz, N. (2004) Influencia de los sistemas de labranza en la dispersión de esporas de patógenos necrotróficos del trigo. 207-208 pp. Actas de VI Congreso Nacional de Trigo. IV Simposio Nacional de Cereales de Siembra Otoño-Invernal. Bahia Blanca. Argentina.

Cosper, H.R. (1983) Soil suitability for conservation tillage. J. Soil Water Conserv. 38: 152–155.

Crovetto, C. (1985) Cero labranza, extraordinaria alternativa para el cultivo de cereales en suelos erosionados. 461-472 pp. En: VII International Conference of Soil Conservation; Maracaibo, Venezuela.

Cuenca, G. & Azcón, R. (1994) Effects of ammonium and nitrate on the growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal *Erythrina poeppigiana* O. I. Cook seedlings. Biol. Fertil. Soils 18: 249-254.

Curl, E.A. & Truelove, B. (1986) The rhizosphere. Springer-Verlag, New York.

Daft, M.J. & El Giahmi, A.A. (1978) Effects of arbuscular mycorrhiza on plant growth. VIII. Effects of defoliation and light on selected hosts. New Phytol. 80: 365-372.

Daft, M.J. & Nicolson, T.H., (1969) Effect of *Endogone* mycorrhiza on plant growth III. Influence of inoculum concentration on growth and infection in tomato. New Phytol. 68: 953-961.

Daniel, P.E.; Hansen, O.; Zeljkovich, V. & Marban (1984) Sistemas de labranza en la rotación trigo-soja-maíz IV. Efecto de las diferentes labranzas y de la fertilización nitrogenada sobre la evolución del contenido de nitratos en un suelo cultivado con maíz. 201-205 pp. En: Actas III Congreso Nacional de Maíz. Pergamino.

Daniels Hetrick, B.A. & Bloom, J. (1986) The influence of host plant on production and colonisation ability of vesicular-arbuscular mycorrhizal spores. Mycologia 78: 32-36.

Daniels, B.A. & Menge, J.A. (1980) Hyperparasitism of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. Phytopathology 70: 584-588.

Dick, R.P.; Thomas, D.R. & Turco, R.F. (1996) Standarized methods, sampling, and sampling treatment. 107-121 pp. En: Doran, J.W. & Jones, A.J. (eds.) Methods for assessing soil quality. Soil Science of America, Madison, Wisconsin.

Dickey, E.C.; Peterson, T.R.; Gilley, J.R. & Mielke, L.N. (1983) Yield comparisons between continues no-till and tillage rotations. Trans. ASAE 26: 1682-1686.

Dighton, J. & Mason, P.A. (1985) Mycorrhizal dynamics during forest tree development. 163-171 pp. En: Developmental Biology of Higher Fungi, D. Moore et al. (eds.) Cambridge University Press. Cambridge, U.K.

Dimes, J.P.; MCCown, R.L. & Saffigna, P.G. (1996) Nitrogen suply to no-tillage crops as influenced by mulch type, soil type and season following pasture leys in the semi-arid tropics. Aust. J. Exp. Agr. 36:937-946.

Diop, T.A.; Gueye, M.; Dreyfus, B.L.; Plenchette, C. & Strullu, D.G. (1994) Indigenous arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Acacia albida* Del. in different areas of Senegal. Appl. Environ. Microbiol. 60: 3433-3436.

Diosma, G.; Golik, S.I.; Chidichimo, H.O. & Balatti, P.A. (2003) Nitrification potential, deshydrogenase activity and microbial biomass in an argiudol soil cultivated with wheat under two tillering methods. Spanish J. Agric. Res. 1: 11-20.

Doran, J.W. (1980) Soil microbial and biochemical changes associated with reduced tillage. Soil Sci. Soc. Am. J. 44: 765-771.

Doran, J.W.; Sarrantonio, M. & Liebig, M.A. (1996) Soil Health and Sustainability. Advances in Agronomy. Vol. 56. Academic Press, Inc. San Diego, California.

Douds, D.D. Jr.; Galvez, L.; Janke R.R. & Wagoner, P. (1995) Effect of tillage and farming system upon populations and distribution of vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi. Agric. Ecosyst. Environ. 52: 111-118.

Douds, D.D. Jr.; 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. Agric. Ecosyst. Environ. 43: 325-335.

Douds, D.D. & Millner, P. (1999) Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems. Agric. Ecosyst. Environ. 74: 77-93.

Douds, D.D. & Schenck, N.C. (1990) Relationship of colonization and sporulation by VA mycorrhizal fungi to plant nutrient and carbohydrate contents. New Phytol. 116: 621-627.

Douglas, J.T. & Crawford, C.E. (1993) The responses of a ryegrass sward to wheel traffic and applied nitrogen. Grass Forage Science 48: 91-100.

Egerton-Warburton, L.M. & Allen, E.B. (2000) Shifts in arbuscular mycorrhizal communities along an antrhropogenic nitrogen deposition gradient. Ecol. Appl. 10: 484-496.

Egerton-Warburton, L.; Graham, R.C.; Allen, E.B. & Allen, M.F. (2001) Reconstruction of historical changes in mycorrhizal fungal communities under anthropogenic nitrogen deposition. Proceedings of the Royal Society of London. B 1484: 2479-2848.

Endres, G.J. & Ahrens, W.H. (1995) Fall applied Trifluralin granules in conservation-till spring wheat. Weed Technol. 9: 703-709.

Enz, J.W.; Brun, L.J. & Larsen, J.K. (1988) Evaporation and energy balance of bare and stubble covered soils. Agriculture Forest Meteorology 43: 59-70.

Eom, A.; Hartnett, D. & Wilson, W. (1999) The effect of fire, mowing and fertilizer amendment to arbusculare mycorrhizas in tallgrass prairie. Am. Midl. Nat. 142: 55-70.

Fairchild, G.L. & Miller, M.H. (1990) Vesicular-arbuscular mycorrhizas and the soil disturbance induced reduction of nutrient absorption in maize. III. Influence of P amendments to soil. New Phytol. 114: 641-650.

Finckh, M.R. & Wolfe, M.S. (1998) Diversification Strategies. 231–259 pp. En: Jones, D.G (ed.) The Epidemiology of Plant Diseases. Chapman & Hall, London, UK.

Finlay, R.D.; Frostegard, A. & Sonnerfeldt, A.M. (1992) Utilization of organic and inorganic nitrogen sources by ectomycorrhizal fungi in pure culture and in symbiosis with *Pinus contorta* (Dougl ex. Loud.) New Phytol. 120: 105-115.

Fitter, A.H. (2001) Specificity, links and networks in the control of diversity in plant and microbial communities. pp 95-114. En: Press, M.C.; Hontly, N.J. & Levin, S. (eds.) Mycorrhizal functioning. Ecology: achievement and challenge. Blackwell Scientific Publication Ltd. Oxford.

Fox, R.H. & Bandel, V.A. (1986) Nitrogen utilization with No-tillage. 116-148 pp. En: Sprague, M. A. & Triplett, G.B. (eds.) No tillage and Surface tillage agriculture. The Tillage Revolution. John Wiley & Sons. New York.

Fracchia, S. (2002) Hongos saprótrofos del suelo como microorganismos auxiliares de la micorrización. 164 pp. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA.

Frank, B. (1888) Ueber die physiologische Bedeutung der Mycorhiza. Berichte der Deutchen Botanischen Gesellschaft 6: 248-269.

Frankland, J.C. (1998) Fungal succession: unraveling the unpredictable. Mycol. Res. 102: 1–15.

Frey, B. & Schüepp, H. (1993) Acquisition of nitrogen by external hyphae of arbuscular micorrhizal fungi associated with *Zea mays L.* New Phytol. 24: 221-230.

Frontier, S. & Pichod-Viale, D. (1995) Écosystèmes. Structure, fonctionnement, évolution. Masson, Paris. 290-311.

Furlan, V. & Fortin, J.A. (1977) Effects of light intensity on the formation of vesicular-arbuscular mycorrhizas on *Allium cepa* by *Gigaspora calospora.* New Phytol. 79: 335-340.

Gadkar, V.; David-Schwartz; R.; Kunik, T., & Kapulnik, Y. (2001) Arbuscular Mycorrhizal Fungal Colonization. Factors Involved in Host Recognition. Plant Physiol. 127 : 1493-1499.

Galvez, L.; Douds, D.D.; Drinkwater, L.E. & Wagoner, P. (2001) Effect of tillage and farming system upon VAM fungus populations and mycorrhizas an nutrient uptake of maize. Plant Soil 228: 299-308.

García-Garrido, J.M.; García-Romera, I. & Ocampo, J.A.(1992) Cellulase activity in lettuce and onion plants colonized by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. Soil Biol. Biochem. 25: 503–504.

García-Garrido, J.M., Tribak, M., Rejon-Palomares, A.; Ocampo, J.A. & García-Romera, I. (2000) Hydrolytic enzymes and ability of arbuscular mycorrhizal fungi to colonize roots. J. Exp. Bot. 51: 1443-1448.

García-Romera, I.; García-Garrido, J.M. & Ocampo, J.A. (1991) Pectolytic enzymes in the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. FEMS Microbiol Letters 78: 343–346.

Garret, S.D. (1956) Biology of root-infecting fungi. 293 pp. Cambridge University Press. Cambridge.

Garriock, M.L.; Peterson, R.L. & Ackerley, C.A. (1989) Early stages in colonization of Allium porrum (leek) roots by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus versiforme.* New Phytol. 112: 85-92.

Gauer, E.; Shaykewich, C.F. & Stobbe, E.H. (1982) Soil temperature and soil water under zero tillage in Manitoba. Can. J. Soil Sci. 62: 311–325.

Gazey, C.; Abbot, L. K. & Robson, A. D. (1992) The rate of development of mycorrhizas affects the onset of sporulation and production of external hyphae by two species of *Acaulospora*. Mycol. Res. 96: 643–650.

Gavito, M.E. & Miller, M.H. (1998) Early phosphorus nutrition, mycorrhizae development, dry matter partitioning and yield of maize. Plant Soil 199: 177-186.

Gemma, J.N.; Koske, R.E. & Carreiro, M. (1989) Seasonal dynamics of selected species of V-A mycorrhizal fungi in a sand dune. Mycol. Res. 92: 317-321.

Gerdemann, J.W. (1965) Vesicular-arbuscular mycorrhizae formed on maize and tuliptree by *Endogone fasciculata.* Mycologia 57: 562-575.

Gerdemann, J.W. (1968) Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. Ann. Review Phytopathol. 6: 397-418.

Gerdemann, J.W. & Nicolson, T.H. (1963) Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans. Brit. Mycol. Soc. 46: 235-244.

Gerdemann, J. W. & Trappe, J.M. (1974) The Endogonaceae in the Pacific Northwest. 76 p. Mycologia Memoir No. 5.

Gerdemann JW (1975). Vesicular-arbuscular mycorrhizae. 575-591 pp. En: Torrey, J.G. & Clarkson, D.T. (eds). The development and Function of Roots. Academic Press, London.

George, E.; Marschner, H. & Jakobsen, I. (1995) Role of arbuscular-mycorrhizal fungi in uptake of phosphorus and nitrogen from soil. Crit. Rev. Biotechnol. 15: 257-270.

Gianinazzi S & Gianinazzi-Pearson V. (1986) Progress and headaches in endomycorrhiza biotechnology. Symbiosis 2:139-149.

Giovannetti, M. (1985) Seasonal variations of vesicular-arbuscular mycorrhizas and endogonaceous spores in a maritime sand dune. Trans. Br. Mycol. Soc. 84: 679-684.

Giovannetti, M.; Fortuna, P.; Citernesi, A.S.; Morini, S. & Nuti, M.P. (2001) The occurrence of anastomosis formation and nuclear exchange in intact arbuscular mycorrhizal networks. New Phytol. 151: 717-724.

Giovannetti, M. & Gianinazzi-Pearson, V. (**1994)** Biodiversity in arbuscular mycorrhizal fungi. Mycol. Res. 98:705-715.

Giovannetti, M. & Mosse, B. (1980) An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytol. 84: 489-499.

Giovannetti, M.; Sbrana, C.; Avio, L.; Citernesi, A.S. & Logi, C. (1993) Differential hyphal morphogenesis in arbuscular mycorrhizal fungi during pre-infection stages. New Phytol. 125: 587-593.

Giovannetti, M.; Sbrana, C.; Avio, L. & Strani, P. (2004) Patterns of below-ground plant interconnections established by means of arbuscular mycorrhizal networks. New Phytol. 164: 175-181.

Giovannetti, M.; Sbrana, C.; Citernesi, A.S. & Avio, L. (1996) Analysis of factors involved in fungal recognition responses to host-derived signals by arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytol. 133: 65-71.

Golik, S.I.; Chidichimo, H.O.; Pérez, D. & Pane, L. (2003) Acumulación, removilización, absorción postantesis y eficiencia de utilización de N en trigo bajo diferentes labranzas y fertilizaciones. Pesquisa Agropecuária Brasileira 38: 619-626.

Golik, S.I.; Chidichimo, H.O. & Zanelli, J.I. (2004a) Materia seca radical en trigo durante el llenado de granos: respuesta a la fertilización nitrogenada. 168 p. Actas del XIX Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Paraná. Entre Rios. Argentina.

Golik, S.I.; Chidichimo, H.O. & Zanelli, J.I. (2004b) Materia seca radical en trigo durante el llenado de granos: respuesta al sistema de labranza. 267 p. Actas del XIX Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Paraná. Entre Rios. Argentina.

Gould, A.B. & Liberta, A.E. (1981) Effects of topsoil storage during surface mining on the viability of vesicular-arbuscular mycorrhiza. Mycologia 73: 914-922.

Grace, P.R.; Ladd, J.N. & Skiiemstad, J.O. (1994) The effect of management practices on soil organic matter dynamics. 162-171 pp. En: Pankhurst, C. E.; Doube, B.M.; Gupta, V. V. S. R. & Grace, P.R. (eds.) Soil biota: Management in sustainable farming systems. CSIRO Press, Melbourne.

Grant, C.A.; Peterson, G.A. & Campbell, C.A. (2002) Nutrient Considerations for Diversified Cropping Systems in the Northern Great Plains. Agron. J. 94: 186-198.

Graves, J.D.; Watkins, N.K.; Fitter, A.H.; Robinson, D. & Scrimgeour, C. (1997) Intraspecific transfer of carbon between plants linked by a common mycorrhizal network. Plant Soil 192: 153-159.

Greacen, E.L. (1960) Water content and soil strengh. J. Soil. Sci. 11: 313-333.

Greacen, E.L. (1986) Root response tos oil mechanical proterties. 20-47 pp. Transactions of the 13th Congress of the I.S.S.S., Hamburg. Vol. 5.

Gregory, P.J. (1991) Concepts of water use efficiency. 9-20 pp. En: Harris, H., Cooper, P. & Pala, M. (eds.). Soil and crop management for improved water use efficiency in rainfed areas. ICARDA, Syria.

Greuter, W.; McNeill, J.; Barrie, F. R.; Burdet, H. M.; Demoulin, V.; Filgueiras, T. S.; Nicolson, D. H.; Silvia, P. C.; Skog, J. E.; Trehane, P.; Turland, N. J. & Hawksworth, D. L. (2000) International Code of Botanical Nomenclature (Saint Louis Code). Regnum Vegetabile Vol. 138. Koeltz Scientific Books, Königstein.

Griffith, D.R.; Mannering, J.V. & Box, J.E. (1986) Soil moisture management with reduced tillage. 19-57 pp. En: Sprague, M.A. & Triplett, G.R. (eds.) No Tillage and Surface-Tillage Agriculture. The Tillage Revolution. John Wiley & Sons. New York.

Grime, J.P. (1979) Plant Strategies and Vegetation Processes. Chichester, U.K., John Wiley & Sons.

Gupta, S.C.; Radke, J.K. & Larson, W.E. (1981) Predicting temperatures of bare and residue covered soils with and without a corn crop. Soil Sci. Soc. Am. J. 45: 402-412.

Gupta, V.V.S.R.; Roper, M.M.; Kirkegaard, J.A. & Angus, J.F. (1994) Changes in microbial biomass and organic matter levels during the first year of modified tillage and stubble management practices on a red earth. Aust. J. Soil Res. 32: 1339-1354.

Haines, P.J. & Uren, N.C. (1990) Effects of conservation tillage farming on soil microbial biomass and organic matter and earthworm populations, in north-eastern Victoria. Aust. J. Exp. Agric. 30: 365-371.

Hamblin, A.P. & Tennant, D. (1979) Interaction between soil type and tillage level in a dryland situation. Aust. J. Soil Res. 17:177-187.

Harley, J.L. (1989) The significance of mycorriza. Mycol. Res. 99: 129-139.

Harley, J.L. (1991) Introduction: the state of the art. 1-23 pp. En. Norris J.R; D.J. Read & A.K. Varma (eds.) Methods in Microbiology. Vol. 23. Techniques for the study of mycorrhiza. Academic Press. London.

Harley, J.L. & Smith, S.E. (1983) Mycorrhizal Symbiosis. 483 pp. Academic Press. London.

Hart, M.M. & Reader, R.J. (2002) Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytol. 153: 335-344.

Hart, M.M.; Reader, R.J. & Klironomos, J.N. (2001) Life-history strategies of arbuscular mycorrhizal fungi in relation to their successional dynamics. Mycologia 93: 1186–1194.

Hawkins, H-J & George E. (1999) Effect of plant nitrogen status on the contribution of arbuscular mycorrhizal hyphae to plant nitrogen uptake. Physiol. Plant 105: 694-700.

Hawkins, H-J. & George, E. (2001) Reduced ^{15}N-nitrogen transport through Arbuscular Micorrizae hyphae to *Triticum aestivum* L. supplied with ammonium *vs.* nitrate nutrition. Ann. Bot. 87: 303-311.

Hawkins H-J.; Johansen, A. & George E. (2000) Uptake and transport of organic and inorganic nitrogen by arbuscular mycorrhizal fungi. Plant Soil 226: 275-285.

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. (1983) The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis. Can. J. Bot. 61: 944-963.

Hendrix, J.W.; Guo, B.Z. & An, Z-Q (1995). Divergence of mycorrhizal fungal communities in crop production systems. Plant Soil 170: 131-140.

Hendrix, P.F.; Crossley Jr., D.A.; Blair, J.M. & Coleman, D.C. (1990) Soil biota as components of sustainable agroecosystems. 637-654 pp. En: Edwards, C.A.; Lal, R.; Madden, P.; Miller, R.H. & House, G. (eds). Sustainable Agricultural Systems. Soil and Water Conservation Society. USA.

Hepper, C.M. (1981) Techniques for studying the infection of plants by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi under axenic conditions. New Phytol. 88: 641–647.

Hepper, C.M. (1983) Effect of phosphate on germination and growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Trans. Brit. Mycol. Soc. 80: 487-490.

Hetrick, B.A.D. (1984) Ecology of VA mycorrhizal fungi. 35-55 pp. En: Powell, C.L. & Bagyaraj, D.J. (eds.) VA Mycorrhiza. CRC Press. Florida.

Hetrick, B.A.D.; Bockus, W.W. & Bloom, J. (1984) The role of vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi in the growth of Kansas winter wheat. Can. J. Bot. 62: 735-740.

Hetrick, B.A.D. & Wilson, G.W.T. (1991) Effects of mycorrhizal fungus species and metalaxyl applications on microbial suppression of mycorrhizal symbiosis. Mycologia 83: 97-102.

Hetrick, B.A.D.; Wilson, G.W.T. & Cox, T.S. (1992a) Mycorrhizal dependence of modern wheat varieties, landraces, and ancestors. Can. J. Bot. 70: 2032-2040.

Hetrick, B.A.D.; Wilson, G.W.T. & Todd, T.C. (1992b) Relationship of mycorrhizal symbiosis, rooting strategy, and phenology among tallgrass prairie forbs. Can. J. Bot. 70: 1521-1428.

Hetrick, B.A.D.; Wilson, G.W.T. & Cox, T.S. (1993) Mycorrhizal dependence of modern wheat cultivars and ancestors: a synthesis. Can. J. Bot. 71: 512-512.

Hildebrandt, U.; Kaldorf, M. & Bothe, H. (1999) The zinc violet and its colonization by arbuscular mycorrhizal fungi. J. Plant Physiol. 154: 709-717.

Hill, R.L.; Horton, R. & Cruse., R.M. (1985) Tillage effects on soil water retention and pore size distribution of two Mollisols. Soil Sci. Soc. of Am. J. 49: 1264-1270.

Hill, R.L.& Meza-Monsalvo, M. (1990) Long wheel trafic effects on soil physical properties under different tillage systems. Soil Sci. Soc. Am. J. 54: 865-870.

Hoch, H.C.; Staples, R.C.; Whitebread, B.; Comeau, J.& Wolf, E.D. (1987) Signaling for growth orientation and cell differentiation by surface topography in *Uromyces*. Science 235: 1659–1662.

Howeler, R.H.; Sieverding, E. & Saif, S. (1987) Practical aspects of mycorrhizal technology in some tropical crops and pastures. Plant Soil 100: 249-283.

Huante, P.; Rincón E. & Allen, E.B. (1993) Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae on seedling growth of four tree species from the tropical deciduos forest in Mexico. Mycorrhiza 2: 141-145.

Hubbard, R.K.; Leonard, R.A. & Johnson, A.W. (1991) Nitrate transport on a sandy coastal plain soil underlain by plinthite. Transactions of the ASAE 34: 802-808.

INVAM (1993) Properties of infective propagules at the suborder level (*Glomineae* versus *Gigasporineae*). INVAM Newsletter 3: September.

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). 131 pp. Actas de XIX Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Paraná, Entre Rios. Argentina.

Jakobsen, I. & Nielsen, N.E. (1983) Vesicular-arbuscular mycorrhiza in field-grown crops. I. mycorrhizal infection in cereals and peas at various times and soil depths. New Phytol. 93: 401-413.

James, D.W. (1993) Fertilizer composition and reactions in soils. 58-67 pp. En: D. W. James, D.W. & Topper, K.F. (eds.) Utah Fertilizer Guide, AG 431.

Janos, D.P. (1980) Vesicular-arbuscular mycorrhizae influence lowland tropical rain forest plant growth. Ecology 61: 151-162.

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.

Jarstfer, A.G. & Sylvia, D.M. (1992) Inoculum production and inoculation technologies of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi: En: Soil Microbial Ecology: Applications in agriculture, forestry and environmental management. Meeting, B. (ed.) Marcel Dekker, Inc., New York. Florida Ag. Expt. St. J. Ser No R-01157.

Jasper, D.A.; Abbott, L.K. & Robson, A.D. (1989) Soil disturbance reduces the infectivity of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytol. 112: 93-99.

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. 151-155 pp. En: Read, D.J.; Lewis, D.H.; Fitter, A.H. & Alexander, I.J. (eds.) Mycorrhizas in Ecosystems. CAB International, Wallingford, UK.

Jasper, D.A.; Robson, A.D. & Abbott, L.K. (1987) VA mycorrhizal fungi in revegetation after soil disturbance by mining. 152 pp. En: Sylvia, D.M.; Hung, L.L. & Graham, J.H. (eds.) Mycorrhizae in the Next Decade. Institute of Food and Agricultural Sciences, Gainsville, Florida, USA.

Jasper, D.A.; Robson, A.D. & Abbott, L.K. (1988) Revegetation in an iron-ore mine – nutrient requirements for plant growth and the potential role of vesicular-arbuscular (VA) mycorrhizal fungi. Aust. J. Soil. Res. 26: 497-507.

Jeffries, P. & Dodd, J.C. (1991) The use of mycorrhizal inoculants in forestry and agriculture.155-186 pp. En: Arora, D.K.; Rai, B.; Mukerji, K.G. & Knudsen, G.R. (eds.) Handbook of applied mycology. Vol 1: Soil & Plants. Marcel Dekker, Inc. New York.

Jensen, A. & Jacobsen, A. (1980) The occurrence of vesicular-arbuscular mycorhiza in barley and wheat grown in some Danish soils with different fertilizer treatments. Plant Soil 55: 403-414.

Johansen, A.; Jakobsen, I. & Jensen, E.S. (1993) Hyphal transport by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus of N applied to the soil as ammonium or nitrate. Biol. Fertil. Soil 16: 66-70.

Johansen, A.; Jakobsen, I. & Jensen, E.S. (1994) Hyphal N transport by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus associated with cucumber grown at three nitrogen levels. Plant Soil 160: 1-9.

Johnson, N.C. (1993) Can fertilization of soil select less mutualistic mycorrhizae? Ecol. Appl. 3: 749-757.

Johnson, N.C.; Copeland, P.J.; Crookston, R.K. & Pfleger, F.L. (1992) Mycorrhizae: Possible explanation for yield decline with continuous corn and soybean. Agron. J. 84: 387-390.

Johnson, N.C.; Copeland, P..J; Crookston, R.K.; Simmons, S.R. & Copeland, P.J. (1991) Vesicular-arbuscular mycorrhizas respond to corn and soybean cropping history. New Phytol. 177: 657-663.

Johnson, N.C.; Graham, J.H. & Smith, F.A. (1997) Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. New Phytol. 135: 575-586.

Jones, R.D. & Schwab, A.P. (1993) Nitrate leaching and nitrite occurrence in fine-textured soil. Soil Sci. 155: 272-282.

Juniper, S. & Abbott, L. (1993) Vesicular-arbuscular Mycorrhizas and soil salinity. Mycorrhiza. 4: 45-57.

Kabir, Z.; O'Halloran, I.P & Hamel, C (1997) Overwinter survival of arbuscular mycorrhizal hyphae is favored by attachment to root but diminished by disturbance. Mycorrhiza 7: 197-200.

Kabir, Z.; O'Halloran, I.P.; 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.

Kahiluoto, H. & Vestberg, M. (1999) Impact of cropping system on mycorrhiza. 305-309 pp. En: Olesen, J.E.; Eltun, R.; Gooding, M. J.; Jensen, E. S. & Köpke, U. (eds.) DARCOF Report no. 1.

Kanwar, R.S.; Baker, J.L. & Laflen, J.M. (1985) Nitrate movement though the soil profile in relation to tillage system and fertilizer application methods. Transactions of the ASAE 28: 1802-1807.

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.

Karlen, D.L.; Varvel, G.E.; Bullock, D.G. & Cruse, R.M. (1994) Crop rotation for the 21st century. Adv. Agron. 53: 1-45.

Keller, G.D. & Mengel, D.B. (1986) Ammonia volatilization from nitrogen fertilizers surface applied to no-till corn. Soil Sci. Soc. Am. J. 50: 1060-1063.

Keulen, H. & Seligman, N.G. (1987) Simulation of water use, nitrogen nutrition and growth of a spring wheat crop. 310 pp. En: Simulation monographs, Pudoc, Wageningen.

Khan, A.G. (1993) Occurrence and importance of mycorrhiza in aquatic trees of New South Wales, Australia. Mycorrhiza 3: 31-38.

Kimber, R.W.L. (1973) Phytotoxicity from plant residues: III. The relative effect of toxins and nitrogen immobilization on the germination and growth of wheat. Plant Soil 38: 543–555.

Kitt, D.G.; Hetrick, B.A.D. & Wilson, G.W.T. (1988) Relationship of soil fertility to suppression of the growth response of mycorrhizal big bluestem in non-sterile soil. New Phytol. 109: 473–481.

Klironomos, J.N. & Hart, M.M. (2002) Colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi using different sources of inoculum. Mycorrhiza 12: 181-184.

Kohli, M.; Mheta, Y.R. & Ackerman, M.D. (1992) Spread of tan pot in the Southern Cone region of South America. North Dakota State University, Fargo. 86-90 pp. En: Francl, L.J.; Krupinsky, J.M. & McMullen; M.P. (eds.) Advances in Tan Spot Research. Proc. of the Second International Tan Spot Workshop.

Koide, R; Li, M; Lewis, J. & Irby, C. (1988) Role of mycorrhizal infection in the growth and reproduction of wild vs. cultivated plants. I. Wild vs. cultivated oats. Oecologia 77: 537-543.

Koide, R.T. & Schreiner, R.P. (1992) Regulation of the vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 43: 557-581.

Koske, R.E. (1982) Evidence for a volatile attractant from plant roots affecting germ tubes of a VA mycorrhizal fungus. Trans. Brit. Mycol. Soc. 79: 305-310.

Koske, R.E. (1987) Distribution of VA mycorrhizal fungi along a latitudinal temperature gradient. Mycologia 79: 55-68.

Koske, R. E. (1988) VA mycorrhizae of some Hawaiian dune plants. Pacific Science 42: 217-229.

Koske, R.E. & Gemma, J.N. (1992) Fungal reactions to plant prior to mycorrhizal formation. 3-36 pp. En: Allen, M.F. (ed.) Mycorrhizal Functioning. Chapman & Hall, London.

Koske, R.E. & Halvorson, W.L. (1981) Ecological studies of vesicular-arbuscular mycorrhizae in a barrier sand dune. Can. J. Bot. 59: 1413-1422.

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. 511 pp. En: Sanders, F.E.; Mosse, B. & Tinker, P.B. (eds.) Endomycorrhizas. Academic Press, New York.

Krupinsky, J.; Bailey, K.; McMullen, B.; Grossen, B. & Turkington, Y.K. (2002) Managing Plant Disease Risk in Diversify Cropping System. Agron. J. 94: 198-209.

Kurle, J.E. & Pfleger, F.L. (1994) The effects of cultural practices and pesticides on VAM fungi. 101-132 pp. En: Pfleger, F.L. & Linderman, R.G. (ed.) Mycorrhizae and Plant Health. APS Press. St. Paul, Minnesota.

Kurle, J.E. & Pfleger, F.L. (1996) Management influences on arbuscular mycorrhizal fungal species composition in a corn-soybean rotation. Agron. J. 88: 155-161.

Land, S. & Schönbeck, F. (1991) Influence of different soil types on abundance and seasonal dynamics of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in arable soils of North Germany. Mycorrhiza 1: 39-44.

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: 157-166.

Lanfranco, J. & Carrizo, R. (1987) Carta de suelos de la estación experimental central Julio J. Hirschhorn, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina (Inédito).

Lanowska, J. (1966) Influence of different sources of nitrogen on the development of mycorrhiza in *Pisum sativum*. Pamietnik Pulawski 21: 365-386.

Last, F.T.; Dighton, J. & Mason, P.A. (1987) Successions of sheathing mycorrhizal fungi. Trends Ecol. Evol. 2: 157–161.

Lattanzi, A. & Marelli, H. (1982) Avances en investigación sobre el comportamiento de los sistemas de labranza conservacionistas en la EEA Marcos Juárez. 67-77 pp. En: Seminario Labranza Reducida en el Cono Sur. La Estanzuela, IIC, CIAAB.

Lázaro, L.; Ressia, M.; Mendivil, G.; Agostini, M; de Pablo, C. & Balbuena, R. (2004) Rendimiento de trigo y sistemas de labranza. 147-148 pp. Actas de VI Congreso Nacional de Trigo. IV Simposio Nacional de Cereales de Siembra Otoño-Invernal. Bahia Blanca. Argentina.

Lee, P.J. & Koske, R.E. (1994a) *Gigaspora gigantea*: seasonal abundante and ageing of spores in a sand dune. Mycol. Res. 98: 453-457.

Lee, P.J. & Koske, R.E. (1994b) *Gigaspora gigantea*: parasitism of spores by fungi and actinomycetes. Mycol. Res. 98: 458-466.

Lightner, J.W.; Mengel, D.B.; Rhykerd, C.L. (1990) Ammonia volatilization from nitrogen fertilizer surface applied to orchard grass sod. Soil Sci. Am. J. 54: 1478-1482.

Linn, D.M. & Doran, J.W. (1984) Aerobic and anaerobic populations in no-till and plowed soils. Soil Sci. Soc. Am. J. 48: 794-799.

Louis, I. & Lim, G. (1987) Spore density and root colonization of vesicular-arbuscular mycorrhizas in tropical soil. Trans. Brit. Mycol. Soc. 88: 207-212.

Lugo, M. & Cabello, M. (2002) Native arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from mountain grassland (Córdoba, Argentina) I. Seasonal variation of fungal spore diversity. Mycologia 94: 579-586.

Magurran, A.E. (1988) Ecological diversity and its measurement. 179 p. Princeton University Press, New Jersey.

Mahboubi, A.A.; Lal, R. & Faussey, N.R. (1993) Twenty-eight years of tillage effects on two soils in Ohio. Soil Sci. Soc. Am. J. 57: 506-512.

Malhi, S.S.; Grant, C.A.; Johnston, A.M. & Gill, K.S. (2001) Nitrogen fertilization management for no-till cereal production in the Canadian Great Plains: a review. Soil Tillage Res. 60: 101-122.

Mallarino, A. (1998) Métodos de fertilización con fósforo y potasio para maíz y soja. Recientes avances en el cultivo de maíz. 27-42 pp. AAPRESID, VI Congreso Nacional. Mar del Plata.

Manjunath, A & Habte, M. (1991) Root morphological characteristics of host species having distinct mycorrhizal dependency. Can. J. Bot. 69: 671-676.

Mannering, J. & Feuster, C. (1983) What is conservation tillage? J. Soil Water Conserv. pp 141-143.

Manske, C.G.B. (1989) Genetical analysis of the efficiency of VA mycorrhiza with spring wheat. Agr. Ecosyst. Environ. 29: 273-280.

Marshner, H. (1995) Mineral nutrition of higher plants. 889 pp. Academic Press. London.

McGonigle, T.P. (1988) A numerical analysis of published field trials with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Functional Ecol. 2: 473-478.

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: 263-269.

McGonigle, T.P.; Miller, M.H.; Evans, D.G.; Fairchild, D.G. & Swann, J.A. (1990) A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytol. 115: 495-501.

McIlveen, W.D. & Cole, H. (1976) Spore dispersal of Endogonaceae by worms, ants, wasps and birds. Can. J. Bot. 54: 1486-1489.

McKenney, M.C. & Lindsey, D.L. (1987) Improved methods for quantifying endomycorrhizal fungi spores from soil. Mycologia 79: 779-782.

Melenik, G.; Reneau, R.B.; Martens, D.C.; Simpson, T.W. & Hawkins, G.W. (1990) Effects of tillage and nitrogen fertilizacion on nitrogen losses from soils used for corn production. 15-21 pp. Virginia Water Resourses Center (Bull. 167) Blacksburg, Va.: VPI & SU.

Méndez Duhau, C. & Satorre, E. (1998) Introducción a la siembra directa. Las enfermedades y su manejo en siembra directa. 6-19 pp. Cuaderno de actualización técnica “Siembra Directa” de los CREA.

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. Biol. Fertil. Soils 33: 373-381.

Miller, D.D.; Domoto, P.A. & Walker, C. (1985) Mycorrhizal fungi at eighteen apple rootstock plantings in the United States. New Phytol. 100: 379-391.

Miller, M.H.; McGonigle, T.P. & Addy, H.D. (1995) Functional ecology of vesicular-arbuscular mycorrhizas as influenced by phosphate fertilization and tillage in an agricultural ecosystem. Crit. Rev. Biotechnol. 15: 241-255.

Mirreh, H.F. & Ketcheson, J.W. (1972) Influence of soil bulk density and matric pressure on soil resistance to penetration. Can. J. Soil. Sci. 52: 477-483.

Misra, R.K.; Dexter, A.R. & Alston, A.M. (1986) Maximum axial and radial growth pressures of plant roots. Plant Soil 95: 315-326.

Mohammad, M.J. & Malkawi, H.I. (2004) Root, shoot and nutrient acquisition responses of mycorrhizal and nonmycorrhizal wheat to phosphorus application to highly calcareous soils. Asian J. Plant Sci. 3: 363-369.

Mohammad, M.J.; Pan, W.L & Kennedy, A.C. (1998) Seasonal mycorrhizal colonization of winter wheat and its effect on wheat growtn under dryland field conditions. Mycorrhiza 8: 139-144.

Morton, J.B. (1988) Taxonomy of VA mycorrhizal fungi: classification, nomenclature, and identification. Mycotaxon 32: 267-324.

Morton, J.B. (1996) Redescription of Glomus caledonium based on correspondence of spore morphological characters in type specimens and a living reference culture. Mycorrhiza 6:161-166.

Morton, J.B. & Benny, G.L. (1990) Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (*Zygomycetes*): a new order, *Glomales*, two new suborders, *Glominae* and *Gigasporinae*, and two new families, *Acaulosporaceae* and *Gigasporaceae*, with an emendation of *Glomeraceae*. Mycotaxon 37: 471-491.

Morton, J.B. & Bentivenga, S.P (1994) Levels of diversity in endomycorrhizal fungi (*Glomales*, *Zygomycetes*) and their role in defining taxonomic and non-taxonomic groups.

Plant Soil 159: 47-59.

Morton, J.B.; Bentivenga, S.P. & Wheeler, W.W. (1993) Germplasm 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. & Redecker, D. (2001) Two new families of *Glomales, Archaeosporaceae* and *Paraglomaceae,* with two new genera *Archaeospora* and *Paraglomus,* based on concordant molecular and morphological characters. Mycologia 93: 181-195.

Mosse, B. (1953) Fructifications associated with mycorrhizal strawberry roots. Nature 171: 974.

Mosse, B. (1959) Observations on the extra-matrical mycelium of a vesicular-arbuscular endophyte. Trans. Brit. Mycol. Soc. 42: 439-448.

Mosse, B. (1973) Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. Ann. Rev. Phytopathol. 11: 171-196.

Mosse, B. & Hepper, C.M. (1975) Vesicular-arbuscular mycorrhizal infections in root organ cultures. Physiol. Plant Pathol. 5: 215-233.

Mosse, B. & Phillips, J.P. (1971) The influence of phosphate and other nutrients on the development of vesicular-arbuscular mycorrhiza in culture. J. General Microbiol. 69: 157-166.

Mozafar, A.; Anken, T.; Ruh, R. & Frossard, E. (2000) Tillage intensity, mycorrhizal and nonmycorrhizal fungi, and nutrient concentrations in maize, wheat, and canola. Agron. J. 92: 1117-1124.

Mulin, E. (2000) Sustentabilidad de los sistemas de siembra directa. Rev. Facultad de Agronomía (UBA) 20: 285-304.

Myers, J.L.; Wagger, M.G. & Leidly, R.B. (1995) Chemical movement in relation to tillage systems and simulated rainfall intensity. J. Environ. Quality 24: 183-192.

Nagahashi, G. & Douds, D.D. (1997) Appressorium formation by AM fungi on isolated cell walls of carrot roots. New Phytol. 136: 299-304.

Nagahashi, G. & Douds, D.D. (2000) Partial separation of the root exudates components and their effects upon the growth of germinated spores of AM fungi. Mycol. Res. 104: 1453-1464.

Newman, E.I. & Reddell, P. (1987) The distribution of mycorrhizas among families of vascular plants. New Phytol. 106: 745-751.

Nicolson, T.H. (1959) Mycorrhiza in the *Graminae.* I. Vesicular-arbuscular endophytes, with special reference to the external phase. Trans. Brit. Mycol. Soc. 42: 421-438.

Oberson, A.; Fardeau, J.C.; Besson, J.M. & Sticher, H. (1993) Soil phosphorus dynamics in cropping systems managed according to conventional and biological agricultural methods. Biol. Fertil. Soils 16: 111-117.

Ocampo, J.A. & Hayman, D.S. (1980) Influence of plant interactions on vesicular-arbuscular mycorrhizal infections. II. Crop rotations and residual effects of non-host plants. New Phytol. 84: 27-35.

Oehl, F.; Sieverding, E.; Ineichen, K; Mäder, P; Boller, T. & Wiemken, S. (2003) Impact of land use intensivity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of central Europe. Appl. Environ. Microbiol. 69: 2816-2824.

Oehl, F.; Sieverding, E.; Mäder, P.; Dubois, D.; Ineichen, K.; Boller, T. & Wiemken, A. (2004) Impact of long-term conventional and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. Oecologia 138: 574-583.

Omar, M.B.; Bolland, L. & Heather, W.A. (1979) P.V.A. (polivinil alcohol). A permanent mounting medium for fungi. Bull. Brit. Mycol. Soc. 13: 31-32.

Ortas, I., Kaya, Z. & Çakmak, I. (2001) Influence of VA-Mycorrhiza inoculation on growth of maize and green pepper plants in phosphorus and zinc deficient Soils. 632-633 pp. En: Plant Nutrition- Food security and sustainability of agro-ecosystems. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht., Netherlands.

Packer, I. J.; Hamilton, G.J. & Koen, T.B. (1992) Runoff, soil loss and soil physical property changes of light textured surface soils from long-term tillage treatments. Aust. J. Soil Res. 30: 789-806.

Pagliai, M.; Lamarca, M. & Lucamante, G. (1983) Micromorphometric and micromorphological investigations of a clay loam soil in vitiviniculture under zero and conventional tillage. J. Soil Sci. 34: 391-403.

Papendick, R.I. & Miller, D.E. (1977) Conservation tillage in the Pacific Northwest. J. Soil Water Conserv. 32: 49–56.

Patterson, N.A.; Wininger, S.; Bedani, H & Kapulnik, Y. (1991) N_2-Fixation activity and nitrate concentration do not affect *Glomus macrocarpum* infection of *Medicago sativa L.* Soil Biol. Biochem. 23: 703-705.

Payne, D. (1973) Soil mechanical properties and root growth. J. Sci. Food. Agric. 25: 235.

Penning de Vries, F.W.T.; Jansen, D.M.; Ten Berge, H.F.M. & Bakema, A. (1989) Simulation of ecophysiological processes of growth in several annual crops. 291 pp. En: Simulation Monographs 29, Pudoc, Wageningen.

Peterson, G.A.; Schegel, A.J.; Tanaka, D.L. & Jones, O.R. (1996) Precipitation use efficiency as affected by cropping and tillage systems. J. Prod. Agric. 9: 180–186.

Peterson, R. L.; Piche, Y. & Plenchette, C. (1984) Mycorrhizae and their potential use in the agricultural and forestry industries. Biotechnol. Adv. 2**:**101-120.

Phillips, J.M. & Hayman, D.S. (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and VA mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc. 55: 158-161.

Pierce, F.J.; Fortin, M.C.& Staton, M.J. (1994) Periodic plowing effects on soil properties in a no-till farming system. Soil Sci. Am. J. 58: 1782-1787.

Plenchette, C.; Fortín, J.A.; & Furlan, V. (1983) Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility I. Mycorrhizal dependency under field conditions. Plant 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. Can. J. Bot. 67: 112-115.

Powell, C.L. (1977) Mycorrhizas in hill coutry soils. I. Spore bearing mycorrhizal fungi in thirty seven soils. New Zealand Journal of Agricultural Research 20: 53-57.

Powell, C.L. & Bagyaraj, D.K. (eds.) (1984) VA mycorrhizae. 234 pp. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA.

Powlson, D.S.; Brookes, P.C. & 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 Biol. Biochem. 19: 713-721.

Prew, R.D. (1981) The effect of minimum cultivation on the incidence of take-all down the root profile of winter wheat. Ann. Appl. Biol. 98: 217-226.

Prystupa, P; Savin, R. & Slafer, G.A. (2002) Crecimiento radical de cebada cervecera en respuesta a la fertilización nitrogenada y fosforada. 61 p. Actas del XVIII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Puerto Madryn. Chubut. Argentina.

Pugh, G.J.F. (1980) Presidential address. Strategies in fungal ecology. Trans. Br. Mycol. Soc. 75: 1–14.

Rabatin, S.C. & Stinner, B.R. (1985) Arthropods as consumers of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Mycologia 77: 320-322.

Rabatin, S. & Stinner, B.R. (1988) Indirect effects of interactions between VAM fungi and soil-inhabiting invertebrates on plant processes. Agr. Ecosyst. Environ. 24 : 135-146.

Read, D.J. (1991) Mycorrhizas in ecosystems – Nature´s response to the "Law of the minimum". 101-130 pp. En: Hawksworth, D.L. (ed.) Frontiers in mycology. CAB international. Regensburg, Germany.

Read, D.J. (1998) The ties that bind. Nature 396: 22-23.

Reganold, J.P.; Papendick, R.I. & Parr, J.F. (1990) Sustainable agriculture. Scientific American. June 1990: 112-120.

Rejón-Palomares, A.; García-Garrido, J.M.; Ocampo, J.A. & García-Romera I. (1996) Presence of xyloglucan-hydrolyzing glucanases (xyloglucanases) in arbuscular mycorrhizal symbiosis. Symbiosis 21: 249–261.

Reis, E. M, Casa, R & Carmona, M. (2002) Elementos para el manejo de enfermedades. 120 p En: Sarandón, S. (ed.) Prácticas alternativas de manejo para una agricultura sustentable. Ediciones Científicas Americanas.

Reis, E.M. (1990) Control of disease of small grains by rotation and management of crop residues, in southern Brazil. 140-146 pp. En: Conservation Tillage for Subtropical Areas; Proceedings of the International Workshop on Conservation Tillage Systems. Passo Fundo, RS. Brasil.

Reis, E.M. (1992) Potencialidad de controle de doencas de trigo e da cevada por rotacao de culturas. Rev. INIA Inv. Agr. 1: 177-187.

Reis E.M.; Santos, H.P.; Lhanby, J.C.B. & Blum, M.M.C. (1992) Effect of soil management and crop rotation on the leaf blotches of wheat in southern Brazil. 217-236 pp. En: Congresso Interamericano de Siembra Directa, 1, Jornadas Binacionales de Cero Labranza, 2; Villa Giardino. Brasil.

Rhodes, L.H. & Gerdemann, J.W. (1980) Nutrient traslocation in vesicular-arbuscular mycorrhizae. 173-195 pp. En: Cook, C.B.; Pappas, P.W. & Rudoph, E.D. (eds.) Cellular interactions in symbiosis and parasitism. Ohio State University Press. Columbus. Ohio.

Rich, J.R. & Bird, G.W. (1974) Association of early season vesicular-arbuscular mycorrhizae with increased growth and development of cotton. Phytopathol. 64: 1421-1425.

Rincón, E.; Huante, P. & Ramirez, Y. (1993) Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on biomass production by the cactus Pachycereus pecten-aboriginum. Mycorrhiza 3:79-81.

Ritter, W.F.; Scarborough, R.W. & Chirnside, E.M. (1993) Nitrate leaching under irrigated corn. J. Irrigation Engineering 119: 544-553.

Rillig, M.C.; Wright, S.F.; Allen, M.F. & Field, C.B. (1999) Rise in carbon dioxide changes soil structure. Nature 400: 628.

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.

Rives, C.S.; Bajwa, M.I.; Liberta, A.E. & Miller, R.M. (1980) Effects of topsoil storage during surgace mining on the viability of VA mycorrhiza. Soil Sci. 129: 253-257.

Ross, J.P. & Daniels, B.A. (1982) Hyperparasitism of endomycorrhizal fungi. 55-58 pp. En: Schenck (ed.) Methods and Principles of Mycorrhizal Research. American Phytopathological Society. St. Paul. Minnesota.

Ross, J.P. & Ruttencutter, R. (1977) Population dynamics of two vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and the role of hyperparasitic fungi. Phytopathology 67: 490-496.

Rousseau, A.; Benhamou, N.; Chet, I. & Piché, Y. (1996) Mycoparasitism of the extramatrical phase of *Glomus intraradices* by *Trichoderma harzianum*. Phytopathology 86: 434-434.

Saif, S.R. (1977) The influence of stage of host development on vesicular-arbuscular mycorrhizae and endogonaceous spore population in field-grown vegetable crops. I. Summer-grown crops. New Phytol. 79: 341-348.

Saito, M. (2000) Symbiotic exchange of nutrients in arbuscular mycorrhizas: transport and transfer of phosphorus. 85-106 pp. En: Kapulnik, Y. & Douds, D.D. (eds.) Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Netherlands.

Sanders, I.R. & Fitter, A.H. (1992) Evidence for differential responses between host fungus combinations of vesicular-arbuscular mycorrhizas from a grassland. Mycol. Res. 96: 415-419.

Santos, H.P.; Reis, E.M.; Ambrosi, I.; Wobeto, C. & Sattler, R. (1998) Sistemas de rotacao de cultura com trigo para a regiao sulo do Brasil, sob sistema plantio direto. 1-12 pp. EMBRAPA-TRIGO. Comunicado Técnico Nº 7.

Sarandón, S.J.; Chidichimo, H.O.; Buffa, M.E. & Montoro, G. (1994) Siembra directa en trigo: II. Influencia sobre el desarrollo aéreo y radical en un cultivar de trigo bajo dos niveles de disponibilidad de nitrógeno. Actas del III Congreso Nacional de Trigo y Primer Simposio Nacional de Cereales de Siembra Otoño Invernal. Bahia Blanca.

Sarandón, S.J.; Golik, S. & Chidichimo, H.O. (1997) Acumulación y partición del nitrógeno en dos cultivares de trigo pan ante la fertilización nitrogenada en siembra directa y labranza convencional. Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata 102: 175-186.

Sarandón, S.J. & Chamorro, A.M. (2003) Policultivos en los sistemas de producción de granos. 353-376 pp. En: Satorre, E.H.; Benech Arnold, R.L.; Slafer, G.A.; de la Fuente, E.B.; Miralles, D; Otegui, M.E. & Savin, R. (eds.) Producción de granos: Bases funcionales para su manejo. Editorial Facultad Agronomía UBA.

Sasal, C. (2003) El suelo bajo siembra directa. Revista de Tecnología Agropecuaria. INTA Pergamino. Sept-Oct: 30-34.

Schillinger, W.F. & Bolton, F.E. (1992) Summer fallow water storage of no-till versus conventional tillage in the Pacific Northwest. 28–31 pp. En: 1992 Columbia Basin Agric. Res., Oregon Agric. Exp. Stn. Spec. Rep. 894. Oregon State Univ., Pendleton, Oregon.

Schüepp, H. & Bodmer, M. (1991) Complex response of VA mycorrhiza to xenobiotic substances. Toxicological and Environm. Chemistry 30: 193-199.

Schüb ler, A.; Gehrig, H.; Schwarzott, D. & Walker, C. (2001a) Analysis of partial *Glomales* SSU rDNA gene sequences: implications for primer design and phylogeny. Mycol. Res. 105: 5-15.

Schüb ler, A.; Schwarzott, D. & Walker, C. (2001b) A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. Mycol. Res. 105: 1413-1421.

Senigagliesi, C. & Ferrari, M. (1993) Soil and crops responses to alternative tillage practices. 27-35 pp. En: Buxton, D.R.; Shibles, R.; Forsberg, R.A.; Blad, B.L.; Asay, K.H.; Paulsen, G.M. & Wilson, R.F. (eds.) International crops science I. Crop Sci. Soc. Am. Inc. Madison., Wisconsin.

Shipitalo, M.J. & Protz, R. (1987) Comparison of morphology and porosity of a soil under conventional and zero tillage. Can. J. Soil Sci. 67: 445-456.

Sieverding, E. (1991) Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza management in Tropical Agrosystems. 371 pp. Deutche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit, GTZ No 224. Eschborn.

Simón, M.R.; Perelló, A.E.; Cordo, C.A., Larrán, S.; Ayala, F.M.; Bayo, D.; Moreno, V. & Chidichimo, H.O. (2001) Efecto del sistema de labranza y la fertilización nitrogenada en la intensidad de las enfermedades foliares del trigo. CD ROM. Actas de V Congreso Nacional de Trigo. III Simposio Nacional de Cereales de Siembra Otoño-Invernal.Villa Carlos Paz. Córdoba, Argentina.

Singer, J.W & Cox, W.J. (1998) Corn growth and yield under different crop rotation, tillage, and management systems. Crop Sci. 38: 996-1003.

Singüenza, C. (2000) Nitrogen deposition and soil microorganism of *Artemisia californica* and exotic grasses in southern California. 135 pp. PhD dissertation. University of California, Riverside.

Siqueira, J.O.; Hubbell, D.H. & Schenck, N.C. (1982) Spore germination and germ tube growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus in vitro. Mycologia 74: 952-959.

Smith, F.A. & Smith, S.E. (1981) Mycorrhizal infection and growth of *Trifolium subterraneum*: comparison of natural and artificial inocula. New Phytol. 88: 311-325.

Smith, F.A. & Smith, S.E. (1989) Solute transport at the interface: ecological implications. Agric. Ecosyst. Environ. 28: 475-478.

Smith, S.E. (1980) Mycorrhizas of autotrophic higher plants. Biological Review 55: 475-510.

Smith, S.E. & Gianinazzi-Pearson, V. (1988) Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. Ann. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol. 39: 221-244.

Smith, S.E. & Read, D.J. (1997) Mycorrhizal Symbiosis. 605 pp. Second Edition. Academic Press. London.

Smith, S.E. & Walker, N.A. (1981) A quantitative study of mycorrhizal infection in *Trifolium*: separate determination of the rates of infection and of mycelial growth. New Phytol. 89: 225-240.

Soza, E.; Tourn, M.; Botta, G. & Smith, J. (2003) Siembra directa y convencional en trigo (*Triticum aestivum* L.): Eficiencia de implantación con relación a la compactación del suelo al momento de la siembra. Agro-Ciencia 19: 121-128.

Sutton, J.C. (1990) Effects of crop sequences and tillage treatments on diseases of winter wheat in Ontario. 190-203 pp. En: Conservation Tillage for Subtropical Areas; Proceedings of the International Workshop on Conservation Tillage Systems. Passo Fundo, RS. Brazil.

Stahl, P.D.; Williams, S.E. & Christiensen, M. (1988) Efficacy of native vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi after severe soil disturbance. New Phytol. 110: 347-354.

Stecker, J.A.; Buchholz, D.D.; Hanson, R.G.; Wollenhaupt, N.C. & McVay, K.A. (1993) Broadcast nitrogen sources for no-till continuous con and corn following soybean. Agron. J. 85: 893-897.

Steed, G. R.; Ellington, A. & Pratley, J.E. (1993) Conservation tillage in the south-eastern Australian wheat-sheep belt. 231-250 pp. En: Carter, M. R. (ed.) Conservation tillage in temperate agroecosystems. Development and adaptation to soil and climatic constraints. Lewis, New York.

Streitwolf-Engel, R.; Boller, T.; Wiemken, A. & Sanders, I.R. (1997) Clonal growth traits of two *Prunella* species are determined by co-occurring arbuscular mycorrhizal fungi from a calcareous grassland. J. Ecol. 85: 181-191.

Strzemska, J. (1975) Micorrhiza in farm crops grown in monoculture. 545 pp. En: Sanders, F.E.; Mosse, B. & Tinker, P.B. (eds.) Endomycorrhizas. Academic Press, New York.

Sturz, A.V.; Carter, M.R & Johnston, H.W. (1997) A review of plant disease, pathogen interactions and microbial antagonism under conventional tillage in temperate humid agriculture. Soil Tillage Res. 41: 169-189.

Stutz, J.C & Morton, J.B. (1996). Successive pot cultures reveal high species richness of arbuscular endomycorrhizal fungi in arid ecosystems. Can. J. Bot. 74: 1883-1889.

Subba Rao, N.S. & Krishna, K.R. (1988) Interactions between VA mycorrhiza and nitrogen-fixing microorganisms and their influence on plant growth and nutrition. 53-70 pp.En: Subba Rao, N.S. (ed.) Biological nitrogen fixation, recent developments. Mohan Primlani, Oxford and IBH, New Dehli.

Subramanian, K.S. & Charest, C. (1998) Arbuscular mycorrhizae and nitrogen assimilation in maize after drought and recovery. Physiol. Plant 102: 285-296.

Sutton, J.C. & Barron, C.L. (1972) Population dynamics of *Endogone* spores in soil. Can. J. Bot. 50: 1909-1914.

Sylvia, D.M. (1986) Spatial and temporal distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Uniola paniculata* in Florida foredunes. Mycologia 78: 728-734.

Taboada, M.; Micucci, F.; Cosentino, D. & Lavado, R. (1998) Comparison of compaction induced by conventional and zero tillage in two soils of the Rolling Pampa of Argentina. Soil Tillage Res. 49: 57-63.

Talukdar, N.C. & Germida, J.J. (1993) Occurrence and isolation of vesicular-arbuscular mycorrhizae in cropped field soils of Saskatchewan, Canada. Can. J. Microbiol. 39:567-575.

Taylor, T.N.; Remy, W.; Hass, H.; & Kerp, H. (1995) Fossil arbuscular mycorrhizae from the Early Devonian. Mycologia 87: 560-573.

Thomas, G. (1990) Labranza cero: Resultados en EEUU y observaciones en campos argentinos. 16 pp. AAPRESID. Rosario.

Thompson, J.P. (1987) Decline of vesicular-arbuscular mycorrhizal in long fallow disorder of field crops and its expression in phosphorus deficiency of sunflower. Austr. J. Agric. Res. 38: 847-867.

Thompson, J.P. (1991) Improving the mycorrhizal conditions of the soil through cultural practices and effects on growth and photphorus uptake by plants. 117-137 pp. En: Johansen, C.; Lee, K.K. & Sahrawat, K.L. (eds.) Phosphorus nutrition of grain legumes in the semiarid tropics. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT) Patancheru, India.

Thompson, B. D., Robson, A.D. & Abbot, L.K. (1986) Effects of phosphorus on the formation of mycorrhizas by *Gigaspora calospora* and *Glomus fasciculatum* in relation to root carbohydrates. New Phytol. 103: 751-751.

Thornwaite, C.W. & Mather, J.R. (1957) Instructions and tables for computer potential evaporation and the water balance. Publications in Climatology, Institute of Technology. Centerton, New Jersey 10: 85-311.

Tilman, D. (1985) The resource-ratio hypothesis of plant succession. Am. Nat. 125: 827-852.

Tisdale, S.L.; Nelson, W.; Beaton, J. & Havlin, J. (1993) Soil fertility and fertilizers. 634 pp. Fifth Edition. MacMillan Pub. Co. New York.

Tobar. R; Azcón, R & Barea, J.M. (1994) Improved nitrogen uptake and transport from ^{15}N-labelled nitrate by external hyphae of arbuscular mycorrhiza under water-stressed conditions. New Phytol. 126: 119-122.

Tommerup, I.C. (1983) Spore dormancy in vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Trans. Br. Mycol. Soc. 81: 37-45.

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. (1987) Phylogenetic and ecologic aspects of mycotrophy in the angiosperms from an evolutionary standpoint. 6-25 pp. En: Safir, G.R. (ed.) Ecophysiology of VA mycorrhizal plants. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA.

Treseder, K.K. (2004) A meta-analysis of mycorrhizal responses to nitrogen, phosphorus, and atmospheric CO_2 in field studies. New Phytol. 164: 347-355.

Treseder, K.K. (2005) Nutrient acquisition strategies of fungi and their relation to elevated atmospheric CO_2. 713-731 pp. En: Dighton, J.; Oudemans, P. & White, J. (eds.) The Fungal Community, 3rd edition. Marcel Dekker.

Treseder, K.K. & Allen, M.F. (2002) Direct nitrogen and phosphorus limitation of arbuscular mycorrhizal fungi: a model and field test. New Phytol. 155: 507-515.

Troeh, Z.I. & Loynachan, T.E. (2003) Endomycorrhizal fungal survival in continuous corn, soybean, and fallow. Agron. J. 95: 224-230.

Urban, W.J.; Hargrove, W.L.; Bock, B.R. & Raunikar, R.A. (1987) Evaluation of urea-urea phosphate as a nitrogen source for no-tillage production. Soil Sci. Am. J. 51: 242-246.

Vaast, P. & Zasoski, R.J. (1992) Effects of VA-mycorrhizae and nitrogen sources on rhizosphere soil characteristics, growth and nutrient acquisition of coffee seedlings (*Coffea arabiga* L.). Plant Soil 147: 31-39.

Van den Bygaart, R.; Protz, R. & Tomlin, D. (1999) Changes in pore structure in a no-till chronosequence of silt loam soils, southern Ontario. Can. J. Soil Sci. 79: 149-160.

Van der Heijden, M.G.A.; 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.

Velázquez, S. & Cabello, M. (2003) Tinciones vitales en *Glomeromycota*. 283 pp. Actas de XXIX Jornadas Argentinas de Botánica. San Luis.

Vierheilig, H. & Ocampo, J.A.(1991) Receptivity of various wheat cultivars to infection by VA–mycorrhizal fungi as influenced by inoculum potential and the relation of VAM–effectiveness to succinic dehydrogenase activity of the mycelium in roots. Plant Soil 133: 291-296.

Walker, C. (1992) Systematics and taxonomy of the arbuscular endomycorrhizal fungi (*Glomales*) - a possible way forward. Agronomie 12: 887-897.

Walker, C.; Mize, W & McNabb, H.S. (1982) Populations of endogonaceous fungi at two populations in central Iowa. Can. J. Bot. 60: 2518-2529.

Walker, C. & Vestverg, M. (1998) Synonymy amongst the arbuscular mycorrhizal fungi: *Glomus claroideum, G. maculosum, G. multisubstenum* y *G. fistulosum.* Annals of Botany 82: 601-624.

Wallenda, T. & Kottke, I. (1998) Nitrogen deposition and ectomycorrhizas. New Phytol. 139: 169-187.

Wardle, D.A. (1995) Impact of disturbance on detritus food-webs in agro-ecosystems of contrasting tillage and weed management practices. Adv. Ecol. Res. 26: 105-185.

Wartud, L.S. (1982) Spore germination and axenic culture of endomycorrhizae. 81-83 pp. Schenck, N.C. (ed.) Methods and principles of mycorrhizal research. The American Phytopathological Society, St. Paul. Minnesota.

Watson, D.M.H. & Milner, P.D. (1996) Assessment of glomalean species biodiversity as influenced by trapping methods. 125 p. En: Szaro, T.M & Burns T.D. (eds.) Programs and Abstracts for the First International Conference on Mycorrhizae. University of California. Berkeley.

Weissenhorn, I.; Leyval, C. & Berthelin, J. (1993) Cd-tolerant arbuscular mycorrhizal (AM) fungi from heavy-metal polluted soils. Plant Soil 157: 247-256.

Weissenhorn, I.; Leyval, C. & Berthelin, J. (1995) Bioavailability of heavy metals and abundance of arbuscular mycorrhiza (AM) in a soil polluted but atmospheric deposition from a smelter. Biol. Fertil. Soil 19: 22-28.

Wilcox, H.E. (1996) Mycorrhizae. 689-721 pp. En: Waisel, Y.; Eshel, A. & Kafkafi, U. (eds.). Plant roots: the hidden half. 2nd edition. Marcel Dekker. Inc. New York.

Williams, P.G.; Roser, D.J. & Seppelt, R.D. (1994) Mycorrhizas of Hepatics in Continental Antarctica. Mycol. Res. 98: 34-36.

Wilson, J.M. (1984) Comparative development of infection by three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytol. 97: 413-426.

Wilson, J.M. & Tommerup, I.C. (1992) Interactions between fungal symbionts: VA mycorrhizae. 199-248 pp. En: Allen MF (ed.). Mycorrhizal functioning: An integrative plant-fungal process. Chapman & Hall, New York.

Wood. T. (1992) VA mycorrhizal fungi: challenges for commercialization. 823-847 pp. En: Arora, D.K.; Elander, R.P. & Mukerji, K.G. (eds.) Handbook of Applied Mycology. Vol. 4. Fungal Biotechnology. Marcel Dekker Inc. New York.

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 Soil 198: 97-107.

Xavier, L. J. C. & Germida, J.J. (1998) Response of spring wheat cultivars to *Glomus clarum* NT4 in a P-deficient soil containing arbuscular mycorrhizal fungi. Can. J. Soil Sci. 78: 481–484.

Yao, Q; Li, X.L. & Christie, P. (2001) Factors affecting arbuscular mycorrhizal dependency of wheat genotypes with different phosphorus efficiencies. J. Plant Nutr. 24: 1409-1419.

Zadoks, J.C.; Chang, T.T & Konzak, C.F. (1974) A decimal code for the growth stages of cereals. Weed Res. 14: 415–421.

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 Soil. 237: 249-255.