



*Universidad Nacional de Córdoba
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Escuela para Graduados*



**IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LOS
HONGOS MICORRÍMICOS ARBUSCULARES
AUTÓCTONOS EN SIMBIOSIS CON *PROSOPIS ALBA*
Y LOS MECANISMOS FISIOLÓGICOS/BIOQUÍMICOS
RELACIONADOS CON LA TOLERANCIA A SEQUÍA**

Mónica Beatriz Sagadin

Tesis

**Para optar al Grado Académico de
Doctor en Ciencias Agropecuarias**

Córdoba, 2019

**IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LOS
HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES AUTÓCTONOS
EN SIMBIOSIS CON *PROSOPIS ALBA* Y LOS MECANISMOS
FISIOLÓGICOS/BIOQUÍMICOS RELACIONADOS CON LA
TOLERANCIA A SEQUÍA**

Mónica Beatriz Sagadin

Comisión Asesora de Tesis

Directora de Tesis: Dra. Celina Mercedes Luna

Co-Directora de Tesis: Dra. Marta Noemi Cabello

Asesora de Tesis: Dra. Jacqueline Joseau

Tribunal examinador de la tesis

Dra. Jacqueline Joseau

Dra. Alejandra Becerra

Dr. Sergio Alemano

Presentación Formal académica

Facultad de Ciencias Agropecuarias
Universidad Nacional de Córdoba

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis no hubiera sido posible sin la colaboración que me prestaron de una u otra manera distintas instituciones y personas a quien va mi agradecimiento.

Al INTA, al CIAP, al IFRGV, lugar en donde trabajo y cumpla mis sueños y aspiraciones profesionales.

Al Programa de Postgrado de INTA que me brindó una beca para pagar cursos, congresos, matrícula que esta tesis de doctorado demandó.

A la Dra. Celina Luna, Jefa de grupo y Directora de la Tesis por proponerme realizar la tesis en un tema tan apasionante como las micorrizas. Por proporcionarme todas las herramientas materiales e intelectuales y acompañarme en este proyecto.

Al Dr. Anibal Verga por incorporarme al Proyecto Forestales, al *Prosopis alba* y a la simbiosis con las micorrizas. Por facilitarme una cámara de cría de plantas y todos los insumos necesarios para llevar a cabo los experimentos de mi doctorado.

A la Dra. Marta Cabello, por enseñarme a entender a las micorrizas y su generosidad para compartir sus conocimientos. Le agradezco por haberme atendido muy bien en cada visita al Instituto Spegazzini en la Plata. A través de ella agradezco a todo el personal del Instituto Spegazzini por haberme hecho sentir muy bien.

A la Dra. Jacqueline Joseau por aceptarme y ser parte de mi comisión asesora del doctorado y brindarme conocimientos de vivero y de algarrobo. Por ayudarme con la redacción y darle formalidad a la tesis.

A la Dra. Julia Carreras, por ser mi amiga, por estar, por todo.

A la Dra Mariela Monteoliva, te agradezco por ayudarme en esta última etapa, cuando más lo necesitaba.

Al personal de la Escuela para Graduados la Facultad de Ciencias Agropecuarias – UNC en especial al Director Dr. Omar Bachmeier por su predisposición y atención y a la Dra Paula Bima, miembro de la CADOC por sus consejos y atención.

A la Bibliotecóloga del CIAP- INTA Gisela Benetti, por buscar libros, trabajos que le he solicitado diariamente, los cuales han enriquecido mis conocimientos y han ayudado en esta tesis.

A la Dra Ingrid Teich, por brindarme su amistad y orientarme con la Estadística.

A las Doctoras Valeria Faggioli y Silvina Vargas Gil por tener la buena predisposición, tiempo y buena onda para corregirme el trabajo publicado en AgriScientia.

A la Dra. Valeria Faggioli, por compartir lo aprendido.

Al Ing. Agr. Diego Lopez Lauenstein por realizarme el muestreo de Padre Lozano, y por incorporarme a los proyectos de INTA.

A la Ing. Forestal Carla Salto, por darme la oportunidad de probar mis inóculos en el vivero de EEA INTA Concordia.

Al Dr. Daniel Collino, por apoyarme cuando era Director del IFRGV en la continuidad de la Tesis Doctoral.

Al grupo de mis amigas Liliana, Laura, Patricia, Fany, Mary, Silvina, Angélica, Raquel, Sabrina, Eliana, Andrea.

A los Ing. Forestales Carlos Gómez y Sebastian Kees, por realizar el muestreo de Colonia Benítez.

Al Banco de Germoplasma de *Prosopis*, de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba, por proveerme de semillas de *Prosopis alba* para realizar los ensayos.

A la Ing. Agr. Florencia Menduni, por su importante colaboración en los riegos de los ensayos y muestreos, principalmente en época de vacaciones.

A los miembros del Tribunal de Tesis y de CADOC, por sus correcciones y sugerencias en la tesis.

Al grupo de estrés hídrico y térmico y el de Genotécnica y Genética ecológica.

A los Ing. Forestales Sebastian Kees y Carlos Gómez, por el muestreo en Colonia Benítez.

A las técnicas de laboratorio Yohana Ruartes y Daniela Gómez por su importante colaboración en sus trabajos de laboratorio y muestreos.

Al personal de apoyo de campo del CIAP, por hacer más fácil mi tarea de acondicionamiento de macetas, esterilización de tierra, riegos, etc.

A los hongos micorrizicos arbusculares, por darme la oportunidad de estudiarlos y ver lo maravillosos que son.

Dedico esta tesis a mi familia, por haberme dado la posibilidad de estudiar,
por alentarme, por hacerme mejor persona.

RESUMEN

Prosopis alba Grisebach (algarrobo blanco) es una de las especies más importantes en el ecosistema natural del Chaco Occidental Semiárido de Argentina. Entre las estrategias para asegurar el establecimiento y el adecuado desarrollo de los bosques implantados, la producción de plantines de buena calidad es un requisito indispensable. El objetivo de esta tesis fue seleccionar y caracterizar inóculos mixtos de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) autóctonos que confieran mayor tolerancia frente al estrés por sequía en plantines de algarrobo con especial énfasis en la regulación del daño oxidativo. Se aislaron dos inóculos mixtos de HMA autóctonos de los sitios de Colonia Benítez (CB, húmedo) y Padre Lozano (PL, semiárido) en las provincias de Chaco y Salta respectivamente. En el sitio de CB se identificaron HMA que se adaptan a diferentes condiciones ambientales, mientras que en las plantas trampa de PL se identificó *Diversispora spurca* propia de suelos con alto contenido orgánico y tolerante a la sequía. Asimismo, se desarrolló un sistema experimental bajo condiciones controladas de riego y sequía moderada y severa, al 50 y 10 % de contenido hídrico del suelo. En la simbiosis con *P.alba*, bajo condiciones de riego normal, ambos inóculos mostraron una capacidad similar para incrementar la respuesta micorrícica (RM) temprana. Sin embargo, bajo condiciones de riego, y a más largo tiempo de tratamiento (de 60 días en adelante) el inóculo de CB, presentó mayor formación de hifas y arbusculos comparado con el inóculo de PL, lo cual fue acompañado de un incremento en la RM para el crecimiento y el contenido de nutrientes como P y N en *P.alba*. Por el contrario, el inóculo de PL aislado de una región semiárida, resultó promisorio en la mitigación de la sequía, comparado con el inóculo de CB y la mezcla de ambos (MIX) la cual no mostró un efecto sinérgico bajo riego y/o sequía. La simbiosis *P. alba*-HMA (PL), se caracterizó por una mayor capacidad en la formación de arbusculos, contenido en nutrientes como P y N, mayor diámetro del tallo y mitigación del daño oxidativo. Además, el inóculo de PL, fue el más eficiente en vivero y en condiciones de invernadero la supervivencia cuando fue sometido a sequía severa, sugiriendo que su mayor capacidad para beneficiar a *P. alba* se relaciona con el sitio de origen del inóculo, siendo mejorado su efecto por la aplicación de bajas tasas de fertilización.

Palabras claves: *Prosopis alba*, micorrizas, mitigación, sequía y sobrevivencia.

ABSTRACT

Prosopis alba Grisebach (algarrobo blanco) is one of the most important species in the natural ecosystem of the Semi-arid Western Chaco of Argentina. Among the strategies to ensure the establishment and proper development of implanted forests, the production of good quality seedlings is an indispensable requirement. The objective of this thesis was to select and characterize mixed inoculums of native arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) that confer greater tolerance to drought stress in *P. alba* seedlings with special emphasis on the regulation of oxidative damage. Two mixed native HMA inocula were isolated from the sites of Colonia Benítez (CB, wet) and Padre Lozano (PL, semi-arid) in the provinces of Chaco and Salta respectively. In the CB site, HMAs that adapt to different environmental conditions were identified, while in the trap plants of PL, *Diversispora spurca* was identified in soils with high organic content and drought tolerant. Likewise, an experimental system was developed under controlled conditions of irrigation and moderate and severe drought, at 50 and 10% of soil water content. In the symbiosis with *P.alba*, under normal irrigation conditions, both inoculums showed a similar ability to increase the early mycorrhizal response (MR). However, under irrigation conditions, and for longer treatment time (from 60 days onwards) the inoculum of CB, presented greater formation of hyphae and arbuscules compared to the inoculum of PL, which was accompanied by an increase in the MR for growth and nutrient content such as P and N in *P.alba*. On the contrary, the inoculum of PL isolated from a semi-arid region, was promising in the mitigation of drought, compared with the inoculum of CB and the mixture of both (MIX) which did not show a synergistic effect under irrigation and / or drought. The symbiosis *P. alba*-HMA (PL), was characterized by a greater capacity in the formation of arbuscules, nutrient content such as P and N, larger stem diameter and mitigation of oxidative damage. In addition, the inoculum of PL was the most efficient in nursery and greenhouse conditions, when it was subjected to severe drought, suggesting that its greater capacity to benefit *P. alba* is related to the site of origin of the inoculum, being improved its effect by the application of low fertilization rates.

Keywords: *Prosopis alba*, mycorrhizal, mitigation, drought and survival.

TABLA DE CONTENIDOS

Agradecimientos.....	iii
Dedicatoria.....	v
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	vii
Lista de Tablas.....	xiv
Lista de Figuras.....	xv
Lista de Abreviaturas y/o Símbolos.....	xxiii
CAPITULO 1	25
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	25
Genero Prosopis, <i>Prosopis alba</i>	25
Micorrizas: Generalidades y su importancia en ecosistemas Marginales.....	29
Función de los HMA en ecosistemas marginales.....	34
Utilización y beneficios de las micorrizas en los viveros forestales.....	34
Estrés por sequía y estrés oxidativo en la simbiosis micorriza-planta.....	36
HIPÓTESIS.....	38
OBJETIVO GENERAL.....	38
OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	39
BIBLIOGRAFIA CITADA.....	39
CAPÍTULO 2.....	49
APORTES AL CONOCIMIENTOS MORFO TAXONOMICOS SOBRE ARBUSCULARES AUTOCTONOS PROVENIENTES DE ALGARROBALES DEL PARQUE CHAQUEÑO CON DIFERENTES REGIMENES PLUVIOMETRICOS.....	49
INTRODUCCIÓN.....	49
MATERIALES Y METODOS.....	52
Selección de sitios, área de muestreo y recolección de muestras de suelo.....	52

Análisis físico-químico de los suelos provenientes de sitios de algarrobales bajo condiciones edafoclimáticas contrastantes: húmedo y semiárido del Parque Chaqueño.....	55
Estimación de la infectividad de los HMA presentes en dos sitios de algarrobales bajo condiciones edafoclimáticas contrastantes (húmedo y semiárido) del Parque Chaqueño.....	56
Bioensayo de infectividad con HMA de los suelos provenientes de algarrobales bajo condiciones edafoclimáticas contrastantes.....	56
Aislamiento y propagación de los hongos micorrícicos arbusculares en plantas trampa.....	57
Evaluación del potencial micorrícico de inóculos generados en plantas trampa a partir de los suelos contrastantes.....	58
Potencial micorrícico de los inóculos de HMA autóctonos obtenidos de plantas trampa de Colonia Benítez y Padre Lozano.....	58
Evaluación de la micorrización.....	59
Identificación morfo- taxonómica de las especies de HMA presentes en los suelos de los sitios de CB y PL y en los inóculos mixtos a partir de plantas trampa.....	59
Identificación de las especies de HMA presentes en los suelos de algarrobales muestreados y en los inóculos obtenidos.	59
Análisis estadístico.....	60
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	60
Selección de sitios, área de muestreo y recolección de muestras de suelo.....	60
Análisis físico-químico de los suelos provenientes de sitios de algarrobales bajo condiciones edafoclimáticas contrastantes: húmedo y semiárido del Parque Chaqueño.....	60
Estimación de la infectividad de los HMA presentes en dos sitios de algarrobales bajo condiciones edafoclimáticas contrastantes (húmedo y semiárido) del Parque Chaqueño.....	62
Bioensayo de infectividad con HMA de los suelos provenientes de algarrobales bajo condiciones edafoclimáticas contrastantes.....	62
Aislamiento y propagación de los hongos micorrícicos arbusculares en plantas trampa.....	64
Evaluación del potencial micorrícico de inóculos generados en plantas trampa a partir de los suelos contrastantes.....	66

Potencial micorrícico de los inóculos de HMA autóctonos obtenidos de plantas trampa de Colonia Benítez y Padre Lozano.....	66
Identificación morfo- taxonómica de las especies de HMA presentes en los suelos de los sitios de CB y PL y en los inóculos mixtos a partir de plantas trampa.....	68
Identificación de las especies de HMA presentes en los suelos de algarrobales muestreados.....	68
Identificación de las especies de HMA presentes en los inóculos obtenidos.....	71
CONCLUSIONES.....	76
BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	77
CAPÍTULO 3.....	87
CARACTERIZACIÓN DE LA SIMBIOSIS ENTRE <i>Prosopis alba</i> - INÓCULOS MIXTOS DE HMA AUTÓCTONOS BAJO CONDICIONES DE RIEGO.....	87
INTRODUCCIÓN.....	87
MATERIALES Y MÉTODOS.....	90
Evaluación de las variables de crecimiento, porcentaje de micorrización y contenido de nutrientes minerales bajo condiciones de riego, en la simbiosis <i>P. alba</i> -inóculos mixtos de HMA autóctonos de sitios con regímenes pluviométricos contrastantes del Parque Chaqueño Argentino.....	90
Condiciones generales de los ensayos.....	90
Evaluación variables de crecimiento bajo condiciones de riego, en la simbiosis <i>P. alba</i> -inóculos mixtos de HMA autóctonos.....	93
Evaluación del porcentaje de micorrización bajo condiciones de riego, en la simbiosis <i>P. alba</i> -inóculos mixtos de HMA autóctonos.....	94
Evaluación del contenido de nutrientes minerales (iones) bajo condiciones de riego, en la simbiosis <i>P. alba</i> -inóculos mixtos de HMA autóctonos.....	94
Análisis estadístico.....	95
RESULTADOS y DISCUSION.....	96
Evaluación de las variables de crecimiento, porcentaje de micorrización y contenido de nutrientes minerales bajo condiciones de riego, en la simbiosis <i>P. alba</i> -inóculos mixtos de	

HMA autóctonos de sitios con regímenes pluviométricos contrastantes del Parque Chaqueño Argentino.....	96
Evaluación variables de crecimiento bajo condiciones de riego, en la simbiosis <i>P. alba</i> -inóculos mixtos de HMA autóctonos.....	96
Evaluación del porcentaje de micorrización bajo condiciones de riego, en la simbiosis <i>P. alba</i> -inóculos mixtos de HMA autóctonos.....	102
Evaluación del contenido de nutrientes minerales (iones) bajo condiciones de riego, en la simbiosis <i>P. alba</i> -inóculos mixtos de HMA autóctonos.....	105
CONCLUSIONES.....	110
BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	110
CAPÍTULO 4.....	117
CARACTERIZACIÓN DE LA EFICIENCIA MICORRÍCICA DE LOS HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES AUTÓCTONOS EN SIMBIOSIS CON <i>Prosopis alba</i> MEDIANTE LA RESPUESTA DE MECANISMOS FISIOLÓGICOS/ BIOQUÍMICOS, BAJO DIFERENTES CONDICIONES HÍDRICAS.....	117
INTRODUCCIÓN.....	117
MATERIALES Y MÉTODOS.....	122
Caracterizar la simbiosis <i>P. alba</i> - hongos micorrícicos arbusculares autóctonos mediante la respuesta de mecanismos fisiológicos/ bioquímicos, bajo diferentes condiciones hídricas.....	122
Puesta a punto de un sistema experimental para la evaluación del crecimiento de <i>P. alba</i> bajo diferentes condiciones hídricas.....	122
Caracterización de la eficiencia micorrícica de los hongos micorrícicos arbusculares autóctonos en simbiosis con <i>P.alba</i>	124
Evaluación de los inóculos de HMA autóctonos expresado como Respuesta Micorrícica (RM) de las variables de crecimiento de plántulas de <i>P. alba</i> sometidas a sequía moderada y severa.	124
Determinación del porcentaje de micorrización en la simbiosis <i>P. alba</i> – inóculos mixtos de HMA autóctonos de sitios con regímenes pluviométricos contrastantes, en sequía moderada, severa y su control a capacidad de campo	126

Evaluación de la efectividad de los inóculos mixtos de HMA autóctonos – <i>P. alba</i> frente a condiciones de sequía moderada y severa, en la mitigación del daño oxidativo y su defensa antioxidante.....	126
Evaluación de los inóculos mixtos de HMA autóctonos en simbiosis con <i>P. alba</i> frente a condiciones de sequía moderada y severa, en el contenido de nutrientes minerales (iones).	128
Análisis estadísticos.....	128
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	129
Caracterizar la simbiosis <i>P. alba</i> - hongos micorrícicos arbusculares autóctonos mediante la respuesta de mecanismos fisiológicos/ bioquímicos, bajo diferentes condiciones hídricas.....	129
Puesta a punto de un sistema experimental para la evaluación del crecimiento de <i>P. alba</i> bajo diferentes condiciones hídricas.....	130
Caracterización de la eficiencia micorrícica de los hongos micorrícicos arbusculares autóctonos en simbiosis con <i>P.alba</i>	133
Evaluación de los inóculos de HMA autóctonos expresado como Respuesta Micorrícica (RM) de las variables de crecimiento de plántulas de <i>P. alba</i> sometidas a sequía moderada y severa.	133
Determinación del porcentaje de micorrización en la simbiosis <i>P. alba</i> – inóculos mixtos de HMA autóctonos de sitios con regímenes pluviométricos contrastantes, en sequía moderada, severa y su control a capacidad de campo	142
Evaluación de la efectividad de los inóculos mixtos de HMA autóctonos – <i>P. alba</i> frente a condiciones de sequía moderada y severa, en la mitigación del daño oxidativo y su defensa antioxidante.....	144
Evaluación de la efectividad de los inóculos mixtos de HMA autóctonos en simbiosis con <i>P. alba</i> frente a condiciones de sequía moderada y severa, en el contenido de nutrientes minerales (iones).	150
CONCLUSIONES.....	155
BIBLIOGRAFIA CITADA.....	155

CAPITULO 5.....	166
EVALUACIÓN DE LA INTERACCION ENTRE LA FERTILIZACIÓN MINERAL Y HONGOS MICORRÍDICOS ARBUSCULARES EN EL CRECIMIENTO DE VIVERO Y TOLERANCIA A LA SEQUÍA DE PLÁNTULAS DE <i>Prosopis alba</i>	166
INTRODUCCIÓN.....	166
MATERIALES Y MÉTODOS.....	168
Evaluación del efecto de inóculos HMA autóctonos y su mezcla (MIX) y la fertilización en las variables de crecimiento de las plántulas de <i>P. alba</i> en condiciones de vivero.....	168
Inóculos a utilizar.....	168
Ensayo en vivero.....	168
Evaluación de la capacidad de rebrote de HMA - <i>P. alba</i> después de un estrés por sequía en condiciones de invernadero.....	170
Ensayo de sequía.....	170
Análisis estadístico.....	170
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	171
Evaluación del efecto de dos inóculos HMA autóctonos y su mezcla (MIX) y la fertilización en las variables de crecimiento de las plántulas de <i>P. alba</i> en condiciones de vivero.....	171
Ensayo de vivero.....	171
Evaluación de la capacidad de rebrote de HMA - <i>P. alba</i> después de un estrés por sequía en condiciones de invernadero.....	176
Ensayo de sequía.....	176
CONCLUSIONES.....	179
BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	179
CAPÍTULO 6.....	184
CONCLUSIONES GENERALES.....	184
FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN.....	187
ANEXO - IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LOS HONGOS MICORRÍDICOS ARBUSCULARES AUTÓCTONOS EN SIMBIOSIS CON <i>PROSOPIS ALBA</i> Y LOS MECANISMOS FISIOLÓGICOS/ BIOQUÍMICOS BAJO CONDICIONES DE RIEGO, SEQUÍA Y EN VIVERO.....	188

LISTA DE TABLAS

Tabla 2.1. Características fisicoquímicas de los sitios de colecta de las muestras de suelos de Colonia Benítez (CB) y Padre Lozano (PL).....	61
Tabla 2.2. Identificación morfo-taxonómica de las especies de HMA de los suelos de Padre Lozano y Colonia Benítez.....	69
Tabla 2.3. Identificación morfo-taxonómica de las especies de HMA de Padre Lozano y Colonia Benítez aislados y propagados en plantas trampas luego de 2 años.....	72
Tabla 3.1. Caracterización de la variabilidad en el porcentaje y estructuras de colonización micorrícica arbuscular en la simbiosis <i>P. alba</i> - Inóculos de HMA de CB (Colonia Benítez) y PL (Padre Lozano) en condiciones de riego normal. Los datos son medias (n=4). Los valores con letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según la prueba de LSD Fisher (ANOVA, $p<0,05$).....	104
Tabla 4.1. Caracterización de la variabilidad en el porcentaje y estructuras de colonización micorrícica arbuscular en la simbiosis <i>P. alba</i> - Inóculos de HMA de CB (Colonia Benítez) y PL (Padre Lozano) y su mezcla (MIX) en sequía moderada, severa y su control (CC).....	143
Tabla 5.1. Porcentaje de micorrización (%) en distintos niveles de fertilización en plantines de <i>P. alba</i> de 120 días de edad.	172
Tabla 5.2. Evaluación de variables de crecimiento en <i>Prosopis alba</i> Griseb con y sin micorrizas y con y sin el agregado de fertilización con el 100 % y 25 %.....	174

LISTA DE FIGURAS

- Fig. 1.1. Ejemplar característico de *Prosopis alba*, Norte de Salta (Gentileza Ing. Agr. Diego López Lauenstein).....28
- Fig. 1.2. Ciclo de las micorrizas arbusculares en la planta y en el suelo.....32
- Fig. 2.1. Árbol filogenético de los “HMA” (*Glomeromycota*), modificado y actualizado a partir de Schüßler *et al.*, 2001; Schüßler y Walker, 2010.....53
- Fig. 2.2. Ubicación geográfica (A) y climograma de los sitios de muestreo Colonia Benítez (B) y Padre Lozano(C) en la región chaqueña de Argentina. Se muestran las temperaturas máximas (cuadrados rojos) y mínimas (cuadrados azules) y precipitaciones medias mensuales de cada sitio como barras blancas. Los datos fueron tomados de la base de datos WorldClim (Hijmans *et al.*, 2005).....52
- Fig. 2.3. Rodales de *Prosopis alba* Griseb en los sitios de Padre Lozano (A) y Colonia Benítez (B).....55
- Fig. 2.4. Infectividad de los suelos de Colonia Benítez y Padre Lozano. Se muestran los porcentajes de micorrización de las plantas de alfalfa a los 15, 30 y 60 días, tratadas con el suelo puro (1:0), y con diluciones suelo: sustrato estéril (perlita: vermiculita 1:1 v/v) en proporción 1:4 o 1:40 v/v. Los resultados están expresados como promedio \pm error estándar (n=5). El asterisco indica diferencias significativas según ANOVA ($p<0.05$).....62
- Fig. 2.5. Plantas trampa de 370 días de edad foliar de alfalfa (*Medicago sativa*), sorgo (*Sorghum bicolor*) y algarrobo blanco (*Prosopis alba*) con suelos de algarrobales de *Prosopis alba* provenientes de Padre Lozano y Colonia Benítez.....65
- Fig. 2.6. Estructuras de las micorrizas observadas en las plantas trampa, obtenidas del sitio de Colonia Benítez: A) y B) arbusculos e hifas, C) vesículas. Padre Lozano: D) arbusculos, E) circunvoluciones y F) vesículas.....66
- Fig. 2.7. Potencial micorrícico de los inóculos obtenidos de plantas trampa de Colonia Benítez (CB, húmedo) y Padre Lozano (PL, semiárido). A) Porcentaje de micorrización en raíces de puerro. Los cuadrados negros muestran los resultados obtenidos para el sitio CB y los blancos para el sitio PL. Los resultados se expresan como porcentaje de plantas

- micorrizadas obtenidas en un experimento representativo. B) Coeficientes de regresión y estimación del índice IMS_{50} a partir de bioensayo mostrado en (A). IMS_{50} indica la mínima cantidad de inóculo en g por cada 100 g de suelo seco, necesaria para infectar el 50 % de las plantas.67
- Fig. 2.8. Microfotografía de esporas encontradas en los suelos de Colonia Benítez que pertenecen a las siguientes especies: A) *Entrophospora nevadensis* B) *Acaulospora laevis*, C) *Rhizophagus intraradices*, D) *Funneliformis geosporum* Las fotografías fueron tomadas, con una cámara digital (Olympus, modelo SP.360) con un microscopio óptico (Leitzdia lux 20EB), en el Instituto Spegazzini, de La Plata.....70
- Fig. 2.9. Microfotografía de esporas encontradas en los suelos de Padre Lozano que pertenecen a las siguientes especies: A) *Glomus sp.*, B) *Acaulospora laevis*, C) y D) *Glomus sp.* Las fotografías fueron tomadas con una cámara digital (Olympus modelo SP-350) y con un microscopio óptico (Leitzdia lux 20EB), en el Instituto Spegazzini, La Plata.....70
- Fig. 2.10. Microfotografías de esporas pertenecientes a los inóculos mixtos de HMA, de los sitios de Padre Lozano y Colonia Benítez, aislados con plantas trampa de alfalfa, sorgo y algarrobo blanco, provenientes de suelos de algarrobales. Colonia Benítez: A) *Rhizophagus clarus*, B) *Funneliformis mosseae*, C) *Claroideoglomus etunicatum*. Padre Lozano D) *Claroideoglomus claroideum* E) *Rhizophagus intraradices*, F) *Diversispora spurca*. Las fotografías fueron tomadas con una cámara digital (Olympus modelo SP-350) en un microscopio estereoscópico (Olympus SZ61) y con un microscopio óptico (Leitzdia lux 20EB), en el Instituto Spegazzini, La Plata.....74
- Fig. 3.1. Detalle de las macetas utilizadas (macetas sólidas de tubos PVC de 5 cm de diámetro por 50 cm de alto) y las plántulas de *P. alba* recién trasplantadas, colocando una planta por maceta.92
- Fig. 3.2. Respuesta Micorrícica (RM) (%) a partir de la aplicación de inóculos de CB y PL en simbiosis con *P. alba*, sobre la variable: Diámetro, con riego normal (CC), a los 30, 60, 90 y 120 días. Los resultados se muestran como Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$)..97

Fig. 3.3. Respuesta Micorrícica (RM) (%) a partir de la aplicación de inóculos de CB y PL en simbiosis con <i>P. alba</i> , sobre la variable: N° de hojas, con riego normal (CC), a los 30, 60, 90 y 120 días. Los resultados se muestran como Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....	97
Fig. 3.4. Respuesta Micorrícica (RM) (%) a partir de la aplicación de inóculos de CB y PL en simbiosis con <i>P. alba</i> , sobre la variable: Longitud aérea y radical, con riego normal (CC), a los 30, 60, 90 y 120 días. Los resultados se muestran como Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....	98
Fig. 3.5. Respuesta Micorrícica (RM) (%) a partir de la aplicación de inóculos de CB y PL en simbiosis con <i>P. alba</i> , sobre la variable: Longitud total, con riego normal (CC), a los 30, 60, 90 y 120 días. Los resultados se muestran como Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....	99
Fig. 3.6. Respuesta Micorrícica (RM) (%) a partir de la aplicación de inóculos de CB y PL en simbiosis con <i>P. alba</i> , sobre la variable: Peso fresco (PF) aéreo y radical, con riego normal (CC), a los 30, 60, 90 y 120 días. Los resultados se muestran como Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....	100
Fig. 3.7. Respuesta Micorrícica (RM) (%) a partir de la aplicación de inóculos de CB y PL en simbiosis con <i>P. alba</i> , sobre la variable: Peso seco (PS) aéreo y radical, con riego normal (CC), a los 30,60, 90 y 120 días. Los resultados se muestran como Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....	100
Fig. 3.8. Respuesta Micorrícica (RM) (%) a partir de la aplicación de inóculos de CB y PL en simbiosis con <i>P. alba</i> , sobre la variable: Peso fresco (PF) y seco (PS) Total, con riego normal (CC), a los 30,60, 90 y 120 días. Los resultados se muestran como Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....	101
Fig. 3.9. Respuesta Micorrícica (RM) (%) a partir de la aplicación de inóculos de CB y PL en simbiosis con <i>P. alba</i> , en el contenido de fósforo foliar con riego normal (CC), a los 60, 90 y 120 días. Los resultados se muestran como Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....	105

Fig. 3.10. Respuesta Micorrícica (RM) (%) a partir de la aplicación de inóculos de CB y PL en simbiosis con <i>P. alba</i> , en el contenido de nitrato foliar con riego normal (CC), a los 60, 90 y 120 días. Los resultados se muestran como Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....	106
Fig. 3.11. Respuesta Micorrícica (RM) (%) a partir de la aplicación de inóculos de CB y PL en simbiosis con <i>P. alba</i> , en el contenido de sulfato foliar con riego normal (CC), a los 60, 90 y 120 días. Los resultados se muestran como Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....	107
Fig. 4.1. Diferencia del peso fresco aéreo en plántulas de <i>P. alba</i> en sequía. Los resultados se muestran como Diferencia entre cada uno de los contenidos hídricos del suelo y su control a CC. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....	130
Fig. 4.2. Diferencia del peso fresco de raíz en plántulas de <i>P. alba</i> en sequía respecto del control en riego. Los resultados se muestran como Diferencia entre cada uno de los contenidos hídricos del suelo y su control a CC. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....	131
Fig. 4.3. Diferencia del Peso Fresco Total en plántulas de <i>P. alba</i> en sequía respecto del control en riego. Los resultados se muestran como Diferencia entre los contenidos hídricos del suelo y su control a CC. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....	131
Fig. 4.4. Diferencia del Peso Seco Aéreo en plántulas de <i>P. alba</i> en sequía respecto del control en riego. Los resultados se muestran como Diferencia entre los contenidos hídricos del suelo y su control a CC. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....	132
Fig. 4.5. Diferencia del Peso Seco de Raíz en plántulas de <i>P. alba</i> en sequía respecto del control en riego. Los resultados se muestran como Diferencia entre los contenidos hídricos del suelo y su control a CC. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....	132

- Fig. 4.6. Diferencia del Peso Seco Total en plántulas de *P. alba* en sequía respecto del control en riego. Los resultados se muestran como Diferencia entre los contenidos hídricos del suelo y su control a CC. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....133
- Fig. 4.7. Respuesta Micorrícica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis *P. alba*, sobre la variable: Diámetro, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....134
- Fig. 4.8. Respuesta Micorrícica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis *P. alba*, sobre la variable: N° de Hojas, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....135
- Fig. 4.9. Respuesta Micorrícica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis *P. alba*, sobre la variable: Longitud aérea, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....136
- Fig. 4.10. Respuesta Micorrícica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis *P. alba*, sobre la variable: Peso Fresco aéreo y radicular, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....137
- Fig. 4.11. Respuesta Micorrícica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis *P. alba*, sobre la variable: Peso seco aéreo y radicular, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....137

- Fig. 4.12. Respuesta Micorrícica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis *P. alba*, sobre la variable: Peso fresco y seco Total, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....138
- Fig. 4.13. Imágenes de plántulas de *P. alba* con contenido hídrico del suelo del 100 %, del 50 % y 10 %. Las plántulas de algarrobo están micorrizadas con inóculo de PL, CB y MIX y las No Micorrizadas con el filtrado de los mismos. CHS: 100 %, 50 % y CHS: 10 %. PL: Padre Lozano, CB: Colonia Benítez, MIX: Mezcla de los dos inóculos en partes iguales (v/v), CHS: Contenido Hídrico del Suelo, M: Micorrizado y NM: No Micorrizado.....141
- Fig. 4.14. Respuesta Micorrícica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis *P. alba*, sobre el contenido de Clorofila foliar, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$)..... 145
- Fig. 4.15. Respuesta Micorrícica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis *P. alba*, sobre el contenido de MDA foliar, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$)..... 147
- Fig. 4.16. Respuesta Micorrícica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis *P. alba*, sobre la capacidad antioxidante total no enzimática foliar, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$)..... 148
- Fig. 4.17. Respuesta Micorrícica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis *P. alba*, sobre el contenido de prolina foliar, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre

	Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....	149
Fig. 4.18.	Respuesta Micorrícica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis <i>P. alba</i> , sobre la variable: fosfato foliar, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....	152
Fig. 4.19.	Respuesta Micorrícica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis <i>P. alba</i> , sobre la variable: nitrato foliar, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....	152
Fig. 4.20.	Respuesta Micorrícica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis <i>P. alba</i> , sobre la variable: sulfato foliar, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).....	153
Fig. 5.1.	Imágenes correspondientes a plántulas de <i>P. alba</i> con los tratamientos, con riego normal, ubicados en el siguiente orden: Testigo, CB, PL y MIX. A) Tratamiento con 0% de fertilización, B) Tratamiento con 25% de Fertilización: y C) Tratamiento con 100% de fertilización. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano y MIX: Mezcla en partes iguales de los inóculos de Colonia Benítez y Padre Lozano.....	175
Fig. 5.2.	Imágenes correspondientes a plántulas de <i>P. alba</i> de 155 días de edad foliar en condiciones de invernáculo, en recuperación después de un período de sequía, ubicados en el siguiente orden: Testigo, PL, CB y MIX. Los tratamientos, después de la sequía fueron: A) Tratamiento con 0% de Fertilización: B) Tratamiento con 25% de Fertilización: y C) Tratamiento con 100% de Fertilización. Las plántulas fueron sometidas a sequía durante 15 días. Las imágenes corresponden a su recuperación después de 12 días en que fueron regadas normalmente. CB: Colonia Benítez, PL: Padre	

Lozano y MIX: Mezcla en partes iguales de los inóculos de Colonia Benítez y Padre Lozano.....177

Fig. 5.3. Capacidad de rebrote de *P. alba*, expresado como la cantidad de plantas rebrotadas después de estrés por sequía y su recuperación. Efecto del estrés por sequía en bajo diferentes fertilizaciones y regímenes de inoculación con HMA provenientes de los sitios, Padre Lozano y Colonia Benítez, con precipitaciones pluviométricas contrastantes. Las barras verticales indican el error estándar de la media y las letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) de acuerdo con la prueba de DGC.....178

LISTA DE ABREVIATURAS Y/O SÍMBOLOS

ANOVA	análisis de la varianza
NO ₃	anión nitrato
°C	grado centígrado
C	carbono
CC	capacidad de campo
CHS	Contenido hídrico del suelo
M	inoculado con HMA
CP	componente principal
RM	Respuesta micorrícica
EROs	especies reactivas del oxígeno
FRAP	ferric-reducing antioxidant power
g	gramos
HMA	hongos micorrícicos arbusculares
hs	horas
MDA	malondialdehído
mg	miligramos
mL	mililitros
mM	milimolar
mmoles	milimoles
µg	microgramo
µL	microlitros
µmol	micromol
µM	micromolar
NM	sin inocular con HMA
PO ₄	anión fosfato
SO ₄	anión sulfato
Long.	Longitud
MER	micelio extra-radical
MIR	micelio intra-radical
P	fósforo
PF	peso fresco
pH	pondus Hydrogenii=potentia Hydrogenii (potencial hidrógeno)
%	porcentaje
PS	peso seco
<i>P. alba</i>	<i>Prosopis alba</i>
Zn	Zinc
N	Nitrógeno
PL	Padre Lozano
CB	Colonia Benítez
msnm	metros sobre el nivel del mar
mm	milímetro

cm	centímetro
H ₂ O ₂	peróxido de hidrógeno
p/v	relación peso volumen
C/N	relación Carbono, Nitrógeno
KOH	hidróxido de potasio
HCL	ácido clorhídrico
v/v	relación volumen en volumen
PSI	Porcentaje de Sodio Intercambiable
HPLC	cromatografía líquida de alta eficacia o high performance liquid chromatography
EAO	especies activas del oxígeno
CIC	capacidad de intercambio catiónico
Ca	Calcio
Mg	Magnesio
Na	Sodio
K	Potasio
PVC	policloruro de vinilo
N-NO ₃	N-Nitrato
S-SO ₄	S-Sulfato
M	Micorrizado
min	minutos
Na ₂ CO ₃	Carbonato de Sodio
RM	Respuesta Micorrícica
ATP	Trifosfato de adenosina
PO ₄	fosfatos
NO ₃	nitratos
SO ₄	sulfatos
DAP	diámetro del cuello
AT	la altura total
NH	número de hojas por plántula

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN GENERAL

Género *Prosopis*, *Prosopis alba*

El género *Prosopis* L. pertenece a la *Fabaceae*, subfamilia *Mimosoideae*, es un género que comprende 44 especies (Burkart, 1976), de gran importancia en la composición arbórea y arbustiva de zonas áridas y semiáridas.

Su distribución abarca el Sureste de Asia (tres especies nativas), África tropical (una especie nativa) y América (40 especies), llegando en este último continente desde el Sud Oeste de Estados Unidos hasta la Patagonia Argentina y Chile.

En estos ambientes desérticos, algunas especies constituyen elementos conspicuos principalmente debido a la habilidad de tolerar las condiciones edáficas desfavorables y sus adaptaciones a la herbívora (Villagra *et al.*, 2010; Vega Riveros *et al.*, 2011; Villagra *et al.*, 2011). Por este motivo, varias especies son consideradas en planes de forestación y revegetación de áreas degradadas, en sistemas agroforestales y/o silvopastoriles (Capparelli, 2007; Álvarez y Villagra, 2010; Verzino y Joseau, 2013).

Asimismo, el algarrobo constituye una fuente importante de recursos para los pueblos de zonas áridas y semiáridas sudamericanas. Su relevancia económica, social y ecológica se basa en su reconocida tolerancia a la salinidad; y a la sequía (Felker *et al.*, 2001; Meloni *et al.*, 2004; Taleisnik y López Lauenstein, 2011), a lo que se suman las propiedades nutritivas de sus hojas y frutos, con altos contenidos de proteínas y azúcares utilizados en la alimentación animal y humana (Felker *et al.*, 2001). Además de aportar al componente productivo, brinda servicios ecosistémicos. Por ejemplo, se considera que es una especie estabilizadora del ambiente debido a su asociación con bacterias del género *Rhizobium* que permiten la asimilación del nitrógeno del aire, y luego enriquecen el

ecosistema con el aporte al suelo de ramas, hojas, flores y frutos, convirtiéndolos en el componente estructurador de sistemas productivos diversos, adicionando sustentabilidad.

El género *Prosopis* se encuentra ampliamente distribuido en todo el territorio argentino, abarcando ambientes de llanura hasta 3.000 msnm, y zonas con precipitaciones anuales entre 80 a 1.400 mm (Roig, 1993), siendo el país que concentra el mayor número de especies (60 % del total), incluyendo sus variedades, híbridos naturales y subespecies, que comprenden desde árboles hasta subarbustos localizados en muy diferentes ambientes (Hunziker *et al.*, 1986; Karlin, 1988; Fontana *et al.*, 2018). Los diversos usos asociados al algarrobo permiten obtener, además de la renta capitalizada en base a la producción de madera, una renta anual proveniente de la diversificación de la producción a través de la agricultura, la ganadería, la producción de frutos, la apicultura y la bioenergía. Estos atributos, entre otros, tornan a los algarrobos como uno de los más valiosos recursos madereros de la región Semiárida Argentina (Giménez, 1998; Juárez de Galíndez *et al.*, 2005).

Esta realidad sumada a la existencia de grandes superficies inactivas con aptitud forestal por ejemplo en el área de riego de Santiago del Estero, justifican emprender acciones para recuperar estas zonas con actividades forestales mediante el cultivo de bosques productivos de algarrobos (Ledesma *et al.*, 2008).

Actualmente están en vigencia planes del Estado Nacional que incentivan la forestación (Ley 25.080, 1999) y el algarrobo es una de las especies promocionadas en Santiago del Estero para realizar plantaciones comerciales (Pece *et al.*, 2008).

Dentro de estas especies, *Prosopis alba* Grisebach (*P. alba* o algarrobo blanco) es una de las más importantes en el ecosistema natural del Chaco Occidental Semiárido, estabilizando el microambiente, minimizando el impacto de las oscilaciones climáticas y constituyendo una fuente de madera y alimento para los herbívoros domésticos y silvestres (Karlin, 1988; Martín *et al.*, 1993; López, 2005).

Prosopis alba se distribuye principalmente en la región centro-norte del país siendo especialmente significativo en la Región Chaqueña, ocupando parte de la Mesopotamia (Argentina), Salta, el Espinal en Formosa, Chaco, Corrientes, norte de San Luis, Córdoba y centro de Santa Fe.

El algarrobo blanco (*P.alba*) se encuentra preferentemente en zonas de 300 a 600 mm de precipitación anual (puede llegar hasta los 1.200 mm), con temperaturas que van desde los 48 °C hasta los -10 °C, desarrollándose en distintos tipos de suelo, especialmente en los franco-arenosos, con pH de 6 a 8,5 (Galera y Bruno, 1995). El algarrobo blanco crece naturalmente en la región del Chaco Semiárido, al norte de Argentina. Casi toda la provincia de Santiago del Estero forma parte de dicha región y de las especies arbóreas de esta zona, el algarrobo blanco pertenece a la categoría de especie secundaria (Juárez de Galíndez *et al.*, 2005).

Es un árbol de porte mediano, de hasta 12 m de altura y un tronco de hasta 150 cm de diámetro (Barrios, 2009) (Fig. 1.1). Vive también en comunidades puras, fuera del bosque. Es común en el margen de represas y componente normal de galerías de ríos, formando cinturones alrededor de depresiones salinas suaves (Ayerza *et al.*, 1986; Karlin, 1988).

Desde tiempos históricos el hombre utilizó el *P. alba* en diversos usos cotidianos (Villagra y Morales, 2003). Esta especie es una de las mimosáceas argentinas de mayor importancia económica, siendo una especie multipropósito para forraje, alimento humano, leña, carbón, madera, tintóreo (López, 2005; Giménez *et al.*, 2001; Di Marco, 2013).

En Santiago del Estero, *P. alba* es utilizado para la elaboración de bebidas, dulces y para complementar el forraje destinado a la alimentación de los rebaños, para la elaboración de harinas (Carrizo *et al.*, 2008). Su madera, de excelente calidad, es muy apreciada para muebles, carpintería de obra, parquet y revestimientos. Su creciente utilización también para leña, forraje y alimentos hace que este recurso forestal sea explotado de manera irracional (Juárez de Galíndez *et al.*, 2005).

Como consecuencia de estas prácticas no sustentables, el bosque se encuentra deteriorado y limitado para atender las necesidades de un mercado altamente insatisfecho de productos leñosos. Para cubrir este déficit entre oferta y demanda es necesario disponer de bosques implantados con esta valiosa especie (Guzmán *et al.*, 2011)



Fig. 1.1. Ejemplar característico de *P. alba* en el Norte de Salta (Gentileza Ing. Agr. Diego López Lauenstein).

P. alba puede crecer en ambientes muy adversos pero cuando el objetivo de una plantación es netamente maderero, no debe realizarse en ambientes extremadamente marginales. A medida que la calidad de sitio disminuye, los objetivos productivos se restringen a proyectos menos ambiciosos o más diversificados, acompañados de un manejo más específico (Verzino y Joseau, 2013; Zárate *et al.*, 2015).

Cuando los plantines de algarrobo son trasplantados a campo, se encuentran sometidos a una amplia gama de condiciones ambientales, que podrían resultar en estrés, reduciendo su supervivencia y/o el crecimiento (Verzino *et al.*, 2004; Verga *et al.*, 2009). A pesar de que los algarrobos son árboles adaptados a regiones áridas y semiáridas. Para un crecimiento normal necesitan disponer de napas freáticas cercanas a la superficie (hasta los 10 metros de profundidad) o crecer en lugares con precipitaciones superiores a los 800 mm anuales (Zárate *et al.*, 2015). Siendo la profundidad de la napa de agua un factor que

influye en el establecimiento de la plantación: cuanto más superficial, las raíces de los árboles llegarán a la misma o alcanzarán la humedad que pueda aportar, acortando el periodo de riego requerido. Se consideran sitios de buena calidad cuando los suelos poseen textura franco limosa a franco-arcillosa, buena profundidad “efectiva”, drenaje bueno a moderadamente bueno, relieve normal, napa de agua cercana a la superficie (hasta los 10 metros de profundidad) o bien con precipitaciones mayores a 800 mm/año; y temperaturas medias superiores a los 20 °C (Zárate *et al.*, 2015).

Es importante mencionar que una mala calidad de los plantines puede afectar la supervivencia y el desarrollo de la forestación, lo cual suele confundirse con una mala calidad de sitio (Zárate *et al.*, 2015).

Entre las estrategias para asegurar el establecimiento y el adecuado desarrollo de los bosques implantados, la producción de plantines de buena calidad es un requisito indispensable (Salifu y Jacobs, 2006; Contardi y Gongga, 2012). En general, este aspecto se aborda en la fase de vivero, a través de la fertilización y rustificación, y/o empleando la inoculación con microorganismos mutualistas como los hongos micorrícicos o rizobios, constituyen una herramienta de extrema utilidad en la sobrevida y adaptación de las especies vegetales (Bethlenfalvay, 1992; Sangabriel-Conde *et al.*, 2010).

Por ello Palacios y Brizuela (2005), recomiendan la introducción de microorganismos simbióticos benéficos seleccionados para proveer a la planta de una mayor resistencia a diferentes tipos de estrés durante la implantación.

Micorrizas: Generalidades y su importancia en ecosistemas marginales

La microbiota del suelo juega un papel fundamental en la regulación de los ecosistemas terrestres, influyendo en la productividad, diversidad y estructura de las comunidades vegetales (Van Der Heijden *et al.*, 2008; Van Der Heijden *et al.*, 2015). La materia orgánica es descompuesta por la actividad de diferentes especies de bacterias y hongos que liberan los nutrientes al suelo, dejándolos disponibles para que sean

nuevamente absorbidos por las plantas. La absorción puede ser directa a través de las raíces o indirecta a través de los microorganismos que forman simbiosis con las raíces (hongos formadores de micorrizas).

El término micorriza fue propuesto por el botánico alemán Albert Bernard Frank en 1885, quien lo tomó del griego, donde *myco* significa "hongo" y *rhiza* "raíz"; siendo la asociación simbiótica entre ciertos hongos mutualistas del suelo y las raíces de las plantas (Rivera *et al.*, 2003).

Varios son los tipos de micorrizas, basados en las características de la infección y en los organismos mutualistas que la establecen. A los efectos prácticos se distinguen principalmente dos grandes tipos de micorrizas: Ectomicorrizas (micorrizas ectotróficas) y endomicorrizas (micorrizas endotróficas). Las ectomicorrizas que forman un verdadero manto de hifas que recubre las raíces, penetrando en los espacios entre las células corticales, desarrollando lo que se denomina red de Hartig. Las endomicorrizas se subdividen en varios grupos siendo, el más importante el de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA). Aproximadamente el 96 % de las plantas forman este tipo de micorrizas (Wang y Qiu, 2006), siendo hoy en día uno de los grupos de hongos micorrícicos más abundante (Smith y Read, 2008), encontrándose en todos los continentes, incluida la Antártida (Cabello *et al.*, 1994).

Los HMA son microorganismos simbióticos que pertenecen al *subphylum: Glomeromycotina* (Spatafora *et al.*, 2016) del *phylum Glomeromycota* (Tedersoo *et al.*, 2018). Entre las plantas que forman este tipo de asociaciones se encuentran la mayoría de las leguminosas herbáceas y muchas leñosas, los cereales, los frutales y la gran mayoría de los cultivos hortícolas (Quilambo, 2003, Ruscitti *et al.*, 2011; Beltrano *et al.*, 2013). Los HMA son simbiontes obligados ya que para completar su ciclo de vida deben estar asociados con raíces vivas. Generalmente, la relación que se establece entre el HMA y la planta es mutualista, de manera que se favorece un intercambio bidireccional de nutrientes y de carbono. Sin embargo, variaciones en los factores ambientales externos pueden modular esta interacción pasando a ser comensalista o incluso parásita (Martínez y Pugnaire, 2009).

En el sistema radical micorrícico arbuscular hay tres componentes principales: la raíz, el micelio intra-radical (MIR: dentro del apoplasto de la raíz) y el micelio extra-radical (MER: en el suelo circundante). El MIR de los HMA está involucrado en la transferencia de nutrientes entre los simbioses y se diferencia en: arbusculos intracelulares, vesículas intra o intercelulares y circunvoluciones (Fig. 1.2), cada una de estas estructuras posee una función particular (Brundrett, 2002; Bernaza y Acosta, 2006).

La formación de arbusculos constituye la característica diagnóstica de las micorrizas arbusculares, siendo las estructuras características. Consisten en hifas altamente ramificadas que se desarrollan entre la pared celular y la membrana plasmática de las células y son las responsables del intercambio de nutrientes entre los simbioses (Brundrett, 2002; Bernaza y Acosta, 2006). En la zona de interface o apoplasto se produce el intercambio, los nutrientes inorgánicos tales como el fósforo (P) y el zinc (Zn) fluyen hacia la planta y los fotosintatos hacia el hongo (Smith y Read, 2010). Las vesículas son estructuras globosas que contienen lípidos y gránulos de glicógeno que sirven como un órgano de reserva para el hongo. Estas pueden estar formadas dentro o entre las células de la corteza están diferenciadas sólo entre los miembros de los Glomerales y Diversisporales (Oehl *et al.*, 2011) o como propágulos (Biermann y Linderman, 1983). Se ha observado que algunas especies de HMA incrementan la formación de vesículas cuando la simbiosis ocurre en situaciones de alta oferta nutricional (Nijjer *et al.*, 2010). Las células auxiliares también sirven como órganos de reserva pero estas se forman fuera de las raíces solamente en miembros del orden Gigasporales. Las hifas intra y extra radicales y el micelio son importantes para establecer asociaciones micorrícicas nuevas, para buscar y tomar los nutrientes del suelo y para impulsar la agregación de las partículas del suelo (Ruíz *et al.*, 2011; Van der Heijden *et al.*, 2015). Las esporas asexuales formadas por los HMA están relacionadas con la dispersión y supervivencia de los hongos. Ellas son las esporas fúngicas del suelo más grandes (entre 145 y 800 μ), con colores que varían desde el hialino y amarillo pálido hasta el marrón, rojizo y negro (Ruíz *et al.*, 2011).

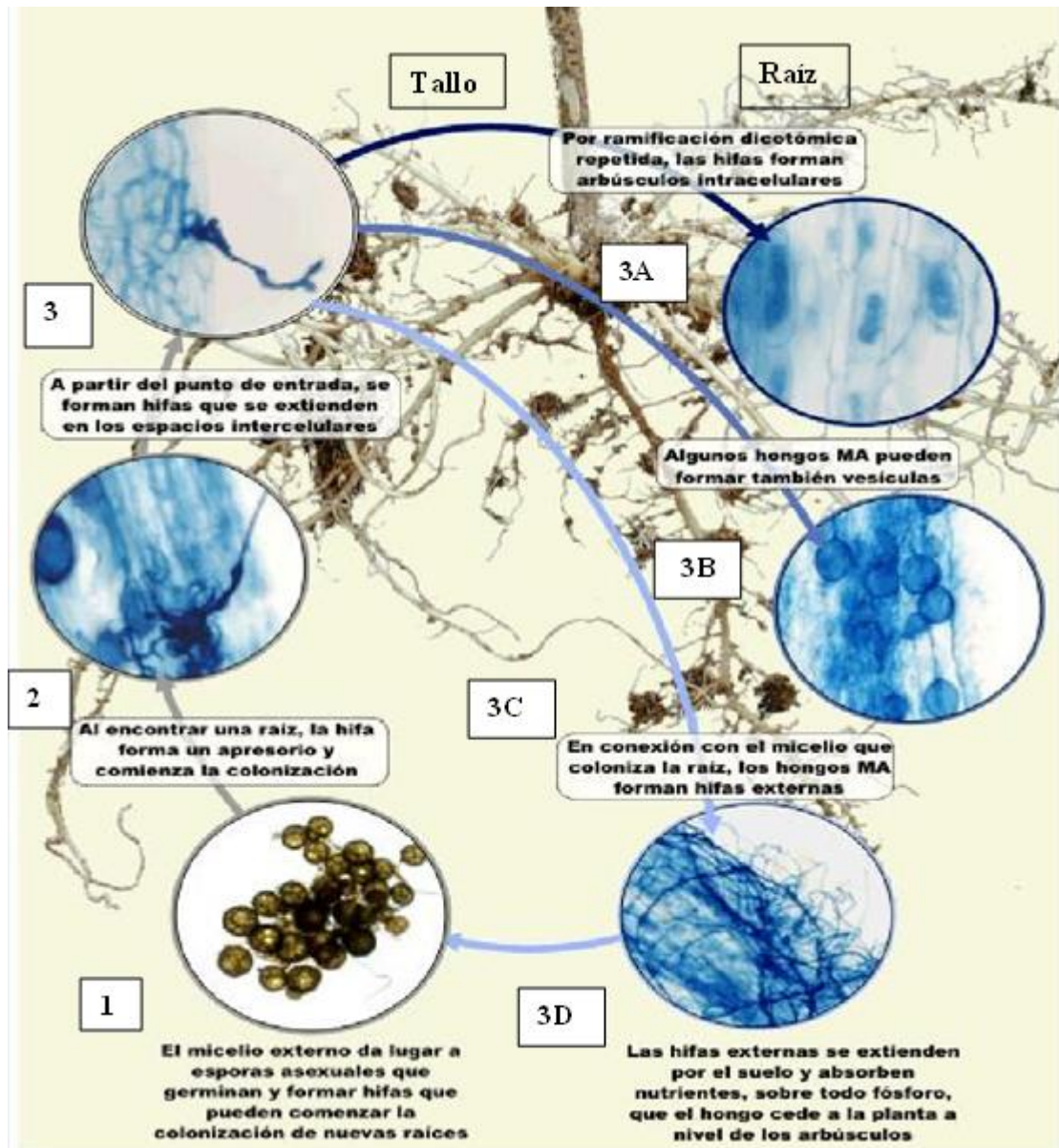


Fig. 1.2. Ciclo de las micorrizas arbusculares en la planta y en el suelo.

Referencia. 1) Micelio externo forma esporas asexuales que en condiciones adecuadas germinan y emiten hifas, 2) al encontrar una raíz mediante la formación de un apresorio penetra en la raíz, 3) dentro de la raíz se extiende por los espacios intercelulares, 3A) por ramificaciones repetidas dentro de las células se forman los arbuscúlos, que son las estructuras encargadas de realizar el intercambio entre el hongo y la planta, 3B) algunas especies de hongos micorrizicos arbusculares forman vesículas, que son las estructuras con funciones de reserva y 3D) en conexión que coloniza la raíz, los HMA forman hifas externas . Estas son las encargadas de extenderse por el suelo y absorber los nutrientes y agua. Estas hifas forman esporas asexuadas y así se vuelve a iniciar el ciclo. Fuente: Sainz (2018).

Las hifas extraradicales juegan un rol importante en la estabilización del suelo a través de la formación de agregados. A través del micelio intraradical el hongo recibe los esqueletos carbonados de la planta hospedadora, aportándole a ésta nutrientes inorgánicos. Este micelio se desarrolla en un ambiente que es controlado por la homeostasis de la planta. El micelio extraradical (MER) que se desarrolla en el suelo, cumple con la función de absorber agua y nutrientes inorgánicos y está expuesto a las variaciones en las condiciones ambientales del suelo tales como pH, disponibilidad de nutrientes, humedad, etc. (Marschner y Dell, 1994).

El MER es altamente afectado por la heterogeneidad del suelo y está involucrado en la búsqueda de nuevas plantas y en la exploración del suelo para la adquisición de nutrientes minerales que utilizan tanto el hongo como la planta. Las hifas del MER pueden tener un crecimiento extenso (hasta 8 cm desde la raíz) (Sieverding, 1991; Castillo *et al.*, 2016), son capaces de conectar diferentes plantas hospedantes y establecer simbiosis micorrícica con diversas especies de plantas con las cuales se contactan (Giovannetti *et al.*, 2004).

Asimismo, dependiendo de la capacidad exploratoria del micelio del hongo, las hifas pueden explorar un volumen de suelo inaccesible a las raíces; y con ello la planta aumenta considerablemente su superficie de absorción, de 100 a 1.000 veces, mejorando su capacidad de captación de nutrientes y de agua (Gil, 1995; Ruiz-Lozano, 2003; Peterson *et al.*, 2004).

La absorción de fosfato a través de HMA da lugar a un incremento en la absorción del P inorgánico, elemento prácticamente inmóvil en el suelo y en el crecimiento de plantas (Smith *et al.*, 2011) adicionando los beneficios que, la simbiosis HMA-planta y estabilidad de agregados en sistemas naturales ejerce en el suelo mismo, ya que aumenta su capacidad de agregación y las propiedades de retención de agua (Borie *et al.*, 2008). Los HMA mejoran la estructura del suelo por la producción de glomalina, que es una sustancia que actúa como adherente, aglutinando partículas del suelo en agregados más estables (Rillig *et al.*, 2002, Lovelock *et al.*, 2004, Kumar *et al.*, 2013).

Durante el crecimiento del MER se pueden diferenciar esporas y células auxiliares. Las esporas de los HMA son estructuras que contienen lípidos, citoplasma y hasta 2.000-3.000 núcleos y se forman asexualmente por diferenciación de hifas del MER en el suelo o

dentro de las raíces. Las esporas pueden estar agregadas en grupos denominados esporocarpos que funcionan como estructuras de reserva y propágulos (Smith y Read, 2010). Los propágulos de los HMA son las esporas, los fragmentos de raíces colonizados y los fragmentos de hifas o micelio del MER y tienen la capacidad de iniciar la colonización micorrícica en una planta. Las principales fuentes de propágulos en los ecosistemas naturales son los fragmentos de raíces micorrizadas y el MER (Faggioli, 2016). Mientras que las esporas son consideradas propágulos a largo plazo (Kabir, 2005), ya que tardan más tiempo en germinar y hacer contacto con las raíces que las hifas de un MER bien desarrollado (Klironomos y Hart, 2002).

Función de los HMA en ecosistemas marginales

En el caso particular de los ecosistemas áridos y semiáridos, se ha reportado que el establecimiento vegetal se incrementa cuando se utilizan plantas micorrizadas, las cuales tienen mayor protección y tolerancia a las condiciones adversas del suelo y del clima (Caravaca *et al.*, 2003; Martínez y Pugnaire, 2009). De la misma manera, Hernández-Cuevas (2011) manifiestan que para la rehabilitación ecológica de zonas degradadas, se pueden utilizar inóculos micorrícicos autóctonos y semillas de plantas también nativas. En el caso de los suelos áridos y semiáridos, el establecimiento de árboles y arbustos leñosos es de importancia ecológica y económica, además de ser una alternativa productiva para contrarrestar el proceso erosivo (Montaño y Monroy, 2000).

Utilización y beneficios de las micorrizas en los viveros forestales

El sistema de producción de viveros es un factor importante para determinar la calidad de las plántulas y el rendimiento en el campo. Se han observado una mayor mortalidad de plántulas en algunas situaciones debido a la baja calidad de las plántulas

(Vandresen *et al.*, 2007). Una plántula de calidad debe tener un sistema de raíces bien desarrollado en las macetas con un sustrato adecuado. En viveros brasileños, se han utilizado para cultivar plántulas de especies leñosas nativas sustratos orgánicos y sintéticos y una mezcla de ambos. Sin embargo, estos sustratos, comúnmente carecen de propágulos de HMA (Saggin-Junior y Lovato, 1999; Tristão *et al.*, 2006). Las plántulas de alta calidad son cruciales para el éxito de los programas de restauración y el uso de algunos microorganismos del suelo ya que los biofertilizantes pueden ser útiles para este propósito (Ramírez Gómez *et al.*, 2018).

Para establecer la simbiosis, la inoculación con HMA debe realizarse durante el desarrollo temprano de las plántulas (Zangaro *et al.*, 2009). Las plántulas inoculadas pueden mostrar mayores tasas de crecimiento, menores necesidades de recursos y pueden ser más tolerantes al estrés del trasplante, que son características clave en la restauración de áreas degradadas (Vandresen *et al.*, 2007). El mutualismo que caracteriza la relación entre las raíces finas y los HMA proporciona a la planta huésped un desarrollo mejorado, principalmente debido a una mayor absorción de nutrientes (principalmente P) y una mayor resistencia al estrés hídrico y patógenos del suelo (Zangaro *et al.*, 2002; Lynch y Ho, 2005).

Algunas ventajas observadas en especies forestales en el manejo del vivero son: la reducción en la utilización de fertilizantes sintéticos hasta un 80 % dentro de la producción de planta forestal en viveros (Guerra, 2008), la supervivencia de las plantas una vez que han sido llevadas a terreno y la adaptabilidad al suelo hasta en un 54 % bajo condiciones naturales debido a la simbiosis mutualista ejercida por estos microorganismos (Monroy-Ata *et al.*, 2007). Todos estos beneficios proporcionan un potencial de aplicación comercial en la producción de plántulas en contenedores (Biermann y Linderman, 1983; Soka y Ritchie, 2014). Las estrategias de manejo que involucran el uso de HMA deben aplicarse en las primeras etapas del crecimiento de la planta en vivero, antes de su establecimiento en el campo. Es importante que la planta forestal producida en el vivero esté micorrizada para asegurarle un buen desarrollo inicial y conseguir estabilidad en la masa creada. Así, dado que las micorrizas son simbiotes, la estrategia más adecuada consistirá en lograr que la micorrización se produzca en el vivero, para introducirla en el monte con mayor garantía de supervivencia (Serrada Fierro, 2000).

Estrés por sequía y oxidativo en la simbiosis micorriza-planta

El mayor efecto de la micorrización sobre el desarrollo de plántulas en un ambiente semiárido es el aumento de su tolerancia al estrés hídrico (Castillo, 1997; Harris-Valle, 2009).

Desde un punto de vista meteorológico como ambiental, se puede definir a la sequía como la falta o insuficiencia de precipitaciones durante un periodo largo, que provoca un desequilibrio hidrológico considerable, por la restricción en el suministro del agua (Ponvert-Delisle y Dámaso, 2016). Se presenta cuando la evapotranspiración excede a las precipitaciones durante un tiempo considerable (Mayorga *et al.*, 2006; Cadena, 2006).

El estrés por sequía se considera uno de los estreses abióticos más graves que limita el crecimiento de las plantas y reduce la producción de cultivos en numerosas regiones del mundo. Se estima que cerca de un tercio de los suelos están sometidos al estrés por sequía, lo que impide el desarrollo normal de las plantas (Calvo-Polanco *et al.*, 2016). Muchos factores influyen: la falta de lluvias, la distribución irregular de las lluvias, la intensidad de la sequía y la duración y la tasa del estrés son respuestas a la escasez de agua (Kumar *et al.*, 2013). El estrés por sequía es generado por un menor potencial hídrico del suelo, por entrada a la planta e induciendo la deshidratación celular, resultando en la inhibición de la expansión y división celular, tamaño de la hoja, alargamiento del tallo, proliferación de raíces, oscilaciones estomáticas perturbadas, disminución de la absorción de nutrientes y eficiencia del uso del agua (Kaushal y Wani, 2016). Ciertamente, las plantas también desarrollan mecanismos complejos en términos morfológicos, fisiológicos y bioquímicos para hacer frente al estrés por sequía, que se dividen en escape, evitación y la tolerancia a la sequía (Khoyerdi *et al.*, 2016). Como respuesta al estrés por sequía y a otros estreses se produce un efecto denominado estrés oxidativo que incluye la generación de especies activas del oxígeno (EAO), tales como ion superóxido, peróxido y radical hidroxilo (Singh *et al.*, 2011). Estas cumplen una función dual: de señalización de la respuesta de defensa frente al estrés y al aumentar en exceso, promueven daños oxidativos en la planta, llevándola incluso a la muerte. Las plantas han desarrollado muchas formas de superar el estrés oxidativo. Una forma es la respuesta adaptativa, que consiste en una regulación al

alza compensatoria de los sistemas antioxidantes, dirigida a restablecer la homeostasis redox (Lázaro *et al.*, 2013; García-Sánchez *et al.*, 2014). El sistema de defensa antioxidante vegetal incluye compuestos no enzimáticos de bajo peso molecular (glutación, ascorbato (ASH) y α -tocoferol) y enzimas antioxidantes. Estas enzimas participan en la exclusión de las EAO, ya sea directamente (superóxido dismutasa (SOD), catalasas (CAT) y ascorbato o tiol-dependiente peroxidasas (POX) o indirectamente a través de la restauración de las dos principales moléculas redox en la célula, ascorbato y glutación (glutación reductasa (GR), deshidroascorbato reductasa y monodeshidroascorbato reductasa) (Rouhier *et al.*, 2008; Singh *et al.*, 2011).

Numerosas investigaciones han mostrado que una asociación simbiótica en las raíces con los HMA, mejora la resistencia del huésped al estrés (Smith y Read, 2010; Miransari, 2011). En la relación planteada entre los HMA y el estrés oxidativo, las plantas micorrizadas con HMA poseen mayores actividades de enzimas antioxidantes y concentraciones de antioxidantes no enzimáticas, que pueden servir para proteger a la planta contra el daño oxidativo, mejorando así la tolerancia a la sequía (Wu *et al.*, 2006; Rapparini y Peñuelas, 2014).

Particularmente, (Grümberg *et al.*, 2015) observó que plántulas de soja inoculadas con dos cepas de HMA y la mezcla de ambas con riego, mostraron comportamientos parecidos al control sin HMA. Por el contrario, la biomasa disminuyó en los tratamientos de sequía y más aún en las plantas no micorrizadas. Las cepas mejoraron el contenido de agua y las concentraciones de P y N en soja. Asimismo los HMA durante el estrés por sequía, mitigaron el incremento en malondialdehído (MDA), un metabolito relacionado con la peroxidación de lípidos de las membranas y el daño oxidativo. Tal efecto fue acompañado por un incremento en el contenido de clorofilas importante metabolito relacionado con el buen funcionamiento del metabolismo fotosintético. Tales resultados muestran que los HMA juegan un papel importante en la mitigación de impactos de sequía en soja, sugiriendo su participación en la mitigación del daño oxidativo (Grümberg *et al.*, 2015).

Por todo lo expuesto, el potencial de *P. alba* para la recuperación de áreas degradadas, su importancia económica, y perspectivas, conjuntamente con los HMA y sus beneficios, justifica el estudio de sus respuestas en condiciones de estrés por sequía.

Además, los resultados permitirían conocer las variables fisiológicas y respuestas bioquímicas asociadas a esta simbiosis, sobre todo aquellas relacionadas con la mitigación del daño oxidativo. Los resultados podrán ser utilizados como una herramienta importante para la utilización del *P. alba* en la restauración y reforestación de zonas marginales de Argentina.

HIPÓTESIS

- La mitigación del estrés por sequía en *Prosopis alba* es más eficiente en la simbiosis con hongos micorrícicos arbusculares autóctonos de suelos de algarrobales provenientes de ambientes áridos.

- Los inóculos mixtos HMA autóctonos de suelos de algarrobales provenientes de ambientes áridos aumentan la tolerancia a sequía de *Prosopis alba*, mediante una mejor regulación del daño oxidativo, contenido hídrico y mayor aporte de nutrientes minerales en la planta.

OBJETIVO GENERAL

Identificar y caracterizar inóculos mixtos de hongos micorrícicos arbusculares autóctonos que confieran mayor tolerancia frente al estrés por sequía en plantines de *Prosopis alba* y contribuir al conocimiento de las bases fisiológicas y bioquímicas de este proceso, con especial énfasis en el estrés oxidativo y la defensa antioxidante.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Aportar conocimiento morfo-taxonómico sobre los inóculos mixtos de hongos micorrícicos arbusculares autóctonos provenientes de suelos de algarrobales del Parque chaqueño con diferentes regímenes pluviométricos.

Caracterizar la simbiosis entre *Prosopis alba*-inóculos mixtos de HMA autóctonos bajo condiciones de riego.

Caracterizar la eficiencia micorrícica de los hongos micorrícicos arbusculares autóctonos en simbiosis con *Prosopis alba* mediante la respuesta de mecanismos fisiológicos/bioquímicos, bajo diferentes condiciones hídricas.

Evaluar la interacción entre la fertilización mineral y los hongos micorrícicos arbusculares autóctonos durante el crecimiento en vivero y tolerancia a la sequía de plántulas de *Prosopis alba*

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Álvarez J. A. y Villagra P. E. 2010. *Prosopis flexuosa* DC. (Fabaceae, Mimosoideae). Kurtziana 35: 10-15.
- Ayerza R., Díaz R. y Karlin U.O. 1986. Manejo de *Prosopis* arbóreos en sistemas de producción ganaderos en el Chaco Seco Argentino. IIª Reunión Internacional de *Prosopis*. Recife, Brasil 1-24.
- Barrios M.F. 2009. Calidad silvicultural de Plantines de *Prosopis alba* Griseb destinados a forestación. Trabajo final de Ingeniería Forestal. Facultad de Recursos Naturales. Universidad Nacional de Formosa. Argentina, 99 pp.
- Beltrano J., Ruscitti M., Arango M.C. and Ronco M. 2013. Effects of arbuscular mycorrhiza inoculation on plant growth, biological and physiological parameters and mineral nutrition in pepper grown under different salinity and p levels. Journal of Soil Science and Plant Nutrition 13:123-141.

- Bernaza G. y Acosta M. 2006. Las micorrizas: alternativa ecológica para una agricultura sostenible: <http://www.soilfertility.com/micorhize/espagnol/index.shtml>.
- Bethlenfalvay G.J. 1992. Mycorrhizae and crop productivity- In: G.J. Bethlenfalvay and R.G. Linderman (eds.) Mycorrhizae in Sustainable Agriculture. ASA Special Publication, Madison, pp.1-28.
- Biermann B. and Linderman R.G. 1983. Effect of container plant growth medium and fertilizer phosphorus on establishment and host growth response to vesicular-arbuscular mycorrhizae. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 108: 962-971.
- Borie F., Rubio R. and Morales A. 2008. Arbuscular mycorrhizal fungi and soil aggregation R.C. Soil Sc. Plant Nutr. 8: 9-18.
- Brundrett M. C. and Abbott L. K. 2002. Arbuscular mycorrhizas in plant communities. In Microorganisms in Plant Conservation and Biodiversity (eds.) Sivasithamparam K., Dixon K. W. and Barrett R. L. pp. 151–193.
- Burkart A. 1976. A monograph of the genus *Prosopis* (*Leguminosae* Subfam. *Mimosoideae*). Part 1 and Part 2. Catalogue of the recognized species of *Prosopis*. Journal of the Arnold Arboretum 57: 219-249.
- Cabello M., Gaspar L. and Pollero D. R. 1994. *Glomus antarcticum* sp. nov., a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus from Antártica. Mycotaxon 51: 123-128.
- Cadena M. 2006. Estudio de diversos índices de sequía para la región Caribe Colombiana, Tesis para optar el título de Magister en Ciencias – Meteorología, Facultad de Ciencias, Departamento de Geociencias, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, 115 pp.
- Calvo-Polanco M., Sánchez-Castro I., Cantos M., García J.L., Azcón R., Ruiz-Lozano J.M., Beuzón C.R. and Aroca R. 2016. Effects of different arbuscular mycorrhizal fungal backgrounds and soils on olive plants growth and water relation properties under well-watered and drought conditions. Plant Cell Environ. 39:2498–2514.
- Capparelli A. 2007. Los productos alimenticios derivados de *Prosopis chilensis* (Mol.) Stuntz y *P. flexuosa* DC., *Fabaceae*, en la vida cotidiana de los habitantes del NOA y su paralelismo con el algarrobo europeo. Kurtziana 33: 103-119.
- Caravaca F., Barea J.M., Palenzuela J., Figueroa D., Alguacil M.M. and Roldán A. 2003. Establishment of shrub species in a degraded semiarid site after inoculation with native or allochthonous arbuscular mycorrhizal fungi. Applied Soil Ecology 22: 103-111.
- Carrizo E. del V., Palacio M.O., Roic L.D., Villaverde A.A., Soria Pereyra M.L. y Torres M.A. 2008. Utilización de especies de *Prosopis* L. por pobladores rurales en Santiago del Estero. Trabajos de Investigación 58 (3).

- Castillo C. G., Borie F., Oehl F., and Sieverding E. 2016. Arbuscular mycorrhizal fungi biodiversity: prospecting in Southern-Central zone of Chile. A review. *Journal of soil science and plant nutrition* 16: 400-422.
- Castillo V. 1997. Ensayo y evaluación de técnicas de repoblación con pino carrasco (*Pinus halepensis* Mill.) en ambientes mediterráneos semiáridos. En: Valdebenito G. y Benedetti S. (ed.). *Forestación y Silvicultura en zonas áridas y semiáridas*. Instituto Forestal, Corporación de Fomento de la Producción pp. 34 – 43.
- Contardi L. T. y Gongga H. E. 2012. La producción de plantines forestales en el mundo y en la Patagonia andina. En *Producción de plantas en viveros forestales*. Buenos Aires. pp. 13-27.
- Di Marco E. 2013. *Prosopis alba* Griseb. (Algarrobo Blanco) (Familia Fabaceae, Mimosoideae). *Revista Producción Forestal* 3: 45-46.
- Faggioli V. 2016. Estudio de las comunidades de hongos formadores de micorrizas arbusculares en soja: relación con la nutrición fosforada en agroecosistemas. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Universidad Nacional de La Plata. pp. 186.
- Felker P., López C., Soulier C., Ochoa J., Abdala R. and Ewens M. 2001. Genetic evaluation of *Prosopis alba* (algarrobo) in Argentina for cloning elite trees. *Agroforestry Systems* 53: 65-76.
- Fontana M. L., Pérez V. R. y Luna C. V. 2018. Características evolutivas en *Prosopis* spp.: citogenética, genética e hibridaciones. *Rodriguésia* 69: 409-421.
- Galera F.M. y Bruno S. 1995. “Avances en el Conocimiento de la Biecológica de las Especies del genera *Prosopis* de interés forrajero del N.O. de la Provincia de Córdoba”. *Memorias. XIV.R.G.C: FAO*.
- García-Sánchez M., Palma J.M., Ocampo J.A., García-Romera I. and Aranda E. 2014. Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate oxidative stress induced by ADOR and enhance antioxidant responses of tomato plants. *J. Plant Physiol.* 171: 421-428.
- Gil M. F. 1995. Las micorrizas y la nutrición mineral. In: *Elementos de fisiología vegetal. Relaciones hídricas. Nutrición mineral. Transporte. Metabolismo*. Ediciones Mundi-Prensa, España, pp. 281-283.
- Giménez A. M., Ríos N. y Moglia J. 1998. Leño y corteza de *Prosopis alba* Griseb., algarrobo blanco, *Mimosaceae*, en relación a algunas magnitudes dendrométricas. *Universidad Austral de Chile. Revista Bosque* 19: 53-62.
- Giménez A. M., Ríos N., Moglia J. G., Hernández P. y Bravo S. 2001. Estudio de magnitudes dendrométricas en función de la edad en *Prosopis alba* Griseb., algarrobo blanco, *Mimosaceae* *Forest. Venez.* 45: 175-183.

- Giovannetti M., Sbrana C., Avio L. y Strani P. 2004. Patterns of below-ground plant interconnections established by means of arbuscular mycorrhizal networks *New Phytologist* 164: 175-181.
- Grümberg B.C., Urcelay C., Schroeder M.A., Vargas-Gil S. and Luna C.M. 2015. The role of inoculum identity in drought stress mitigation by arbuscular mycorrhizal fungi in soybean. *Biol. Fertil. Soils* 51: 1–10.
- Guerra B. E. 2008. Micorriza arbuscular. Recurso microbiológico en la agricultura sostenible. *Tecnología en Marcha* 21: 191-201.
- Guzmán A., Coronel de Renolfi M. y Pece M. G. 2011. Determinación de fallas en la siembra comercial de Algarrobo blanco (*Prosopis alba*) en un vivero de Santiago del Estero. *Quebracho* 19: 46-53.
- Harris-Valle C., Esqueda M., Valenzuela-Soto E. M. y Castellanos A. E. 2009. Tolerancia al estrés hídrico en la interacción planta-hongo micorrízico arbuscular: metabolismo energético y fisiología. *Revista fitotecnia mexicana*, 32: 265-271.
- Hernández-Cuevas L., Guerra-De la Cruz V., Santiago-Martínez G., y Cuatlal-Cuahutencos P. 2011. Propagación y micorrización de plantas nativas con potencial para restauración de suelos. *Revista mexicana de ciencias forestales* 2: 87-96.
- Hunziker J.H. J, Saidman B.O., Naranjo C., Palacios R., Poggio L. and Burghardt A. 1986. Hybridization and genetic variation of Argentine species of *Prosopis*. *Forest Ecology Management* 16: 301-315.
- Juárez de Galíndez M., Giménez A. M., Ríos N. y Balzarini M. 2005. Modelación de crecimiento en *Prosopis alba* Griseb. empleando dos modelos biológicos. *Quebracho* 12: 34-42.
- Kabir Z. 2005. Tillage or no-tillage: Impact on mycorrhizae. *Canadian Journal of Plant Science* 85: 23–29.
- Karlin, U. 1988. Regionalización Documento *Prosopis* en Argentina para el Taller Internacional de Recursos Genéticos de *Prosopis*, Cosquín, Córdoba, Argentina, pp.3-7.
- Kaushal M. and Wani S. P. 2016. Plant-growth-promoting rhizobacteria: drought stress alleviators to ameliorate crop production in drylands. *Ann. Microbiol.* 66: 35–42.
- Khoyerdí F.F., Shamshiri M.H. and Estaji A. 2016. Changes in some physiological and osmotic parameters of several pistachio genotypes under drought stress. *Sci. Hortic.* 198:44–51.
- Klironomos J. N. N. and Hart M. M. 2002. Colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi using different sources of inoculum. *Mycorrhiza* 12: 181–184.

- Kumar D., Shivay Y.S., Dhar S., Kumar C. and Prasad R. 2013. Rhizospheric flora and the influence of agronomic practices on them: A Review. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences* 83: 1–14.
- Lázaro J.J., Jiménez A., Camejo D., Iglesias-Baena I., Martí M.C., Lazaro-Payo A., Barranco-Medina S. and Sevilla F. 2013. Dissecting the integrative antioxidant and redox systems in plant mitochondria. Effect of stress and S-nitrosylation. *Frontiers in plant science* 460: 1-20.
- Ledesma T., De Bedia G. y López C. 2008. Productividad de *Prosopis alba* Griseb. en Santiago del Estero. *Quebracho* 15: 5-9.
- López C. 2005. Evaluación de la Variación Genética de Especies del Género *Prosopis* de la Región Chaqueña Argentina para su Conservación y Mejoramiento. Capítulo III: Mejores Árboles para más Forestadores. Editor: Norberto C., Secretaria de Agricultura, Ganadería y Pesca. Buenos Aires, pp. 195- 203.
- Lovelock C.E., Wright S.F. and Nichols K.A. 2004. Using glomaling as an indicator for arbuscular mycorrhizal hyphal growth: an example from a tropical rainforest soil. *Soil Biol. Biochem.* 36:1009-1012.
- Lynch J. P. and Ho M. D. 2005. Rhizoeconomics: Carbon costs of phosphorus acquisition. *Plant and Soil* 269: 45–56.
- Marschner H. and Dell B. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant Soil* 154: 89-102.
- Martín G.O. (h), Nicosia M.G. y Lagomarsino E.D. 1993. Rol forrajero y ecológico de leñosas nativas del NOA. XIV Reunión del Grupo Técnico Regional del Cono Sur en Mejoramiento y Utilización de los Recursos Forrajeros del Área Tropical y Subtropical (Grupo Chaco), Santiago del Estero, Argentina, pp. 93-98.
- Martínez L.B. y Pugnaire F.I. 2009. Interacciones entre las comunidades de hongos formadores de micorrizas arbusculares y de plantas. Algunos ejemplos en los ecosistemas semiáridos *Ecosistemas* 18: 44-54.
- Mayorga M. y Hurtado G. 2006. La sequía en Colombia, Instituto de hidrología, meteorología y estudios ambientales – IDEAM, Subdirección de Meteorología. Nota técnica del IDEAM–METEO/004, 66 pp.
- Meloni D. A., Gulotta M. R. Martinez C. A. and Olivera M. A. 2004. The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycine betaine accumulation in *Prosopis alba*. *Braz. J. Plant Physiol.* 16:39-46.
- Miransari M. 2011. Hyper accumulators, arbuscular mycorrhizal fungi and stress of heavy metals. *Biotechnol. Adv.* 29:645–653.

- Monroy-Ata A., Estévez J., García-Sánchez R. y Ríos R. 2007. Establecimiento de plantas mediante el uso de micorrizas y de islas de recursos en un matorral xerófilo deteriorado. *Bol. Soc. Bot. Mex.* 80: 49-57.
- Montaño N.M. y Monroy A. 2000. Alternativas para la conservación ecológica de suelos en zonas áridas y semiáridas de México. *Ciencia y Desarrollo* 26: 26-37.
- Nijjer S., Rogers W.E. and Siemann E. 2010. The impacts of fertilization on mycorrhizal production and investment in Western Gulf Coast Grasslands. *American Midland Naturalist* 163: 124–133.
- Oehl F., Silva G.A., Goto B.T., and Sieverding E. 2011. Glomeromycota: Three new genera and glomoid species reorganized. *Mycotaxon* 116: 75–120.
- Palacios R. A. and Brizuela M. M. 2005. *Fabaceae*, parte 13. Subfam. II. *Mimosoideae*, parte 4. Tribu VI. *Mimoseae*, parte B. *Prosopis* L. In *Fl. Fanerog. Argent.* (eds.) Anton A. M. & Zuloaga F. O. pp.3-25.
- Pece M., Juárez de Galíndez M., Acosta M., de Benítez C. G., Saavedra S. y Bruno C. 2008. "Relación entre la longitud de la vaina y el número de semillas por vaina el Algarrobo blanco". *Quebracho* 15: 59-63.
- Peterson R.L., Massicotte H.B. and Melville L.H. 2004. Arbuscular mycorrhizas. En: *Mycorrhizas: Anatomy and Cell Biology*. NRC-CNRC. Research Press. Ottawa. Canada. 3: 57-79.
- Ponvert-Delisle B. and Dámaso R. 2016. Algunas consideraciones sobre el comportamiento de la sequía agrícola en la agricultura de Cuba y el uso de imágenes por satélites en su evaluación. *Cultivos Tropicales* 37: 22-41.
- Quilambo A.A. 2003. The vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *African Journal of Biotechnology* 2: 539-546.
- Ramírez Gómez M. M., Peñaranda Rolon A. M., Pérez Moncada U. A. y Serralde D. P. 2018. Biofertilización con hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) en especies forestales en vivero. *Bioteconología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 16: 15-25.
- Rapparini F. and Peñuelas J. 2014. Mycorrhizal fungi to alleviate drought stress on plant growth. In: Miransari, M. (ed.) *Use of microbes for the alleviation of soil stresses*, Vol. 1, Springer Science+Business Media NY, pp. 21–42.
- Rillig M. C., Wright S.F. and Eviner V.T. 2002. The role of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in soil aggregation: comparing effects of five plant species. *Plant and Soil* 238: 325–333.
- Rivera R., Fernández F., Hernández A., Triana J. and Fernández K. 2003. El manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: El Caribe. INCA (ed.) La Habana, Cuba, 166 pp.

- Roig F. A. 1993. Informe Nacional para la Selección de Germoplasma en Especies del Género *Prosopis* de la República Argentina. In Contribuciones Mendocinas a la Quinta Reunión de Regional para América Latina y el Caribe de la Red de Forestación del CIID. Conservación y Mejoramiento de Especies del Género *Prosopis*. (ed.) IADIZA-CRICYT-CIID, Mendoza, Argentina, pp. 1-36.
- Rouhier N., Lemaire S. D. and Jacquot J-P. 2008. The Role of Glutathione in Photosynthetic Organisms: Emerging Functions for Glutaredoxins and Glutathionylation. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59:143–66.
- Ruiz-Lozano J. M. 2003. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress, new perspectives for molecular studies. *Mycorrhiza* 13: 309-317.
- Ruíz P. O., Rojas K. C. y Sieverding E. 2011. La distribución geográfica de los hongos de micorriza arbuscular: una prioridad de investigación en la Amazonía peruana. *Espacio y Desarrollo* 23: 47-63.
- Ruscitti M., Arango M., Ronco M. and Beltrano J. 2011. Inoculation with mycorrhizal fungi modifies proline metabolism and increases chromium tolerance in pepper plants (*Capsicum annuum* L.). *Braz. J. Plant Physiol.* 23: 15-25.
- Sainz M.J. 2018. Micorrizas Arbusculares. Estación Fitopatológica do Areeiro. Servicio Agrario. Departamento de Producción Vegetal. Universidad Santiago de Compostela. Diputación Provincial de Pontevedra. EFA 49/06:2.
- Saggin-Júnior O. J. and Lovato P. E. 1999. Aplicação de micorrizas arbusculares na produção de mudas e plantas micropropagadas. In: Siqueira J. O., Moreira F. M. S., Lopes A. S., Guilerme L. R. G., Faquim V., Furtini A. E., Carvalho J. G. Inter-relação fertilidade, biología do solo e nutrição de plantas. Lavras, Sociedade Brasileira de Ciencia do Solo 725-773.
- Salifu K.F. and Jacobs D.F. 2006. Characterizing fertility targets and multi-element interactions for exponential nutrient loading of *Quercus rubra* seedlings. *Annals of Forest Science* 63: 231-237.
- Sangabriel-Conde W., Trejo-Aguilar D., Soto-Estrada A., Ferrera-Cerrato R. y Lara-Capistrán L. 2010. Potencial de colonización de hongos micorrízico-arbusculares en suelos cultivados con papayo bajo diferentes manejos de producción. *Revista Mexicana de Micología* 31: 45-52.
- Serrada Fierro, R. 2000. Apuntes de Repoblaciones Forestales. FUCOVASA. Madrid, 77 pp.
- Sieverding E. 1991. Vesicular Arbuscular Mycorrhiza in Tropical Agrosystem. Deutsche Gesellschaft fur technische Zusammenarbeit GTZ. GMBH. Eschborn, Germany, 371 pp.

- Singh R., Divya S., Awasthi A. and Kalra A. 2011. Technology for efficient and successful delivery of vermicompost colonized bioinoculants in *Pogostemon cablin* (patchouli) Benth. *World J. Microbiol Biotechnology* 28:323-333.
- Smith S.E., Jakobsen I., Gronlund M. and Smith F.A. 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant phosphorus nutrition: Interactions between pathways of phosphorus uptake in arbuscular mycorrhizal roots have important implications for understanding and manipulating plant phosphorus acquisition. *Plant Physiol.* 156: 1050–1057.
- Smith S.E. and Read D.J. 2008. *Mycorrhizal symbiosis*, 3rd edn. Academic Press, London, 787 pp.
- Smith S. E. and Read D. J. 2010. *Mycorrhizal Symbiosis*. San Diego, CA: Academic press. 800 pp.
- Soka G. and Ritchie M. 2014. Arbuscular mycorrhizal symbiosis, ecosystem processes and environmental changes in tropical soils. *Applied ecology and environmental research* 13: 229-245.
- Spatafora J.W., Chang Y., Benny G.L., Lazarus K., Smith M.E., Berbee M.L., Bonito G., Corradi N., Grigoriev I., Gryganskyi A., James T.Y., O'Donnell K., Roberson R. W., Taylor T.N., Uehling J., Vilgalys R., White M.M. and Stajich J.E. 2016. A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycologia* 108: 1028–1046.
- Taleisnik E. y López Lauenstein D. 2011. Leñosas perennes para ambientes afectados por salinidad. Una sinopsis de la contribución argentina a este tema. *Ecol. Austral* 21: 3-14.
- Tedersoo L., Sánchez-Ramírez S., Kõljalg U., Bahram Döring M., Schigel D., May T., Ryberg M. and Abarenkov K. 2018. High-level classification of the Fungi and a tool for evolutionary ecological analyses. *Fungal Diversity* 90: 135–159.
- Tristão F.S.M., Lopez de Andrade S.A. and Parada Dias Silveira A. 2006. Fungos micorrízicos arbusculares na formação de mudas de cafeeiro, em substratos orgânicos comerciais. *Bragantia*, 65: 649-658.
- Van der Heijden M.G.A., Bardgett R.D. and van Straalen N.M. 2008. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecol. Lett.* 11: 296–310.
- Van der Heijden M.G.A., de Bruin S., Luckerhoff L., van Logtestijn R.S.P. and Schlaeppi K. 2015. A widespread plant-fungal-bacterial symbiosis promotes plant biodiversity, plant nutrition and seedling recruitment. *The ISME Journal* 1–11.

- Vandresen J., Nishidate F.R., Torezan, J.M.D. and Zangaro W. 2007. Inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e adubação na Formação e pós-transplante de mudas de cinco espécies arbóreas nativas do sul do Brasil. *Acta Botánica Brasilica* 21: 753-765.
- Vega Riveros C., Meglioli P. A. y Villagra P. E. 2011. *Prosopis alpataco* Phil. (Fabaceae, Mimosoideae). *Kurtziana* 36: 53-64.
- Verga A., Navall M., Joseau J., Royo O. y Degano W. 2009. Caracterización morfológica, distribución geográfica y estimación de nichos ecológicos de algarrobos (*Prosopis* sp.) en las regiones fitogeográficas Chaqueña y Espinal norte de Argentina. *Quebracho* 17: 31-40.
- Verzino G., Joseau M.J., Díaz M. del P. y Dorado M. 2004. Comportamiento inicial de especies nativas del Chaco Occidental en plantación es en zonas de pastizales de altura de las Sierras de Córdoba. Argentina. *Bosque* 25: 53-67.
- Verzino G. y Joseau M.J. 2013. Plantaciones forestales con especies nativas de Argentina en la región central del país. En: Conservación de recursos forestales nativos de Argentina. El cultivo de plantas leñosas en vivero y a campo. (eds.): Joseau M. J., Conles M. Y. y Verzino G. E. Editorial Brujas, pp. 235-278.
- Villagra P. and Morales M. S. 2003. Dendroecology of *Prosopis* woodlands in the Argentine arid zone. *IANIGLA 1973-2002*: 53-57.
- Villagra P.E., Vilela A.E., Giordano C.V. and Alvarez J.A. 2010. Ecophysiology of *Prosopis* Species from the arid lands of Argentina: What do we know about adaptation to stressful environments? In *Desert Plants. Biology and Biotechnology*. (ed.) Ramawat K. G., Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, pp. 322-354.
- Villagra P. E., Giordano C. V., Alvarez J. A., Cavagnaro J. B., Guevara A., Sartor C., Passera C. B. y Greco S. 2011. Ser planta en el desierto: estrategias de uso de agua y resistencia al estrés hídrico en el Monte Central de Argentina. *Ecol. Austral* 21: 29-42.
- Wang B. and Qiu Y.L. 2006. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza* 16: 299–363.
- Wu Q.S., Zou Y.N. and Xia R.X. 2006. Effects of water stress and arbuscular mycorrhizal fungi on reactive oxygen metabolism and antioxidant production by citrus (*Citrus tangerine*) roots. *European Journal of Soil Biology* 42: 166–172.
- Zangaro W., Nisizaki S.M.A., Domingos J.C.B. y Nakano E.M. 2002. Micorrizas arbusculares em espécies arbóreas da bacia do rio Tibagi, Paraná. *Cerne* 8: 77–87.
- Zangaro W., Nogueira M.A. and Andrade G. 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi used as biofertilizers in revegetation programmes. In: Rai M (ed.) *Advances in fungal biotechnology*. I.K. International Publishing House, New Delhi, pp. 351–378.

Zárate M. H., Fernandez R., Tato Vázquez C., Acosta N., Pérez V., Kees S. y Arce L. 2015. Avances en la silvicultura del algarrobo blanco. Publicado en internet, disponible en http://inta.gob.ar/sites/default/files/avances_prosopis.pdf .Activo Marzo 2019.

CAPÍTULO 2

APORTES AL CONOCIMIENTO MORFO - TAXONÓMICO SOBRE LOS INÓCULOS MIXTOS DE HONGOS MICORRÍDICOS ARBUSCULARES AUTÓCTONOS PROVENIENTES DE SUELOS DE ALGARROBALES DEL PARQUE CHAQUEÑO CON DIFERENTES REGÍMENES PLUVIOMÉTRICOS

INTRODUCCIÓN

La diversidad de especies de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) en ecosistemas naturales o en agroecosistemas, es de suma importancia para su funcionamiento (Toro *et al.*, 2008; Cuenca *et al.*, 2002), asimismo los estudios sobre diversidad de especies de HMA tienen implicaciones biotecnológicas importantes, especialmente en aquellas especies para forestación, puesto que la productividad podría mejorarse mediante la manipulación de la comunidad de HMA autóctonos (Sieverding, 1991). En tal sentido, ha cobrado gran importancia el estudio de técnicas para aislar y evaluar el rendimiento de estos organismos con el fin de aplicarlos al suelo como biofertilizantes, ya que constituyen una alternativa para la solución de problemas de propagación, aclimatación y nutrición, al reducir los costos de producción y permitir sistemas más eficientes y sostenibles (Cruz *et al.*, 2014).

La diversidad de HMA ha sido estudiada a diferentes niveles jerárquicos, sin embargo, se desconoce el papel de esta diversidad en el establecimiento de simbiosis efectivas con *Prosopis* ante situaciones de estrés por sequía. Para ello, es fundamental conocer la presencia, abundancia y riqueza de especies de HMA en los rodales de *Prosopis* y en especial de *P. alba*, así como el grado de asociación entre los HMA y las raíces de las mismas. Con la finalidad de evaluar la eficiencia de cada especie, en términos de promover

la nutrición, crecimiento, salud y producción de las plantas, a los efectos de poder seleccionar aquellas que tengan potencial como biofertilizantes o bioprotectores.

La selección de microorganismos nativos de una región da mayores posibilidades de adaptación y multiplicación en el suelo, debido a que la diversidad funcional de los HMA puede depender de la procedencia de los aislamientos, más que de la especie fúngica (Trejo *et al.*, 2011). En tal sentido, se ha reportado que los HMA autóctonos de ambientes semiáridos incorporan agua y nutrientes más eficientemente en suelos secos, confiriéndole a la planta una mayor resistencia a la sequía (Marulanda *et al.*, 2003; Porcel y Ruiz-Lozano, 2004). Además, la utilización de inóculos mixtos de HMA autóctonos (que contengan tres o más especies de HMA) es de interés en ensayos de restauración de áreas degradadas, tanto por su mayor adaptación a las condiciones imperantes en el ecosistema, como por la mayor diversidad de respuestas potenciales que varias especies de HMA pueden ejercer sobre una planta hospedera (Barea *et al.*, 2011; Allen *et al.*, 2005). Particularmente, las esporas pueden identificarse y complementar la evaluación de la diversidad de especies locales en diferentes ecosistemas. En tal sentido, los estudios taxonómicos de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) se han basado tradicionalmente en la morfología y apariencia de las esporas. Actualmente, Schüßler y Walker (2010), propone la siguiente clasificación taxonómica actual de los HMA (Fig. 2.1).

En ambientes severos donde las condiciones son críticas para otros microorganismos, la presencia de los HMA es considerada clave para la supervivencia de las plantas y el balance ecosistémico (Allen, 1991). En algunos casos, la adaptación entre los HMA y las plantas hospedantes está determinada por las condiciones edafoclimáticas, mostrando diferencias estructurales y funcionales entre especies e incluso entre morfotipos dentro de la misma especie de hongos (Maherali y Klironomos, 2007).

Otro aspecto a tener en cuenta es la utilización de inóculos mixtos, ya que es conocido que aumentan las posibilidades de que los hongos más apropiados se hagan dominantes en la eventualidad de que las condiciones del suelo cambien con las diferentes prácticas agrícolas, forestales (Klironomos, 2003) o el efecto dominante de una especie en particular (efecto de selección; por ejemplo, Vogelsang *et al.*, 2006).

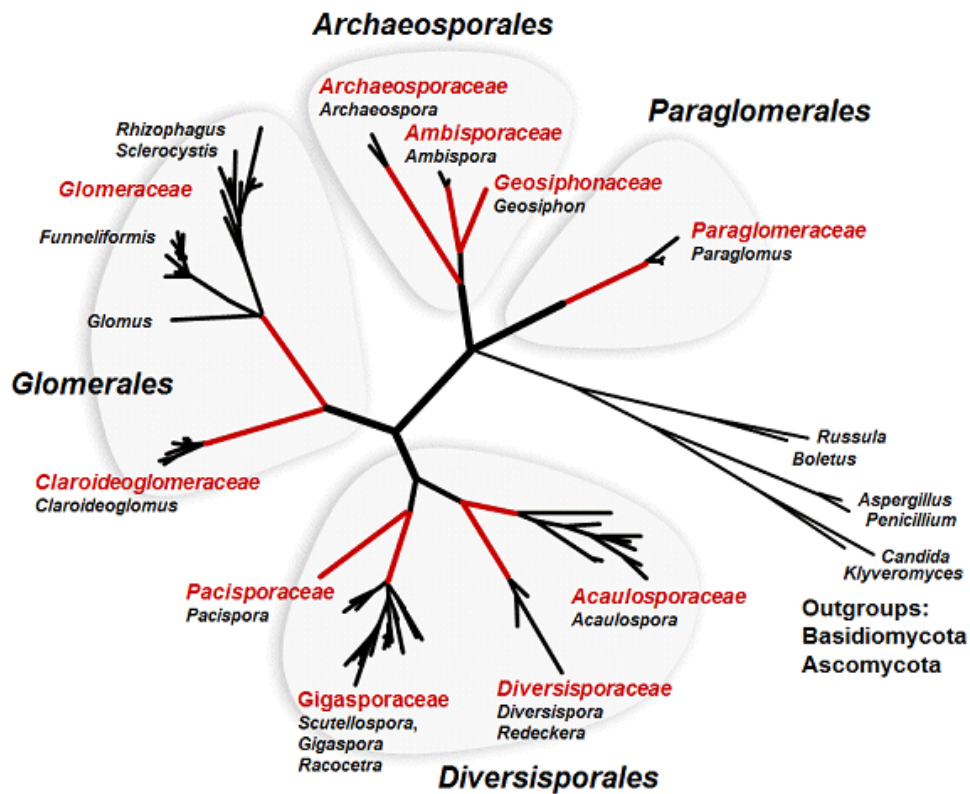


Fig. 2.1. Árbol filogenético de los “HMA” (*Glomeromycota*), modificado y actualizado a partir de Schüßler *et al.*, 2001; Schüßler y Walker, 2010.

La capacidad de las micorrizas para promover el desarrollo de los cultivos depende de dos factores: efectividad e infectividad. La efectividad, se refiere al potencial que tienen los HMA para desarrollar la simbiosis micorrícica e incrementar el crecimiento del hospedero. Y la infectividad es la capacidad del hongo para penetrar e invadir la raíz intensamente y explorar el suelo, así como su habilidad de persistir en el sistema productivo (Tapia-Goné *et al.*, 2010).

El conocimiento del potencial micorrícico de los suelos y su infectividad, junto con su efectividad para la micorrización, es muy importante para el estudio de la ecología y el manejo de estos hongos (Herrera-Peraza *et al.*, 2011).

En Argentina, se han observado HMA nativos en trigo (Schalamuk *et al.*, 2006; Cabello, 2013) en pasturas de gramíneas y leguminosas y en gramíneas forrajeras tales como agropiro y festuca (Covacevich *et al.*, 2007; Covacevich *et al.*, 2006). Sin embargo, existen pocos estudios sobre la diversidad de HMA nativos presentes en zonas de algarrobales (Piatti e Iglesias, 2004; Mijaluk *et al.*, 2011) donde solo se reportó su colonización micorrícica, pero no se identificaron las especies de HMA.

Hipótesis: Las características edafoclimáticas condicionan la diversidad e infectividad de los HMA autóctonos de sitios de algarrobales, potencialmente benéficos para la simbiosis con *P. alba*.

En consecuencia, los objetivos de este capítulo fueron: 1) seleccionar sitios, área de muestreo y realizar la recolección de las muestras de suelo, 2) estimar la infectividad de los HMA presentes en dos sitios de algarrobales bajo condiciones edafoclimáticas contrastantes (húmedo y semiárido) del Parque Chaqueño, 3) aislar y propagar los hongos micorrícicos arbusculares en plantas trampa, 4) evaluar el potencial micorrícico de los inóculos generados en plantas trampa a partir de los suelos contrastantes 5) identificación morfo- taxonómica de las especies de HMA presentes en los suelos de los sitios de CB y PL y en los inóculos mixtos a partir de plantas trampa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección de los sitios, área de muestreo y recolección de las muestras de suelo

Las muestras de suelo fueron colectadas en primavera, entre fines de noviembre y mediados de diciembre de 2012 de dos sitios del Parque Chaqueño Argentino de rodales puros de *P. alba* Griseb: Colonia Benítez (CB) 27°20'00" S, 58°55'60" W, de la provincia de Chaco con un régimen pluviométrico anual de 1.300 mm y Padre Lozano (PL) 23°12'51" S, 63°50'39" W, NE de la provincia de Salta, con un régimen pluviométrico anual de 650 mm (Figura 2.2) (Cabrera, 1976).

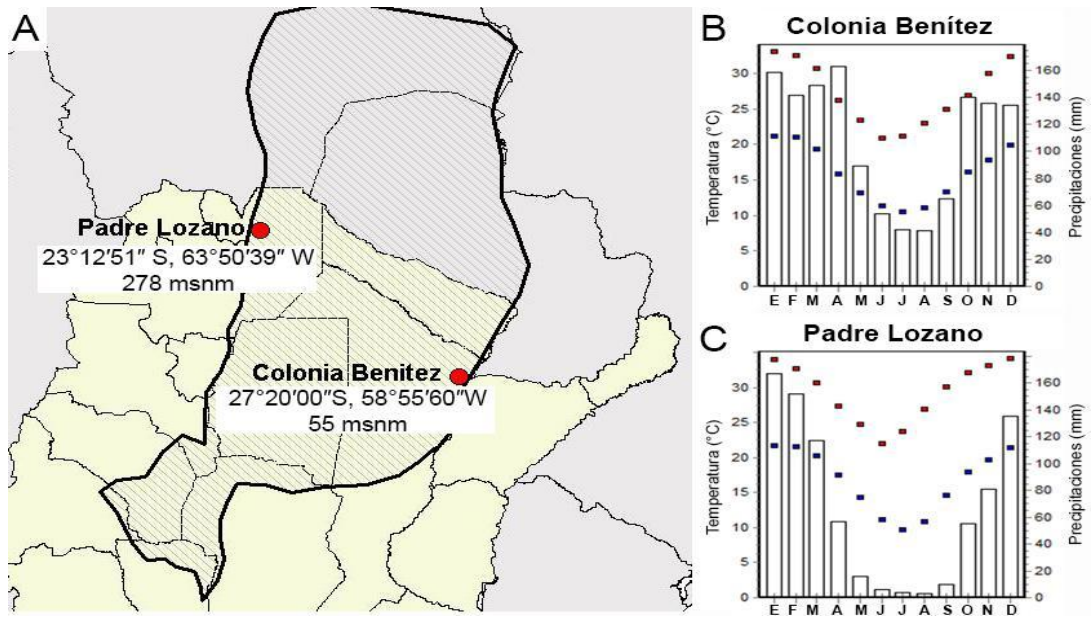


Fig. 2.2. Ubicación geográfica (A) y climograma de los sitios de muestreo Colonia Benítez (B) y Padre Lozano (C) en la región chaqueña de Argentina. Se muestran las temperaturas máximas (cuadrados rojos) y mínimas (cuadrados azules) y precipitaciones medias mensuales de cada sitio como barras blancas. Los datos fueron tomados de la base de datos WorldClim (Hijmans *et al.*, 2005).

El sitio de Padre Lozano (PL), pertenece a la región Chaco Semiárido de la provincia de Salta (Fig. 2.2 y Fig. 2.3A). El clima es de tipo semiárido, con una precipitación media anual de 650 mm y gran variación interanual en los registros pluviométricos. Las precipitaciones se concentran en verano y la evapotranspiración potencial genera déficit hídrico todo el año. Desde un enfoque fitogeográfico, la región se ubica en el Distrito Chaqueño Occidental, correspondiente a un bosque xerófilo caducifolio con dos especies dominantes: quebracho colorado (*Schinopsis quebracho-colorado*) y quebracho blanco (*Aspidosperma quebracho-blanco*), acompañados en un segundo estrato de mistol (*Zizyphus mistol*), algarrobos (*Prosopis alba*, *Prosopis nigra*, *Prosopis elata*, *Prosopis torcuata*), guayacán (*Caesalpinia paraguariensis*) y yuchán (*Ceiba insignis*), y con un tercer estrato arbustivo. El estrato herbáceo ha desaparecido debido a la presión del ganado, que desencadena procesos de desertificación (Camardelli *et al.*, 2015). El sitio de Colonia Benítez (CB), pertenece a la región Chaco Húmedo de la Provincia del Chaco

(Fig. 2.2 y Fig. 2.3B), se encuentra en la región oriental, recibe precipitaciones abundantes que llegan a promediar los 1.300 mm anuales. Se caracteriza por un paisaje salpicado de esteros, lagunas, bañados y zonas anegadizas. Los suelos de esta región pueden definirse, a grandes rasgos, como sedimentarios de origen fluvial y lacustre, formados por material fino como arcilla, arena y limos. La relación entre las temperaturas y las precipitaciones es un factor decisivo para el desarrollo de la vegetación. En, Eco-regiones de la Argentina (Rodríguez, 2003), clasificó a Colonia Benítez como Chaco Húmedo. En esta ecorregión, la comunidad florística más importante la constituyen los quebrachales, con predominio del quebracho colorado chaqueño (*Schinopsis balansae*) y, en menor cantidad, el quebracho blanco (*Aspidosperma quebracho-blanco*), de menor porte que el anterior. A estos se les suma el guayacán (*Caesalpinia paraguariensis*), el algarrobo negro (*Prosopis nigra*), el algarrobo blanco (*P. alba*) y el mistol (*Ziziphus mistol*) entre muchas otras especie (Rodríguez, 2003).

De un rodal puro de *P. alba*, se eligieron 5 árboles de algarrobo equidistantes entre sí (20 m aproximadamente). Al momento del muestreo se eliminó la capa superficial del material no descompuesto, y fueron obtenidas a una profundidad entre 0 y 20 cm; las muestras se sacaron debajo de la proyección de los árboles. Por sitio se eligieron 5 árboles de algarrobo equidistantes entre sí. Se tomaron 6 submuestras por cada árbol conformando una muestra homogénea única por árbol (Becerra y Cabello, 2008; Arévalo Hernández, 2016), la cual fue mantenida a 4 °C hasta su utilización. Posteriormente fueron secadas a temperatura ambiente y tamizadas en tamiz de 2 mm de malla. Parte de las muestras fueron enviadas para su análisis físico-químico al Laboratorio de Suelos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, de la Universidad Nacional de Córdoba.



Fig. 2.3. Rodales de *P. alba* Griseb en los sitios de Padre Lozano (A) y Colonia Benítez (B).

Análisis físico-químico de los suelos provenientes de sitios de algarrobales bajo condiciones edafoclimáticas contrastantes: húmedo y semiárido del Parque Chaqueño. De cada sitio muestreado se determinó: contenido de fosforo extractable (Bray y Kurtz, 1945), nitrógeno (Bremner, 1965), carbono orgánico (Walkley y Black, 1934),

fracciones de arena, arcilla y limo (Gee y Boudier, 1986), materia orgánica (Nelson y Sommers, 1996), pH (Thomas, 1996), capacidad de intercambio catiónico (CIC) (Sumner & Miller, 1996), los cationes intercambiables, se midieron en el extracto de NH₄OAc 1M, pH 7, obtenido del desplazamiento de cationes producido en el análisis de CIC. La cuantificación de Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺ y K⁺ intercambiables se realizó por espectrofotometría de absorción atómica con un equipo Metrolab 4200.

Estimación de la infectividad de los HMA presentes en dos sitios de algarrobales bajo condiciones edafoclimáticas contrastantes (húmedo y semiárido del Parque Chaqueño)

Bioensayo de infectividad con HMA de los suelos provenientes de algarrobales bajo condiciones edafoclimáticas contrastantes. Para estimar la infectividad de los suelos de cada sitio, se realizaron 3 diluciones de cada suelo proveniente de cada uno de los 5 árboles (1:0, 1:4 y 1:40 v/v) en mezcla estéril de perlita: vermiculita (1:1 v/v) (Díaz y Honrubia, 1993). Se utilizó alfalfa (*Medicago sativa* L.) como planta hospedadora, por su alta capacidad de establecer simbiosis con HMA y producir una respuesta positiva a la inoculación micorrízica (Cabello, 1997). Se sembraron, 2 semillas por maceta, para cada sitio teniendo en cuenta los 5 árboles muestreados, las 3 diluciones y los 3 tiempos (15, 30 y 60 días de iniciado el ensayo) y 6 plantas por muestreo, 270 plantas (135 macetas) y por los dos sitios, 540 plantas (270 macetas) las cuales fueron alojadas en una cámara de crecimiento en condiciones controladas (temperatura 25 ± 2 °C y con un fotoperiodo de 16 h (luz) - 8 h (oscuridad)) y regadas con agua filtrada. Para observar el estado de micorrización de las raíces, se realizaron muestreos a los 15, 30 y 60 días de iniciado el ensayo en los que se tomaron para cada tiempo de muestreo: 6 plántulas de cada dilución para los 2 sitios, dando un total de 180 plantas (90 macetas).

Aislamiento y propagación de los hongos micorrícicos arbusculares en plantas trampa.

Para el aislamiento de los HMA, se emplearon alfalfa (*Medicago sativa* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) y algarrobo blanco (*P. alba*) como plantas trampa, las dos primeras son altamente micotróficas y compatibles con diferentes HMA, poseen sistemas radicales fibrosos y ampliamente extendidos, que aseguran la posibilidad de colonización de diferentes sitios por los HMA y las plantas de *P. alba* por ser la especie en estudio. Las semillas fueron desinfectadas en hipoclorito de sodio 1 % (v/v) por 5 min, se enjuagaron con agua, se dejaron sumergidas en agua destilada por 24 h a temperatura ambiente para su imbibición. Posteriormente fueron sembradas en macetas de 5 kg con una mezcla de 250 g del suelo de campo de los sitios muestreados (que contienen los tres tipos de propágulos de los HMA: esporas, micelios y raíces colonizadas) y sustrato tindalizado conformado por una mezcla de suelo: arena: vermiculita: perlita (1:1:1:1 v/v) (Schalamuk y Cabello, 2010). El sustrato se tindalizó en autoclave durante 1 h se dejó reposar 24 h y luego se repitió la operación una vez más al día siguiente (Sieverding, 1991). Por cada suelo rizosférico de cada árbol de los dos sitios muestreados, se utilizaron 15 macetas, colocando 6 plantas por maceta de cada una de las especies utilizadas como planta trampa (150 macetas totales), las cuales fueron colocadas en invernáculo a temperatura 25 ± 2 °C y con un fotoperiodo de 16 h de luz-8 h oscuridad, (intensidad de luz $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y regadas con agua filtrada para reducir el contenido de cloro. Luego de un año de crecimiento en presencia de los HMA nativos, las raíces de las plantas trampa se recolectaron, cortaron y mezclaron con parte del sustrato conteniendo hifas y esporas. A esta mezcla se le adicionó nuevamente, tierra y arena estériles en una relación 3:1:1 (mezcla de inóculo: tierra: arena v/v) y se mantuvo en las mismas condiciones y con las mismas especies de planta trampa por un año más. De este modo, se conformó el inóculo de cada sitio para ser utilizado en los distintos ensayos. Se dejaron dos macetas de cada sitio para la identificación de las especies de HMA en los inóculos, mientras que las otras macetas se multiplican constantemente en plantas trampa, para su utilización en los distintos ensayos.

Evaluación del potencial micorrícico de inóculos generados en plantas trampa a partir de los suelos contrastantes

Potencial micorrícico de los inóculos de CB y PL de HMA autóctonos obtenidos de plantas trampa. El potencial micorrícico es la capacidad de iniciar la formación de asociaciones micorrícicas a partir de una cantidad de inóculo, el cual está formado por esporas, micelio y raíces micorrizadas (Duponnois *et al.*, 2005). El potencial micorrícico del inóculo se estimó según Plenchette *et al.*, 1989. Esta metodología se basa en una relación dosis-respuesta empleando plántulas de puerro (*Allium porrum* L.) por su alta capacidad de establecer simbiosis con HMA crecidas durante 28 días en diferentes concentraciones del inóculo y sustrato estéril bajo condiciones controladas.

Semillas de *Allium porrum* se desinfectaron con una solución de H₂O₂ al 10 % (v/v) por 5 min. Luego se enjuagaron con agua destilada y se sembraron en cámara húmeda en estufa a 25 °C con luz. A los 8 días, se emplearon macetas de 250 g de capacidad y se trasplantaron diez plántulas de puerro por maceta con los inóculos de ambos sitios en porcentajes 100 %, 30 %, 10 % y 3 % p/p, completados hasta el 100 % del peso con tierra estéril. Se utilizaron 4 macetas para cada dilución del suelo. Las plántulas fueron mantenidas en una cámara bajo condiciones controladas (cámara de crecimiento de condiciones controladas con temperatura 25 ± 2 °C y con un fotoperiodo de 16 h (luz)-8 h (oscuridad)) y regadas con agua filtrada. A los 28 días, se muestrearon 40 plántulas de cada tratamiento y porcentaje de inóculo. Se tiñeron las raíces y la presencia de al menos un punto de entrada o inicio de colonización micorrícica en la raíz se consideró como un registro positivo.

Para el cálculo del potencial micorrícico, se generaron curvas de regresión entre el porcentaje de plantas con presencia de micorrizas en función de la concentración de inóculo, expresado como peso seco de suelo. Mediante la función de regresiones lineales ($Y = aX + b$) se obtuvo el Índice de Infectividad Micorrícica del Suelo (inóculo, en este trabajo) (IMS₅₀), que es la cantidad de inóculo necesario para infectar el 50 % de las plantas.

Evaluación de la micorrización. Tanto para el bioensayo de infectividad como para la determinación del potencial de inóculo, se tomaron muestras del sistema radical de las plantas y se tiñeron siguiendo la metodología propuesta por Phillips y Hayman, (1970) modificado (sin fenol). Las raíces fueron clarificadas con KOH 10 % (p/v) durante 30 min a 85 °C, luego se las lavó con agua corriente y para avanzar con el aclaramiento y acidificación, las muestras se cubrieron con HCL 1 % (p/v) durante 30 min a temperatura ambiente, al cabo de ese tiempo se retiró la solución y se les agregó azul de anilina (0,05 % p/v) en lactoglicerol (ácido láctico: glicerol: agua en proporción 1:1:1 v/v) por 15 min a 90 °C, para su tinción, luego se las enjuagaron con abundante agua. Los porcentajes de micorrización fueron determinados según el método de McGonigle *et al.* (1990) y se observó la posible presencia de otros hongos radicales mediante observación al microscopio óptico Olympus BX40.

Identificación morfo- taxonómica de las especies de HMA presentes en los suelos de los sitios de CB y PL y en los inóculos mixtos a partir de plantas trampa

Identificación de las especies de HMA presentes en los suelos de algarrobales muestreados y en los inóculos obtenidos. Tanto para la identificación de las especies de HMA de los suelos como para las de los inóculos de CB y PL, se procedió a aislar esporas utilizando el método del tamizado húmedo y decantado, se toman 250 g de suelo se hace una suspensión en 1 litro de agua. Se deja reposar la suspensión algunos segundos para que las partículas graves se sedimenten. Se tamiza el sobrenadante usando tamices de diferente tamaño de poros empezando con un tamiz con (Gerdemann y Nicolson, 1963), seguido de una centrifugación en gradiente de sacarosa al 80 % (p/v) (Walker *et al.*, 1982). Las esporas de HMA se montaron en portaobjeto con alcohol polivinilo (Omar *et al.*, 1979) con y sin agregado de reactivo de Melzer (Morton, 1988). Se examinaron por microscopía óptica e identificaron morfológicamente por el sistema taxonómico propuesto por Schüßler y Walker (2010), por comparaciones con las descripciones de especies publicadas en el sitio

web de International Culture Collection of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM, 2018), y material del cepario del Instituto Spegazzini.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos del análisis de suelo se trataron estadísticamente mediante un análisis de varianza (ANOVA). Los medios ajustados se compararon a posteriori mediante la prueba DGC utilizando InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2017). Los datos se presentan como el promedio \pm desvío estándar. Los valores de $p \leq 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Selección de los sitios, área de muestreo y recolección de las muestras de suelo

Análisis físico-químico de los suelos provenientes de sitios de algarrobales bajo condiciones edafoclimáticas contrastantes: húmedo y semiárido del Parque Chaqueño. Desde el punto de vista climático fueron aislados dos sitios con precipitaciones contrastantes: CB con promedio de precipitaciones anuales de 1.300 mm y PL con 650 mm (Tabla 2.1), ambos sitios presentaron una textura franco-arenosa. En el análisis fisicoquímico mostraron similar contenido de magnesio y capacidad de intercambio catiónico del suelo (CIC), mientras que en el resto de los parámetros medidos hubo diferencias significativas ($p \leq 0,05$) (Tabla 2.1). El porcentaje de materia orgánica y los contenidos de carbono orgánico y nitrógeno total fueron mayores en PL, con una mayor relación C/N. Además, el suelo de PL presentó un alto contenido en fósforo e incrementos significativos de calcio y potasio, con un pH ligeramente ácido (Soil Quality Test Kit Guide USDA, 1999). Por su parte, CB mostró mayor contenido en sodio (5 meq / 100 g), presentando un mayor porcentaje de Sodio Intercambiable (PSI= 21,3) y el pH del suelo de

7,5 considerándolo un suelo sódico, asociado con una menor concentración de materia orgánica (Lavado y Taboada, 2017)

Factores como la acidez, las concentraciones de materia orgánica, fósforo, nitrógeno, aluminio, cobre y zinc en el suelo, influyen sobre el buen establecimiento y desempeño de la simbiosis con HMA, lo cual se refleja en la capacidad de colonización de hospederos y la producción de esporas de los hongos (Bhatia *et al.*, 1996; Lovelock *et al.*, 2003).

Tabla 2.1. Características fisicoquímicas de los sitios de colecta de las muestras de suelos de Colonia Benítez (CB) y Padre Lozano (PL).

	Colonia Benítez	Padre Lozano
<i>Precipitaciones promedio [mm anuales]</i>	1.300	650
<i>Textura</i>	Franco arenosa	Franco arenosa
<i>Materia orgánica [%]</i>	2,2 ± 0,4 b	5 ± 1 a
<i>Carbono orgánico [%]</i>	1,3 ± 0,2 b	2,9 ± 0,7 a
<i>Nitrógeno total [%]</i>	0,12 ± 0,02 b	0,22 ± 0,05 a
<i>Relación C/N</i>	10,2 ± 0,4 b	11,3 ± 0,9 a
<i>Fósforo [ppm]</i>	32 ± 8 b	122 ± 19 a
<i>pH</i>	7,5 ± 0,4 a	6,0 ± 0,3 b
<i>PSI</i>	21,3 ± 4 a	2,0 ± 0,6 b
<i>CIC [meq / 100 g]</i>	24,89 ± 1 a	24,14 ± 1 a
<i>Cationes intercambiables [meq / 100 g]</i>		
<i>Ca²⁺</i>	15 ± 2 b	21 ± 2 a
<i>Mg²⁺</i>	3 ± 1 a	2 ± 1 a
<i>Na⁺</i>	5 ± 2 a	0,46 ± 0,06 b
<i>K⁺</i>	1,3 ± 0,2 b	2,9 ± 0,6 a

Referencias: PSI, porcentaje de Sodio intercambiable; CIC, capacidad de intercambio catiónico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA p<0,05).

Estimación de la infectividad de los HMA presentes en dos sitios de algarrobales bajo condiciones edafoclimáticas contrastantes (húmedo y semi árido) del Parque Chaqueño

Bioensayo de infectividad con HMA de los suelos provenientes de algarrobales bajo condiciones edafoclimáticas contrastantes. El bioensayo de infectividad del suelo de CB con plántulas de alfalfa de 15 y 30 días de iniciado el tratamiento, no mostró diferencias de micorrización en las tres diluciones probadas, con un porcentaje al 10 % (Fig. 2.4 A). A los 60 días, el suelo sin diluir (1:00) alcanzó un 35 % de colonización micorrícica, mientras que las plántulas con las diluciones 1:4 y 1:40 alcanzaron alrededor del 70 % de micorrización.

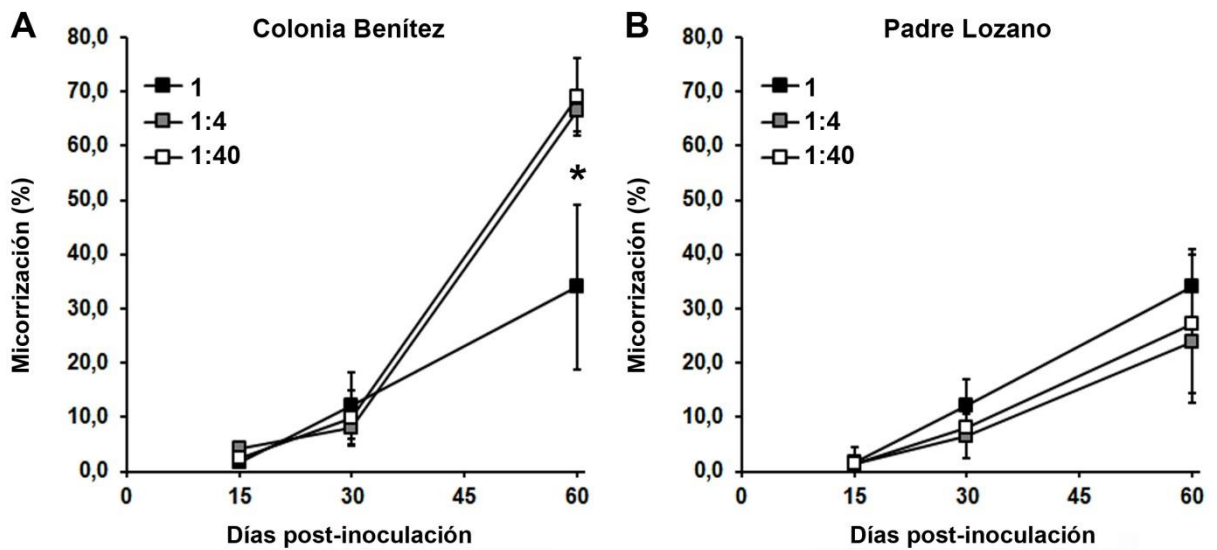


Fig. 2.4. Infectividad de los suelos de CB (A) y PL (B). Se muestran los porcentajes de micorrización de las plantas de alfalfa a los 15, 30 y 60 días, tratadas con el suelo puro (1:0), y con diluciones suelo: sustrato estéril (perlita: vermiculita 1:1 v/v) en proporción 1:4 y 1:40 v/v. Los resultados están expresados como promedio \pm error estándar (n=5). El asterisco indica diferencias significativas según ANOVA ($p \leq 0.05$).

Por su parte, el bioensayo de infectividad con HMA del suelo puro de PL (Fig. 2.4B) aumentó progresivamente el porcentaje de micorrización alcanzando cerca de 10 %, 20 % y 30 % de plantas micorrizadas a los 15, 30 y 60 días luego de la inoculación. No se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las diluciones.

Si se compara la capacidad de micorrización entre CB y PL a los 60 días, se observa que los suelos puros de CB y de PL presentaron un porcentaje de micorrización similar (del 30 %). Sin embargo, el suelo de CB logró generar el doble de porcentaje de micorrización al ser diluido con sustrato estéril (alrededor del 70 % en ambas diluciones, 1:4 y 1:40), resultando en una mayor infectividad. Esto sugiere la posible presencia de compuestos inhibitorios de la micorrización en el suelo de CB, que al ser diluidos reducen el efecto perjudicial.

Entre los componentes del suelo que podrían tener efectos inhibitorios sobre los HMA se encuentran el pH y el Na. El pH del suelo tiene un marcado efecto en las comunidades de HMA en agroecosistemas y cultivos (Yang *et al.*, 2013; Bainard *et al.*, 2015; Hazard *et al.*, 2013), pero las respuestas reportadas son variables (Clark *et al.*, 1999) encontrándose respuestas positivas, negativas o neutras de algunos HMA en pH ácidos y de otros en pH alcalino (Clark *et al.*, 1999). Por otra parte, el sodio es un factor que afecta el crecimiento y viabilidad de las hifas (García y Mendoza, 2008). En el caso de los suelos de PL y CB, el análisis físico-químico del suelo de algarrobales proveniente de CB mostró pH moderadamente alcalino, asociado con mayores valores de Na^+ (5,01 meq/ 100 g) y PSI. (19,68 %), lo cual sugiere que la presencia de Na en el suelo de CB podría ser el causante del efecto inhibitorio observado en los ensayos, cuando se encontraba puro.

En este estudio se observó que las menores tasas de colonización micorrícica correspondientes al suelo puro y diluido de PL, estuvieron acompañadas por niveles de fósforo casi 4 veces mayor, respecto de los encontrados en CB (PL: 122,70 ppm, CB: 32.38 ppm). El suelo de PL también presentó mayores niveles de carbono orgánico y nitrógeno total y mayores valores de calcio y potasio (Tabla 2.1 y Fig. 2.4).

Resultados similares fueron reportados por Pérez *et al.* (2011), quienes observaron los menores porcentajes de colonización micorrícica en raíces del pasto colosoana,

pertenecientes a suelos con valores altos de calcio (32,2 meq/100 g), potasio (1,3 meq/100 g).

Altos niveles de N y P han sido asociados a bajos niveles de colonización, relacionados con efectos negativos sobre el desarrollo de las micorrizas arbusculares y la estimulación del crecimiento en las plantas (Treseder y Allen, 2002; Alvarado *et al.*, 2004; Yang *et al.*, 2018). Tanto los altos, como los bajos niveles de fósforo y la fertilización nitrogenada, disminuyen el porcentaje de infección de los hongos micorrícicos, mientras que niveles moderados de fósforo, incrementa los niveles de nitrógeno y la infección por estos hongos (Cheng *et al.*, 2013). La forma del nitrógeno inorgánico en el suelo influye en el porcentaje de colonización, la longitud de las raíces y la presencia de estructuras colonizantes, así como los arbusculos y vesículas (Xin *et al.*, 2005).

Aislamiento y propagación de los hongos micorrícicos arbusculares en plantas trampa

Cumplido el período de un año de las plantas trampa (Fig. 2.5), las mismas fueron seleccionadas al azar dentro de cada maceta se evaluó la micorrización, para ello se tomaron muestras de raíces de alfalfa, sorgo y algarrobo, de los cinco y de los dos sitios en estudio.



Fig. 2.5. Plantas trampa de 370 días de edad foliar de alfalfa (*Medicago sativa*), sorgo (*Sorghum bicolor*) y algarrobo blanco (*P. alba*) con suelos de algarrobales de *P. alba* provenientes de Padre Lozano y Colonia Benítez.

Las raíces se tiñeron y observaron a posteriori bajo microscopio, para verificar la presencia de las estructuras características de las micorrizas, obteniéndose las imágenes que se muestran en la Fig. 2.6.

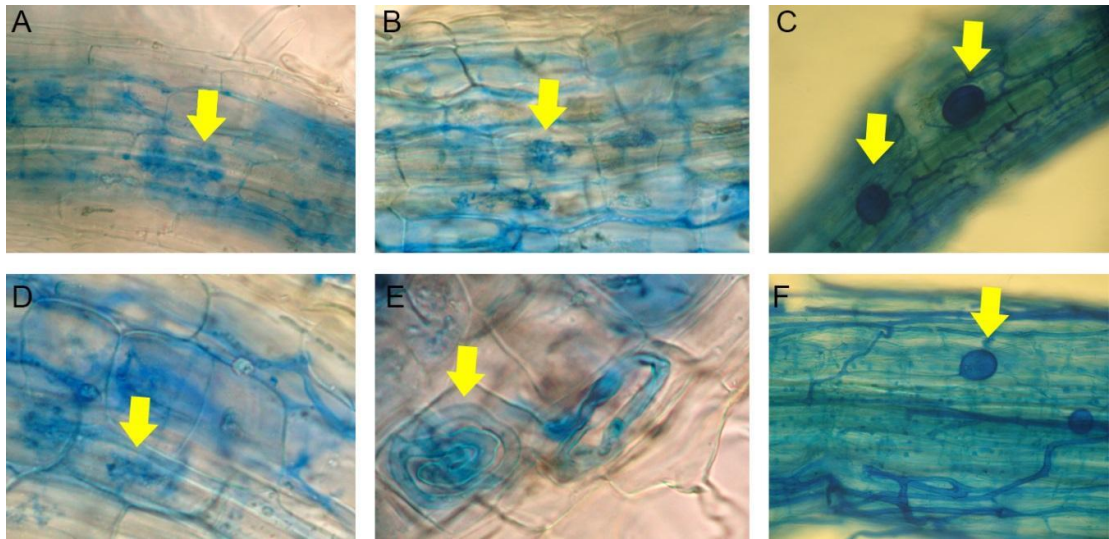


Figura 2.6. Estructuras de las micorrizas observadas en las plantas trampa, obtenidas del sitio de CB: A) y B) arbusculos e hifas, C) vesículas. PL: D) arbusculos, E) circovoluciones y F) vesículas.

Evaluación del potencial micorrícico de inóculos generados en plantas trampa a partir de los suelos contrastantes

Potencial micorrícico de los inóculos de HMA nativos obtenidos de plantas trampa de CB y PL. El desarrollo de una infección micorrícica es afectado por varios factores, el más importante de ellos es el número y tamaño de las propágulos infectivos: hifas, fragmentos de raíces micorrizadas y esporas (Hart y Reader, 2005). En este caso, para caracterizar los sitios bajo estudio se determinó el potencial de infectividad, midiendo el porcentaje de plantas infectadas generado por los inóculos provenientes de los dos sitios. En la Fig. 2.7 se muestra el potencial micorrícico de 10 plántulas de puerro por maceta, inoculadas con los inóculos de ambos sitios en porcentajes 100 %, 30 %, 10 % y 3 % p/p, completados hasta el 100 % del peso con tierra estéril. Sólo en la proporción del inóculo al 3 %, se

observaron diferencias significativas de plantas infectadas entre los dos inóculos. En esta proporción, el inóculo aislado de CB obtuvo un porcentaje de plántulas infectadas de más del doble (60 %) que el inóculo de PL. En proporciones mayores de inóculo (30 % o inóculo puro) ambos produjeron 100 % de plántulas infectadas.

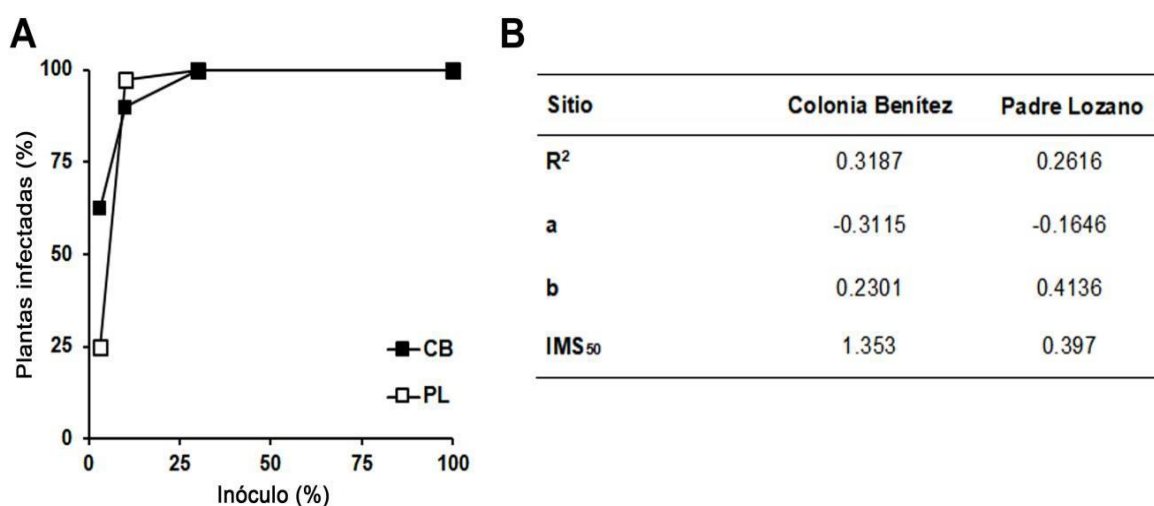


Fig. 2.7. Potencial micorrícico de los inóculos obtenidos de plantas trampa de CB y PL. A) Porcentaje de plantas infectadas en raíces de puerro. Los cuadrados negros muestran los resultados obtenidos para el sitio CB y los blancos para el sitio PL. Los resultados se expresan como porcentaje de plantas micorrizadas obtenidas en un experimento representativo. B) Coeficientes de regresión y estimación del índice IMS₅₀ a partir de bioensayo mostrado en (A). IMS₅₀ indica la mínima cantidad de inóculo en g por cada 100 g de suelo seco, necesaria para infectar el 50 % de las plantas.

Se calculó el índice de Infectividad Micorrícica del Suelo (IMS₅₀) que indica la mínima cantidad de inóculo necesaria para infectar el 50 % de las plántulas (Plenchette *et al.*, 1989), mediante el coeficiente de regresión entre el porcentaje de plantas con presencia de micorrizas en función de la concentración del inóculo (Fig.2.7 B). Los resultados de la cuantificación de puntos de entrada, e hifas y algunas estructuras de reciente formación como arbuscúlos y/o vesículas en las raíces infectadas con los dos inóculos de HMA, muestran una infectividad 3,4 veces mayor en CB que en PL (Fig. 2.7 B). Los resultados sugieren una diferencia en la infectividad de los inóculos según el sitio de procedencia. Tal resultado concuerda con Martínez y Pugnaire (2009), quienes propusieron que la velocidad

y el grado en que los HMA colonizan las raíces de las plantas dependen del origen del inóculo. Por otro lado, Hart y Reader (2002), observaron que exponiendo una especie vegetal hospedante a iguales cantidades de inóculo, la estrategia de colonización de las especies fúngicas presentes fue un factor crítico en las etapas iniciales de la infección radical. Es decir que el origen del inóculo, y las especies características del mismo, podrían determinar el grado de colonización de las raíces.

Identificación morfo- taxonómica de las especies de HMA autóctonas presentes en los suelos de los sitios de CB y PL y en los inóculos mixtos a partir de plantas trampa

Determinar la presencia de los HMA en función de las esporas resulta ser un método práctico que se ha empleado con éxito en distintos ecosistemas como una aproximación al conocimiento de la integración y funcionalidad de las comunidades de HMA (González-Cortés, *et al.*, 2012; Carballar-Hernández *et al.*, 2013). Las esporas colectadas a campo dan una idea de la abundancia y de la diversidad de especies HMA que esporulan en esas condiciones ambientales (Błaszowski, 2012). En la Tabla 2.2 se registran las especies de HMA identificadas morfo-taxonómicamente de las esporas presentes en los suelos de ambos sitios. En general, las esporas observadas fueron pequeñas y escasas. En el sitio de CB, se observaron al menos cuatro especies de HMA, mientras que en PL solo se identificó una especie y se encontraron tres especies no identificadas de *Glomus*; mientras *Acaulospora laevis* fue identificada en ambos sitios (Fig. 2.8 y Fig. 2.9).

Identificación de las especies de HMA presentes en los suelos de algarrobales muestreados Como aspecto de interés, en el suelo de CB, se identificó *Funneliformis geosporum* que es una especie que produce muchas esporas de manera sostenida, fenómeno que le permite tener una amplia distribución temporal dentro del ecosistema (Varela-Cervero *et al.*, 2016). Adicionalmente, se ha reportado que esta especie de HMA

se adapta fácilmente a diferentes condiciones ambientales y a sus cambios (He *et al.*, 2014). También se encontraron esporas de las especies *Entrophospora* y *Acaulospora*, las cuales fueron también registradas en la Puna en jarillales (Lugo *et al.*, 2005, 2008) y en bromeliáceas en Parque Nacional Sierra de las Quijadas (San Luis, Argentina) (Rivero Mega *et al.*, 2014); Las especies *Acaulospora laevis* y *Funneliformis geosporum* coinciden con lo reportado por Lara (2004), que encontró estas especies de HMA en suelos de huertas de aguacate.

En las muestras de suelo de PL, se encontraron esporas identificadas como *Glomus*, pero sin poder hacerlo con la especie, y se identificó esporas de *Acaulospora laevis*.

Tabla 2.2. Identificación morfo-taxonomía de las especies de HMA de los suelos de Padre Lozano y Colonia Benítez.

Familia	Especie	Colonia Benítez	Padre Lozano
Glomeraceae	<i>Glomus</i> sp. 1	-	+
	<i>Glomus</i> sp. 2	-	+
	<i>Funneliformis geosporum</i>	+	-
	<i>Rhizophagus intraradices</i>	+	-
Acaulosporaceae	<i>Acaulospora laevis</i>	+	+
Entrophosporaceae	<i>Entrophospora nevadensis</i>	+	-

Referencias: (+) indica presencia (-) indica ausencia.

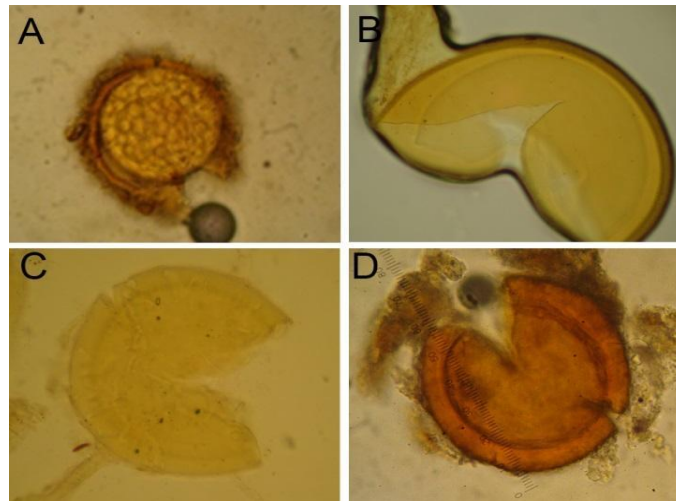


Fig. 2. 8. Microfotografía de esporas encontradas en los suelos de CB que pertenecen a las siguientes especies: A) *Entrophospora nevadensis* B) *Acaulospora laevis*, C) *Rhizophagus intraradices*, D) *Funneliformis geosporum* Las fotografías fueron tomadas, con una cámara digital (Olympus, modelo SP.360) con un microscopio óptico (Leitzdia lux 20EB), en el Instituto Spegazzini, de La Plata.

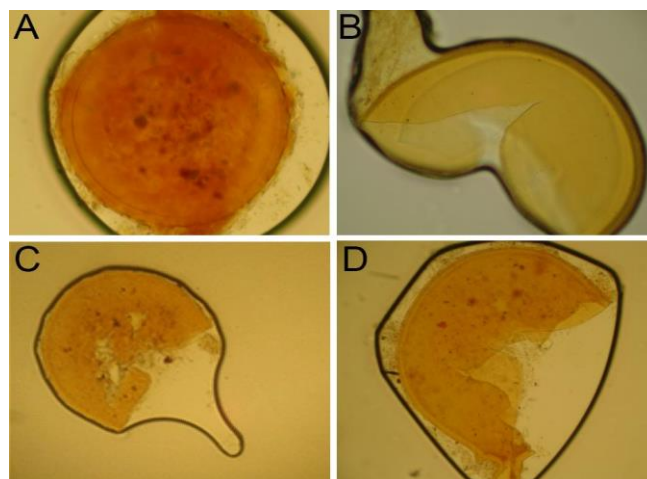


Fig. 2.9. Microfotografía de esporas encontradas en los suelos de PL que pertenecen a las siguientes especies: A) *Glomus* sp., B) *Acaulospora laevis*, C) y D) *Glomus* sp Las fotografías fueron tomadas, con una cámara digital (Olympus, modelo SP.360) con un microscopio óptico (Leitzdia lux 20EB), en el Instituto Spegazzini, de La Plata

Identificación de las especies de HMA presentes en los inóculos obtenidos. Dado que una alta proporción de HMA produce esporas estacionalmente (Brundett *et al.*, 1999), y que la especie vegetal puede influir en la diversidad de especies de HMA que proliferan en el suelo, la estimación de la diversidad de especies de HMA se realizó complementariamente en los inóculos propagados en plantas trampa de sorgo, alfalfa y algarrobo a partir de las muestras de suelos de los sitios húmedo y semiárido. En la Tabla 2.3, se identificaron morfo-taxonómicamente las esporas de HMA presentes en el inóculo aislado a partir de plantas trampa. En ambos sitios se observaron tres especies compartidas: *Funneliformis mosseae*, *Rhizophagus intraradices* y *Claroideoglopus etunicatum*; dos especies exclusivas de CB, *Septoglopus constrictum* y *Rhizophagus clarus*; y dos especies exclusivamente en PL, *Clareidoglopus claroideum* y *Diversispora spurca* (Fig. 2.10).

La única especie encontrada en ambos inóculos que coincidió con las especies encontradas en suelo (sólo en el suelo de CB), fue *Rhizophagus intraradices*. Las demás especies fueron identificadas en uno o en ambos sitios, pero exclusivamente en suelos (Tabla 2.2) o en inóculos (Tabla 2.3). Estos resultados reafirman la necesidad de complementar la identificación de HMA en suelo con su propagación mediante plantas trampa, que permitan identificar HMA con bajo número de esporas en los suelos.

Tabla 2.3: Identificación morfo-taxonomía de las especies de HMA de Padre Lozano y Colonia Benítez aislados y propagados en plantas trampas luego de 2 años.

Familia	Especie	Colonia Benítez	Padre Lozano
<i>Glomeraceae</i>	<i>Funneliformis mosseae</i>	+	+
	<i>Septoglo mus constrictum</i>	+	-
	<i>Rhizophagus intraradices</i>	+	+
	<i>Rhizophagus clarus</i>	+	-
<i>Claroideoglomeraceae</i>	<i>Claroideoglo mus etunicatum</i>	+	+
	<i>Claroideoglo mus claroideum</i>	-	+
	<i>Diversisporaceaea</i>	<i>Diversispora spurca</i>	-

Referencias: (+) indica presencia (-) indica ausencia.

En ambos inóculos aislados de plantas trampa se registró la presencia predominante de la familia *Glomeraceae* que coincide con lo observado en ecosistemas semiáridos de Brasil (de Souza *et al.*, 2016), en ecosistemas semiáridos del estado de Oaxaca, México (Carballar –Hernández *et al.*, 2013) y en un estudio de la influencia del pastoreo en plantas del desierto en el cual se reportó una diversidad de 13 especies, la mayoría de ellas de la familia *Glomeraceae* (Ba *et al.*, 2012). La identificación de familias de HMA como *Glomeraceae* y *Claroideoglomeraceae* coincide con estudios realizados en pastizales semiáridos (Xu *et al.*, 2017). Los miembros de la familia *Glomeraceae* son capaces de producir grandes cantidades de esporas en periodos cortos de tiempo y regular su crecimiento como parte de las funciones como hospedante. Estas, características corresponden a especies con estrategias de tipo R, como ser generalistas y con gran producción de propágulos que garantizan la supervivencia de la especie en el sitio (Chagnon *et al.*, 2013), por lo que suele ser dominante en áreas perturbadas de diversos ambientes dominantes desde estepas (Ba *et al.*, 2012), praderas de pastizales (Stover *et al.*, 2012) y bosques de sabanas, hasta humedales y selvas (Brundrett y Ashwath, 2013).

En este estudio se han identificado especies de HMA como *Claroideoglossum etunicatum*, *Funnelformis mosseae* y *Rhizophagus intraradices*, frecuentemente reportadas en asociación con la vegetación de ecosistemas áridos y semiáridos de Estados Unidos de Norteamérica (Stutz *et al.*, 2000), México (Montaño *et al.*, 2012; Chimal-Sánchez *et al.*, 2015; Pezzani *et al.*, 2006) y África (Uhlmann *et al.*, 2006). El género *Rhizophagus* presenta gran tolerancia al estrés ambiental y al pastoreo (Yang *et al.*, 2013), mientras *Glomus* establece relaciones simbióticas con numerosas especies vegetales (Cai *et al.*, 2014; Mendoza *et al.*, 2002).

Funnelformis mosseae, ha sido reportada en una amplia gama de ecosistemas terrestres y se caracteriza por su ubicuidad (Davison *et al.*, 2015; Oehl *et al.*, 2010). Esta especie ha logrado sobreponerse exitosamente a las prácticas agrícolas relacionadas con la producción de soja, tales como el uso de pesticidas y la fertilización, las cuales afectan negativamente a ciertas especies de *Glomeromycota* (Schalamuk *et al.*, 2006; Druille *et al.*, 2015) y puede aprovechar las tres fuentes de inóculos: posee elevada producción de esporas, las hifas son altamente infectivas incluso en situaciones de déficit hídrico (Jasper *et al.*, 1989) y forma vesículas intrarradicales que les permite iniciar nuevas infecciones (Biermann y Linderman, 1983). Sin embargo, ha resultado sensible a altas presiones de pastoreo (Tao y Zhiwei, 2005), de forma similar a *Diversispora spurca*, que tolera bien condiciones de sequía (Soteras *et al.*, 2013). Algunas especies de *Diversispora* predominan en ambientes ricos en humus, indicando que es frecuente en suelos de bajo historial de uso antrópico (Liu *et al.*, 2015). También se encontró gran abundancia de Diversisporales en suelos de una reserva natural tropical (Saks *et al.*, 2013; Camenzind *et al.*, 2014).

Clareidoglossum etunicatum ha sido encontrado en áreas degradadas (Irrazabal *et al.*, 2005; Cabello, 2013), y resulta muy eficiente cuando las plantas están expuestas a condiciones de altos niveles de estrés ambiental (Lozano-Ruiz *et al.*, 1995).

Rhizophagus intraradices es una especie considerada nitrofílica por lo que se le encuentra con mayor frecuencia asociada a plantas leguminosas con alto contenido de nitrógeno (Barrer, 2009); en los suelos de algarrobales analizados se identificó en CB (Tabla 2.2) y en ambos sitios cuando se analizaron las plantas trampa (inóculos) (Tabla 2.3). El predominio de *Rhizophagus intraradices* en los dos sitios de muestreo puede

deberse a que dicha morfoespecie es tolerante a ambientes secos del trópico, la que ha sido reportada bajo condiciones de estrés hídrico, Marulanda *et al.* (2006, 2007).

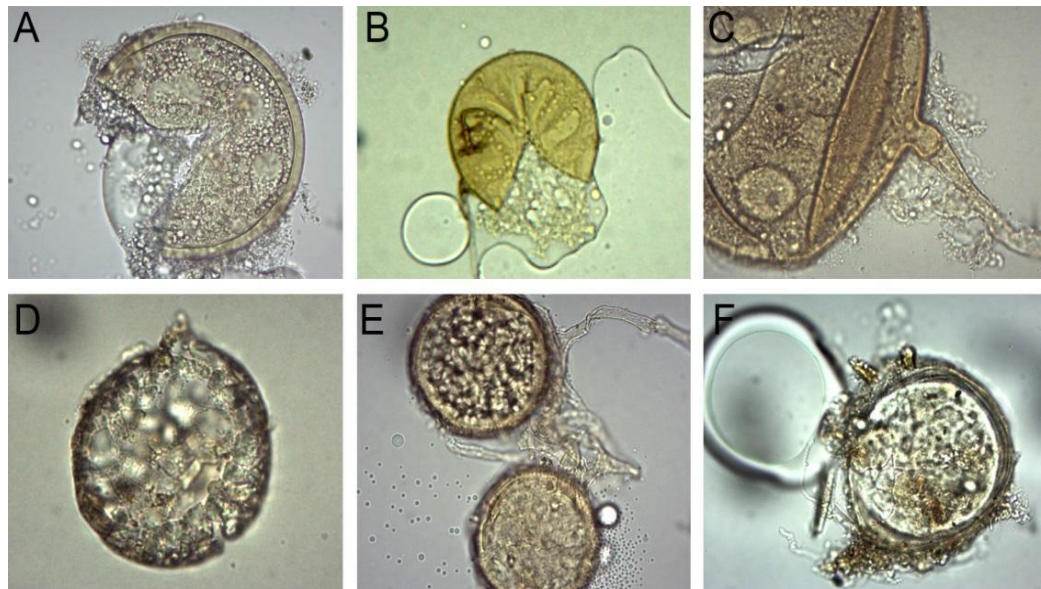


Fig. 2.10. Microfotografías de esporas pertenecientes a los inóculos mixtos de HMA, aislados con plantas trampa de alfalfa, sorgo y algarrobo blanco. CB: A) *Rhizophagus clarus*, B) *Funneliformis mosseae*, C) *Claroideoglossum etunicatum*. PL: D) *Claroideoglossum claroideum* E) *Rhizophagus intraradices*, F) *Diversispora spurca*. Las fotografías fueron tomadas con una cámara digital (Olympus modelo SP-350) en un microscopio estereoscópico (Olympus SZ61) y con un microscopio óptico (Leitzdia lux 20EB), en el Instituto Spegazzini, La Plata

La diversidad de especies de HMA en 100 sitios representativos de los matorrales xerófilos del Valle del Mezquital resultó alta (29 morfo-especies) en comparación con lo que se registró en comunidades áridas del desierto de Sonora (23 especies) (Bashan *et al.*, 2007), de Chihuahua (24 especies) (Montaño *et al.*, 2012) en México; y en las selvas tropicales lluviosas de China (27 especies) (Zhao *et al.*, 2003). En este trabajo se reporta una diversidad de especies menor (8 especies en cada sitio, considerando tanto las especies identificadas del suelo como del inóculo), similar a lo reportado por Lopes Leal *et al.* (2009), en un análisis comparativo entre diversos ecosistemas, desde pasturas hasta bosques, en el que reportan entre 5 y 14 especies por ecosistema; similar también a la

riqueza observada, de nueve especies, en el Parque Nacional de las Sierras de las Quijadas, San Luis (Argentina) (Rivero Mega *et al.*, 2014). Esta diferencia en la riqueza de especies, podría estar influenciada no sólo por las características edafoclimáticas, sino también por otros factores tales como la profundidad y los usos del suelo y la diversidad de especies vegetales (Bashan *et al.*, 2007).

El método de plantas trampa tiene la ventaja de proporcionar inoculo fresco, conteniendo una posible gama de especies representativas del hábitat muestreado; esto es importante en zonas áridas donde se ha reportado baja o nula esporulación de algunas especies de HM como un fenómeno común (Bashan *et al.*, 2007); de esta manera se puede obtener mayor información sobre la morfología de las especies en estudio, facilitando su identificación y futuras pruebas de compatibilidad con plantas de interés (Salas *et al.*, 2004). Además, esta fuente de inoculo permite separar morfotipos, debido a que las esporas son recientes y sus caracteres morfológicos son más claros y constantes; esto es una gran ventaja al comparar las esporas obtenidas en muestras ambientales, las cuales suelen tener cierto grado de degradación natural o parasitismo, dificultando su identificación por la confusión o falta de caracteres.

El tiempo de permanencia de los aislados en las plantas trampa resultó un tiempo adecuado para la colonización de especies de colonización lenta y rápida (Hart y Reader, 2002). El sistema de planta trampa seleccionado en nuestro trabajo para la multiplicación de esporas resultó apropiado, ya que los niveles de colonización micorrícica alcanzaron porcentajes de 60 % y 70 %. Sin embargo, el número de esporas presentes en el inóculo resultó bajo si lo comparamos con los ensayos de Hernández (2008), que se utilizó como inoculante de *Glycine max* L., a *Glomus hoi* que contenía 40 esporas por gramo. Por lo cual se puede inferir que las esporas no habrían constituido una fuente de inóculo exitosa y la colonización se debería fundamentalmente a las redes de micelio y fragmentos de raíces micorrizadas.

El utilizar inóculos mixtos se justifica plenamente, debido a que en condiciones naturales las plantas están expuestas a una mezcla de especies de HMA y de este modo se incrementan las posibilidades de que más de una especie fúngica colonice a la planta y eventualmente promueva su crecimiento (Van der Heijden *et al.*, 1998; Cuenca *et al.*, 2003).

CONCLUSIONES

Este es el primer estudio en Argentina en donde se mide la infectividad de los suelos y de los inóculos obtenidos de ellos y se reportan las especies de HMA autóctonas de suelos y de inóculos aislados de sitios con *P. alba* del Parque chaqueño.

Los sitios de CB (húmedo) y PL (semiárido) presentan diferencias edafoclimáticas significativas. El sitio de PL tiene las menores precipitaciones y el P es abundante en el suelo, presenta pH ácido mientras que el pH del suelo de CB es levemente alcalino. Este último, por su parte, contiene mayor concentración de sodio, considerándose un suelo salino.

Las diferencias edafoclimáticas de ambos suelos no afectan la capacidad de micorrización.

La dilución del suelo de CB muestra un incremento en el porcentaje de micorrización, sugiriendo la presencia de compuestos tóxicos o fenómenos de competencia entre especies de HMA.

En el sitio de CB se identifican especies de HMA que se adaptan a diferentes condiciones ambientales como *Funneliformis geosporum*, *Rhizophagus intraradices*, *Rhizophagus clarus* y *Entrophospora nevadensis*. Mientras que en plantas trampa de PL se identifica *Diversispora spurca* propia de suelos con alto contenido orgánico y tolerante a la sequía.

El sistema de plantas trampa es eficiente para la obtención de especies que se encuentran micorrizando raíces en el suelo, cuyas esporas no son halladas e identificadas en el suelo, también resulta útil para obtener un inóculo mixto de los suelos y es útil para la reproducción del inóculo nativo asociado a *P. alba*, ya que los porcentajes de micorrización son del 60 % al 70 %.

Ambos inóculos, provenientes de CB y PL serán utilizados para realizar, los ensayos de esta tesis doctoral.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Allen M.F. 1991. *The Ecology of Mycorrhizae*. Cambridge University Press, Cambridge, 184 pp.
- Allen M.F., Allen E.B. and Gomez-Pompa A. 2005. Effects of mycorrhizae and non-target organisms on restoration of seasonal tropical forest in Quintana Roo, Mexico: factors limiting tree establishment. *Restoration Ecology* 13:325-333.
- Alvarado A., Chavarría M., Guerrero R., Boniche J. y Navarro J. 2004. Características edáficas y presencia de micorrizas en plantaciones de teca (*Tectona grandis*) en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 28: 89-100.
- Arévalo Hernández C.O. 2016. Prospección de la densidad de esporas y colonización de micorrizas en cacao silvestre de Ucayali y Madre de Dios. Tesis para optar el título de: Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional Agraria La Molina. Facultad de Agronomía. Lima – Perú. 67 pp.
- Ba L., Ning J., Wang D., Facelli E., Facelli J.M., Yang Y. and Zhang L. 2012. The relationship between the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and grazing in a meadow steppe. *Plant and Soil* 352:143-156.
- Bainard L.D., Dai M., Furrázola Gomez E., Torres-Arias Y., Bainard J.D., Sheng M., Eilers W. and Hamel C. 2015. Arbuscular mycorrhizal fungal communities are influenced by agricultural land use and not soil type among the Chernozem great groups of the Canadian Prairies. *Plant Soil* 387: 351–362.
- Barea J.M., Palenzuela J., Cornejo P., Sánchez-Castro I., Navarro-Fernández C., López García A., Estrada B., Azcón R., Ferrol N. and Azcón-Aguilar C. 2011. Ecological and functional roles of mycorrhizas in semi-arid ecosystems of Southeast Spain. *Journal of Arid Environments* 75:1292-1301.
- Barrer S.E. 2009. El uso de hongos micorrízicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. *Facultad de Ciencias Agropecuarias. Colombia*. 7: 123-33.
- Bashan Y., Khaosaad T., Salazar B.G., Ocampo J.A., Wiemken A., Oehl F. and Vierheilig H. 2007. Mycorrhizal characterization of the boojum tree, *Fouquieria columnaris*, an endemic ancient tree from the Baja California Peninsula, Mexico. *Trees* 21: 329-335.
- Becerra A. y Cabello M. 2008. Hongos micorrízico arbusculares presentes en bosques de *Alnus acuminata* Betulaceae de la Yunga Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 43: 197-203.
- Bhatia N.P., Sundari K. and Adholeya A. 1996. Diversity and selective dominance of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. In: K. G. Mukerji (Ed). *Concepts in Mycorrhizal Research*. Kluwer Academic Publishers, pp. 133-178.

- Biermann, B. and Linderman, R.G. 1983. Use of vesicular-arbuscular mycorrhizal roots, intraradical vesicles and extraradical vesicles as inoculum. *New Phytologist* 95: 97-105.
- Błaszowski J., Kovács G.M., Gáspár B.K., Ba F. and Ryszka P. 2012. The arbuscular mycorrhizal *Paraglomus majewskii* sp. Represents distinct basal lineage in Glomeromycota. *Mycologia* 104:148–156.
- Bray R.H. and Kurtz L. 1945. Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. *Soil Science* 59: 39-46.
- Bremner J. 1965. Nitrogen availability indexes. *Methods of soil analysis, part 2*: 1324-1345.
- Brundrett M.C., Abbott L.K. and Jasper D.A. 1999. Glomalean mycorrhizal fungi from tropical Australia I. Comparison of the effectiveness and specificity of different isolation procedures. *Mycorrhiza* 8: 305-314.
- Brundrett M.C. and Ashwath N. 2013. Glomeromycotan mycorrhizal fungi from tropical Australia III. Measuring diversity in natural and disturbed habitats. *Plant and Soil* 370: 419-433.
- Cabello M. 1997. Hydrocarbon pollution: its effect on native arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). *FEMS Microbiol. Ecol.* 22: 233-236.
- Cabello M. 2013. Biodiversidad de hongos formadores de micorrizas arbusculares reportadas en Argentina. *Microbiología Agrícola: un aporte de la investigación en la Argentina*. Albanesi, Ada (edit.). 2ed. Tucumán. Magna Publicaciones 500 pp.
- Cabrera A. L. 1976. Regiones Fitogeográficas Argentinas. In *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*. (ed.) W. F. Kugler. Editorial ACME, Buenos Aires, 85 pp.
- Cai X.B., Peng Y.L., Yang M.N., Zhang T. and Zhang Q. 2014. Grassland Degradation Decrease the Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Species in Tibet Plateau. *Not. Bot. Horti. Agrobi* 42: 333-339.
- Camardelli C., Kirschbaum P., Kirschbaum A. y Fabrezi M. 2015. Monitoreo de la Degradación de Tierras en un área del Chaco Semiárido de la provincia de Salta- Temas de Biología y Geología del NOA. *Revista de Divulgación Científica del Instituto de Bio y Geociencias* 5:38-41.
- Camenzind T., Hempel S., Homeier J., Horn S., Velescu A., Wilcke W. and Rilling M.C. 2014. Nitrogen and phosphorus additions impact arbuscular mycorrhizal abundance and molecular diversity in a tropical montane forest. *Glob. Change Biol.* 20: 3546 – 3659.
- Carballar-Hernández S., Palma-Cruz F.J., Hernández-Cuevas L. and Robles C. 2013. Arbuscular mycorrhizal potential and mycorrhizal fungi diversity associated with *Agave potatorum* Zucc. In Oaxaca, México. *Ecological Research* 28: 217-226.

- Chagnon P.L., Bradley R.L., Maherali H. and Klironomos J.N. 2013. A trait-based framework to understand life history of mycorrhizal fungi. *Trends Plant Sci.*18: 484-490.
- Cheng Y., Ishimoto K., Kuriyama Y., Osaki M. and Ezawa T. 2013. Ninety-year-, but not single, application of phosphorus fertilizer has a major impact on arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Plant Soil* 365:397–407.
- Chimal-Sánchez E., García-Sánchez R. and Hernández-Cuevas L.V. 2015. Gran Riqueza de hongos micorrizógenos arbusculares en el Valle del Mezquital, Hidalgo, México. *Revista Mexicana de Micología* 41:15-26.
- Clark R.B., Zeto S.K and Zobel R.W. 1999. Arbuscular mycorrhizal fungal isolate effectiveness on growth and root colonization of *Panicum virgatum* in acidic soil. *Soil Biol. Biochem.* 31:1757-1763.
- Covacevich F., Echeverría H.E. and Aguirrezabal L.A.N. 2007. Soil available phosphorus status determines indigenous mycorrhizal colonization into field and glasshouse-grown spring wheat in Argentina. *Appl. Soil Ecol.* 35:1-9.
- Covacevich F., Marino M.A. and Echeverría H.E. 2006. The phosphorus source determines the arbuscular mycorrhizal potential and the native mycorrhizal colonization of tall fescue and wheatgrass in a moderately acidic Argentinean soil. *Eur. J. Soil Biol.* 42:127-138.
- Cruz Y., García M., León Y. and Acosta Y. 2014. Influencia de la aplicación de micorrizas arbusculares y la reducción del fertilizante mineral en plántulas de tabaco. *Cultivos Tropicales* 35:21-24.
- Cuenca G., de Andrade Z., Lovera M., Fajardo L., Meneses E., Machuca R. 2002. El uso de arbustos nativos micorrizados para la rehabilitación de áreas degradadas de la Gran Sabana, estado Bolívar, Venezuela. *Interciencia* 27:165-172.
- Cuenca G., de Andrade Z., Lovera M., Fajardo L., Meneses E., Márquez M., Machuca R. 2003. Pre-selección de plantas nativas y producción de inóculos de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) de relevancia en la rehabilitación de áreas degradadas de La Gran Sabana, estado Bolívar, Venezuela. *Ecotrópicos* 16: 27–40.
- Davison J., Moora M., Öpik M., Adholeya A., Ainsaar L., Bâ A. and et al. 2015. Global assessment of arbuscular mycorrhizal fungus diversity reveals very low endemism. *Science* 349: 970–973.
- De Souza T.A.F., Rodríguez-Echeverría S., Andrade L.A. and Freitas H. 2016. Arbuscular mycorrhizal fungi *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir from Brazilian semi-arid. *Brazilian J. Microbiol.* 47:359-366.
- Diaz G. and Honrubia M. 1993. Infectivity of mine soils from Southeast Spain. *Mycorrhiza* 4: 85-88.

- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., González L., Tablada M., Robledo C.W. 2017. Argentina Publicado en internet, disponible en <http://www.infostat.com.ar>. Activo marzo de 2017.
- Druille M., Cabello M.N., García Parisi P.A., Golluscio R.A. and Omacini M. 2015. Glyphosate vulnerability explains changes in root-symbionts propagules viability in Pampean grasslands. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 202: 48–55.
- Duponnois R., Founoune H., Masse D. and Pontanier R. 2005. Inoculation of *Acacia holosericea* with ectomycorrhizal fungi in a semiarid site in Senegal: growth response and influences on the mycorrhizal soil infectivity after 2 years' plantation. *Forest Ecology and Management* 207: 351-362.
- García I.V. and Mendoza R.E. 2008. Relationships among soil properties, plant nutrition and arbuscular mycorrhizal fungi–plant symbioses in temperate grassland along hydrologic, saline and sodic gradients. *FEMS Microbiology Ecology* 63:359-371.
- Gee G. W. and Bauder J. W. 1986. Particle-size analysis, in A. Klute (ed.) *Methods of soil analysis. Part 1. Physical and mineralogical methods*, 2.ed. Madison: ASA-SSSA, Agronomy Monograph No.9:383-411.
- Gerdemann J.W. and Nicolson T.H. 1963. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 84:679-684.
- González-Cortés J.C., Vega-Fraga M., Varela-Fregoso L., Martínez Trujillo M., Carreón-Abud Y. and Gavito M.E. 2012. Arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) communities and land use change: the conversion of temperate forests to avocado plantations and maize fields in central Mexico. *Fungal Ecol.* 5:16-23.
- Hart M.M. and Reader R.J. 2002. Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 153: 335–344.
- Hart M.M. and Reader R.J. 2005. The role of the external mycelium in early colonization for three arbuscular mycorrhizal fungal species with different colonization strategies. *Pedobiologia* 49: 269-279.
- Hazard C., Gosling P., van der Gast C.J., Doohan M.D.T., Fiona M., and Bending G.D. 2013. The role of local environment and geographical distance in determining community composition of arbuscular mycorrhizal fungi at the landscape scale. *ISME J.* 7: 498–508.
- He L., Yang H., Yu Z., Tang J., Xu L. and Chen X. 2014. Arbuscular mycorrhizal fungal phylogenetic groups differ in affecting host plants. *Ecology* 80:1142- 1149.
- Hernández C. A. F. 2008. La coinoculación *Glomus hoi* like-*Bradyrhizobium japonicum* en la producción de soya (*Glycine max*) variedad Verónica para semilla. *Cultivo Tropicales* 29: 41-45.

- Herrera-Peraza R.A., Hamel C., Fernández F., Ferrer R.L. and Furrázola E. 2011. Soil-strain compatibility: the key to effective use of arbuscular mycorrhizal inoculants? *Mycorrhiza* 21:183-193.
- Hijmans R.J., Cameron S.E., Parra J.L., Jones P.G. and Jarvis A. 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* 25: 1965-1978.
- INVAM <http://invam.caf.wvu.edu/> Davis College of Agriculture, Natural Resources and Design 4100 Agricultural Sciences Building. (Última visita el 13/6/2018).
- Irrazabal G., Schalamuk S., Velázquez M.S., Cabello M. 2005. Especies de hongos formadores de micorrizas arbusculares: nuevas citas para la República Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 40:17-22.
- Jasper D., Abbott L. and Robson A. 1989. Hyphae of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus maintain infectivity in dry soil, except when the soil is disturbed. *New Phytologist* 112: 101-107.
- Klironomos J. N. 2003. Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecology* 84: 2292–2301.
- Lara B.N. 2004. Exploración de hongos vesículo-arbusculares en el cultivo de aguacate de Estado de Michoacán. En: González-Chávez M.C., Pérez-Moreno J., Ferrera-Cerrato R., Ortega-Larrocea M.P., Carreón-Abud Y., Valencia-Cantero E., (compiladores), Resúmenes del Simposium Nacional y II Simposium Iberoamericano de la Simbiosis Micorrízica. Morelia, Michoacán, México. 18, 2106, pp.1-9.
- Lavado R. S. y Taboada M. A. 2017. Los suelos salinos y alcalinos. Manejo regional en la Argentina. Sección 2. 2-1 Génesis y propiedades de los suelos halomórficos. (eds.) Taleisnik E. y Lavado R. S. *Ambientes salinos y alcalinos de la Argentina. Recursos y aprovechamiento productivo*. Orientación Gráfica Editora - Universidad Católica de Córdoba. 624 pp.
- Liu Y., Johnson N.C., Mao L., Shi G.; Jiang S., Ma X., Du G., An L. and Feng H. 2015. Phylogenetic structure of arbuscular mycorrhizal community shifts in response to increasing soil fertility. *Soil Biol. Biochem.* 89:196-205.
- Lopes Leal P., Stürmer S.L. and Siqueira J.O. 2009. Occurrence and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in trap cultures from soils under different land use systems in the Amazon, Brazil *Braz. J. Microbiol.* 40:111–121.
- Lozano-Ruiz J.M., Azcón R. and Gomez M. 1995. Effect of Arbuscular-Mycorrhizal *Glomus* species on drought tolerance: physiological and nutritional plant responses. *Appl. Environ. Microb.* 61: 456-460.

- Lovelock C. E., Andersen K. and Morton J. B. 2003. Arbuscular mycorrhizal communities in tropical forests are affected by host tree species and environment. *Oecologia* 135:268–279.
- Lugo M. A., Anton A. M. and Cabello M. N. 2005. Arbuscular mycorrhizae in the *Larrea divaricata* shrubland at arid "Chaco", Central Argentina. *J. Agric. Tech.* 1: 163-178.
- Lugo M. A., Ferrero M., Menoyo E. Estévez M. C., Siñeriz F. and Anton A. M. 2008. Arbuscular mycorrhizal fungi and rhizospheric bacteria diversity along an altitudinal gradient in South American Puna grassland. *Microb. Ecol.* 55:705-713.
- Maherali H. and Klironomos J.N. 2007. Influence of phylogeny on fungal community assembly and ecosystem functioning. *Science* 316:1746-1748.
- Marulanda A., Azcón R. and Ruiz-Lozano J.M. 2003. Contribution of six arbuscular mycorrhizal fungal isolates to water uptake by *Lactuca sativa* plants under drought stress. *Physiol. Plant* 119:526-533.
- Marulanda A., Barea J.M. and Azcón R. 2006. An indigenous drought-tolerant strain of *Glomus intraradices* associated with a native bacterium improves water transport and root development in *Retama sphaerocarpa*. *Microb. Ecol.* 52: 670-678.
- Marulanda A., Porcel R., Barea J.M. and Azcón R. 2007. Drought tolerance and antioxidant activities in lavender plants colonized by native drought-tolerant or drought-sensitive *Glomus* species. *Microbial. Ecology* 54: 543-552.
- Martínez L.B., Pugnaire F.I. 2009. Interacciones entre las comunidades de hongos formadores de micorrizas arbusculares y de plantas. Algunos ejemplos en los ecosistemas semiáridos. *Ecosistemas* 18:44-54.
- McGonigle T.P., Miller M.H., Evans D.G., Fairchild G.L. and Swam 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.
- Mendoza R.E., Goldmann V., Rivas J., Escudero V., Pagani E., Collantes M. y Marbán L. 2002. Poblaciones de hongos micorrízicos arbusculares en relación con las propiedades del suelo y de la planta hospedante en pastizales de Tierra del Fuego. *Ecol. Austral* 12:105-116.
- Mijaluk A., Brandán de Weht C. y García Paulucci D. 2011. Micorrizas arbusculares en arbóreas nativas y en gramíneas en un sistema silvopastoril del chaco húmedo, Argentina. Segunda jornada sobre ciencias del suelo del NOA para estudiantes y jóvenes profesionales. *Biología en agronomía. Volumen 1, No. 2. Universidad Nacional de Catamarca, pp.24.*

- Montaño A.N.M., Alarcón A., Camargo-Ricalde S.L., Hernández-Cuevas L.V., Álvarez-Sánchez J., González-Chávez M.C., Gavito M., Sánchez-Gallen I., Ramos-Zapata J., Guadarrama P., Maldonado-Mendoza I.E., Castillo S., García-Sánchez R., Trejo D. and Ferrera-Cerrato R. 2012. Research on arbuscular mycorrhizae in Mexico: an historical synthesis and future prospects. *Symbiosis* 57:111-126.
- Morton J.B. 1988. Taxonomic of VA mycorrhizal fungi: classification, nomenclature and identification. *Mycotaxon* 32:267-324.
- Nelson D. and Sommers J. 1996. Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: Sparks D.L., AL Page., Helmke, P.A., Loeppert, R.H., Soluanpour, P.N., Taba *Rhizophagus tabai*, M.A., Johnston, C.T and Sumner, M.E. (ed). *Methods of soil analysis part 3: Chemical methods*. Soil Science Society of America, Inc. and American Society of Agronomy, Inc., Madison, Wisconsin, USA. pp. 961-1010.
- Omar M.B., Bolland L. and Heather W.A. 1979. PVA (polivinil alcohol). A permanent mounting medium for fungi. *Bull. Brit. Mycol. Soc.* 13: 31-32.
- Pérez C.A., Rojas J.S. y Montes D.V. 2011. Hongos formadores de micorrizas arbusculares: Una alternativa biológica para la sostenibilidad de los agroecosistemas de praderas en el Caribe colombiano. *Rev. Colombiana Cienc. Anim.* 3:366-385.
- Pezzani F., Montaña C. and Guevara R. 2006. Associations between arbuscular mycorrhizal fungi and grasses in the successional context of a two-phase mosaic in the Chihuahuan Desert. *Mycorrhiza* 16: 285-295.
- Phillips J.M. and Hayman D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment to infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 55:158-161.
- Piatti C.L., Iglesias M.C. 2004. Registro y cuantificación de la presencia de micorrizas vesículo-arbusculares en suelos de algarrobales. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas*. Resumen: A-058.
- Plenchette C., Perrin R. and Duvert P. 1989. The concept of soil infectivity and a method for its determination as applied to endomycorrhizae. *Can J. Bot.* 67:112-115.
- Porcel R. and Ruiz-Lozano J.M. 2004. Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. *Journal of Experimental Botany* 55: 1743–1750.
- Rivero Mega M.S., Crespo E.M., Molina M.G. y Lugo M.A. 2014. Diversidad diferencial de esporas de Glomeromycota en la rizosfera de bromeliáceas nativas del parque nacional sierra de las Quijadas (San Luis, Argentina). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 49:317-325.

- Rodríguez G.O. 2003. Parques Nacionales en Todo es Historia, edición especial, N° 427, Bs. As. Colonia Benítez - Reserva Natural Estricta – Chaco. <http://www.patrimonionatural.com/HTML/provincias/chaco/coloniabenitez.asp>.
- Saks Ü., Davison J., Öpik M., Vasar M., Moora M. and Zobel M. 2013. Root colonizing and soil – borne communities of arbuscular mycorrhizal fungi in a temperate forest understorey. *Botany* 92:277-285.
- Salas E. 2004. Las Micorrizas y su Importancia para el Manejo y Conservación de los Árboles del Trópico. Memoria del I Congreso sobre Suelos Forestales y de Ordenación Territorial ¿Son los Suelos Forestales Diferentes? Universidad Nacional – INISEFOR. Heredia, Costa Rica, 3 pp.
- Schalamuk S. and Cabello M. 2010. Arbuscular mycorrhizal fungal propagules from tillage and no-tillage systems: possible effects on Glomeromycota diversity. *Mycologia* 102: 261–268.
- Schalamuk S., Velázquez S., Chidichimo H. and Cabello M. 2006. Fungal spore diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with spring wheat: effect of tillage. *Mycologia* 98:16-22.
- Schüßler A. and Walker C. 2010. Glomeromycota: a species list with new families and new genera. Disponible en: <http://schuessler.userweb.mwn.de /amphylo/> (última visita el 13/6/2018).
- Schüßler A., Krüger M. and Walker C. 2001. Revealing natural relationships among arbuscular mycorrhizal fungi: culture line BEG47 represents *Diversispora epigaea*, not *Glomus versiforme*. *PLoS ONE* 6: e2333.
- Sieverding E. 1991. Vesicular Arbuscular Mycorrhiza in Tropical Agrosystem. Deutsche Gesellschaft für technische Zusammenarbeit GTZ. Eschborn, Germany, 371 pp.
- Soil Quality Test Kit Guide USDA, 1999. https://www.nrcs.usda.gov /Internet/ FSE_ DOCUMENTS/ stelprdb1044790.pdf
- Soteras F., Cofré N., Bartoloni J., Cabello M., Becerra A. 2013. Hongos arbusculares (Glomeromycota) en la rizosfera de *Atriplex lampa* en dos ambientes salinos de Córdoba: influencia de la profundidad en la colonización radical y presencia de morfoespecies. *Boletín de la Sociedad Argentina Botánica* 48: 211-219.
- Stover H.J., Thorn R.G., Bowles J.M., Bernards M.A. and Jacobs C.R. 2012. Arbuscular mycorrhizal fungi and vascular plant species abundance and community structure in tallgrass prairies with varying agricultural disturbance histories. *Applied Soil Ecology* 60:61-70.
- Stutz J.C., Copeman R., Martin C.A. and Morton J.B. 2000. Patterns of species composition and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in arid regions of southwestern North America and Namibia, Africa. *Can. J. Bot.* 78:237-245.

- Sumner M.E. and Miller W. P. 1996. Ammonium Acetate (pH 7) Method. Cation Exchange. Capacity and Exchange Coefficients. Chapter 40. SSSA BOOK SERIES: 5. Methods of soil Analysis. Part 3- Chemical Methods pp.1201-1229.
- Tao L. and Zhiwei Z. 2005. Arbuscular mycorrhizas in a hot and arid ecosystem in southwest China. *Applied Soil Ecology* 29:135-141.
- Tapia-Goné J., Ferrera-Cerrato R., Varela-Fregoso L., Rodríguez-Ortiz J., Soria-Colunga J., Tiscareño-Iracheta M., Loredó-Osti C., Alcalá-Jáuregui J. y Villar-Morales C. 2010. Infectividad y efectividad de hongos micorrízicos arbusculares nativos de suelos salinos en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*). *Revista Mexicana de Micología* 31: 69-74.
- Thomas G.W. 1996. Soil pH and Soil Acidita. In: Sparks, D.L., Ed., *Methods of Soil Analysis Part 3: Chemical Methods*, SSSA Book Series 5, Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, pp.475-490.
- Toro M., Bazo I. y López M. 2008. Micorrizas arbusculares y bacterias promotoras de crecimiento vegetal, biofertilizantes nativos de sistemas agrícolas bajo manejo conservacionista. *Agronomía Tropical* 58: 215–221.
- Trejo D., Ferrera R., García R., Varela L., Lara L. y Alarcón A. 2011. Efectividad de siete consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares en plantas de café en condiciones de invernadero y campo. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 84:23- 31.
- Treseder K. K. and Allen M. F. 2002. Direct nitrogen and phosphorus limitation of arbuscular mycorrhizal fungi: a model and field test. *New Phytol.* 155: 507-515.
- Uhlmann E., Görke C., Petersen A. and Oberwinkler F. 2006. Arbuscular mycorrhizae from arid parts of Namibia. *Journal of Arid Environments* 64:221-237.
- Van Der Heijden M.G.A., Klironomos J.N., Ursic M., Moutoglis P., Streitwolf-Engel R., Boller T., Wiemken A. and Sanders I.R. 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396: 72–75.
- Varela-Cervero S., Lopez García Á., Barea J.M. and Azcón-Aguilar C. 2016. Differences in the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities promoted by different propagule forms from a Mediterranean shrubland. *Mycorrhiza* 26:489-496.
- Vogelsang K. M., Reynolds H. L. and Bever J. D. 2006. Mycorrhizal fungal identity and richness determine the diversity and productivity of a tall grass prairie system. *New Phytol.* 172:554–562.
- Walker C., Mize W. and McNabb H.S. 1982. Populations of endogenous fungi at two populations in central Iowa. *Canad. J. Bot.* 60: 2518-2529.

- Walkley A. and Black I.A. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37: 29-38.
- Xin C.H., Jianjun T., Guiye Z. and Shuijin H. 2005. Arbuscular mycorrhizal colonization and phosphorus acquisition of plants: effects of coexisting plant species. *Appl Soil Ecol.* 28:259-269.
- Xu X., Chen Ch., Zhang Z., Sun Z., Chen Y., Jiang J. and Shen Z. 2017. The influence of environmental factors on communities of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Chenopodium ambrosioides* revealed by MiSeq sequencing investigation. *Sci. Rep.* 7.
- Yang H., Schroeder-Moreno M., Giri B. and Hu S. 2018. Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Their Responses to Nutrient Enrichment. Chapter 17.B. Giri et al. (eds.), *Root Biology*, 52, pp 429-449.
- Yang W., Zheng Y., Gao C., He X., Ding Q., Kim Y. and Rui Y. 2013. The Arbuscular Mycorrhizal Fungal Community Response to Warming and Grazing Differs between Soil and Roots on the Qinghai-Tibetan Plateau. *PLoS ONE* 8(9): e76447.
- Zhao L., Versaw W.K., Liu J. and Harrison M.J. 2003. A phosphate transporter from *Medicago truncatula* is expressed in the photosynthetic tissues of the plant and located in the chloroplast envelope. *New Phytol.* 157:291-302.

CAPÍTULO 3

CARACTERIZACIÓN DE LA SIMBIOSIS ENTRE *Prosopis alba* - INÓCULOS MIXTOS DE HMA AUTÓCTONOS BAJO CONDICIONES DE RIEGO

INTRODUCCIÓN

Los HMA constituyen una estrategia promisoriosa para mejorar el crecimiento de los plantines tanto en viveros forestales, como así también, su supervivencia cuando son trasplantados a condiciones de campo (Bashan *et al.*, 2000; Kapoor *et al.*, 2008).

Se define eficiencia micorrícica como la capacidad de un endófito de influir positivamente sobre el crecimiento de la planta, aumentar el número de propágulos o mejorar la transferencia de nutrientes, siendo el resultado de la interacción fisiológica entre los simbioses (Janos, 2007). La eficiencia de la micorrización, dependiendo de las especies asociadas, se relaciona directamente con los costos netos de la simbiosis y los beneficios que obtiene la planta (Eissenstat *et al.*, 1993; Morgan *et al.*, 2005). Es decir, el gasto energético que implica la manutención del hongo se compensa cuando existen ventajas en cuanto a disponibilidad de nutrientes y uso eficiente del agua por la interacción con los HMA (Bever *et al.*, 2009; Black *et al.*, 2000). La forma de cuantificar la eficiencia micorrícica es mediante la evaluación de la respuesta de la planta hospedante en su crecimiento (RM) (Janos, 2007) y está determinada por el tipo de hongo micorrícico. En este sentido, los HMA autóctonos de un entorno determinado, pueden estar mejor adaptados a las condiciones prevalecientes, siendo más efectivos que las especies introducidas (Lambert *et al.*, 1980). En los últimos años, se ha puesto especial interés en caracterizar especies de HMA autóctonos por considerarse más efectivos como inoculantes bajo condiciones ambientales estresantes (Bothe *et al.*, 2010).

En condiciones naturales las plantas están expuestas a una mezcla de especies de HMA, de este modo se incrementan las posibilidades de que los hongos colonizan a la planta y eventualmente promuevan su crecimiento, por lo que se justifica la utilización de inóculos mixtos (Van der Heijden *et al.*, 1998; Cuenca *et al.*, 2003). Adicionalmente, los inóculos mixtos, aumentan las posibilidades de que los hongos más apropiados se hagan dominantes en la eventualidad de que las condiciones del suelo cambian con las diferentes prácticas agrícolas, forestales y en etapas sucesivas (Abbott y Gazey, 1994; Pérez *et al.*, 2011). Hoeksema *et al.* (2010) y Verbruggen y Kiers (2010) han sugerido que los beneficios de las mezclas de especies de HMA en plantas pueden ser mayores que las de especies individuales. Estos beneficios pueden ser el resultado de la diferenciación de nichos y facilitación entre las especies fúngicas (efecto de complementariedad; por ejemplo, Maherali y Klironomos (2007) o el efecto dominante de una especie en particular (efecto de selección; por ejemplo, Vogelsang *et al.* (2006)). Además existe interés por la utilización de inóculos de HMA mixtos, porque se ha reportado que la inoculación con una comunidad fúngica mixta y compleja tendría una mayor capacidad de amortiguación contra el estrés hídrico, que un solo inóculo fúngico (Caravaca *et al.*, 2005; Armada Rodríguez, 2015).

La eficiencia micorrícica está determinada por el tipo específico de suelo o sustrato, su grado de fertilidad y disponibilidad de agua (Somasundaram, 1996). En tal sentido, se han demostrado diferencias en el comportamiento de tolerancia al estrés osmótico según los HMA sean aislados desde sitios estresados o no estresados. Además se ha observado que existen diferencias en las comunidades de HMA entre diferentes continentes y zonas climáticas (Öpik *et al.*, 2006; Öpik *et al.*, 2013). Esto guarda relación con la compatibilidad entre los HMA, las condiciones del suelo y la planta en la rizosfera (Öpik *et al.*, 2006; Öpik *et al.*, 2013). Recientemente, se ha observado que las cepas autóctonas están presumiblemente pre-adaptadas a las condiciones semiáridas y por lo tanto, son colonizadores competitivos en su suelo original y medio ambiente. En condiciones menos fértiles las cepas nativas resultaron ser colonizadores más eficaces, sobre todo en cuanto a la riqueza y abundancia micorrícica (Armada Rodríguez, 2015).

El aumento en la sobrevivencia de las plantas micorrizadas en campo sugieren que la recuperación de la cubierta vegetal usando plantas silvestres y hongos autóctonos es un

método viable y acorde con la comunidad a restaurar. Piotrowski *et al.* (2004), señalan que el efecto de los simbioses, en la fertilidad y retención de agua en el suelo, depende tanto del hongo como del hospedero, pudiéndose presentar una interacción altamente positiva o una pobremente efectiva, por lo que se debe establecer cuál es la mejor asociación micorrícica para buscar determinado beneficio.

Investigaciones realizadas en la interacción HMA-leñosas muestran que en *Prosopis laevigata* (Willd.) M. C. Johnst, las micorrizas son de suma importancia (Cervantes González, 2014), ya que aumentan la posibilidad de que las raíces accedan a la humedad y al fósforo, dos recursos normalmente escasos en las regiones áridas; así conforme el hongo se esparce por el suelo y coloniza nuevas raíces, transmite nutrientes a las plantas. Rivas Saavedra (2012), observó un efecto positivo en las variables de crecimiento (altura, diámetro y número de pinnas) y una mejor nutrición al asociarse con los HMA provenientes de la rizosfera de *Bouteloua gracilis*.

Resultados similares se encontraron en estudios realizados en invernadero por Torres (2011) y Montaña (2000), quienes reportan que *Acacia schaffneri* y *Prosopis laevigata* micorrizadas, registraron mayor altura que las plantas testigo, sugiriendo que la simbiosis micorrícica es eficiente para trasladar nutrientes y obtener un buen crecimiento en invernadero. En cuanto a la supervivencia de plantas con micorrizas de *Prosopis laevigata* presentaron un mayor número de supervivientes que las no micorrizadas. En suelo esterilizado, la inoculación de *Prosopis juliflora* dio como resultado aumentos en altura, número de hojas, diámetro del collar y producción de biomasa con o sin adiciones de P, en relación con el tratamiento no inoculado (Félix de Aguiar *et al.*, 2004). Por su parte, García Sánchez (2005), mostró que las plantas micorrizadas de *Prosopis* en condiciones de invernadero a partir de semillas tuvieron una respuesta positiva en las variables de crecimiento y en su supervivencia a la sequía a campo.

Particularmente, en la interacción *P.alba*-HMA, Scambato *et al.* (2011; 2013), realizaron algunos estudios que indicaron que la inoculación con HMA favorece la supervivencia de plántulas de *P. alba* cuando son trasplantadas a lugares más áridos y/o salinos. Sin embargo, faltan estudios más sistemáticos que muestren la eficiencia micorrícica de inóculos mixtos de HMA autóctonos, por ejemplo, de regiones pluviométricas contrastantes.

Hipótesis: La mayor eficiencia micorrícica de un inóculo mixto de HMA autóctono se relaciona con las características edafoclimáticas del sitio del que fuera aislado. Específicamente, se predice que, bajo condiciones de riego, el inóculo de HMA autóctono aislado de una región húmeda como la de CB presenta mayor eficiencia micorrícica en simbiosis con *P. alba*, comparada con el inóculo de HMA autóctono aislado de un sitio semi árido como PL.

Por lo expuesto, el objetivo general de este capítulo fue caracterizar la eficiencia micorrícica entre *P.alba*-inóculos mixtos de HMA autóctonos de sitios con regímenes pluviométricos contrastantes Parque Chaqueño Argentino, bajo condiciones de riego y como objetivos específicos, evaluar 1) variables de crecimiento, 2) colonización micorrícica y 3) contenido de nutrientes minerales bajo condiciones de riego, en la simbiosis *P.alba*-inóculos mixtos de HMA autóctonos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Evaluación del porcentaje de micorrización, variables de crecimiento y contenido de nutrientes minerales bajo condiciones de riego, en la simbiosis *P. alba*-inóculos mixtos de HMA autóctonos de sitios con regímenes pluviométricos contrastantes del Parque Chaqueño Argentino

Condiciones generales de los ensayos. El ensayo se efectuó en un experimento Trifactorial: 2 x 2 x 4 en un diseño completamente al azar. Los factores fueron: a) inóculo: PL y CB, b) plántulas micorrizadas (M) y plántulas no micorrizadas (NM) y c) tiempo de muestreo: 30, 60, 90 y 120 días. Las macetas fueron regadas a capacidad de campo (CC) durante todo el ensayo. Los ensayos fueron realizados en cámara de cría de plantas con condiciones controladas. Se fabricaron macetas sólidas de tubos PVC de 5 cm de diámetro por 50 cm de alto (para que la raíz profundice sin impedimento físico), el fondo de la maceta fue tapado con tela mosquitera de plástico y fuertemente pegado al tubo. Las

mismas fueron lavadas y esterilizadas con hipoclorito de sodio al 10 % durante 8 horas y enjuagadas antes de su uso.

El sustrato empleado en todos los ensayos consistió en la mezcla de suelo: arena (2:1 v/v), previamente tratado en autoclave dos veces durante 1 hora, con 24 horas de diferencia. El suelo usado en los experimentos contenía 4,8 ppm N-NO₃; 2,5 ppm S-SO₄; 5,9 ppm P; 3,09 % de materia orgánica; 1,79 % de carbono orgánico; 0,162 % N total; 11,1 C: N y pH de 6,7.

Las semillas de *P.alba* fueron provistas por el Banco de Germoplasma de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, de la Universidad Nacional de Córdoba, registradas bajo la denominación: R12, provenientes de estación Plaza, provincia de Chaco.

Para cada ensayo las semillas fueron desinfectadas en hipoclorito de sodio 1 % (v/v) por 5 min, se enjuagaron con abundante agua, se dejaron sumergidas en agua destilada por 24 h a temperatura ambiente para su imbibición. Luego se colocaron en bandejas con papel humedecido y cubiertas con bolsas transparentes de plástico y puestas en una cámara de germinación, (temperatura 25 °C y fotoperiodo de 16 h de luz y 8 h de oscuridad).

Las plántulas de algarrobo fueron trasplantadas en el estadio de primera hoja verdadera expandida, colocando una planta por maceta, con un sustrato esterilizado compuesto por tierra y arena en una relación 2:1.

Se define como unidad de análisis en todos los ensayos a la maceta que contiene el sustrato y una planta de *P. alba* (Fig. 3.1).

Los tratamientos de micorrización consistieron en el agregado del inóculo (obtenido según se describe en el Capítulo 2), en una dosis de 20 g, al momento del trasplante. A los plantines del lote No Micorrizado (NM), se les agregó el producto de la filtración del inóculo-suelo con todos los microorganismos propios del inóculo mixto, pero sin los hongos micorrícicos presentes en el inóculo original (Kohler *et al.*, 2008). Para ello, 20 g de inóculo se filtraron con un tamiz de 37 micrones y papel filtro Whatman No. 1, que retuvo los fragmentos de raíces, hifas y esporas de hongos micorrícicos (Mortimer *et al.*, 2008). De este modo, las diferencias observadas en los distintos tratamientos, corresponden a la presencia o ausencia de HMA (Kohler *et al.*, 2008). El riego se realizó

con agua filtrada, a fin de evitar la reducción de la población de los HMA, ya que el agua corriente posee cloro en su constitución.

Los muestreos en las plantas micorrizadas y no micorrizadas se realizaron a partir de los 30 días de inoculado, y a intervalos de 30 días, durante un período de 120 días, se seleccionaron al azar 8 plantas (planta entera, muestreo destructivo) por cada tratamiento, de un total de 128 plantas. Cuatro plantas se destinaron a evaluar los parámetros de crecimiento. Y en las cuatro plantas restantes, se evaluó el contenido de nutrientes minerales (iones) en la parte aérea y en la raíz, el porcentaje de micorrización.



Fig. 3.1. Detalle de las macetas utilizadas (macetas sólidas de tubos PVC de 5 cm de diámetro por 50 cm de alto) y las plántulas de *P. alba* recién trasplantadas, colocando una planta por maceta.

Evaluación variables de crecimiento bajo condiciones de riego, en la simbiosis *P. alba*-inóculos mixtos de HMA autóctonos. Se seleccionaron al azar 4 plantas de cada uno de los tratamientos a partir de los 30 días de inoculado, y a intervalos de 30 días, durante un período de 120 días, (planta entera, muestreo destructivo) por cada tratamiento. A fin de caracterizar el efecto que produce la simbiosis con los HMA de cada uno de los inóculos mixtos en el crecimiento de *P. alba* bajo condiciones de riego, se determinaron diversas variables relacionados al crecimiento vegetativo de las plántulas:

- **Número de hojas:** se contó el número de entrenudos desde el nudo cotiledonar hasta el último foliolo totalmente expandido a los 30, 60, 90 y 120 días.

- **Longitud del tallo:** se midió la altura del tallo desde el cuello (definido como la zona donde se produce la diferenciación de color entre el tallo y la raíz) hasta el ápice caulinar de la planta, con una ruleta. Los valores fueron expresados en centímetros.

- **Diámetro del cuello,** se midió a nivel del cuello, con un calibre digital y expresado en milímetros.

- **Longitud de la raíz:** se midió desde el cuello de la planta hasta el extremo de la raíz principal, fue determinada con una regla graduada, expresando en centímetros.

- **Peso fresco aéreo y radical:** se pesó por separado la parte aérea y la parte radical en una balanza de precisión, La parte radical, se lavó con agua y se secó con papel absorbente antes de pesarla. Los valores se expresaron en gramos.

- **Peso fresco total:** se calculó mediante la suma del peso fresco de la parte aérea y peso fresco de la parte radical, se expresó en gramos.

- **Peso seco aéreo y raíz:** el material se colocó en bolsas de papel manteniendo separadas la parte aérea y la parte radical de cada plántula. Se secaron en estufa a 70° C por 24 horas hasta obtener un peso seco constante, en una balanza de precisión. Los valores se expresaron en gramos.

- **Peso seco total:** se calculó mediante la suma del peso seco del tallo y el peso seco de la raíz. Los valores se expresaron en gramos.

Evaluación del porcentaje de micorrización bajo condiciones de riego, en la simbiosis *P. alba*-inóculos mixtos de HMA autóctonos. Las plantas inoculadas y no inoculadas de cada uno de los tratamientos se extrajeron en un muestreo destructivo a partir de los 30 días de inoculado, y a intervalos de 30 días, durante un período de 120 días. Para lo cual se seleccionaron al azar 4 plantas y se destinaron las raíces para evaluar el porcentaje de micorrización. Se siguió según una modificación de la metodología propuesta por Phillips y Hayman (1970), en la que se omitió el uso de fenol en los reactivos y los tiempos fueron alargados teniendo en cuenta la constitución de la raíz. Para ello, se realizó el muestreo de todo el sistema radicular de cada plántula, se lavó cuidadosamente con agua corriente, se aclaró en KOH al 10 % durante 1 hora 15 min a 90 °C en baño maría (este procedimiento permite la digestión de las paredes y cubiertas celulares de la raíz), se enjuagaron con abundante agua corriente tres veces, se les colocó peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 10 % durante cinco minutos (blanqueo) para eliminar los residuos de pigmentos que pudieran afectar la observación, y se retiró la solución. Luego, se le agregó HCL al 1 % durante 1 hora a temperatura ambiente (neutraliza y prepara a las raíces para la entrada del colorante), se retiró la solución y se les colocó azul de anilina (0,05 % en lactoglicerol) para su tinción, durante 15 min en baño maría a 92 °C se lavaron las raíces teñidas cuidadosamente con agua corriente y se las colocó en tubos con el agregado de ácido láctico hasta tapar las raíces, las cuales se conservaron en heladera hasta la realización de los preparados. Los preparados para cada planta se hicieron por quintuplicado y se observaron a microscopio óptico, la determinación de la colonización micorrícica se realizó mediante la técnica de McGonigle *et al.* (1990).

Evaluación del contenido de nutrientes minerales (iones) bajo condiciones de riego, en la simbiosis *P. alba*-inóculos mixtos de HMA autóctonos. De las plantas muestreadas para la determinación del porcentaje de micorrización, se utilizó la parte aérea para la determinación del contenido de nutrientes minerales.

Los extractos de hoja se determinaron por cromatografía iónica con conductimetría, según Cataldi *et al.* (2003). El tejido vegetal (100 mg de peso fresco) se homogeneizó en nitrógeno líquido hasta obtener un polvo fino. Se resuspendió con agua milli-Q hasta 2 ml. Todas las muestras se agitaron en vortex por 15 min y luego se centrifugaron a 3.000 rpm

por 10 min. Se filtró el sobrenadante con un filtro de nylon 0,22 μm de diámetro de poro. La corrida se realizó en el equipo HPLC Shimadzu A20 con horno e inyector automático de capacidad máxima 100 μL . El detector es un conductímetro. La columna fue Shim-pack IC-SA3 con precolumna. La fase móvil que se utilizó Na_2CO_3 3,6 mM, desgasificada con sonicador. La temperatura de corrida fue 45 °C.

Análisis estadístico

El ensayo se realizó con un experimento Trifactorial: 2 x 2 x 4 en un diseño completamente al azar. Los factores fueron: a) inóculo: PL y CB, b) plántulas micorrizadas (M) y plántulas no micorrizadas (NM) y c) tiempo de muestreo: 30, 60, 90 y 120 días, con riego a capacidad de campo (CC).

Se calculó la respuesta micorrícica (RM) para cada variable de crecimiento, y contenido de nutrientes minerales, variable considerada indicador de la eficiencia micorrícica, de acuerdo a la relación descrita por Cavagnaro *et al.* (2003), $\text{RM} = [(M - \text{media NM}) / \text{media NM}] \times 100$. Donde M corresponde al parámetro individual de las plantas inoculadas y la media NM corresponde a las plantas no inoculadas. Los porcentajes obtenidos fueron analizados mediante ANOVA. Las diferencias entre medias fueron comparadas con test de diferencias mínimas significativas (LSD) Fisher, con un nivel de significancia de $p \leq 0,05$. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo mediante el empleo del programa Infostat Profesional versión 2017 (Di Rienzo *et al.*, 2017).

RESULTADOS y DISCUSIÓN

Evaluación de las variables de crecimiento, porcentaje de micorrización, y contenido de nutrientes minerales bajo condiciones de riego, en la simbiosis *P. alba*-inóculos mixtos de HMA autóctonos de sitios con regímenes pluviométricos contrastantes del Parque Chaqueño Argentino

Evaluación de variables de crecimiento bajo condiciones de riego, en la simbiosis *P. alba*-inóculos mixtos de HMA autóctonos. En el presente trabajo de tesis se evaluó el efecto de la simbiosis con HMA en el crecimiento de las plántulas de *P. alba*, crecidas en presencia o ausencia de micorrizas, en riego a capacidad de campo.

La RM con respecto a dos variables de interés (diámetro de los tallos y el número de hojas) para la supervivencia, fue positiva para los dos inóculos en casi todos los tiempos medidos, lo cual indica que los tallos de plantas micorrizadas presentaron un mayor desarrollo que los de plantas no micorrizadas. A partir de los 30 días (tiempos tempranos), ambos inóculos mostraron una capacidad similar para mejorar el crecimiento de *P. alba*, con una RM positiva tanto en el diámetro como en el número de hojas (Fig. 3.2 y 3.3). Sin embargo, la RM en ambas variables, si bien continuó aumentando a los 60, 90 y 120 días de tratamiento, mostró un comportamiento diferente según los inóculos probados. El inóculo de CB aumentó significativamente ($p \leq 0,05$) la RM para el diámetro y el número de hojas (Fig. 3.2 y 3.3). Por el contrario, en las plántulas inoculadas con PL (proveniente de un sitio semiárido), la RM para el diámetro y el número de hojas fue marcadamente menor y se redujo drásticamente al alcanzar los 120 días de tratamiento en condiciones de riego normal.

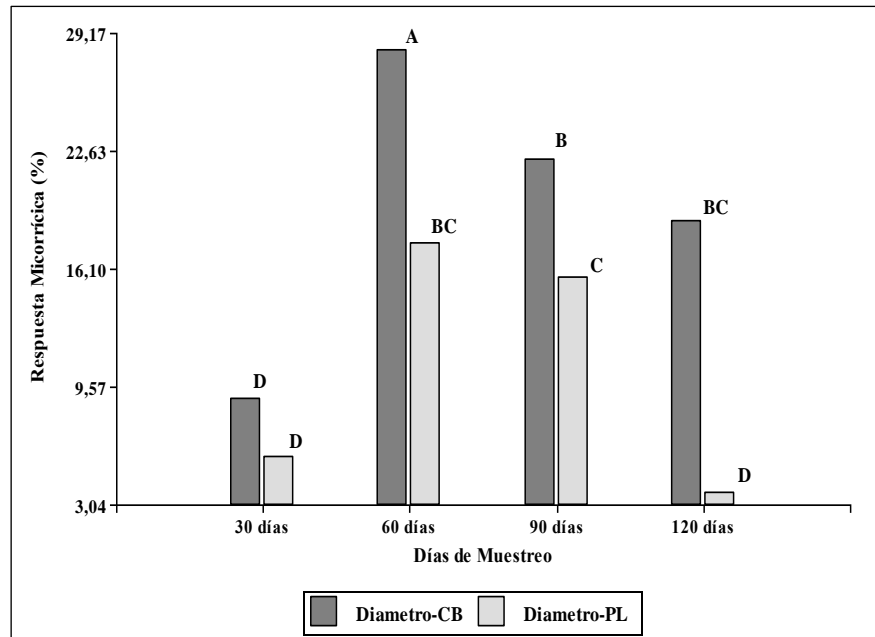


Fig. 3.2. Respuesta Micorrízica (RM) (%) a partir de la aplicación de inóculos de CB y PL en simbiosis con *P. alba*, sobre la variable: Diámetro, con riego normal (CC), a los 30, 60, 90 y 120 días. Los resultados se muestran como Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

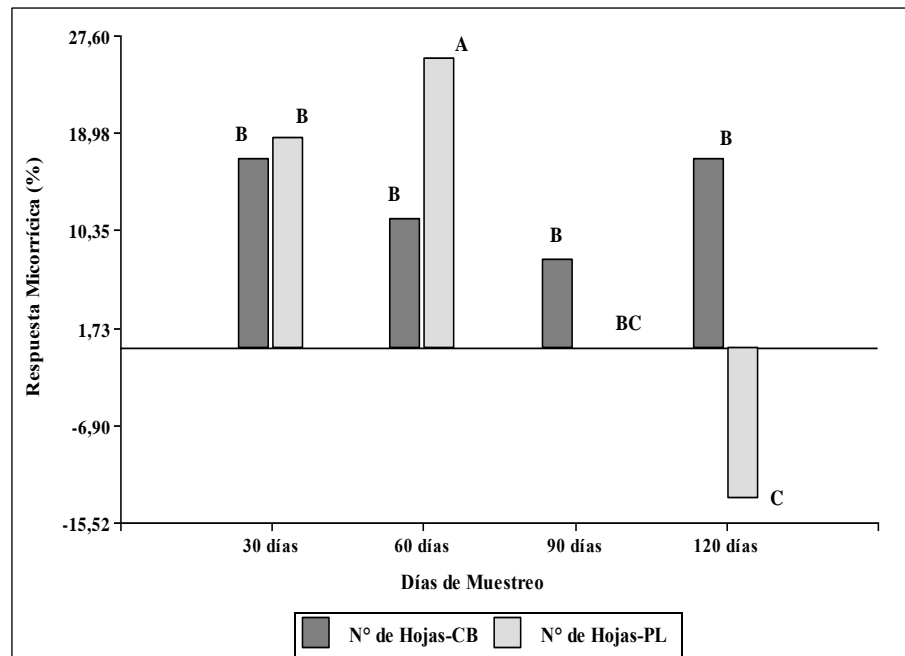


Fig. 3.3. Respuesta Micorrízica (RM) (%) a partir de la aplicación de inóculos de CB y PL en simbiosis con *P. alba*, sobre la variable: N° de hojas, con riego normal (CC), a los 30, 60, 90 y 120 días. Los resultados se muestran como Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

La evaluación de la longitud aérea y radical y total, mostró inicialmente (30 días) una respuesta negativa para las plantas inoculadas con CB, pero la RM se incrementó desde los 60 días, tanto de la parte aérea como radical, manteniéndose positiva hasta el final del ensayo (Fig. 3.4 y 3.5).

Por el contrario, las plántulas inoculadas con PL, mostraron una respuesta positiva en longitud aérea y radical y total a los 30 y 60 días post-trasplante e inoculación (Fig. 3.4 y 3.5), alcanzando el máximo a los 60 días para la longitud de la parte aérea. Luego, a los 90 días las respuestas se hicieron prácticamente nulas y a los 120 días, se observaron respuestas negativas para ambas partes vegetativas, con una gran reducción de la parte aérea en las plantas inoculadas con PL (20 % aproximadamente).

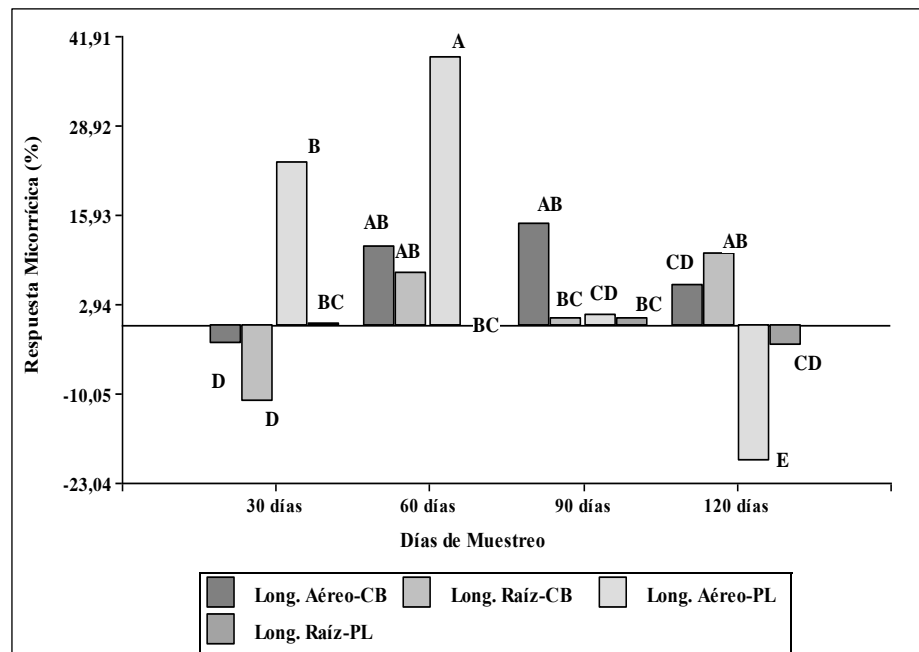


Fig. 3.4. Respuesta Micorrízica (RM) (%) a partir de la aplicación de inóculos de CB y PL en simbiosis con *P. alba*, sobre la variable: longitud aérea y radical, con riego normal (CC), a los 30, 60, 90 y 120 días. Los resultados se muestran como Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

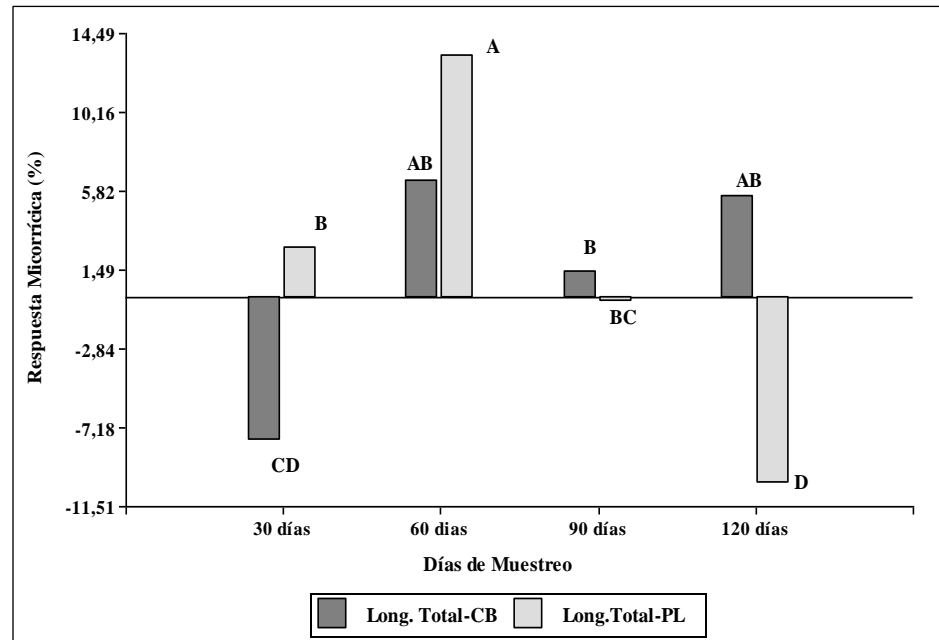


Fig. 3.5. Respuesta Micorrízica (RM) (%) a partir de la aplicación de inóculos de CB y PL en simbiosis con *P. alba*, sobre la variable: longitud total, con riego normal (CC), a los 30, 60, 90 y 120 días. Los resultados se muestran como Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

Las RM del peso fresco (Fig. 3.6) y peso seco (Fig. 3.7), como así también el peso seco total (Fig. 3.8) de las plántulas a la micorrización con CB, fueron negativas a los 30 días, tanto para el peso fresco aéreo como el radicular. A partir de los 60 días, las RM fueron en general, positivas hasta los 120 días.

Lo contrario ocurrió con las plántulas de PL que presentaron desde los 30 días una respuesta positiva, a los 60 días los porcentajes fueron los mayores, pero los mismos fueron disminuyendo hasta obtener respuestas negativas a los 120 días (Fig. 3.6, 3.7 y 3.8).

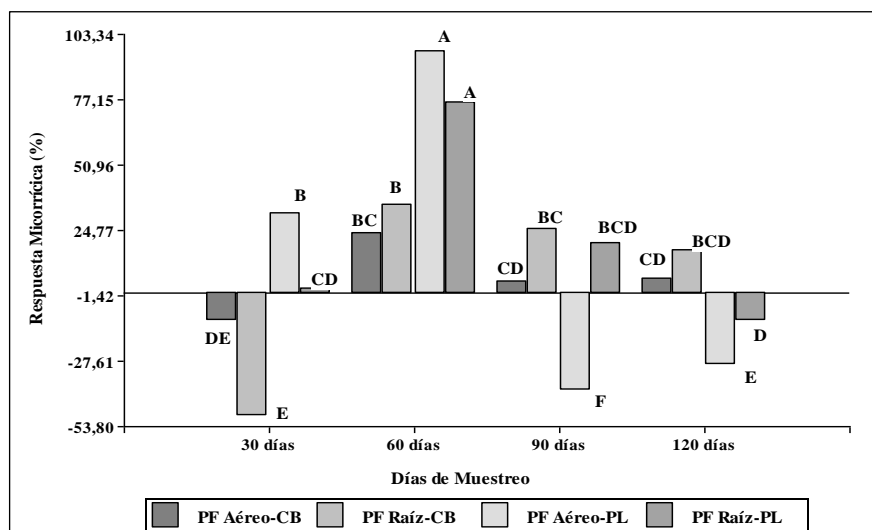


Fig. 3.6. Respuesta Micorrízica (RM) (%), de los inóculos de CB y PL en la simbiosis con *P. alba* en el peso fresco (PF) aéreo y radical, en tiempos de muestreo de 30, 60, 90 y 120 días, de la simbiosis. Letras diferentes, indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

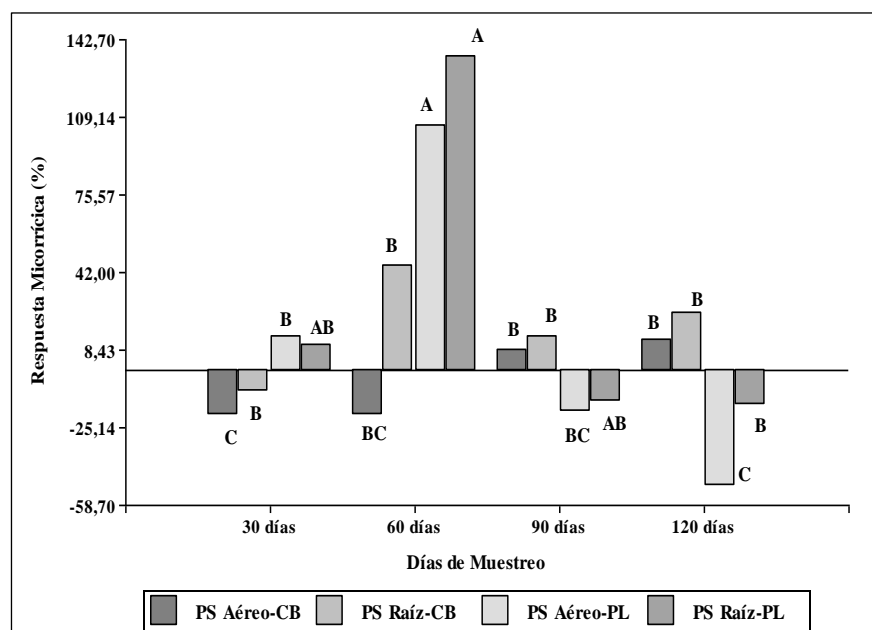


Fig. 3.7. Respuesta Micorrízica (RM) (%) a partir de la aplicación de inóculos de CB y PL en simbiosis con *P. alba*, sobre la variable: peso seco (PS) aéreo y radical, con riego normal (CC), a los 30, 60, 90 y 120 días. Los resultados se muestran como Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

Aun así, las diferencias en PF Total y PS Total a los 90 días para las plantas inoculadas con CB y PL dieron valores que fueron estadísticamente no significativos ($p > 0,05$) (B y BC), sin embargo, su RM fue positiva para CB y negativa para PL (Fig. 3.8).

Estos resultados coinciden con Montero *et al.* (2010), que para altos niveles de humedad en el sustrato, las cepas no manifestaron influencia que favoreciera el crecimiento radical, lo que se puede atribuir a que las plantas tuvieron agua disponible en el sustrato durante todo el desarrollo de su ciclo biológico para satisfacer sus necesidades hídricas.

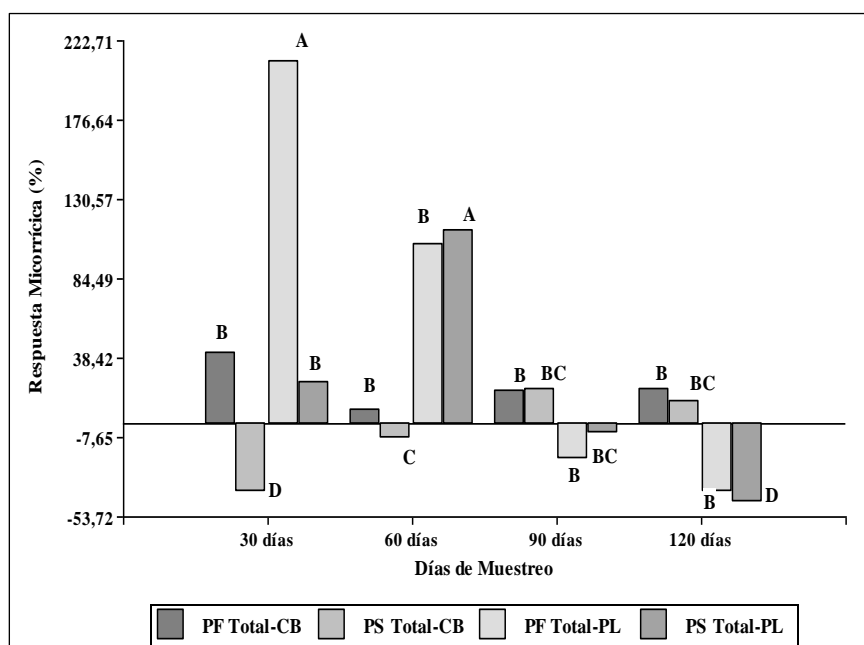


Fig. 3.8. Respuesta Micorrízica (RM) (%) a partir de la aplicación de inóculos de CB y PL en simbiosis con *P. alba*, sobre la variable: peso fresco (PF) y seco (PS) Total, con riego normal (CC), a los 30, 60, 90 y 120 días. Los resultados se muestran como Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

Evaluación del porcentaje de micorrización bajo condiciones de riego, en la simbiosis *P. alba*-inóculos mixtos de HMA autóctonos. En esta tesis doctoral se obtuvieron dos inóculos mixtos de HMA nativos de sitios pluviométricos contrastantes, los que al ser probados en simbiosis con *P. alba* en condiciones de riego, mostraron un comportamiento diferente en la colonización micorrícica.

Al evaluar las raíces de las plantas control no micorrizadas, se comprobó la ausencia de micorrización. Asimismo, al cuantificar la capacidad de micorrización de *P. alba* con ambos inóculos, se observó que las plántulas muestreadas a los 30 días, no presentaron estructuras de micorrización, tales como hifas, arbuscúlos y vesículas, probablemente a consecuencia del corto tiempo de exposición de las plantas a los inóculos. Por el contrario, se registró la aparición de estructuras características de los HMA, a los 60 días, y el porcentaje total de micorrización fue mayor para el inóculo proveniente de CB. A los 90 días de tratamiento, el porcentaje total de micorrización alcanzó su mayor aumento, el cual fue similar en ambos inóculos, manteniéndose constante hasta los 120 días.

Las plantas inoculadas con CB presentaron una temprana formación de hifas, desde los 60 y hasta los 120 días, mientras que el inóculo de PL mostró un incremento en las hifas recién a partir de los 90 días (Tabla 3.1).

Es conocido que los arbuscúlos facilitan el intercambio bidireccional de nutrientes entre las plantas y los hongos (Smith y Smith, 2011), la presencia de los mismos es crítica para la función simbiótica y se ha asociado con un aumento de la actividad metabólica en las plantas micorrizadas. Park *et al.* (2015), demostraron que la formación de arbuscúlos se relaciona con diferentes niveles de colonización y de simbiosis productiva. El inóculo de CB demostró una importante y significativa capacidad para generar arbuscúlos tempranamente, desde los 60 días de tratamiento, comparado con el inóculo proveniente de PL (Tabla 3.1). No obstante y a partir de los 90 días y hasta los 120 días de tratamiento, ambos inóculos formaron arbuscúlos con similar intensidad. La presencia y número de vesículas, fue igual en ambos inóculos, observándose tempranamente desde los 60 días y hasta el final del ensayo (Tabla 3. 1).

En general, en una misma especie, la colonización micorrícica puede ser muy variable; por ejemplo, en *Prosopis laevigata* se registró de 3,5 % hasta 53 % (Monroy-Ata *et al.*, 2007; García-Sánchez *et al.*, 2008), mientras que en *Cassia tomentosa* (Jacq.), de 41

a 76 % (García-Gallegos *et al.*, 2009). Estas diferencias en la colonización se asociaron con el origen de los inóculos de HMA analizados (García-Gallegos *et al.*, 2009). Algunos trabajos muestran que distintas especies vegetales responden diferencialmente a inóculos que provienen de localidades distintas. Por ejemplo, García-Sánchez, (2011) evaluó el efecto de inóculos de HMA procedentes de tres zonas distintas de un matorral del Valle de Mezquital, Hidalgo, México, sobre las variables de crecimiento en dos especies de leguminosas (*Prosopis laevigata* y *Mimosa biuncifera*) en condiciones de invernadero. Después de 105 días se observó en las dos especies vegetales un incremento en todas las variables de crecimiento, debido a la micorrización. A pesar de que los resultados no permitieron sugerir patrones de compatibilidad funcional entre las distintas procedencias de los HMA, se observó que los HMA produjeron efectos diferentes en ambas leguminosas. En *Cassia tomentosa* las diferencias en la colonización se asociaron con el origen de los inóculos de HMA probados (García-Gallegos *et al.*, 2009). Por otro lado, en algunas rosáceas cultivadas del género *Prunus* se han observado micorrizaciones menores al 10 % y cerca del 80 %, en función de las especies de hongos micorrícicos utilizadas (Calvet *et al.*, 2004). Ley-Rivas *et al.* (2015), evaluaron el efecto de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA), autóctonos *Glomus* sp. 1, *Glomus* sp. 2, *Glomus clarum* y *Glomus intraradices* en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L. Var., Amalia) en condiciones controladas. Las 4 cepas mostraron altos niveles de colonización micorrízica superiores al 63 %. La cepa *Glomus* sp. 1 presentó los valores estables más bajos mientras que *G. intraradices* fue más estable con los valores más altos donde destacan diferencias con el resto de los tratamientos a los 90 y 120 días.

Tabla 3.1. Caracterización de la variabilidad en el porcentaje y estructuras de colonización micorrícica arbuscular en la simbiosis *P. alba* - Inóculos de HMA de CB (Colonia Benítez) y PL (Padre Lozano) en condiciones de riego normal. Los datos son medias ($n=4$). Los valores con letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según la prueba de LSD Fisher (ANOVA, $p<0,05$).

Inóculo	Tiempo (días)	Micorrización por hifas (%)	Micorrización por arbusculos (%)	Micorrización por vesículas (%)	Micorrización total (%)
PL	30	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 d
	60	3,54 bc	0,63 cd	36,88 ab	41,05 c
	90	13,96 a	5,21 b	35,00 ab	54,17 ab
	120	15,00 a	8,54 ab	33,13 b	56,67 ab
CB	30	0,00 c	0,00. c	0,00 c	0,00 d
	60	11,67 a	4,79 bc	33,96 ab	50,42 b
	90	9,58 ab	7,09 ab	42,88 a	58,75 a
	120	11,67. a	9,59.. a	35,97 ab	57,22 ab

Referencias: A partir de 30 días de efectuado el trasplante e inoculación y en intervalos de 30 días hasta completar los 120 días

Resumiendo, nuestros resultados mostraron que ambos inóculos de HMA colonizaron en forma contrastante durante los primeros momentos del ensayo. Así a los 60 días de tratamiento, el inóculo de CB mostro una micorrización total de HMA significativamente superior al inóculo de PL, y en esta diferencia fue importante la formación de hifas y de arbusculos. De este modo, los resultados confirman y complementan lo observado en el capítulo 2, donde la cuantificación de puntos de entrada, e hifas y algunas estructuras como arbusculos y/o vesículas en las raíces infectadas con los dos inóculos de HMA, mostraban una infectividad 3,4 veces mayor en CB que en PL, sugiriendo una diferencia en la infectividad de los inóculos según el sitio de procedencia. Cabe destacar que, en función del tiempo de simbiosis, el porcentaje de micorrización fue similar para ambos inóculos.

Evaluación del contenido de nutrientes minerales (iones) bajo condiciones de riego, en la simbiosis *P. alba*-inóculos mixtos de HMA nativos. En este estudio, el pequeño tamaño de la plántula a los 30 días no permitió la evaluación del contenido de iones, por lo que la misma se realizó a partir de los 60 días. Los resultados mostraron un comportamiento diferente según el tiempo del tratamiento y el inóculo utilizado. A tiempos tempranos, 60 días, el ensayo mostró una RM positiva para el contenido de fosfatos y nitratos en el inóculo de HMA autóctonos de CB, la cual se incrementó a los 120 días, sólo para el contenido en fosfatos. Un mayor contenido de P foliar, como efecto de la inoculación, concuerda con lo expuesto por Green (1998), quien indican que este efecto es una respuesta importante producida por los micosimbiontes a nivel foliar en las plantas, ya que favorecen la fotosíntesis y actúa en el metabolismo de las plantas en forma de ATP.

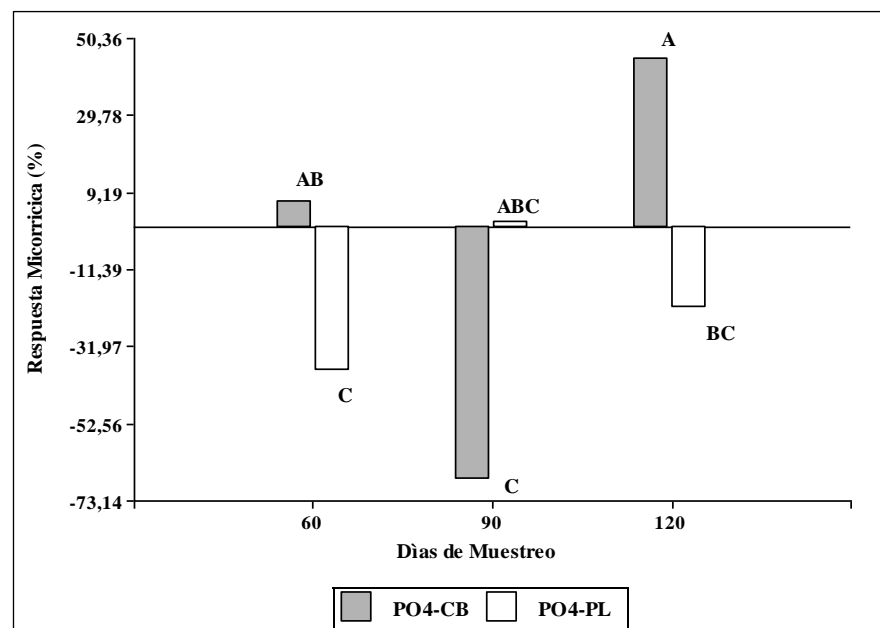


Fig. 3.9. Respuesta Micorrízica (RM) (%) a partir de la aplicación de inóculos de CB y PL en simbiosis con *P. alba*, en el contenido de fosfato foliar con riego normal (CC), a los 60, 90 y 120 días. Los resultados se muestran como Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

Por el contrario, el inóculo de PL presentó una RM negativa durante todo el ensayo para el contenido de fosfatos (Fig. 3.9) mientras que presentó una RM positiva para el contenido en nitrógeno a los 60 días (Fig. 3.10). Numerosos estudios han demostrado que la presencia de HMA hace un aporte considerable a la absorción de N por la planta a partir del suelo, habiéndose reportado casos en los cuales hasta el 42 % del N total absorbido por la planta es aportado a través de las hifas (Smith y Read, 2008).

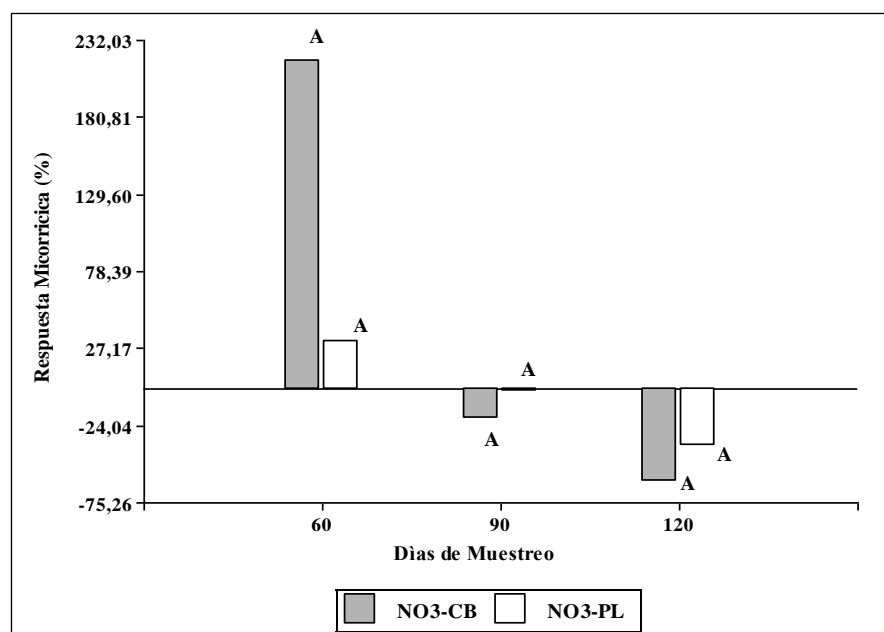


Fig. 3.10. Respuesta Micorrízica (RM) (%) a partir de la aplicación de inóculos de CB y PL en simbiosis con *P. alba*, en el contenido de nitrato foliar con riego normal (CC), a los 60, 90 y 120 días. Los resultados se muestran como Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

El alcance de los resultados obtenidos sólo permite sugerir que en la simbiosis de *P. alba* con el inóculo de PL, podría estar incrementada de algún modo la movilidad de tan importante nutriente. Aunque poco se ha estudiado sobre la nutrición del P en plantas leñosas (Rennenberg y Herschbach, 2013), existen investigaciones que muestran que en general, en la especies leñosas y en particular en el olivo, el P se recicla con facilidad a

pesar de ser un elemento inmóvil en el suelo (Kurita *et al.*, 2014; Barrelet *et al.*, 2006). La longitud de las raíces es uno de los factores más importantes en la absorción de P (Guangli *et al.*, 2009). Ensayos con diferentes cultivos en campo indican una estrecha relación entre la longitud radical y el P absorbido, mientras que en maceta, las diferencias en la absorción de P se relacionan con cambios en volumen de suelo más que con la densidad radical (Otani y Ae, 1996). En apoyo de esta idea y de la utilización de nitrógeno es de destacar que a tiempos tempranos, 60 días de tratamiento, la simbiosis *P.alba* con el inóculo de PL mostró un estímulo en todas las variables de crecimiento, incluido el PF y PS de las raíces (Fig. 3.6 y Fig. 3.10)

El contenido en sulfatos mostró una RM negativa durante todo el ensayo y tal comportamiento fue similar en ambos inóculos (Fig. 3.11).

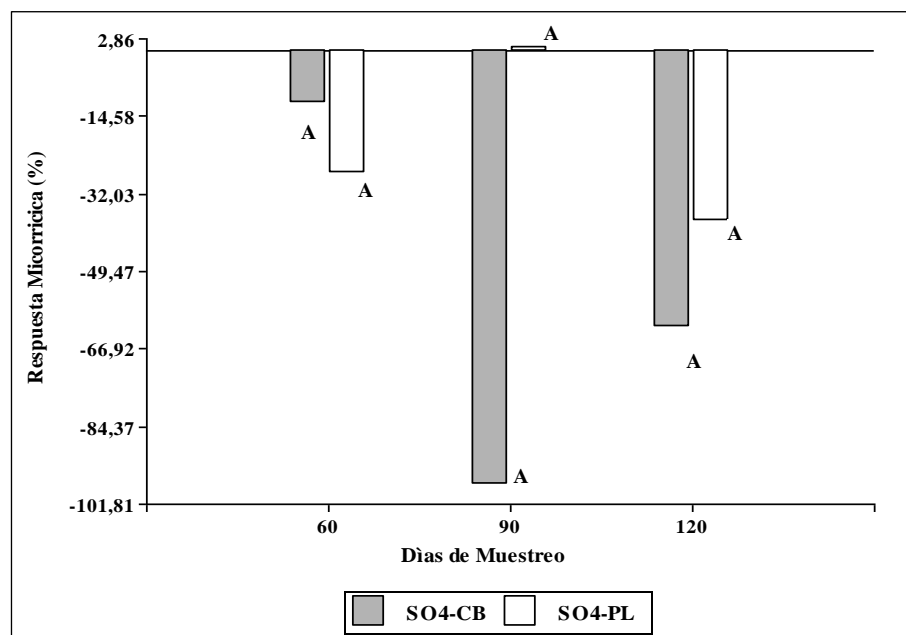


Fig. 3.11. Respuesta Micorrízica (RM) (%) a partir de la aplicación de inóculos de CB y PL en simbiosis con *P. alba*, en el contenido de sulfato foliar con riego normal (CC), a los 60, 90 y 120 días. Los resultados se muestran como Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

La eficiencia micorrícica se ha definido como la capacidad de un endófito de influir positivamente sobre el crecimiento de la planta, aumentando el número de propágulos o mejorando la transferencia de nutrientes (Janos, 2007). El establecimiento y desarrollo de las plantas, representan una etapa donde la alta demanda de nutrientes supera el suministro, lo que puede producir un déficit nutricional; por ello el rápido establecimiento de la colonización por HMA representa una alternativa en la incorporación de nutrientes en ambientes pobres (Koide, 1991; Cavagnaro *et al.*, 2014). En la simbiosis con *P.alba*, bajo condiciones de riego normal, los inóculos muestran capacidad para incrementar la eficiencia micorrícica, aumentando la RM temprana (entre los 30 y 60 días de tratamiento).

Dicho comportamiento podría estar relacionado en parte, con la presencia predominante de la familia Glomeraceae en ambos inóculos (Ver resultados del capítulo 2). Los miembros de dicha familia son capaces de producir grandes cantidades de esporas en periodos cortos de tiempo y regular su crecimiento como parte de las funciones como hospedante. Estas, características corresponden a especies con estrategias de tipo R, como ser generalistas y con gran producción de propágulos que garantizan la supervivencia de la especie en el sitio (Chagnon *et al.*, 2013). Un buen desarrollo de las plantas en sus etapas iniciales de crecimiento les confiere ventajas adaptativas, ya que al ser más vigorosas y tener sistemas radicales bien conformados serán capaces de tolerar mejor el trasplante. Diversos autores han expresado que un aumento en la biomasa representa mayores probabilidades de establecimiento exitoso en campo (González-Monterrubio *et al.*, 2005; Monroy-Ata *et al.*, 2007; Estrada-Luna y Davies, 2008), lo cual es crítico para especies destinadas a programas de restauración (Ferrari y Wall, 2004; Rondon y Vidal, 2005). Una relación eficiente entre biomasa aérea y biomasa radical (BA / BR) es un indicador de la condición de la planta, y de sus posibilidades de supervivencia, sobre todo en ambientes con limitaciones de humedad (Rodríguez Trejo, 2008).

La eficiencia de la micorrización, ha sido relacionada directamente con los costos netos de la simbiosis y los beneficios que obtiene la planta (Eissenstat *et al.*, 1993; Morgan *et al.*, 2005). A partir de los 90 días y hasta el final del ensayo, bajo condiciones de riego, el inóculo de CB, aislado de regiones más húmedas, presentó mayor eficiencia para la formación de hifas y arbusculos que el de PL. Tal efecto fue acompañado de un

incremento en la RM para el crecimiento y el contenido de nutrientes como fosfatos y nitratos en *P.alba*. Estos resultados sugieren que el gasto energético que implica la manutención del hongo, podrían ser fácilmente compensados en el inóculo de CB, cuando existen ventajas de disponibilidad de nutrientes y agua (Bever *et al.*, 2009; Black *et al.*, 2000).

Por el contrario, las plántulas en simbiosis con inóculo provenientes de PL, de zonas semiáridas, muestra solo RM positivas a tiempos cortos (30 y 60 días) en donde la provisión de agua es utilizada posiblemente para sus necesidades primarias de crecimiento. Mientras que a tiempos más largos (90 y 120 días) con riego normal, las plántulas en simbiosis presentan RM negativas para las variables de crecimiento y contenido en nutrientes, sugiriendo un mayor gasto energético destinado al mantenimiento del hongo (Bever *et al.*, 2009; Black *et al.*, 2000).

El agregado de HMA está considerado una estrategia de interés para aumentar la supervivencia en áreas degradadas (Bashan *et al.*, 2000; Hernández-Martínez *et al.*, 2006; Kapoor *et al.*, 2008). La baja especificidad en la asociación micorrícica permite que una misma especie fúngica se asocie con diferentes especies vegetales y viceversa, sin embargo la eficiencia en la interacción cambia y diferentes especies y aislados de la misma especie de HMA pueden variar bastante en su efectividad (Bethlenfalvay *et al.*, 1989), y eso puede depender del origen de las especies asociadas y de las condiciones ambientales (Bucher, 2007; Quilambo, 2003; Wu *et al.*, 2007).

Finalmente, estos resultados también podrían guardar relación con la funcionalidad de las especies de HMA encontradas en el sitio de CB, comparadas con las especies halladas en PL. En el capítulo 2, se identificaron en CB especies que se adaptan a diferentes condiciones ambientales como *Funneliformis geosporum*, *Rhizophagus intraradices*, *Rhizophagus clarus* y *Entrophospora nevadensis*. Mientras que en plantas trampa de PL se identifica *Diversispora spurca* propia de suelos con alto contenido orgánico y tolerante a la sequía. En este sentido, los HMA autóctonos de un entorno determinado, y con una mayor riqueza de especies, pueden estar mejor adaptados a las condiciones prevalecientes. Numerosas investigaciones demuestran que los inóculos mixtos, aumentan las posibilidades de que los hongos más apropiados se hagan

dominantes en la eventualidad de que las condiciones del suelo cambian (Abbott y Gazey, 1994; Pérez *et al.*, 2011; Hoeksema *et al.*, 2010; Verbruggen y Kiers, 2010).

CONCLUSIONES

Se confirma la hipótesis de que la mayor eficiencia micorrícica de un inóculo mixto de HMA autóctono se relaciona con las características edafoclimáticas del sitio del que fuera aislado.

El sistema experimental desarrollado en función del tiempo pone de manifiesto las diferencias en el comportamiento de los inóculos de HMA probados. Bajo condiciones de riego, el inóculo de HMA autóctono aislado de una región húmeda como la de CB presenta mayor eficiencia micorrícica en simbiosis con *P. alba* a partir de los 60 días y hasta el final del tratamiento, comparada con el inóculo de HMA autóctono aislado de un sitio semiárido como PL.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Abbott L.K. and Gazey C. 1994. An ecological view of the formation of VA mycorrhizas. *Plant Soil* 159: 69-78.
- Armada Rodriguez E. 2015. Efecto de microorganismos rizosféricos autóctonos (bacterias y hongos micorrízicos arbusculares) sobre la tolerancia de las plantas al déficit hídrico en zonas semiáridas: mecanismos implicados- Tesis doctoral. Universidad de Granada. 318 pp.
- Barrelet T., Ulrich A., Rennenberg H. and Krähenbühl U. 2006. Seasonal profiles of Sulphur, phosphorus and potassium in Norway spruce wood. *Plant Biol.* 8:462-469.

- Bashan Y., Davis E. A., Carrillo-Garcia A. and Linderman R.G. 2000. Assessment of mycorrhizal inoculum potential in relation to the establishment of cactus seedlings under mesquite nurse-trees in the Sonora Desert. *Applied Soil Ecology* 14: 165-175.
- Bethlenfalvay G. J., Brown M.S., Franson R.L. and Mihara L. K. 1989. The *Glycine-Glomus-Bradyrhizobium* symbiosis. IX Nutritional, morphological and physiological responses of nodulated soybean to geographic isolates of the mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Physiol. Plantarum* 76: 226-232.
- Bever J.D., Richardson S.C., Lawrence B.M., Holmes J. and Watson M. 2009. Preferential allocation to beneficial symbiont with spatial structure maintains mycorrhizal mutualism. *Ecology Letters* 12:13–21.
- Black K.G., Mitchell D.T. and Osborne B.A. 2000. Effect of mycorrhizal-enhanced leaf phosphate status on carbon partitioning, translocation and photosynthesis in cucumber. *Plant Cell & Environment* 23: 797–809.
- Bothe H., Turnau K. and Regvar M. 2010. The potential role of arbuscular mycorrhizal fungi in protecting endangered plants and habitats. *Mycorrhiza* 20: 445-457.
- Bucher M. 2007. Functional biology of plant phosphate. *New Phytologist* 173: 11–26.
- Calvet C., Estaún V., Camprubi A., Hernández-Dorrego A., Pinochet J. and Moreno M. A. 2004. Aptitude for mycorrhizal root colonization in *Prunus* root stocks. *Scientia Hort.* 100: 39-49.
- Caravaca F., Alguacil M.M., Hernández J.A. and Roldán A. 2005. Involvement of antioxidant enzyme and nitrate reductase activities during water stress and recovery of mycorrhizal *Meerut's communism* and *Phillipe angustifolia* plants, *Plant Science* 169: 191-197.
- Cataldi T., Angelotti M., D'Erchia L. and Altieri G. 2003. Ion-exchange chromatographic analysis of soluble cations, anions, and sugars in milk whey. *European Food Research and Technology* 216:75-82.
- Cavagnaro R.A., Oyarzabal M., Oesterheld M. and Grimoldi A.A. 2014. Screening of biomass production of cultivated forage grasses in response to mycorrhizal symbiosis under nutritional deficit conditions. *Japanese Society of Grassland Science, Grassland Science* 60: 178–184.
- Cavagnaro T.R., Smith F.A., Ayling S.M and Smith S.E. 2003. Growth and phosphorus nutrition of a Paris-type arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist* 157: 127-134.
- Cervantes González C. S. 2014. Establecimiento de plantas de *Prosopis laevigata* y *Agave salmiana* inoculadas con hongos micorrizógenos arbusculares en condiciones de invernadero. Tesis: Título de Biólogo. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma de México, 73 pp.

- Chagnon P.L., Bradley R.L., Maherali H. and Klironomos J.N. 2013. A trait-based framework to understand life history of mycorrhizal fungi. *Trends Plant Sci.*18: 484-490.
- Cuenca G., de Andrade Z., Lovera M., Fajardo L., Meneses E., Márquez M. y Machuca R. 2003. Pre-selección de plantas nativas y producción de inóculos de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) de relevancia en la rehabilitación de áreas degradadas de La Gran Sabana, estado Bolívar, Venezuela. *Ecotrópicos* 16: 27–40.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., González L., Tablada M. & Robledo C.W. 2017. InfoStat Versión 2017. Grupo InfoStat, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.
- Eissenstat D.M., Graham J.H., Syvertsen J.P. and Drouillard D.L. 1993. Carbon economy of sour orange in relation to mycorrhizal colonization and phosphorus status. *Annals of Botany* 71: 1–10.
- Estrada-Luna A. A. y Davies F. T. 2008. Estado nutrimental y crecimiento de plantas micropropagadas de nopal (*Opuntia albicarpa* Scheinvar cv. 'Reyna') colonizadas con tres cepas seleccionadas de endomicorrizas. In: *Micorrizas Arbusculares en Ecosistemas Áridos y Semiáridos*. N M Montaña-Arias S. L., Camargo-Ricalde R., García-Sánchez A., Monroy-Ata (eds.). Grupo Mundi-Prensa. México, pp.203-213.
- Félix de Aguiar R. L., Costa Maia L., Salcedo I. H., Valadares E., Sampaio S. and Árvore B. R. 2004. Interação entre fungos micorrízicos arbusculares e fósforo no desenvolvimento da algaroba, Viçosa-MG, 28:589-598.
- Ferrari A. E. y Wall L. G. 2004. Utilización de árboles fijadores de nitrógeno para la revegetación de suelos degradados. *Rev. Fac. Agron.* 105:63–87.
- García-Gallegos E., Gómez G., Vázquez O. G. y Zamora E. M. 2009. Respuesta de *Cassia tomentosa* desarrollada en tepetate con inoculación micorrízica bajo condiciones de invernadero. *Revista UDO Agrícola* 9: 816-825.
- García-Sánchez R. 2005. Restauración de la cubierta vegetal de los matorrales semiáridos del Valle del Mezquital, Hidalgo, México. (En línea). Cuba. Disponible en: www.dama.gov.co).
- García-Sánchez R. 2011. Diversidad funcional de los hongos micorrizógenos arbusculares de islas de recursos del Valle del Mezquital, Hidalgo. Tesis Doctoral. Colegio de Postgraduados. Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas Campus Montecillo Postgrado de Botánica. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 125 pp.
- García-Sánchez R., Monroy-Ata A., Chimal-Sánchez E. 2008. Hongos micorrizógenos arbusculares asociados a diferentes plantas y matorrales del Valle del Mezquital, Hidalgo, México. In: Montaña N.M., Camargo-Ricalde S.L., García-Sánchez R.,

- Monroy-Ata (eds.) Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos. Mundi Prensa, México, pp. 123–136.
- González-Monterrubio C., Monroy-Ata A., García-Amador E. M., Orozco-Almanza M. S. 2005. Influencia de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) en el desarrollo de plántulas de *Opuntia streptacantha* Lem. sometidas a sequía, en condiciones de invernadero. Rev. Esp. Ciencias Quím. Biól. 8: 5-10.
- Green C. 1998. Transpiration of detached leaves from mycorrhizal and non-mycorrhizal cowpea and rose plants varying abscission acid, pH, calcium and phosphorus. Mycorrhiza 8: 93-99.
- Guangli X., Tingxuan L., Xizhou Z., Haiying Y., Huagang H. and Gupta D.K. 2009. Uptake and accumulation of phosphorus by dominant plant species growing in a phosphorus mining area. J. Hazardous Materials 171:542-550.
- Hernández-Martínez M., Cetina-Alcalá V.M., González-Chávez M.C., Cervantes-Martínez C.T. 2006. Inoculación micorrízica y su efecto en el crecimiento de dos leguminosas arbóreas. Terra Latinoamericana [en línea]: [Fecha de consulta: 22 de mayo de 2018] Disponible <http://www.redalyc.org/articulo.oa>
- Hoeksema J.D., Chaudhary V.B., Gehring C.A., Johnson N.C., Karst J., Koide R., Pringle A., Zabinski C., Bever J.D., Moore J.N. *et al.* 2010. A meta-analysis of context-dependency in plant response to inoculation with mycorrhizal fungi. Ecology Letters 13: 394–407.
- Janos D. P. 2007. Plant responsiveness to mycorrhizas differs from dependence upon mycorrhizas. Mycorrhiza 17:75–91.
- Kapoor R., Sharma D. and Bhatnagar A.K. 2008. Arbuscular mycorrhizae in micropropagation systems and their potential applications. Scientia Horticulturae 116: 227-239.
- Kohler J., Tortosa G., Cegarra J., Caravaca F. and Roldan A. 2008. Impact of DOM from composted "alperujo" on soil structure, AM fungi, microbial activity and growth of *Medicago sativa*. Waste Management 28:1423-1431.
- Koide R. 1991. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. New Phytologist 117: 365-386.
- Kurita Y., Baba K., Ohnishi M., Anegawa A., Shichijo C., Kosuge K., Fukaki H. and Mimura T. 2014. Establishment of a shortened annual cycle system; a tool for the analysis of annual re-translocation of phosphorus in the deciduous woody plant (*Populus alba* L.). J. Plant Res. 127:545-551.
- Lambert D.H., Cole H.C. and Baker D.E. 1980. The role of boron in plant response to mycorrhizal infection. Plant and Soil 57:431-438.

- Ley-Rivas J.F., Sánchez J. A., Ricardo N. E., Collazo E. 2015. Efecto de cuatro especies de hongos micorrizógenos arbusculares en la producción de frutos de tomate. *Agronomía Costarricense* 39: 47-59.
- Maherali H. y Klironomos J.N. 2007. Influence of phylogeny on fungal community assembly and ecosystem functioning. *Science* 316: 1746-1748.
- Mc Gonigle T. P., Millers M. H., Evan D. G., Fairchild G. L. and Swan J. A. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 115: 495-501.
- Monroy Ata A., Estévez Torres J., García Sánchez R., Ríos Gómez R. 2007. Establecimiento de plantas mediante el uso de micorrizas y de islas de recursos en un matorral xerófilo deteriorado. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 80:49-57.
- Montaño N.M. 2000. Potencialidad de Hongos Micorrizógenos Arbusculares de las Islas de Fertilidad del Mezquite (*Prosopis laevis*) de dos agostaderos semiáridos del Valle de Actopan, México Central, enfoque ecológico para recuperar la vegetación. Tesis de Licenciatura. UNAM. 167 pp.
- Montero L., Duarte Carmen., Cun R y Cabrera J. A. 2010. Efectividad de biofertilizantes micorrízicos en el rendimiento del pimiento (*Capsicum annum* L. var. Verano 1) cultivado en diferentes condiciones de humedad del sustrato. *Cultivos Tropicales*, 31(3), 00.
- Morgan J., Bending G. and White P. 2005. Biological costs and benefits to plant–microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany* 56: 1729–1739.
- Mortimer P.E., Perez Fernandez M.A. and Valentine A.J. 2008. The role of arbuscular mycorrhizal colonization in the carbon and nutrient economy of the tripartite symbiosis with nodulated *Phaseolus vulgaris*. *Soil Biology & Biochemistry* 40: 1019–1027.
- Öpik M., Moora M., Liira J. and Zobe M. 2006. Composition of root-colonizing arbuscular mycorrhizal fungal communities in different ecosystems around the globe. *J. Ecol.* 94: 778–790.
- Öpik M., Zobel M., Cantero J.J., Davison J., Facelli J.M, Hiiesalu I., Jairus T., Kalwij J.M., Koorem K., Leal M.E. *et al.* 2013. Global sampling of plant roots expands the described molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 23:411–430.
- Otani T. and Ae N. 1996. Sensitivity of phosphorus uptake to changes in root length and soil volumen. *Agronomy J.* 88:371-375.
- Park H. J., Floss D. S., Levesque-Tremblay V., Bravo A. and Harrison M. J. 2015. Hyphal Branching during Arbuscule Development Requires Reduced Arbuscular Mycorrhiza. *Plant Physiology* 169:2774–2788.

- Pérez C.A., Rojas J.S. and Montes D.V. 2011. Hongos formadores de micorrizas arbusculares: Una alternativa biológica para la sostenibilidad de los agroecosistemas de praderas en el Caribe colombiano. *Rev. Colombiana Cienc. Anim.* 3:366-385.
- Phillips J. M. and Hayman D.S. 1970. Improves procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *T. Brit. Mycol. Soc.* 55:158-161.
- Piotrowski T., Denich J.S., Klironomos J.N., Graham J.M and Rilling M.C. 2004. The effects of arbuscular mycorrhizae on soil aggregation depend on the interaction between plant and fungal species. *New Phytol.* 164: 365-373.
- Quilambo O.A. 2003. The vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *African Journal of Biotechnology* 2: 539-546.
- Rennenberg H. and Herschbach C. 2013. Phosphorus nutrition of woody plants: many questions – few answers. *Plant Biology* 15: 785–788.
- Rivas Saavedra M. D. 2012. Translocación de fósforo y nitrógeno en dos leguminosas inoculadas con hongos micorrizógenos arbusculares (HMA), bajo condiciones de invernadero. Tesis para obtener el título de biólogo. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma de México, 76 pp.
- Rodríguez Trejo D. A. 2008. Indicadores de Calidad de Planta Forestal. Universidad Autónoma Chapingo-Mundi-Prensa, S.A. de C.V., México, D. F. México. 156 pp.
- Rondón J. y Vidal Y. 2005. Establecimiento de la cubierta vegetal en áreas degradadas (Principios y métodos). *Rev. For. Lat.* 38: 63-82.
- Scambato A.A. 2013. Influencia de la simbiosis con micorrizas arbusculares y rizobios sobre el crecimiento y la tolerancia a estrés salino en especies forestales de *Prosopis*. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina, 184 pp.
- Scambato A.A., Echeverría M., Sansberro P., Ruíz R.V. and Menéndez A.B. 2011. *Glomus intraradices* improved salt tolerance in *Prosopis alba* seedlings by improving water use efficiency and shoot water content. *Braz. J. Plant Physiol.* 22:285-289.
- Smith S.E. and Read D.J. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. 3rd ed. Elsevier/ Academic Press, Amsterdam. The Netherlands, 787 pp.
- Smith S.E. and Smith F.A. 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystems scales. *Annu. Rev. Plant Biol.* 63: 227–250.
- Somasundaram E., Srinivasan G. and Manoharan M. L. 1996. Effect of green manuring *Sesbania rostrata* and fertilizers application on chemical properties of soil and grain yield in rice–rice crop sequences. *Agricultural Journal* 83: 758–760.

- Torres A.B.A. 2011. Establecimiento de plántulas de *Acacia schaffneri* inoculadas con Hongos Micorrízicos Arbusculares bajo dos tratamientos. Tesis de Licenciatura. FES- Zaragoza UNAM, 71 pp.
- Van der Heijden M.G.A., Boller T., Wiemken A. and Sanders I.R. 1998. Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure. *Ecology* 79: 2082-2091.
- Verbruggen E., Roling W. F. M., Gamper H. A., Kowalchuk G. A., Verhoef H. A. and Van der Heijden M. G. A. 2010. Positive effects of organic farming on below-ground mutualists: large-scale comparison of mycorrhizal fungal communities in agricultural soils. *New Phytologist* 186: 968–979.
- Vogelsang K.M., Reynolds H.L. and Bever J.D. 2006. Mycorrhizal fungal identity and richness determine the diversity and productivity of a tallgrass prairie system. *New Phytol.* 172: 554-562.
- Wu Q-S., Zou Y-N., Xia R-X. and Wang M-Y. 2007. Five *Glomus* species affect water relations of *Citrus tangerine* during drought stress. *Botany Studies* 48: 147-154.

CAPÍTULO 4

CARACTERIZACIÓN DE LA EFICIENCIA MICORRÍCICA DE LOS HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES AUTÓCTONOS EN SIMBIOSIS CON *Prosopis alba* MEDIANTE LA RESPUESTA DE MECANISMOS FISIOLÓGICOS/BIOQUÍMICOS, BAJO DIFERENTES CONDICIONES HÍDRICAS.

INTRODUCCIÓN

El agua es indispensable en la vida de las plantas e influye en su crecimiento y productividad. La poca disponibilidad de agua en el suelo puede ocasionar que la transpiración exceda el agua absorbida por las raíces, lo que se conoce como estrés hídrico (Munns y Tester, 2008). Se la puede definir como una tensión ambiental a la que está expuesta la planta, que según su intensidad, oportunidad y duración puede producir desde lesiones leves, alteraciones metabólicas, hasta la muerte de órganos y del individuo (Soriano, 1982).

La sequía afecta procesos morfológicos, fisiológicos, bioquímicos y moleculares de las plantas (Asrar y Elhindi, 2011; Habibpor *et al.*, 2011), que alteran el crecimiento, el rendimiento, la calidad y las relaciones hídricas (Abdel-Fattah *et al.*, 2002; Wu y Xia, 2006; Ibrahim *et al.*, 2011). La intensidad y duración del estrés hídrico por sequía influye en los efectos y la capacidad de las plantas para resistirlo (Song *et al.*, 2011; Luna Flores *et al.*, 2012), Los efectos de la sequía en el crecimiento de las plantas dependen de varios

factores, como la resistencia genética de las plantas, la etapa de crecimiento y duración de la exposición de la planta a la sequía, etc. (Echave *et al.*, 2005).

Por lo tanto, es crucial entender los mecanismos que utilizan las plantas para responder al estrés por sequía (Vanková *et al.*, 2012). Durante el estado de plántula se experimenta mayor estrés hídrico porque los individuos aún no han desarrollado un sistema radicular extenso ni profundo y su acceso al agua del suelo es limitado (Tyree *et al.*, 2003; Lüttge, 2007). Esta etapa condiciona el establecimiento de las especies vegetales ya que el estrés hídrico puede provocar su muerte; por ello es necesario estudiar sus respuestas fisiológicas y morfológicas ante condiciones de baja humedad del suelo (Cregg, 2004).

La distribución de biomasa, crecimiento y área foliar bajo condiciones de sequía ha sido ampliamente estudiada en cultivos agrícolas. En un estudio realizado en *Barleria lupulina*, planta arbustiva de ciclo perenne, bajo tres regímenes de riego, se encontró que el estrés hídrico afectó la distribución de asimilados. La relación área foliar (RAF) y el área foliar específica, disminuyeron en las plantas bajo estrés hídrico severo (Paz *et al.*, 2003).

En otro estudio realizado en plantas de *Prosopis argentina* y *Prosopis alpataco* bajo condiciones de estrés hídrico, Villagra y Cavagnaro (2006) encontraron una disminución en la biomasa total y por componentes (biomasa de hojas, tallos y raíces) en las plantas sometidas a estrés hídrico.

Delatorre (1996), observó que tanto el volumen radicular como el área foliar de plantas de dos años de edad de *Prosopis chilensis* (Mol) Stuntz y *Prosopis tamarugo* (Phil), disminuyen con el déficit hídrico, siendo la última variable la más afectada. Probablemente esto es una respuesta de adaptación de las plantas, a fin de disminuir el área foliar reduciendo con esto las pérdidas de agua por transpiración. Por su parte, López Lauenstein *et al.* (2005) reportan que, bajo condiciones óptimas de humedad del suelo, *P. chilensis* es el que muestra mayor crecimiento, comparado con el menor crecimiento de *P. flexuosa*. Cuando a *P. flexuosa* se lo somete a condiciones de estrés moderado, pierde sus hojas como *P. chilensis*, pero a diferencia de éste, el consumo de agua disminuye significativamente y su crecimiento se ve sumamente afectado. Estas observaciones se corresponderían con una estrategia de resistencia frente a la falta de agua a través del cierre estomático para, posiblemente, una mejor recuperación frente a una lluvia.

Numerosas investigaciones muestran que la simbiosis con HMA puede mitigar tanto el estrés abiótico como el biótico en las plantas (Smith y Read, 2008). Específicamente, existen diversas estrategias entre las que se encuentra la interacción con HMA que les permiten a las plantas crecer y desarrollarse en ambientes propensos a la sequía (Ashraf, 2010; Gianinazzi *et al.*, 2010), mejorando su aptitud (Goh *et al.*, 2013; Schouteden *et al.*, 2015; Doty, 2016).

En la búsqueda de soluciones sustentables a los daños observados en plantas expuestas a ambientes estresantes como los áridos y semiáridos, Camargo-Ricalde *et al.* (2003) y García-Sánchez *et al.* (2008) indicaron que los HMA pueden ser un componente microbiano importante para la mitigación de esos efectos perjudiciales. Dicha capacidad se ha relacionado con una mayor provisión de nutrientes y absorción de agua (Smith y Read, 2008; Harris-Valle *et al.*, 2009; Zaouchi *et al.*, 2013; Cruz Hernández *et al.*, 2014). En general, la baja disponibilidad de agua en el suelo, limita la asimilación de nutrientes, en especial, los de baja movilidad como el fósforo (Barea *et al.*, 2011). Al respecto, González-Chávez *et al.* (2008) sugirieron que en este tipo de ecosistemas, las plantas requieren asociarse con los HMA, como una estrategia ecológica para solventar la demanda de nutrientes esenciales. De este modo, aumentan las probabilidades de éxito en el establecimiento y sobrevivencia de las plantas ante condiciones adversas. Se ha observado que las plantas colonizadas por HMA suelen resistir mejor la sequía que las plantas no colonizadas (Augé y Moore, 2005), y que este efecto muchas veces depende de las diferentes combinaciones planta –hongo (Augé, 2001; Augé *et al.*, 2007; Subramanian *et al.*, 2006). Existe una respuesta diferencial en la planta en función del ecotipo de HMA asociado, ya que hay comunidades de HMA y plantas que están adaptadas a ciertas condiciones ambientales (Klironomos, 2003). Diferentes especies de HMA modulan diferencialmente la tasa fotosintética, la conductancia estomática y la eficiencia de uso de agua (EUA) de sus plantas hospederas bajo déficit hídrico (Augé, 2001).

Aislados de HMA nativos de una región semiárida mejoran el crecimiento, la producción, la asimilación relativa de agua y la adquisición de nutrientes en cultivos de interés comercial, en comparación con la micorrización de especies fúngicas procedentes de otros climas, lo que está relacionado con la funcionalidad de la asociación y el desarrollo del micelio en el suelo (Cho *et al.*, 2006; Davies *et al.*, 2005; Marulanda *et al.*, 2006; Seguel Fuentealba, 2014). En particular, los HMA nativos de ambientes semiáridos

incorporan agua y nutrientes más eficientemente en suelos secos, confiriéndole a la planta una mayor resistencia a la sequía (Ruíz-Lozano y Azcón, 1995; Marulanda *et al.*, 2003; Porcel y Ruíz-Lozano, 2004). Además se ha reportado que los hongos aislados de zonas áridas y semiáridas resultaron ser más efectivos frente al estrés por sequía, que las especies exóticas (Marulanda *et al.*, 2007; Estrada Luna y Davies, 2008), mientras que los exudados fúngicos promovieron la cohesión de las partículas del suelo e incrementaron la retención de agua en el sustrato (Rillig y Mummey, 2006). Particularmente, se ha visto que la micorrización con especies nativas es más efectiva para incrementar la asimilación relativa de agua y la adquisición de N⁺ y K⁺ que con las micorrizas exóticas (Augé *et al.*, 2003). En sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench cv. ‘DK40Y’] y lechuga (*Lactuca sativa* L. cv. ‘Romana’), la inoculación con hongos procedentes de regiones semiáridas incrementaron en mayor medida los niveles de P, la asimilación de agua y el crecimiento, en comparación con la inoculación de especies exóticas procedentes de una colección del INVAM (2018) (International Culture Collection of Arbuscular and Arbuscular-Vesicular Mycorrhizal Fungi) (Ruiz-Lozano y Azcón, 2000; Marulanda *et al.*, 2003; Cho *et al.*, 2006). Sin embargo, estos estudios no se han realizado en condiciones de déficit hídrico. Por ejemplo, Marulanda *et al.*, 2006 y Ruiz Lozano *et al.*, 2003 sugirieron que *Glomus intraradices* podría ser una especie candidata para utilizar en la mitigación del estrés por sequía. En trabajos en olivo, se observaron que hubo diferencias al usar HMA nativos con la cepa de referencia *Funneliformis mosseae*, y que por lo tanto, los HMA nativos deben considerarse como una herramienta biológica para mejorar la tolerancia a la sequía (Fouad *et al.*, 2014).

Estos efectos positivos tendrían relación, entre otros mecanismos, con incrementos en las defensas antioxidantes, que involucran al sistema enzimático y antioxidante no enzimático (Baslam *et al.*, 2010; Abbaspour *et al.*, 2012; Fouad *et al.*, 2014) en plantas micorrizadas. En estudios realizados en la “palmera datilera” (Benhiba *et al.*, 2015) y en *Citrus reticulata* (Sarkar *et al.*, 2016), se observó un incremento de la tolerancia a la sequía inducido por HMA, mediante el incremento de la defensa antioxidante de las plantas hospedadoras aliviando los efectos del estrés por sequía.

Una de las primeras respuestas de las plantas a la sequía es la acumulación de especies activas de oxígeno (EAO) que son responsables de muchas reacciones degenerativas tales como la peroxidación de lípidos y proteínas y la oxidación de ácidos nucleicos (Ruiz-Lozano, 2003). Es bien conocido que la tolerancia de la planta al estrés

hídrico es asociado con la reducción del daño oxidativo a través de inducción de enzimas antioxidantes (Wu *et al.*, 2006). De acuerdo con varias investigaciones, la simbiosis con HMA mejora la actividad de las enzimas antioxidantes, que ayuda a las plantas a hacer frente a las EAO generadas por el déficit hídrico (Wu *et al.*, 2006; Abbaspour *et al.*, 2012). La colonización de raíces por HMA en varias especies de plantas induce la acumulación de prolina cuando el agua es limitante (Goicoechea *et al.*, 1998; Yooyongwech *et al.*, 2013; Núñez-Vázquez *et al.*, 2017). El aminoácido prolina actualmente es considerado no solo un osmolito compatible sino también antioxidante y posible inhibidor de la muerte celular programada (Chen y Dickman, 2005).

En Argentina no existen reportes regionales que involucren el efecto de comunidades nativas o autóctonas de HMA, sobre el crecimiento y la respuesta a la sequía de plantas nativas de *P. alba* con uso potencial en estrategias de rehabilitación y restauración, de zonas marginales. En este trabajo de Tesis se evaluó el comportamiento de ambos inóculos y de su mezcla (MIX). El probar inóculos mixtos se justifica plenamente, debido a que las plantas están expuestas a una mezcla de especies de HMA las que incrementan las posibilidades de que diferentes especies fúngicas respondan a condiciones de estrés ambiental (Grümberg *et al.*, 2015). Finalmente, fue de interés, evaluar los distintos tratamientos y su relación con el alivio del daño oxidativo inducido por el estrés por sequía.

Hipótesis: La mayor eficiencia micorrícica de inóculos mixtos de HMA nativos de *P. alba* frente a la tolerancia a sequía, se relaciona con las características edafoclimáticas del sitio del que fuera aislado. Específicamente, se predice que, bajo condiciones de sequía severa, el inóculo de HMA nativo aislado de una región pluviométrica semiárida como la de PL presenta mayor eficiencia micorrícica en simbiosis con *P. alba*, y tal efecto guarda relación con una mayor capacidad para mitigar el daño oxidativo.

Por lo expuesto, el objetivo general de este capítulo fue caracterizar la simbiosis *P. alba* - hongos micorrícicos arbusculares autóctonos mediante la respuesta de mecanismos fisiológicos/ bioquímicos, bajo diferentes condiciones hídricas y como objetivos específicos: 1) Poner a punto un sistema experimental para evaluar el crecimiento de *P. alba* bajo diferentes condiciones hídricas, 2) Evaluar los inóculos de HMA autóctonos y la mezcla de ambos (MIX) sobre las variables de crecimiento de plántulas de *P. alba*

sometidas a sequía moderada y severa, 3) Determinar el porcentaje de micorrización en la simbiosis *P. alba* – inóculos mixtos de HMA autóctonos de sitios con regímenes pluviométricos contrastantes, en sequía moderada, severa y su control a capacidad de campo, 4) Evaluar la efectividad de los inóculos mixtos de HMA autóctonos y su mezcla (MIX) en simbiosis con *P. alba* frente a condiciones de sequía moderada y severa, en la mitigación del daño oxidativo y su defensa antioxidante, 5) Evaluar la efectividad de los inóculos mixtos de HMA autóctonos y su mezclas (MIX) en simbiosis con *P. alba* frente a condiciones de sequía moderada y severa, en el contenido de nutrientes minerales (iones).

MATERIALES Y MÉTODOS

Caracterizar la simbiosis *P. alba* - hongos micorrícicos arbusculares autóctonos mediante la respuesta de mecanismos fisiológicos/bioquímicos, bajo diferentes condiciones hídricas

Puesta a punto de un sistema experimental para la evaluación del crecimiento de *P. alba* bajo diferentes condiciones hídricas Este ensayo se realizó con el objetivo de evaluar el nivel de sequía (expresado como contenido hídrico del suelo (CHS) en % de la capacidad de retención de agua (Capacidad de campo=CC) capaz de provocar estrés en plántulas de *P. alba* sin inocular.

Los ensayos fueron realizados en cámara de cría de plantas con condiciones controladas. Se utilizaron las mismas macetas que en el Capítulo 3, tubos de PVC de 5 cm de diámetro por 50 cm de alto (para que la raíz profundice sin impedimento físico). Las mismas fueron lavadas y esterilizadas con hipoclorito de sodio al 10 % durante 8 horas y enjuagadas antes de su uso.

El sustrato empleado en todos los ensayos consistió en la mezcla de suelo: arena (2:1 v/v), previamente tratado en autoclave dos veces durante 1 hora, con 24 horas de diferencia. El suelo usado en los experimentos contenía 4,8 ppm N-NO₃; 2,5 ppm S-SO₄; 5,9 ppm P; 3,09 % de materia orgánica; 1,79 % de carbono orgánico; 0,162 % N total; 11,1 C: N y pH de 6,7.

Las semillas de *P.alba* fueron provistas por el Banco de Germoplasma de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, de la Universidad Nacional de Córdoba, registradas bajo la denominación: R12, provenientes de estación Plaza, provincia de Chaco.

Para cada ensayo las semillas fueron desinfectadas en hipoclorito de sodio 1 % (v/v) por 5 min, se enjuagaron con abundante agua, se dejaron sumergidas en agua destilada por 24 h a temperatura ambiente para su imbibición. Luego se colocaron en bandejas con papel humedecido y cubiertas con bolsas transparentes de plástico y puestas en una cámara de germinación, (temperatura 25 °C y fotoperiodo de 16 h de luz y 8 h de oscuridad).

Las plántulas de algarrobo fueron trasplantadas en el estadio de primera hoja verdadera expandida, colocando una planta por maceta. Se define como unidad de análisis en todos los ensayos a la maceta que contiene el sustrato y una planta de *P. alba*.

Para determinar el contenido hídrico del suelo (CHS), antes de iniciar el ensayo se registró el peso de cada una de las macetas vacías y del sustrato seco. Se regaron las macetas hasta saturación y se las dejó drenar por 24 horas. Luego se pesó cada una de las macetas, determinándose de este modo la capacidad de campo para cada una de ella (100 % CHS), equivalente a la máxima cantidad de agua capaz de retener el sustrato.

Cuando tuvieron las primeras hojas desarrolladas, las plántulas fueron trasplantadas a las macetas-tubo de PVC, con un sustrato esterilizado compuesto por tierra y arena en una relación 2:1.

Las plántulas fueron regadas con agua filtrada y cuando alcanzaron el tiempo de crecimiento (correspondiente a la micorrización del 50 %, según resultados del capítulo 3, a los 90 días), se inició la sequía, interrumpiendo el riego en la mitad de las plántulas y el resto de las mismas se siguió regando a capacidad de campo.

El nivel de sequía fue regulado pesando cada una de las macetas diariamente para controlar la disminución del CHS. Cuando el contenido hídrico del suelo (CHS) disminuyó al 50 %, 25 %, 10 % y 5 %, se realizó el muestreo (destrutivo) de las plantas sometidas a sequía y de su control a capacidad de campo y se tomaron muestras foliares y de raíz para la medición de variables de crecimiento. Las variables de crecimiento que se midieron en cada muestreo fueron: peso fresco (PF) y peso seco (PS) de la parte aérea de las plantas y de la raíz y peso total fresco y aéreo.

Caracterización de la eficiencia micorrícica de los hongos micorrícicos arbusculares autóctonos en simbiosis con *P.alba*

Evaluación de los inóculos de HMA autóctonos expresado como Respuesta Micorrícica (RM) de las variables de crecimiento de plántulas de *P. alba* sometidas a sequía moderada y severa Los ensayos fueron realizados en cámara de cría de plantas con condiciones controladas. Se utilizaron las mismas macetas que en el Capítulo 3, tubos de PVC de 5 cm de diámetro por 50 cm de alto (para que la raíz profundice sin impedimento físico). Las mismas fueron lavadas y esterilizadas con hipoclorito de sodio al 10 % durante 8 horas y enjuagadas antes de su uso.

El sustrato empleado en todos los ensayos consistió en la mezcla de suelo: arena (2:1 v/v), previamente esterilizado en autoclave dos veces durante 1 hora, con 24 horas de diferencia. El suelo usado en los experimentos contenía 4,8 ppm N-NO₃; 2,5 ppm S-SO₄; 5,9 ppm P; 3,09 % de materia orgánica; 1,79 % de carbono orgánico; 0,162 % N total; 11,1 C: N y pH de 6,7.

Las semillas de *P.alba* fueron provistas por el Banco de Germoplasma de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, de la Universidad Nacional de Córdoba, registradas bajo la denominación: R12, provenientes de estación Plaza, provincia de Chaco.

Para cada ensayo las semillas fueron desinfectadas en hipoclorito de sodio 1 % (v/v) por 5 min, se enjuagaron con abundante agua, se dejaron sumergidas en agua destilada por

24 h a temperatura ambiente para su imbibición. Luego se colocaron en bandejas con papel humedecido y cubiertas con bolsas transparentes de plástico y puestas en una cámara de germinación, (temperatura 25 °C y fotoperiodo de 16 h de luz y 8 h de oscuridad).

Las plántulas de algarrobo fueron trasplantadas en el estadio de primera hoja verdadera expandida, colocando una planta por maceta. Se define como unidad de análisis a la maceta que contiene una planta de *P. alba*.

Los tratamientos de micorrización consistieron en el agregado del inóculo, (obtenido según se describe en el Capítulo 2), en una dosis de 20 g, al momento del trasplante. A los plantines del lote No Micorrizado (NM), se les agregó el producto de la filtración del inóculo-suelo con todos los microorganismos propios del inóculo mixto, pero sin los hongos micorrícicos presentes en el inóculo original (Kohler et al., 2008). Para ello, 20 g de inóculo se filtraron con un tamiz de 37 micrones y papel filtro Whatman No. 1, que retuvo los fragmentos de raíces, hifas y esporas de hongos micorrícicos (Mortimer et al., 2008). De este modo, las diferencias observadas en los distintos tratamientos, corresponden a la presencia o ausencia de HMA (Kohler et al., 2008). El riego se realizó con agua filtrada, a fin de evitar la reducción de la población de los HMA, ya que el agua corriente posee cloro en su constitución.

El diseño de este experimento consistió en un diseño tri-factorial en bloques completamente al azar. Los factores fueron: 1) factor sitio (origen de los inóculos): Padre Lozano, Colonia Benítez y la mezcla de ambos (MIX); 2) factor micorrización con dos niveles: plantines M y NM y 3) factor riego con tres niveles: riego (control) y sequía moderada y severa al nivel detectado en el ensayo anterior (el contenido hídrico del suelo tenía el 100 % de agua, cuando llegó a una sequía moderada del 50 % y cuando la sequía fue severa del 10 %).

El estrés fue iniciado a los 90 días (previo control de la micorrización), por suspensión del riego en las macetas hasta alcanzar el CHS de 50 % y 10 % por pesada periódica de las macetas, como se describió previamente.

En cada muestreo se tomaron 10 unidades de cada tratamiento, de un total de 180 plántulas. De estas 10 plántulas, se procesaron cinco para medir las variables de

crecimiento y cinco se destinaron a medir en su parte aérea las variables del estrés oxidativo MDA, clorofila y antioxidantes no enzimáticos (FRAP), prolina y contenido de nutrientes. Y en las raíces se destinaron a la evaluación del porcentaje de micorrización.

A fin de caracterizar el efecto que produce la simbiosis con los HMA de cada uno de los inóculos mixtos y su mezcla (MIX) en el crecimiento de *P. alba*, se determinaron diversas variables relacionadas al crecimiento vegetativo de las plántulas:

- Número de hojas, longitud del tallo, diámetro del cuello, longitud de la raíz, peso fresco caulinar y radical, peso fresco total, peso seco del tallo y raíz, peso seco total (fueron determinados según se describió previamente en el Capítulo 3).

Determinación del porcentaje de micorrización en la simbiosis *P. alba* – inóculos mixtos de HMA autóctonos de sitios con regímenes pluviométricos contrastantes, en sequía moderada, severa y su control a capacidad de campo Se determinó según lo descrito en el Capítulo 3.

Evaluación de la efectividad de los inóculos mixtos de HMA autóctonos - *P. alba* frente a condiciones de sequía moderada y severa, en la mitigación del daño oxidativo y su defensa antioxidante. Las 5 plántulas de cada muestreo se procesaron en su parte aérea para medir las variables del estrés oxidativo MDA, clorofila y antioxidantes no enzimáticos (FRAP), prolina, según los siguientes protocolos:

- **Daño oxidativo**, se midió mediante la determinación del contenido de lípidos peroxidados de membrana, que se estimó mediante el contenido de sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico y se expresó como equivalentes de malondialdehído (MDA) (Hodges *et al.*, 1999). Para cada muestra se homogeneizaron 100 mg de tejido en 1 ml de etanol 80 % v/v. Se centrifugó el homogenato a 12.000 rpm x 15 min y se recuperó el sobrenadante. Se tomó una alícuota de 200 µL de sobrenadante y se le agregaron 400 µL de la mezcla de reacción de ácido tiobarbitúrico (TBA 0,65 % p/v) más ácido tricloroacético (TCA 20 % p/v) y se incubó durante 20 min a 90 °C en baño térmico. La reacción se frenó colocando los tubos en hielo. Cada reacción se hizo por triplicado y fueron medidos a 532 nm. Las mediciones se corrigieron para la turbidez inespecífica

restando la absorbancia 600 nm. Para cada muestra se realizó un control sin TBA. La concentración de MDA fue calculada utilizando un coeficiente de extensión molar de $155\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Los resultados fueron expresados en nanomoles de MDA por miligramos de peso fresco (nm/g PF).

-Contenido de clorofilas totales, se estimó mediante la extracción de hojas enteras de peso fresco las cuales se homogenizaron con nitrógeno líquido hasta obtener un polvo fino, que se suspendió en 1 o 1,5ml de etanol al 80 % v/v. El extracto se centrifugó 15 min a 12.000 rpm a 4 °C (se separaron 100 μL del sobrenadante para determinación de FRAP) y el pellet con el resto del extracto se mezcló nuevamente usando un vortex, se incubó 30 minutos a 80 °C y una vez frío se centrifugó 10 min a 12.000 rpm a 25 °C (Wintermans y De Mots, 1965).

-Defensa antioxidante, se evaluó a través del contenido en FRAP (Ferric Reducing Ability Plasma), el cual es un indicador de la capacidad antioxidante total no enzimática (Benzie y Strain, 1996). El ensayo se basa en la reducción del ion férrico a ferroso y el procedimiento implica la obtención de un extracto alcohólico del extracto vegetal, que al mezclarse con la mezcla de reacción se vuelve azul en la medida que se reduce el hierro. Las muestras (100 mg PF) se homogeneizaron en 1 ml de etanol 80 % v/v. El homogenato de cada muestra se centrifugó a 12.000 rpm x 15 min y se recuperó el sobrenadante. De este último, se colocó por triplicado de cada muestra 20 μL del sobrenadante en una placa multipocillos a los que se le agregaron 180 μL de la mezcla de reacción (5 ml buffer acetato 0,3 M; 0,5 ml TPTZ 10 mM; 0,5 ml FeCl_3 200 mM), para iniciar la reacción que fue llevada a saturación (40 minutos a 25°C). La curva de calibración se realizó con diluciones de TROLOX (62,5; 125; 187,5 y 250 μM). La absorbancia se midió a 600 nm. Los resultados fueron expresados en micromoles de hierro reducido por gramo de peso fresco ($\mu\text{M}/\text{g}$ PF).

- Contenido de prolina, se homogeneizaron 100 mg (peso fresco) de material vegetal y se incubaron en agua destilada durante 30 minutos en baño a 100 °C. Se usaron entre 700 y 1.500 μL para mantener aproximadamente una relación 1:10 P: V. Una vez frías, las muestras se centrifugaron a 12.000 rpm durante 20 minutos. El sobrenadante (150 μL) se incubó durante 20 minutos en baño a 80 °C con 1 mL de reactivo de ninhidrina (0,5 g de ninhidrina, 30 mL de ácido acético glacial y 20 mL de agua destilada), protegido de la

luz. Una vez enfriada, se adicionó a esa mezcla 2 mL de tolueno, se agitó en vortex a fin de separar la fase acuosa (superficial) de la orgánica. La fase acuosa se empleó para determinar la absorbancia a 520 nm de la fase superior, la cual se midió la absorbancia en cubeta de cuarzo y se comparó con una curva patrón de entre 5 y 20 μM de prolina (Troll y Lindsley, 1954).

Evaluación de los inóculos mixtos de HMA autóctonos en simbiosis con *P. alba* frente a condiciones de sequía moderada y severa, en el contenido de nutrientes minerales (iones). Con parte de las 5 plántulas de cada muestreo se procesaron en su parte aérea para medir

- **Contenido de nutrientes minerales**, en los extractos de hoja se determinó por cromatografía iónica con conductimetría (Cataldi *et al.*, 2003). El tejido vegetal (100 mg de peso fresco) se homogeneizó en nitrógeno líquido hasta obtener un polvo fino. Se resuspendió con agua milli-Q hasta 2 ml. Todas las muestras se agitaron en vortex por 15 min y luego se centrifugaron a 3.000 rpm por 10 min. Se filtró el sobrenadante con un filtro de nylon 0.22 μm de diámetro de poro. La corrida se realizó en un equipo HPLC Shimadzu A20 con horno e inyector automático de capacidad máxima 100 μL . El detector es un conductímetro. La columna fue Shim-pack IC-SA3 con precolumna. La fase móvil que se utilizó Na_2CO_3 3,6 mM, desgasificada con sonicador. La temperatura de corrida fue 45 °C.

Análisis estadístico

El diseño de este experimento consistió en un diseño tri-factorial en bloques completamente al azar. Definiéndose como unidad de análisis o repetición en todos los ensayos a la maceta que contiene el sustrato y una planta de *P. alba*. Los factores fueron: 1) factor sitio (origen de los inóculos): PL, CB y la mezcla de ambos (MIX), 2) factor micorrización con dos niveles: plantines M y NM y 3) factor riego con tres niveles: riego (control), sequía moderada y severa al nivel detectado en el ensayo anterior (el contenido hídrico del suelo de 100 %, una sequía moderada del 50 % y sequía severa del 10 %).

Para el ensayo de sequía, se creó una nueva variable que es “diferencia” de cada variable con la media de su control. En todos los casos, fue necesario realizar una corrección por heterogeneidad por CHS. Las medias ajustadas fueron comparadas con el test de Fisher ($p < 0,05$). Los análisis estadísticos se llevaron a cabo mediante el empleo del programa InfoStat Profesional versión 2017 (Di Rienzo *et al.*, 2017).

Para todas las variables medidas, se calculó la respuesta micorrícica (RM), como indicador de la eficiencia micorrícica, de acuerdo a la relación descrita por Cavagnaro *et al.*, (2003): $MR = [(M - \text{media NM}) / \text{media NM}] \times 100$. Donde M corresponde al parámetro individual de las plantas inoculadas y la media NM corresponde a las plantas no inoculadas. Los porcentajes obtenidos fueron analizados mediante ANOVA. Las diferencias entre medias fueron comparadas con test de diferencias mínimas significativas (LSD) Fisher, con un nivel de significancia de $p \leq 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterizar la simbiosis *P.alba* - hongos micorrícicos arbusculares autóctonos mediante la respuesta de mecanismos fisiológicos/bioquímicos, bajo diferentes condiciones hídricas

La intensidad y duración del estrés hídrico influye en los efectos y la capacidad de las plantas para resistirlo (Engelbrecht, 2001; Garau *et al.*, 2009). Consecuentemente, en este trabajo de tesis se desarrolló un sistema experimental en condiciones controladas de cámara, donde se registró la relación entre el crecimiento de *P.alba* y la disminución gradual en el contenido hídrico del suelo (CHS), buscando identificar un nivel de sequía donde plántulas de *P.alba* mostraran síntomas evidentes.

Puesta a punto de un sistema experimental para la evaluación del crecimiento de *P. alba* bajo diferentes condiciones hídricas. Entre los principales efectos del estrés hídrico sobre el crecimiento está la reducción en la altura, tallo, raíces, área foliar, peso foliar específico y biomasa de la planta (Engelbrecht, 2001; Khurana y Singh, 2004; Singh y Singh, 2006; Moreno, 2009) y estas fueron las principales variables elegidas para caracterizar la tolerancia a sequía de plántulas de *P. alba*. Los resultados obtenidos de las variables de crecimiento medidas en plantas sin inocular, sometidas a suspensión de riego, y se muestran en las Fig. 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5 y 4.6. Los resultados fueron expresados como la diferencia entre el peso obtenido en sequía y su control a CC, y en general se observó una reducción continua en los distintos parámetros de crecimiento evaluados en función de la disminución del CHS. Particularmente, la mayor diferencia en la disminución del peso fresco total, del aéreo, de la raíz y de los pesos seco total, aéreo, y de la raíz, se registró al 50 % del CHS y se mantuvo similar hasta el 25 % CHS. Tales diferencias se incrementaron al alcanzar el 10 % y el 5 % de CHS, respectivamente.

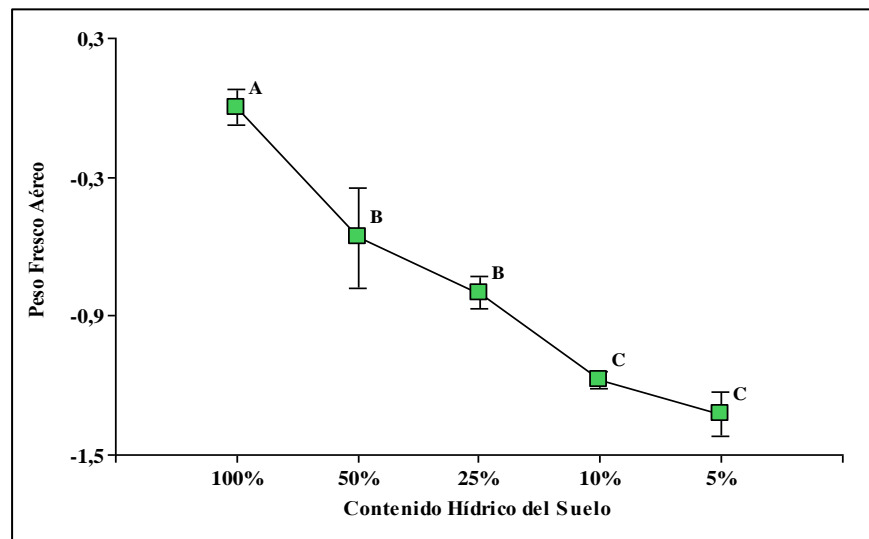


Fig. 4.1. Diferencia del peso fresco aéreo en plántulas de *P. alba* en sequía. Los resultados se muestran como Diferencia entre cada uno de los contenidos hídricos del suelo y su control a CC. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

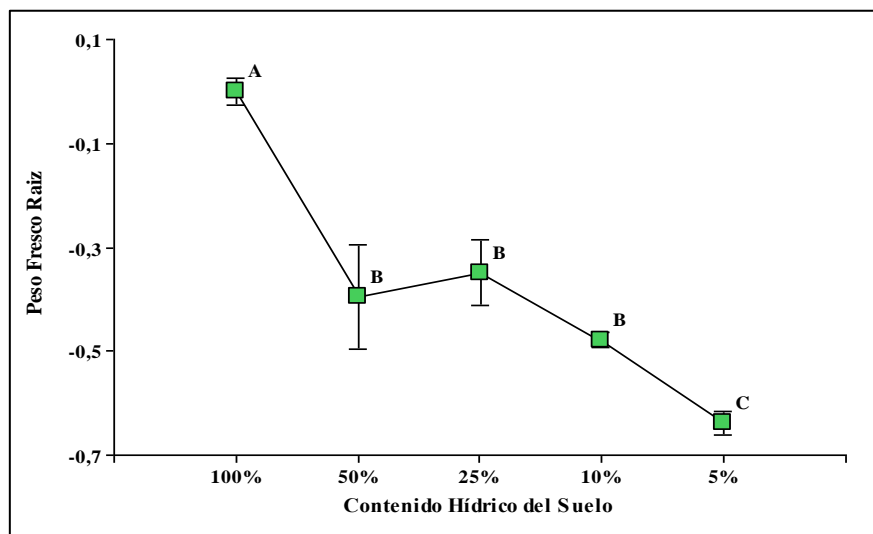


Fig. 4.2. Diferencia del peso fresco de raíz en plántulas de *P. alba* en sequía respecto del control en riego. Los resultados se muestran como Diferencia entre cada uno de los contenidos hídricos del suelo y su control a CC. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

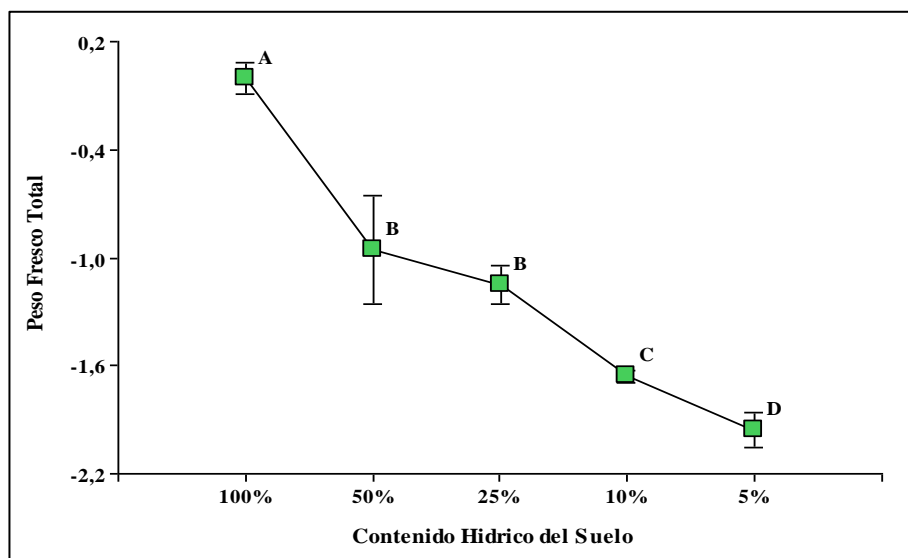


Fig. 4.3. Diferencia del Peso Fresco Total en plántulas de *P. alba* en sequía respecto del control en riego. Los resultados se muestran como Diferencia entre los contenidos hídricos del suelo y su control a CC. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

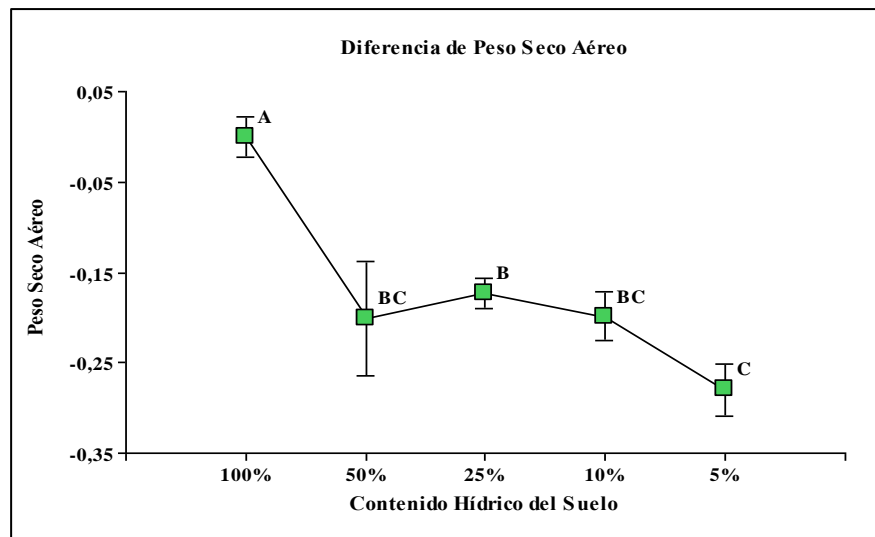


Fig. 4.4. Diferencia del Peso Seco Aéreo en plántulas de *P. alba* en sequía respecto del control en riego. Los resultados se muestran como Diferencia entre los contenidos hídricos del suelo y su control a CC. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

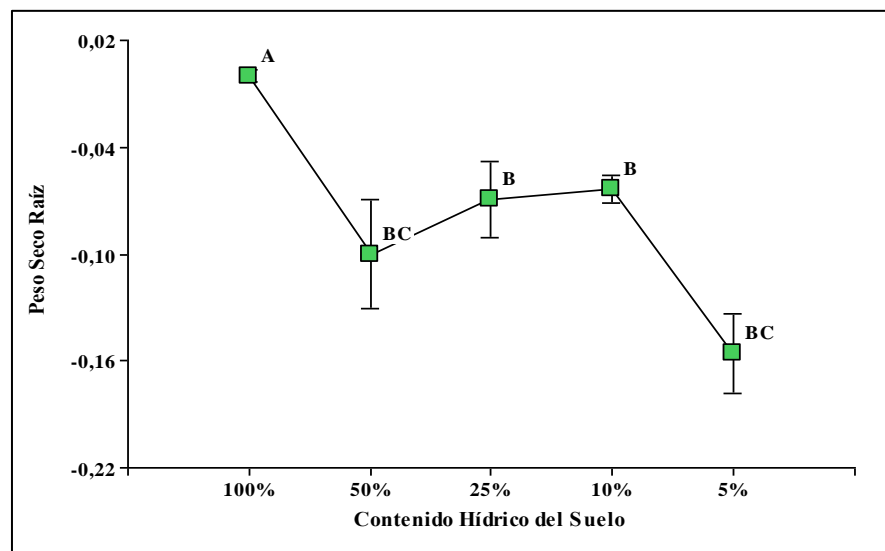


Fig. 4. 5. Diferencia del Peso Seco de Raíz en plántulas de *P. alba* en sequía respecto del control en riego. Los resultados se muestran como Diferencia entre los contenidos hídricos del suelo y su control a CC. Letras diferentes indican diferencias (ANOVA, $p \leq 0,05$).

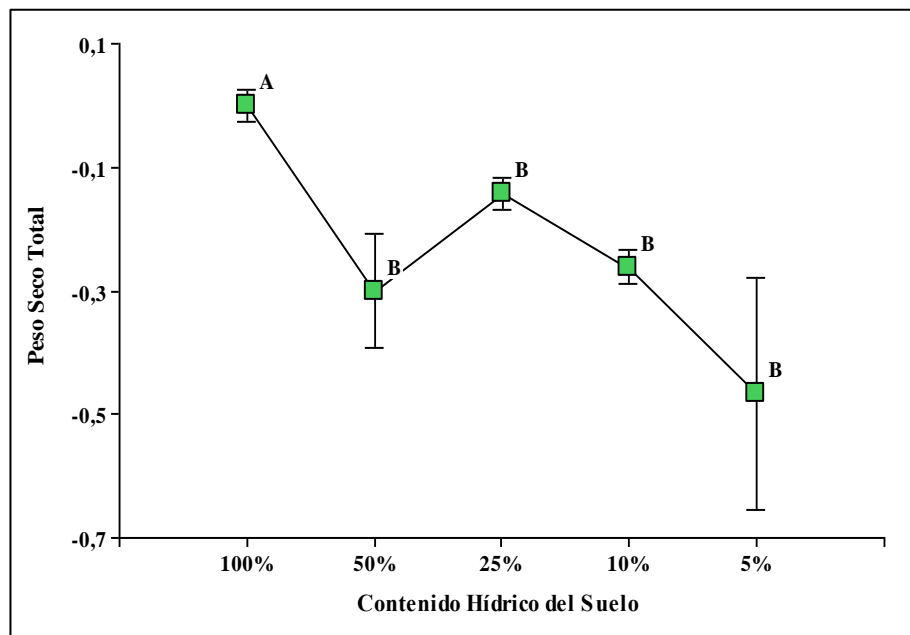


Fig. 4.6. Diferencia del Peso Seco Total en plántulas de *P. alba* en sequía respecto del control en riego. Los resultados se muestran como Diferencia entre los contenidos hídricos del suelo y su control a CC. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

A partir de estas observaciones, se realizaron sistemas experimentales donde se suspendió el riego obteniéndose una sequía moderada cuando las plántulas de *P.alba* llegaron al CHS del 50 % mientras que una sequía severa correspondió al CHS del 10 %.

Caracterización de la eficiencia micorrícica de los hongos micorrícicos arbusculares autóctonos en simbiosis con *P.alba*

Evaluación de los inóculos de HMA autóctonos expresado como Respuesta Micorrícica (RM) de las variables de crecimiento de plántulas de *P.alba* sometidas a sequía moderada y severa. La Respuesta Micorrícicas en el diámetro de las plántulas inoculadas con PL fue positiva para todas las situaciones, el inóculo de CB presentó una

respuesta positiva al 100 %, mientras que la sequía al 50 % y al 10 % fue negativa, las plantas inoculadas con la MIX, presentaron RM negativa, a lo largo del tratamiento (Fig. 4.7).

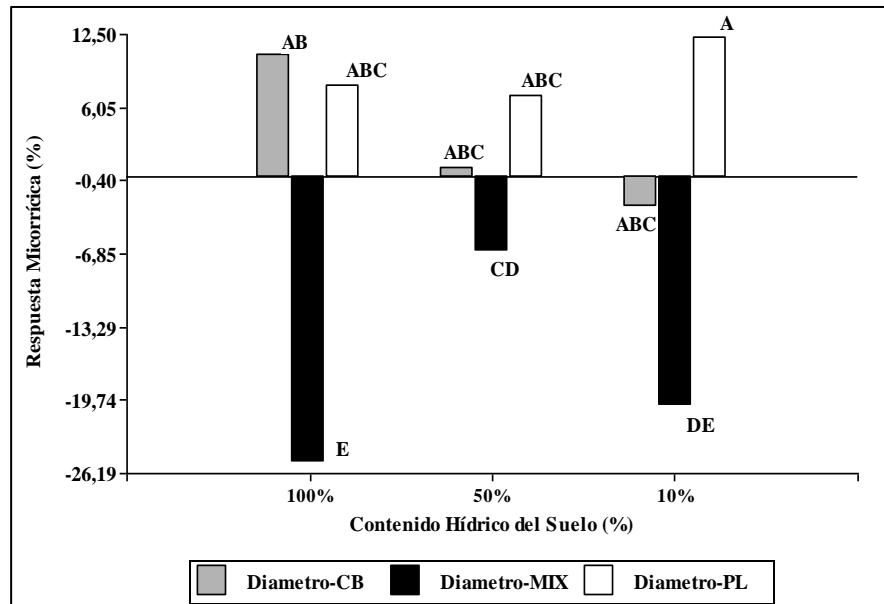


Fig. 4.7. Respuesta Micorrízica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis *P. alba*, sobre la variable: Diámetro, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

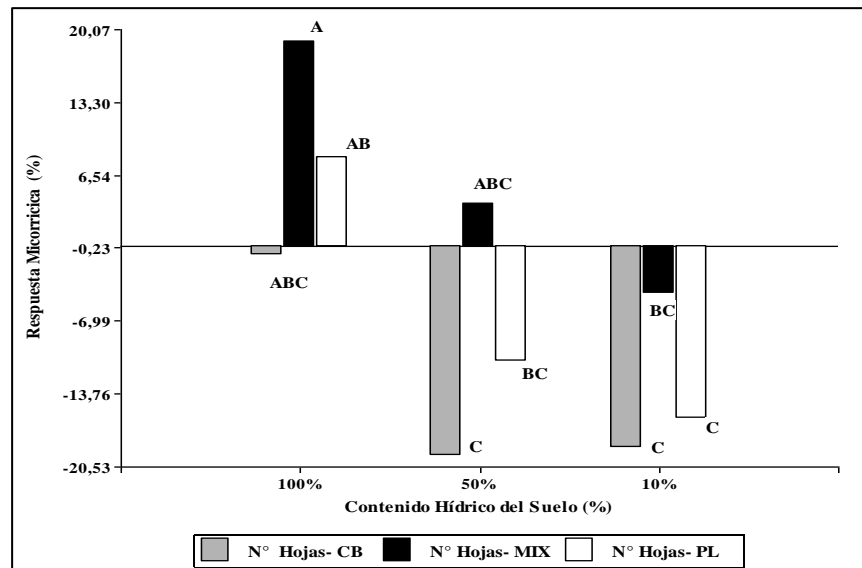


Fig. 4.8. Respuesta Micorrícica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis *P. alba*, sobre la variable: N° de hojas, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$)

La RM del número de hojas con PL y la MIX fue positiva en el 100 %, mientras que no tuvo efecto el inóculo de CB. A medida que disminuyó el CHS, se observó una tendencia hacia una respuesta negativa en los tres inóculos aunque para el inoculo MIX esta tendencia fue menos pronunciada (Fig. 4.8).

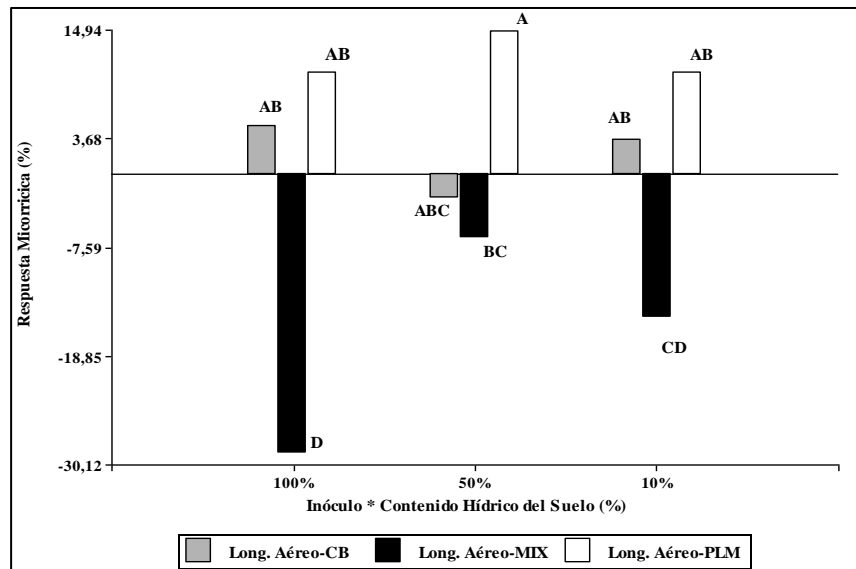


Fig. 4.9. Respuesta Micorrícica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis *P. alba*, sobre la variable: Longitud aérea, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$)

En la medición de la longitud aérea se pudo observar que PL mostro una RM positiva constante tanto al 10 % como al 50 % CHS. Por el contrario, en el inóculo de CB la RM disminuyó al 10 % y fue siempre menor que PL. La inoculación con la MIX tuvo una respuesta negativa en los tres CHS (Fig. 4.9).

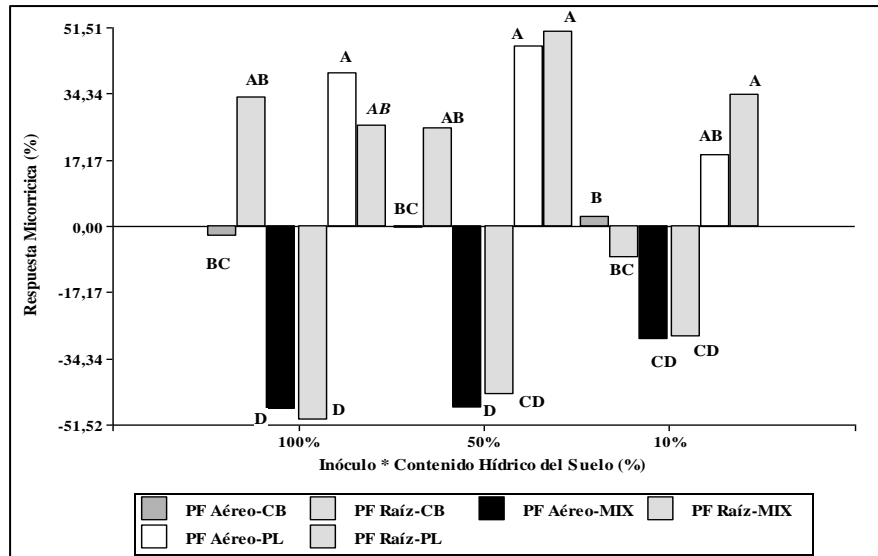


Fig. 4.10. Respuesta Micorrizica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis *P. alba*, sobre la variable: Peso Fresco aéreo y radicular, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

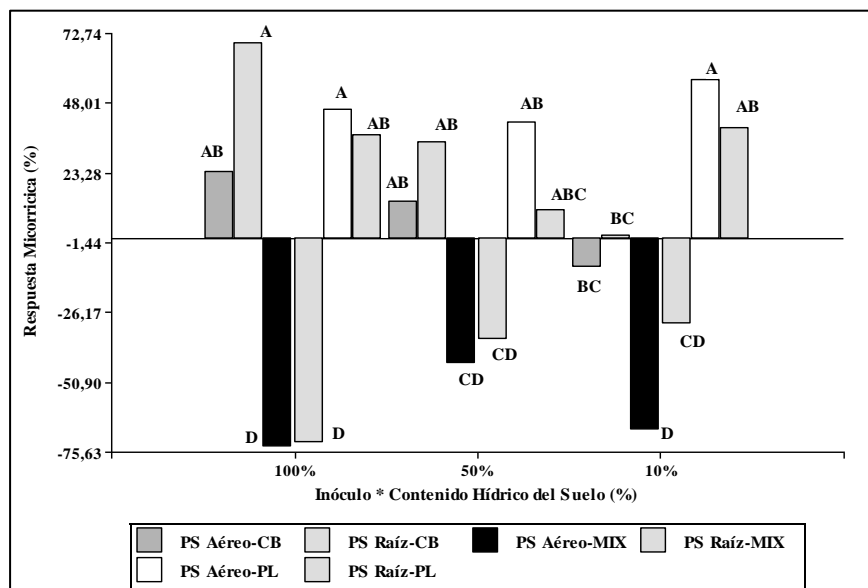


Fig. 4.11. Respuesta Micorrizica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis *P. alba*, sobre la variable: Peso seco aéreo y radicular, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

Las variables PF y PS total aéreo y PF y PS total de raíz tuvieron una RM positiva con la inoculación con PL aun cuando el contenido hídrico del suelo fue del 10 % (sequía severa). La RM de las plantas inoculadas con CB fue variable y menor que la RM de PL, durante todo el ensayo. Mientras que las plántulas inoculadas con la MIX, tuvieron una RM negativa en todas las situaciones de CHS, para todas las variables medidas (Fig. 4.10, 4.11 y 4.12).

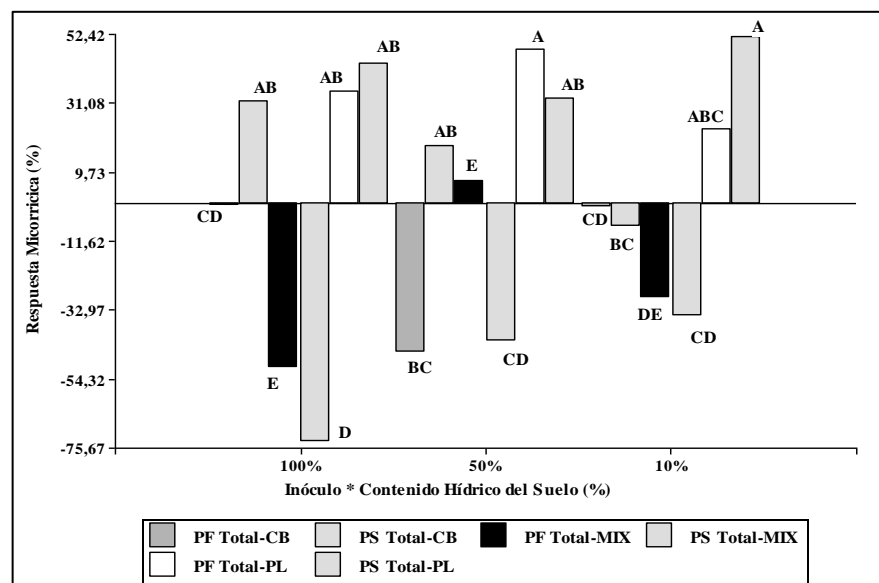


Fig.4.12. Respuesta Micorrízica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis *P. alba*, sobre la variable: Peso fresco y seco Total, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

El estrés por sequía a menudo causa un menor potencial hídrico del suelo, lo que provoca en la planta deshidratación celular, finalmente resulta en la inhibición de la expansión y división celular, tamaño de la hoja, elongación, tallo, proliferación de la raíz, oscilaciones estomáticas perturbadas, agua de la planta, nutrientes y eficiencia del uso del agua (Kaushal y Wani, 2016). Ciertamente, las plantas también desarrollan mecanismos

sofisticados y complejos morfológicos, fisiológicos, y características bioquímicas, que se dividen en escapes, evitación y tolerancia a la sequía, para hacer frente al estrés por sequía (Khoyardi *et al.*, 2016). Numerosas investigaciones han demostrado que la inoculación con HMA ha sido efectiva en la mitigación de los efectos fisiológicos mencionados (Rapparini y Peñuelas, 2014).

En la simbiosis *P. alba* con los inóculos de PL, seguido por CB y la MIX confirmaron los resultados, en general, de la capacidad de dichos inóculos para mitigar los cambios en el crecimiento, debido a la disminución en el CHS. Estos resultados concuerdan con Wu y Xia (2006) y Wu *et al.* (2008) quienes observaron en plántulas micorrizadas de *Citrus mandarina* y *Poncirus trifoliata* una mayor cantidad de brotes y peso seco de raíces, altura de la planta, área foliar, número de hojas por planta y diámetro del tallo en condiciones de buen riego y con estrés hídrico que las plántulas no micorrizadas correspondientes. Resultados similares han sido reportados para otras especies de plantas (Kaya *et al.*, 2003; Wu y Xia, 2006). Las RM fueron positivas para la inoculación con HMA, en la producción de biomasa de tomate obtenidas por Thounnon Islas *et al.* (2014), al igual que las obtenidas por Mujica Pérez y Fuentes Martínez (2012). Además, Subramanian *et al.* (2011) informaron que plantas de tomates inoculados, presentaban una RM mayor en altura en tratamientos sometidos a sequía severa. Este comportamiento pudo deberse a que las raíces de las plantas, al estar expuestas a un bajo nivel de humedad en el sustrato, recibieron los beneficios de la simbiosis de estos microorganismos, lo que permitió una mayor absorción de agua y nutrientes, y contribuyó más eficientemente al incremento de este órgano de la planta en condiciones de estrés hídrico (Montero *et al.*, 2010). Se ha demostrado que las hifas del hongo mejoran a indicadores como la conductividad hidráulica de la raíz, lo cual disminuye su resistencia al paso del agua, aspecto que ha sido comprobado en plantas de *Ulmus americana* (Muhsin y Zwiazek, 2002). Además, la simbiosis hongo-planta es típicamente mutualista, pues el hongo depende de la planta para la obtención de fotoasimilados y la planta recibe a cambio una variedad de beneficios, que le permite incrementar su crecimiento y mejorar sus relaciones hídricas (Dell'Amico *et al.*, 2002). En condiciones de estrés hídrico, la micorrización juega un papel esencial en activar la difusión de los iones y el agua hacia las raíces de las plantas hospederas, lo que le permite soportar las condiciones de sequía (Harris-Valle *et al.*, 2009).

Estos resultados cuantitativos de crecimiento fueron confirmados por comparaciones cualitativas como se observa en la Fig. 4.13, donde es evidente que en riego (CHS 100 %) la simbiosis de *P.alba* con los inóculos de HMA de los tres sitios, PLM, CBM y MIXM, muestra un mejor crecimiento que sus controles NM. Tanto en los controles NM como en los M, la mezcla, MIX, de ambos inóculos resulta cualitativamente mejor, seguida por CB y PL al 100 % del CHS.

Con la sequía del CHS 50 % y el 10 % la simbiosis de *P.alba* con los inóculos de HMA de los tres sitios (Fig. 4.13), muestra que PLM tiene mayor eficiencia micorrizica, con una mayor RM comparado con CBM y la MIXM.

Los resultados cuantitativos y cualitativos de esta tesis sugieren efectos fisiológicos relacionados con la procedencia del inóculo de PL de regiones semiáridas. Así, durante la sequía, en los distintos parámetros de crecimiento como diámetro, biomasa fresca y seca total (Fig. 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11 y 4.12), se observó una RM positiva y mayor en la simbiosis de *P.alba* con PL. Al respecto, las investigaciones muestran que el efecto de la procedencia de los HMA fue diferente para cada hospedante. En *Prosopis laevigata* la procedencia de los HMA afectó la altura, el peso seco total, el área foliar, la concentración de potasio, magnesio y clorofila total. En la concentración de nitrógeno y fósforo foliar no se detectaron diferencias (García-Sánchez, 2011). En el caso de *Mimosa biuncifera* la procedencia de los HMA modificaron el peso seco total, el área foliar, el área foliar específica, la relación raíz/vástago, los contenidos de potasio, fosforo, calcio, magnesio, clorofila total y actividad nitrato reductasa en hoja (García-Sánchez, 2011). Asimismo, Querejeta *et al.*, (2006) observaron que el crecimiento a largo plazo del olivo (*Olea europea* L.) y de espino negro (*Rhamnus lycioides* L.), así como su estado hídrico y nutricional mejoraba en plantas inoculadas con especies de *Glomus* procedente de zonas semiáridas en relación a las plantas inoculadas con *Glomus* que no estaban adaptados a la sequía. A su vez, Marulanda *et al.* (2007) observaron que las plantas de lavanda (*Lavandula spica* Cav.) inoculadas con dos especies diferentes de *Glomus* sp. (*G. intraradices* y *G. mosseae*) procedentes de ecosistemas áridos, producían mayor biomasa de raíces y eran más eficientes en la absorción de N y K que en las plantas inoculadas con la misma especie de *Glomus* procedente de zonas de ecosistemas más xéricos.

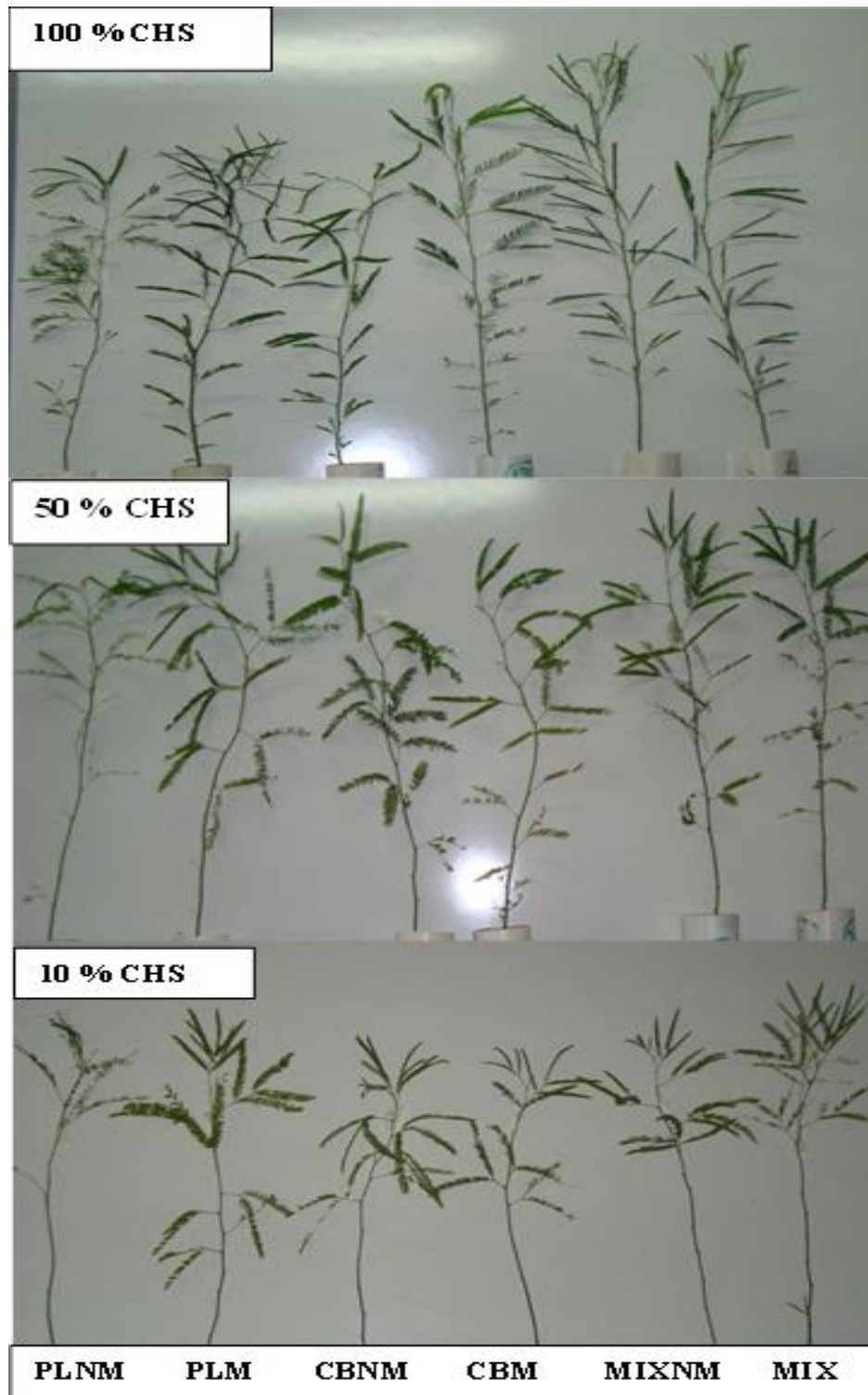


Fig. 4.13. Imágenes de plántulas de *P. alba* con contenido hídrico del suelo del 100 %, del 50 % y 10 %. Las plántulas de algarrobo están micorrizadas con inóculo de PL, CB y MIX. PL: Padre Lozano, CB: Colonia Benítez, MIX: Mezcla de los dos inóculos en partes iguales (v/v), CHS: Contenido Hídrico del Suelo, M: Micorrizado y NM: No Micorrizado.

Determinación del porcentaje de micorrización en la simbiosis *P. alba* – inóculos mixtos de HMA autóctonos de sitios con regímenes pluviométricos contrastantes, en sequía moderada, severa y su control a capacidad de campo. Cuando el CHS fue del 100 % tanto para las plantas inoculadas con PL, CB y MIX mostrando un porcentaje total de micorrización similar. Tal comportamiento se determinó por un porcentaje de arbusculos y de vesículas similar en los tres inóculos, aunque el número de hifas fue significativamente menor en la MIX. En función de la disminución en el CHS, el porcentaje de micorrización total disminuyó con un CHS del 50 % y del 10 %, en los tres inóculos probados. Esto concuerda con lo revisado por Wu *et al.* (2013), donde el estrés por sequía inhibió considerablemente el desarrollo de micorrizas en las plantas de cítricos. La colonización de HMA en raíces en árboles adultos de pomelo (*Citrus grandis* Osbeck cv. Shatianyou) aumentó de un suelo desecado a suelo bien regado, aunque luego disminuyó con el aumento del estado hídrico del suelo, debido a la baja concentración de O₂ (Xue, 2004). Como resultado, el registro del agua del suelo generalmente inhibió el desarrollo de micorrizas en las raíces y el suelo (Wu *et al.*, 2013).

Por otro lado, el porcentaje de micorrización total y la formación de estructuras micorrícicas varió según la procedencia del inóculo. Así, cuando el CHS fue del 50 % como del 10 %, las raíces inoculadas con PL, presentaron mayores valores de micorrización total, comparado con los otros inóculos. Tal comportamiento fue caracterizado por un incremento en el porcentaje de arbusculos y vesículas en las plántulas micorrizadas con PL. Es conocido que los arbusculos son importantes en sequía ya que ésta estructura fúngica es la principal responsable del intercambio de nutrientes entre los simbioses (Herrera-Corrales *et al.*, 2014). Por su parte, los inóculos de CB y la MIX, disminuyeron marcadamente el número de arbusculos y vesículas. Y solo recuperaron el porcentaje de hifas (Tabla 4.1).

Tabla 4.1. Caracterización de la variabilidad en el porcentaje y estructuras de colonización micorrícica arbuscular en la simbiosis *P. alba* - Inóculos de HMA de CB (Colonia Benítez) y PL (Padre Lozano) y su mezcla (MIX) en sequía moderada, severa y su control (CC).

Inóculos	CHS (%)	Micorrización por hifas (%)	Micorrización por arbusculos (%)	Micorrización por vesículas (%)	Micorrización Total (%)
PL	100	24,89 a	8,00 b	30,89 b	63,78 a
	50	9,11 cd	9,78 a	43,78 a	62,67 a
	10	14,18 bc	3,91 bc	24,45 b	42,53 b
CB	100	20,67 b	8,67 a	28,44 b	57,78 a
	50	10,22 cd	1,11 c	12,67 d	40,74 b
	10	22,59 a	2,04 c	16,11 cd	24,00 c
MIX	100	14,44 bc	7,33 ab	22,44 bc	44,22 b
	50	5,11 d	1,11 c	24,89 b	31,11 c
	10	14,22 bc	1,11 c	15,33 cd	30,67 c

Referencias: Se midió el porcentaje de micorrización y el porcentaje de sus estructuras. En condiciones de CHS del 100 % (CC), de sequía moderada (50 %) y sequía severa y sequía severa (10 %). Las plántulas de *P.alba* permanecieron en simbiosis con PL, CB o la MIX bajo condiciones de riego durante (90 días). A la edad foliar de (90 días) se interrumpió el riego en un grupo de plantas hasta alcanzar el 50 % y luego otro grupo hasta alcanzar el 10 % de CHS. Los datos son medias ($n=4$). Los valores con letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según la prueba de LSD Fisher (ANOVA, $p<0,05$).

Resumiendo, los resultados muestran que la colonización micorrícica en *P. alba* en riego no mostró cambios, pero en sequía si bien afecto la colonización micorrícica disminuyéndola en los tres inóculos, fue evidente que estos formaron distintas estructuras micorrícicas según su procedencia. Así se destacó la formación de arbusculos por parte del inóculo aislado de PL sugiriendo una mayor capacidad para la absorción de nutrientes y agua.

Evaluación de la efectividad de los inóculos mixtos de HMA autóctonos en simbiosis con *P.alba* frente a condiciones de sequía moderada y severa, en la mitigación del

daño oxidativo y su defensa antioxidante El fenómeno de estrés oxidativo se ha mencionado como un mecanismo fisiológico relacionado con la tolerancia a sequía en las plantas. Más aun la mitigación de dicho estrés abiótico por la simbiosis con HMA ha sido estrechamente relacionada con la regulación del estrés oxidativo (Rapparini y Peñuelas, 2014). En el presente trabajo de tesis se evaluaron variables claves del estrés oxidativo relacionados con el daño oxidativo y su regulación.

El contenido en clorofilas fue elegido como parámetro, para evaluar la capacidad de mitigación del daño oxidativo en plantas con y sin micorrizas. Esto, porque además de ser una variable relacionada con el crecimiento a través de la fotosíntesis, numerosas investigaciones muestran que el nivel de clorofilas, es susceptible al daño oxidativo (Anjum *et al.*, 2011). La clorofila es la base sustancial para la fotosíntesis del trigo, por lo que el contenido podría ser uno de los índices para evaluar fotosíntesis, Shao *et al.* (2007). Moran *et al.* (1994) afirman que la disminución de la clorofila o las concentraciones de proteínas serían un típico síntoma del estrés oxidativo que se había observado en plantas con resistencia a la sequía. Los tres inóculos se comportaron diferentes en su respuesta a la micorrización en el contenido del pigmento (Fig. 4.14). Las plántulas inoculadas con PL tuvieron una respuesta inicial positiva con un CHS de 100 % pero en las situaciones de estrés moderado (50 %) y estrés severo (10 %) la RM fue negativa. En cambio la MIX, respondió de forma negativa cuando se vio afectada por un descenso brusco del CHS al 50 %, respondiendo de manera positiva con un CHS del 10 %. Y las plántulas inoculadas con CB, presentaron una RM negativa al comienzo del ensayo, para luego en las dos situaciones de estrés por sequía mostraron RM positiva.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos en plantas de caléndula, donde el total de pigmentos fotosintéticos aumentó en un 60 % en condiciones de buen riego, por la colonización micorrícica. Pero ante un estrés por sequía severa se observó la disminución de los pigmentos totales en las plantas (Asrar *et al.*, 2011). La disminución del contenido de clorofila como resultado del déficit de agua en las plantas de caléndula micorrizadas ha sido reportado por varios autores (Dhanda *et al.*, 2004; Shao *et al.*, 2007) y cítricos (Wu y Xia, 2006).

Por el contrario, Rahimi *et al.* (2017) en su estudio en condiciones de estrés por sequía, observó que los hongos micorrícicos aumentaron la clorofila de la borraja (*Borago officinalis* L.). Y el aumento de pigmentos fotosintéticos como resultado de la colonización micorrícica también fue apoyado por Aboul-Nasr (1996) y Wu y Xia (2006). Por lo que se puede inferir, que el aumento o disminución del contenido de clorofilas, se puede deber a la composición de cada inóculo en cuanto a las especies de HMA que los conforman, a su comportamiento ante condiciones de riego o de sequía.

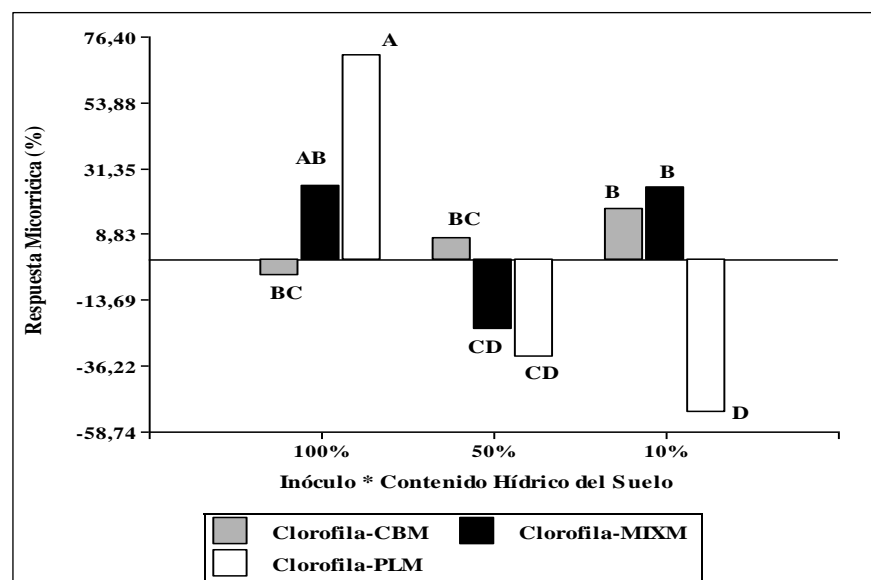


Fig. 4.14. Respuesta Micorrícica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis *P. alba*, sobre el contenido de Clorofila foliar, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

El MDA es un producto de la peroxidación de lípidos de membrana y su aumento ha sido registrado en condiciones de estrés por sequía como un síntoma claro de daño oxidativo. En general, las plantas inoculadas con micorrizas han demostrado capacidad para disminuir el contenido en MDA en condiciones de estrés por sequía. Así, en palmeras datileras bajo estrés por sequía encontraron una reducción del contenido de MDA en hojas de plantas inoculadas con HMA que en los controles sin inocular, Benhiba

et al. (2015). Resultados similares se observaron en pistacho (Abbaspour *et al.*, 2012), en maíz (Zhu *et al.*, 2011), en cítricos (Wu y Xia, 2006), en soja (Porcel y Ruiz-Lozano, 2004) bajo estrés por sequía. La inoculación de HMA disminuyó el nivel de MDA en hojas y raíces en dos variedades de trigo. El contenido de MDA fue más alto en hojas y raíces en una variedad a diferencia de la otra, bajo condiciones de estrés, independientemente de los tratamientos de HMA (Rani, 2016). Pero la inoculación de micorrizas disminuyó el contenido de MDA 10,3 y 20,2 % en comparación con las plantas sin inocular en la etapa de macollaje y grano, (Rani, 2016). Los resultados en esta tesis, en plántulas *P. alba* inoculadas con PL, la RM fue positiva para el contenido en MDA en ausencia de estrés hídrico. Luego, cuando el CHS fue disminuyendo las plántulas con inóculo de PL se tornó a una RM negativa, que interpretamos como disminución del daño de membranas evaluado como MDA. Con el inóculo CB no se observaron cambios en la RM a medida que el CHS disminuía, mientras con el inóculo MIX se observó una RM positiva al 50 % CHS y una respuesta negativa al 10 % CHS (Fig. 4.15). Consecuentemente, el inóculo de PL comparado con los otros dos, fue el único que mostró una RM negativa constante para el contenido de MDA, sugiriendo una mayor capacidad para disminuir el daño oxidativo, durante todo el tratamiento de sequía.

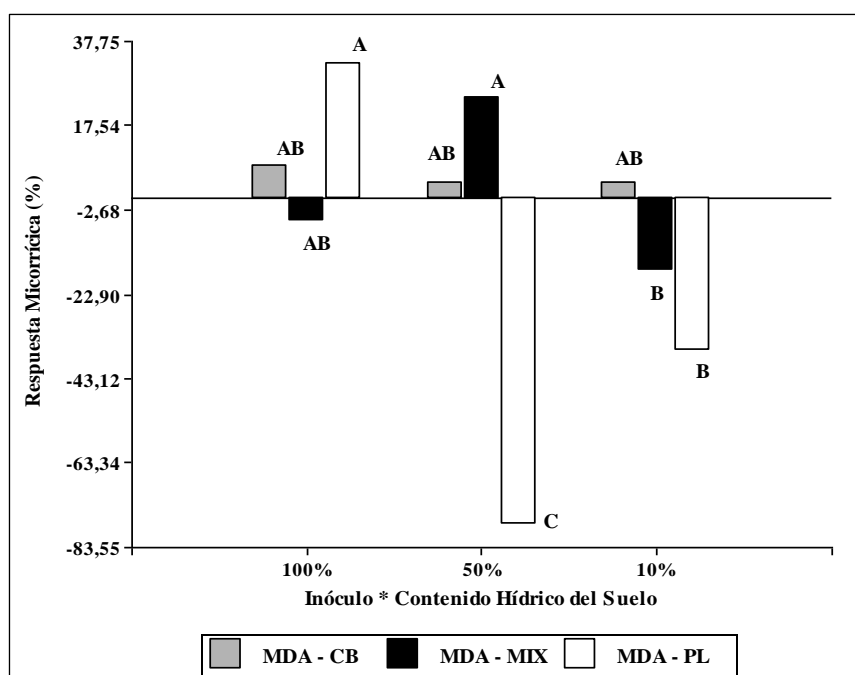


Fig. 4.15. Respuesta Micorrízica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis *P. alba*, sobre el contenido de MDA foliar, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$)

El contenido en FRAP fue evaluado como un indicador de la capacidad antioxidante total no enzimática (Benzie y Strain, 1996). En tal sentido, la medición de FRAP incluye y vincula el contenido de una variedad de moléculas antioxidantes como polifenoles, tocoferoles, glutatión y ácido ascórbico.

Los resultados de esta tesis, muestran que la RM con respecto al contenido del FRAP fue negativa por parte de las plántulas inoculadas con CB y PL cuando el CHS fue del 100 % mientras que las plántulas inoculadas con la MIX dieron RM positiva (Fig. 4.16). Al reducir el CHS al 50 % se produjo una inversión de la respuesta obtenida para CB y PL, siendo la RM para el FRAP positiva, tal resultado podría ser interpretado como un aumento de las defensas antioxidantes no enzimáticas al estrés moderado. En tal

sentido, el aumento de FRAP se ha interpretado como un incremento en la defensa antioxidante no enzimática en las plantas micorrizadas (Jugran *et al.*, 2015).

Por el contrario, en un estrés severo del 10 %, se puede observar que todas las RM de las plántulas a los distintos inóculos han sido negativas para el contenido en FRAP. Una posible explicación, a comprobar, podría estar relacionada con una mayor utilización de la defensa antioxidante en los tres inóculos. En apoyo de esta idea, nuestros resultados muestran una mayor mitigación del daño oxidativo, según lo sugiere la RM disminuida para el contenido en MDA, observado en los inóculos ensayados. Este resultado para el FRAP, fue también observado en condiciones de sequía en genotipos de soja por Salloum *et al.* (2018) y fue acompañado igualmente por disminuciones en la RM relacionada con el contenido en MDA.

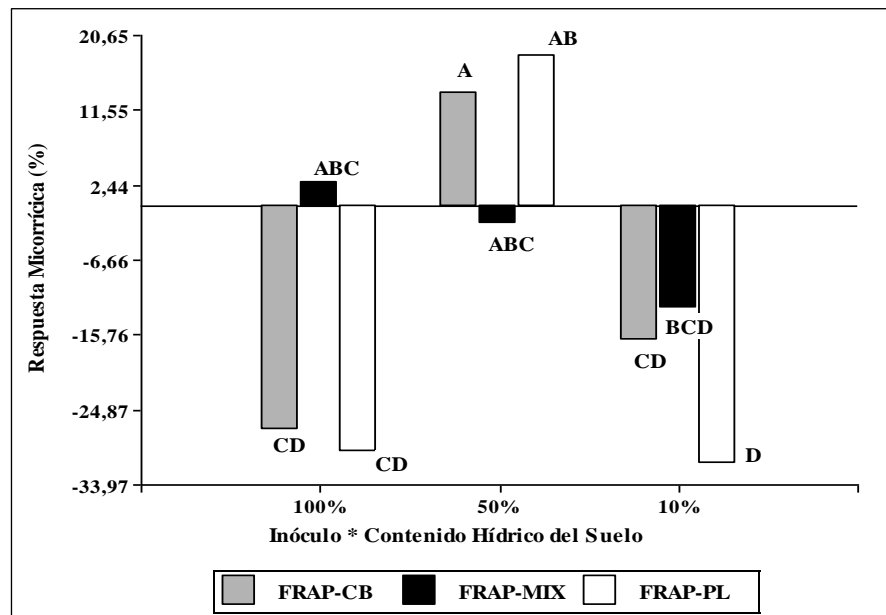


Fig. 4.16. Respuesta Micorrízica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis *P. alba*, sobre la capacidad antioxidante total no enzimática foliar, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

Durante la sequía moderada el inóculo de CB promovió un marcado aumento en la RM para prolina, sugiriendo su relación con una mitigación del estrés relacionado con la regulación osmótica. Este comportamiento concuerda con lo observado por numerosos investigadores que relacionaron un aumento de contenido en prolina en las plantas micorrizadas con el control osmótico en sequía (Rapparini y Peñuelas, 2014).

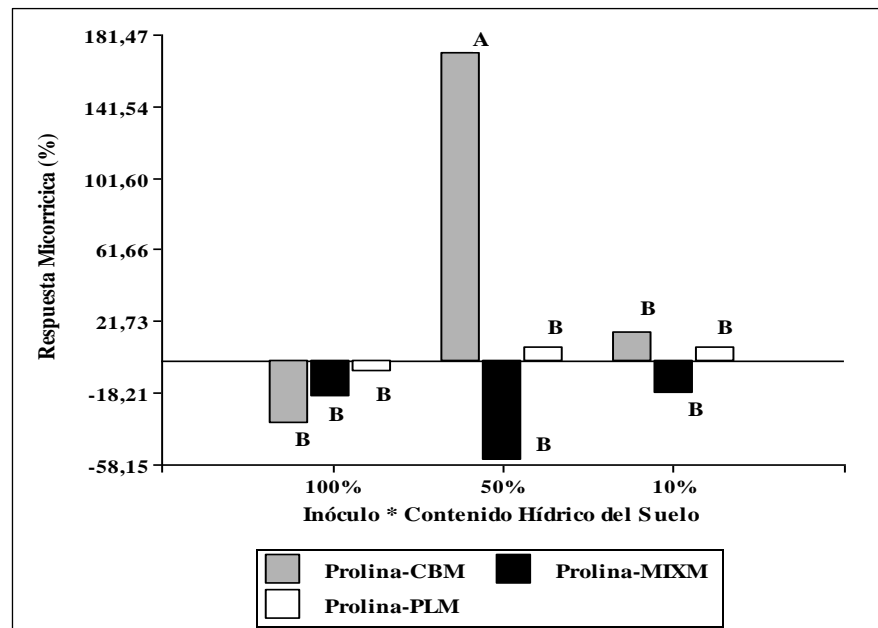


Fig. 4.17. Respuesta Micorrízica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis *P. alba*, sobre el contenido de prolina foliar, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

Las plantas colonizadas por HMA exhibieron una respuesta variada en concentraciones de aminoácidos bajo estrés por sequía (Ogawa y Yamauchi, 2006). La mayor concentración de aminoácidos en las raíces y brotes de HMA reveló una mayor capacidad de osmorregulación a través de la acumulación de aminoácidos en estas plantas (Kapoor *et al.*, 2013). Asimismo, Kadian *et al.*, (2014) encontraron que el contenido de prolina aumentó bajo estrés por sequía en plantas colonizadas por HMA.

Sin embargo, en función de la disminución del CHS al 10 %, el inóculo de CB, mostró una RM negativa para prolina. También, cabe destacar que una disminución en el contenido de prolina desde el inicio de la sequía se observó en PL y la MIX (Fig. 4.17). Esto concuerda con lo reportado en varios estudios (Ruiz - Sánchez *et al.*, 2010; Fan y Liu, 2011; Abbaspour *et al.*, 2012; Asrar *et al.*, 2012; Doubkova *et al.*, 2013, Rapparini y Peñuelas, 2014) donde en respuesta al déficit de agua, se observó una menor acumulación de prolina en las plantas con micorrizas en relación a contrapartes no micorrizadas. También, la inoculación con *Funneliformis mosseae* en *Poncirus trifoliata* expuesto a la sequía disminuyó la acumulación de prolina en los tejidos, aunque mejoró su crecimiento, rendimiento y producción de biomasa comparada con las plantas no micorrizadas (Zou *et al.*, 2013). Al respecto, Rapparini y Peñuelas (2014) han mencionado que el metabolito prolina puede ser también utilizado como antioxidante. En tal sentido, la disminución de prolina en plantas micorrizadas, se acompaña con un menor daño oxidativo, evaluado como MDA, sobre todo en sequía severa del 10 % de CHS. Consecuentemente no podemos asegurar, en estos resultados, si la menor RM de prolina en CB, PL o incluso en la MIX, puede estar guardando relación con su utilización como antioxidante.

Resumiendo, en el inóculo de CB en sequia moderada se podría sugerir un efecto osmótico relacionado con su aumento en el contenido de prolina, mientras que en los inóculos de PL y la MIX no se puede descartar en sequia severa un control antioxidante por prolina. Estas hipótesis debieran ser consideradas y probadas a futuro.

Evaluación de la efectividad de los inóculos mixtos de HMA autóctonos en simbiosis con *P.alba* frente a condiciones de sequía moderada y severa, en el contenido de nutrientes minerales (iones). Los hongos micorrízicos pueden suministrar a las plantas una amplia gama de nutrientes minerales, como fósforo, nitrógeno, azufre, zinc o cobre (Neumann y George, 2010; Giovannetti *et al.*, 2017). El beneficio más importante para la nutrición de las plantas parece ser la contribución de los HMA a la absorción de P. Esto se debe a que las demandas de P en las plantas son altas, pero la biodisponibilidad y movilidad de este elemento en la solución del suelo puede ser muy baja (González Cañizares *et al.*, 2015). Augé, (2001) mostró que la inoculación con HMA provocó el desarrollo del sistema radicular y aumentó la concentración de fósforo en la hoja. También,

el efecto del hongo micorrícico sobre el crecimiento de la planta huésped bajo estrés por sequía se ha reportado a través de la mejora de la disponibilidad de fósforo porque el acceso al fósforo disminuye en los suelos secos (Subramanian *et al.*, 2006). Ruiz-Lozano y Azcón, (1995) demostraron que la mitigación del efecto de sequía por diferentes especies de hongos micorrízicos se puede atribuir a la absorción fisiológica específica (fijación de CO₂, transpiración, eficiencia del uso del agua) y nutricional (P y K) (Gholamhoseini *et al.*, 2013). En particular, los HMA pueden mejorar la concentración de P en las plantas y posteriormente, mejorar la tolerancia a la sequía en las mismas (Gholamhoseini *et al.*, 2013). La inoculación con *G. mosseae* en girasol mejoró la disponibilidad de P y minimizó el impacto de la sequía sobre el porcentaje de aceite en la semilla y el rendimiento de aceite (Gholamhoseini *et al.*, 2013). Por su parte, Tobar *et al.*, 1994 y Pérez Moncada, 2011, demostraron que plantas de lechuga micorrizadas, no sólo se incrementaba el contenido de nitrógeno en los tejidos, sino que los hongos micorrícicos eran capaces de asimilar nitrato proveniente del sustrato. Nuestros resultados mostraron que en general la sequía disminuyó la RM relacionada con el contenido foliar de PO₄, NO₃ y SO₄ en los tres inóculos ensayados. Sin embargo, cabe destacar que el inóculo aislado de PL promovió una mejor RM para los nutrientes, ya que fue constante y positivo sobre el contenido foliar de PO₄, pero además mostró una tendencia a incrementar el nivel de NO₃ en la hoja, tanto al 50 % como al 10 % de CHS. Mientras que el inóculo de CB y la MIX, mostraron RM variables al 10 % CHS, tanto para PO₄ como para el NO₃ (Fig. 4.18 y Fig. 4.19).

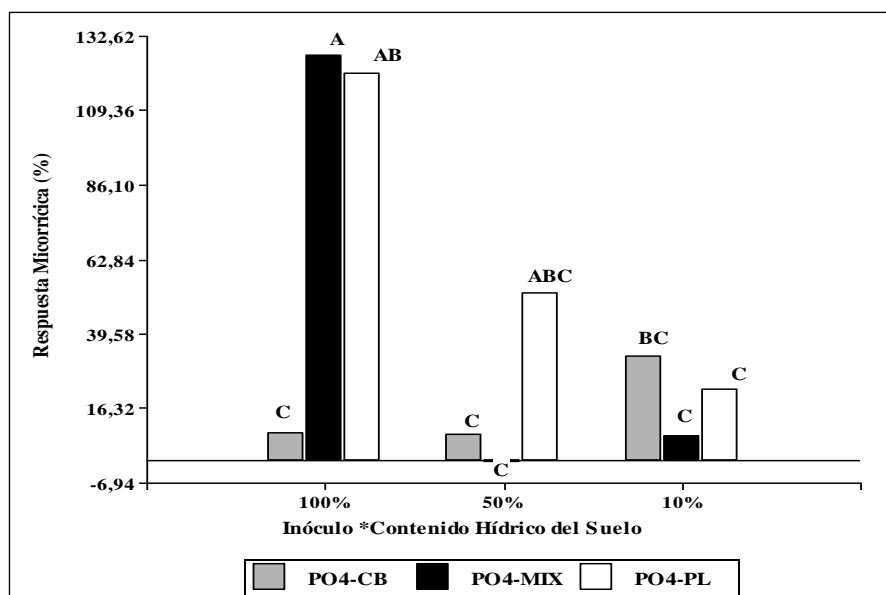


Fig. 4.18. Respuesta Micorrízica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis *P. alba*, sobre la variable: fosfato foliar, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

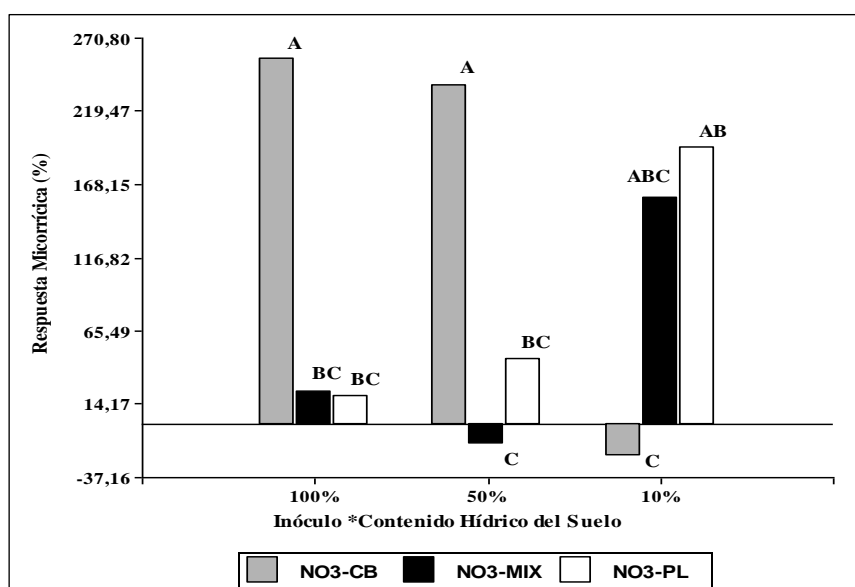


Fig. 4.19. Respuesta Micorrízica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis *P. alba*, sobre la variable: nitrato foliar, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

En el contenido de sulfatos, solo se obtuvieron respuestas positivas de la inoculación con PL y MIX a CC y las diferencias entre ellas fueron significativas ($p \leq 0,05$) sólo a la condición del 100 % del CHS. Ya que cuando fueron sometidos a una sequía moderada (50 %) tuvieron los tres inóculos una RM negativa y sequía severa (10 %) (Fig. 4.20).

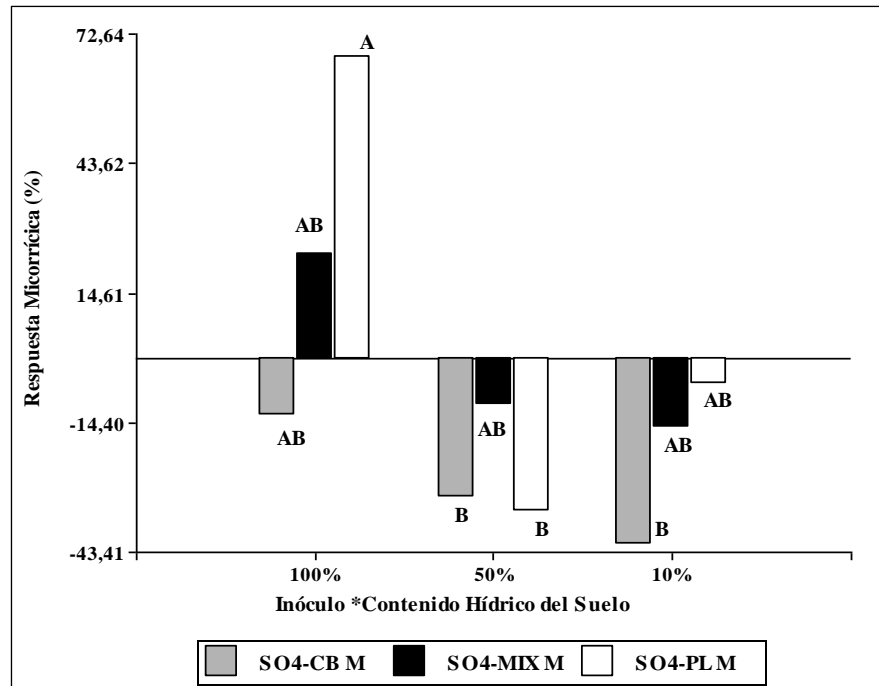


Fig. 4.20. Respuesta Micorrízica (RM) a partir de la aplicación de inóculos de CB, PL y MIX en simbiosis *P. alba*, sobre la variable: sulfato foliar, con riego normal (CC), sequía moderada (50 %) y sequía severa (10 %) de CHS. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano, MIX: mixto, CHS: contenido hídrico del suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

Consecuentemente, los resultados sugieren la importancia de la selección de inóculos de HMA nativos de sitios áridos los cuales serían más promisorios para mitigar el efecto de la sequía. Es común encontrar las mismas especies de HM en distintos ambientes; sin embargo, se ha propuesto la existencia de una diferenciación eco-típica, explicada por la historia natural de los aislados; es decir, los HM aislados en condiciones de aridez suelen desarrollarse mejor bajo condiciones similares a su sitio de origen

(Caravaca *et al.*, 2003). Esto resalta la importancia de caracterizar los HM de plantas que crecen en zonas poco exploradas; las que se encuentran en climas poco favorables suelen ser buenos candidatos como biofertilizantes, debido a su historia de vida bajo condiciones de estrés, como puede ser suelos salinos y escasez de agua (Symanczik *et al.*, 2014).

Cabe destacar que la mezcla de ambos inóculos (MIX), tanto en riego como bajo condiciones de sequía, no mostró un efecto sinérgico sobre los distintos parámetros evaluados. Al respecto existen investigaciones contradictorias sobre los beneficios de la mayor diversidad de especies de HMA. Así, Gosling *et al.* (2016), probando el efecto de la inoculación entre 1 y 7 especies de HMA en todas sus posibles combinaciones, no encontraron diferencias en el comportamiento, bajo condiciones de riego, sugiriendo que los beneficios de la diversidad en HMA comienzan a ser evidentes en condiciones de distintos factores de estrés ambiental.

Recientemente, Crossay *et al.* (2019) observaron que la co-inoculación de 6 especies de HMA, bajo estreses por deficiencia en nutrientes o por metales pesados, fue más eficiente mejorando la nutrición mineral y la biomasa en el hospedante endémico *Metrosideros laurifolia* de Nueva Caledonia. Tal comportamiento fue interpretado como un efecto complementario entre las distintas especies de HMA ante condiciones de estrés. Sin embargo, en nuestros resultados bajo condiciones de sequía, la mezcla de ambos inóculos de HMA en la MIX, no promovió efecto sinérgico tanto en los parámetros de crecimiento como micorrización, nutrientes y daño oxidativo, sugiriendo la no complementariedad de las especies de HMA frente a dicho estrés. Un resultado similar fue observado en soja inoculada individualmente o con una mezcla de HMA, en condiciones de sequía por Grümberg *et al.* (2015). Los autores no observaron efectos de complementariedad entre los inóculos ensayados y sugirieron más bien un efecto de selección de HMA, en la mitigación del estrés por sequía de soja.

CONCLUSIONES

Se confirma la hipótesis de que la mayor eficiencia micorrícica de un inóculo mixto de HMA autóctono se relaciona con las características edafoclimáticas del sitio del que fuera aislado.

El inóculo aislado de una región semi árida como PL resulta promisorio, seguido por el inóculo de CB y la mezcla de ambos, en la mitigación de la sequía de *P. alba*. La mayor eficiencia micorrícica es acompañada por una mayor capacidad en la formación de arbusculos y la mitigación del daño oxidativo.

La mayor diversidad de HMA por la mezcla de ambos inóculos no mostró un efecto sinérgico en la simbiosis con *P. alba*, tanto bajo condiciones controladas de riego como de sequía.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Abbaspour H., Saeidi-Sarb S., Afsharia H. and Abdel-Wahhab MA. 2012. Tolerance of mycorrhiza infected pistachio (*Pistacia vera* L.) seedling to drought stress under glasshouse conditions. *J. Plant Physiol.* 169: 704-709.
- Abdel-Fattah G.M., Migahed F.F. and Ibrahim A.H. 2002. Interactive effects of endomycorrhizal fungus *Glomus etunicatum* and phosphorus fertilization on growth and metabolic activities of broad bean plants under drought stress conditions. *Pakist J. Biol. Sci.* 5: 835-841.
- Aboul-Nasr A. 1996. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhiza on *Tagetes erecta* and *Zinnia elegans*. *Mycorrhiza* 6: 61-64.
- Anjum S.A., Xie X. Y., Wang L.C., Saleem M.F., Man C. and Lei W. 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *Afr. J. Agric. Res.* 6: 2026-2032.
- Ashraf M. 2010. Inducing drought tolerance in plants: some recent advances. *Biotechnol. Adv.* 28:169-183.

- Asrar A.A., Abdel-Fattah G.M. and Elhindi K.M. 2012. Improving growth, flower yield, and water relations of snapdragon (*Antirrhinum majus* L.) plants grown under well-watered and water stress conditions using arbuscular mycorrhizal fungi. *Photosynthetica* 50:305–316.
- Asrar A.W. and Elhindi K.M. 2011. Alleviation of drought stress of marigold (*Tagetes erecta*) plants by using arbuscular mycorrhizal fungi. *Saudi J. Biol. Sci.* 18:93-98.
- Augé R.M. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11:3–42.
- Augé R.M., Moore J.L., Cho K., Sylvia D.M., Al-Agely A. and Saxton A.M. 2003. Relating foliar dehydration tolerance of mycorrhizal *Phaseolus vulgaris* to soil and root colonization by hyphae. *Journal of Plant Physiology* 160: 1147-1156.
- Augé R.M. and Moore J.L. 2005. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and plant drought resistance. In: Mehrotra VS (ed.) *Mycorrhiza: role and applications*. Allied Publishers Limited, New Delhi, pp. 136–157.
- Augé R.M., Toler H.D., Moore J.L., Cho K. and Saxton A. M. 2007. Comparing contributions of soil versus root colonization to variations in stomatal behavior and soil drying in mycorrhizal *Sorghum bicolor* and *Cucurbita pepo*. *J. Plant Physiol.* 164: 1289-1299.
- Barea J.M., Palenzuela J., Cornejo P., Sánchez-Castro I., Navarro-Fernández C., López García A., Estrada B., Azcón R., Ferrol N. and Azcón-Aguilar C. 2011. Ecological and functional roles of mycorrhizas in semi-arid ecosystems of Southeast Spain. *Journal of Arid Environments* 75: 1292-1301.
- Baslam M., Qaddoury A., Goicoechea R.V. and Meddich A. 2010. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth and antioxidant production by date palm seedlings under well-watered and drought conditions. *Proc. Third SMBBM Int. Cong. of Biochemistry Marrakech (Morocco)*, pp. 299-303.
- Benhiba L. M., Fouad O., Essahibi A., Ghoulam C. and Qaddoury A. 2015. Arbuscular mycorrhizal symbiosis enhanced growth and antioxidant metabolism in date palm subjected to long-term drought. *Trees* 29: 1725-1733.
- Benzie I. and Strain J. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power: The FRAP Assay”. *Analytical Biochemistry* 239: 70-76.
- Camargo-Ricalde S.L., Dhillion S.S. and Jiménez-González C. 2003. Mycorrhizal perennials of the “matorral xerófilo” and the “selva baja caducifolia” communities in the semiarid Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Mycorrhiza* 13: 77-83.
- Cataldi T.R., Margiotta G., Del Fiore A. and Bufo S.A. 2003. Ionic content in plant 375 extracts determined by ion chromatography with conductivity detection. *Phytochem. Anal.* 14: 176-183.

- Caravaca F., Barea J. M., Palenzuela J., Figueroa D., Alguacil M. M. and Roldán A. 2003. Establishment of shrub species in a degraded semiarid site after inoculation with native or allochthonous arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied Soil Ecology* 22: 103-111.
- Cavagnaro T.R., Smith F.A., Ayling S.M. and Smith S.E. 2003. *New Phytologist*. 157: 127-134.
- Chen C. and Dickman M.B. 2005. Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen, *Colletotrichum trifolii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 102:3459-3464.
- Cho K., Toler, H., Lee J., Ownley B., Stutz J.C., Moore J.L. and Augé R.M. 2006. Mycorrhizal symbiosis and response of sorghum plants to combined drought and salinity stresses. *Journal of Plant Physiology* 163: 517-528.
- Cregg B. M. 2004. Improving drought tolerance of trees: Theoretical and practical considerations. *Act Hort.* 630: 147-156.
- Crossay T., Majorel C., Redecker D., Gensous S., Medevielle V., Durrieu G., Cavaloc Y. and Amir H. 2019. Is a mixture of arbuscular mycorrhizal fungi better for plant growth than single-species inoculants? *Mycorrhiza* 29: 325- 339.
- Cruz Hernández Y., García Rubido M., León González Y. y Acosta Aguiar Y. 2014. Influencia de la aplicación de micorrizas arbusculares y la reducción del fertilizante mineral en plántulas de tabaco. *Cultivos Tropicales* 35:21-24.
- Davies T.F., Calderón C.M. and Huaman Z. 2005. Influence of arbuscular mycorrhizae indigenous to Peru and a flavonoid to growth and leaf elemental concentration of “Yungay” potatoes. *HortScience* 40: 381-385.
- Delatorre J. 1996. Efecto de la temperatura y del déficit hídrico sobre la fotosíntesis de *Prosopis chilensis* (Mol) Stutz y *Prosopis tamarugo* (Phil). Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias Agropecuarias. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales 75 pp.
- Dell'Amico J. M., Rodríguez P., Torrecillas A., Morte A. y Sánchez-Blanco M. J. 2002. Influencia de la micorrización en el crecimiento y las relaciones hídricas de plantas de tomate sometidas a un ciclo de sequía y recuperación. *Cultivos Tropicales* 23: 29-34.
- Dhanda S.S, Sethi R.V. and Behl R.K. 2004. Indices of drought tolerance in wheat genotypes at early stages of plant growth. *J. Agron. Crop Sci.* 190: 6-12.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M. y Robledo C.W. 2017. *InfoStat Versión 2017*. Grupo InfoStat, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.
- Doty S. L. 2016. Plant–microbe symbiotic interactions. *Plant Mol. Biol.* 90:535.

- Doubková P., Vlasáková E. and Sudová R. 2013. Arbuscular mycorrhizal symbiosis alleviates drought stress imposed on *Knautia arvensis* plants in serpentine soil. *Plant Soil* 370: 149–161.
- Echave M., Conti M., Clúa A., Ruscitti M. and Beltrano J. 2005. Responses of mycorrhizal infection in the drought resistance and growth of *Lotus glaber*. *Lotus Newsletter* 35:182-186.
- Engelbrecht B. M. J. 2001. Drought resistance in seedlings of 28 tropical woody plant species. Euro-Workshop: Functional Groupings of Tropical Trees. Netherlands. 136: 383–393.
- Estrada-Luna A.A. and Davies F.T. 2008. Nutrient status and growth of micropropagated prickly-pear cactus (*Opuntia albicarpa* Scheinvar cv. "Reyna") plantlets colonized with three-selected endomycorrhiza isolates. In: Montaña-Arias N. M., Camargo-Ricalde S. L., García-Sánchez R., and Monroy-Ata A. (eds.). Arbuscular mycorrhizae in arid and semi-arid ecosystems. Mundi Prensa, México, pp. 204-215.
- Fan Q.J. and Liu J.H. 2011. Colonization with arbuscular mycorrhizal fungus affects growth, drought tolerance and expression of stress responsive genes in *Poncirus trifoliata*. *Acta Physiol Plantarum* 33: 1533–1542.
- Fouad M.O., Essahibi A., Benhiba L. and Qaddoury A. 2014. Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi in the protection of olive plants against oxidative stress induced by drought. *Spanish Journal of Agricultural Research* 12: 763-771.
- Garau A. M., Ghera C. M., Lemcoff J. H. and Baraňao J. J. 2009. Weeds in *Eucalyptus globules subsp. maidenii* (F. Muell) establishment: Effects of competition on sapling growth and survivorship. *New Forests* 37: 251-264.
- García-Sánchez R., Monroy-Ata A. y Chimal-Sánchez E. 2008. Hongos micorrizógenos arbusculares asociados a diferentes plantas y matorrales del Valle del Mezquital, Hidalgo, México. In: Montaña N.M., Camargo-Ricalde S.L., García-Sánchez R., Monroy-Ata A. (eds.) Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos. Mundi-Prensa, Instituto Nacional de Ecología - SEMARNAT, Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa, Facultad de Estudios Superiores-Zaragoza, UNAM, México, D.F. pp. 123-136.
- García Sánchez R. 2011. Diversidad funcional de los hongos micorrizógenos arbusculares de islas de recursos del Valle del Mezquital, Hidalgo. Tesis Doctoral. Colegio de Postgraduados. Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas Campus Montecillo Postgrado de Botánica. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 125 pp.
- Gholamhoseini M., Ghalavand A., Dolatabadian A., Jamshidi E. and Khodaei-Joghan A. 2013. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on growth, yield, nutrient uptake and irrigation water productivity of sunflowers grown under drought stress. *Agric. Water Manag.* 117:106–114.

- Gianinazzi S., Gollotte A., Binet M.N., van Tuinen D., Redecker D. and Wipf D. 2010. Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. *Mycorrhiza* 20:519–530.
- Giovannetti M., Volpe V., Salvioli A. and Bonfante P. 2017. Fungal and plant tools for the uptake of nutrients in arbuscular mycorrhizas: A molecular view. In: Johnson N.C., Gehring C., Jansa J. (eds.) *Mycorrhizal Mediation of Soil: Fertility, Structure, and Carbon Storage*: Elsevier pp.107-128.
- Goh C.H., Veliz Vallejos D., Nicotra A. and Mathesius U. 2013. The impact of beneficial plant-associated microbes on plant phenotypic plasticity. *Journal of Chemical Ecology* 39: 826–839.
- Goicoechea N., Szalai G., Antolin M.C., Sanchez-Diaz M. and Paldi E. 1998. Influence of arbuscular mycorrhizae and *Rhizobium* on free polyamines and proline levels in water-stressed alfalfa. *Journal of Plant Physiology*, 153: 706–711.
- González Cañizares P. J., Ramírez Pedroso J. F., Morgan Rosemond O., Rivera Espinosa R. y Plana Llerena R. 2015. Contribución de la inoculación micorrízica arbuscular a la reducción de la fertilización fosfórica en *Brachiaria decumbens*. *Cultivos Tropicales* 36: 135-142.
- Gosling P., Jones J. and Bending G.D. 2016. Evidence for functional redundancy in arbuscular mycorrhizal fungi and implications for agroecosystem management. *Mycorrhiza* 26: 77–83.
- Grümberg B., Urcelay C., Schroeder M., Vargas Gil S. and Luna C. 2015. The role of inoculum identity in drought stress mitigation by arbuscular mycorrhizal fungi in soybean. *Biology & Fertility of Soils* 51:1-10.
- Habibpor M., Valizadeh M., Shahbazi H. and Ahmadizadeh M. 2011. Genetic diversity and correlation among agronomic and morphological traits in wheat genotypes (*Triticum aestivum* L.) under influence of drought. *Adv. Environ. Biol.* 5: 1941-1946.
- Harris-Valle C., Esqueda M., Valenzuela-Soto E. M. y Castellanos A. E. 2009. Tolerancia al estrés hídrico en la interacción planta-hongo micorrízico arbuscular: Metabolismo energético y fisiología. *México. Rev. Fitotec.* 32:265–271.
- Herrera-Corrales L. C, Ospina-Alzate D. F., y Ocampo-Jiménez O. 2014. Efecto de gremios de hongos micorrícicos arbusculares aislados de un ambiente desértico sobre el crecimiento de frijol *Phaseolus vulgaris* bajo una condición de déficit hídrico. *Actualidades Biológicas* 36:63-72.
- Hodges A., Robinson D., Griffiths B.S. and Fitter A.H. 1999. Why plants bother: root proliferation results in increased nitrogen capture from an organic patch when two grasses compete. *Plant Cell and Environment* 22: 811–820.

- Ibrahim H.A., Abdel-Fattah G.M., Eman F.M., Abd El_Aziz M.H., and Shohr A.E. 2011. Arbuscular mycorrhizal fungi and spermine alleviate the adverse effects of salinity stress on electrolyte leakage and productivity of wheat plants. *Phyton-Ann. Rei Bot.* 51: 261-276.
- INVAM (International Culture Collection of Arbuscular and Arbuscular-Vesicular Mycorrhizal Fungi) invam.caf.wvu.edu/ Davis College of Agriculture, Natural Resources and Design 4100 Agricultural Sciences Building. (Ultima visita el 30/6/2018).
- Jugran A.K.A., Bahukhandi P., Dhyani Bhatt I.D., Rawal R.S., Nandi S.K. and Palni L.M.S. 2015. The effect of inoculation with mycorrhiza: AM on growth, phenolics, tannins, phenolic composition and antioxidant activity in *Valeriana jatamansi* Jones. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 15: 1036-1049.
- Kadian N., Yadav K. and Aggarwal A. 2014. Application of AM Fungi with *Bradyrhizobium japonicum* in improving growth, nutrient uptake and yield of *Vigna radiate* L. under saline soil. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry* 10: 134-152.
- Kapoor R., Evelin H., Mathur P. and Giri B. 2013. Arbuscular mycorrhiza: Approaches for abiotic stress tolerance in crop plants for sustainable agriculture. In: Tuteja N, Gill SS (eds.) *Plant acclimation to environmental stress*, Springer Science+Business Media, LLC, pp 359–401.
- Kaushal M. and Wani S. P. 2016. Plant-growth-promoting rhizobacteria: drought stress alleviators to ameliorate crop production in drylands. *Ann. Microbiol.* 66: 35–42.
- Kaya C., Higgs D., Kirnak H. and Tas I. 2003. Mycorrhizal colonization improves fruit yield and water use efficiency in watermelon (*Citrullus Lanatus* Thunb.) grown under well-watered and water-stressed conditions. *Plant Soil* 253: 287–292.
- Khoyerdı F.F., Shamsıırı M.H. and Estajı A. 2016. Changes in some physiological and osmotic parameters of several pistachio genotypes under drought stress. *Sci Hortic.* 198: 44-51.
- Khurana E. and Singh J. S. 2004. Germination and seedling growth of five tree species from tropical dry forest in relation to water stress: Impact of seed size. *J. Trop. Ecol.* 20: 385-396.
- Klironomos J.N. 2003. Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecology* 84:2292-2301.
- Kohler J., Tortosa G., Cegarra J., Caravaca F. and Roldan A. 2008. Impact of DOM from composted "alperujo" on soil structure, AM fungi, microbial activity and growth of *Medicago sativa*. *Waste Management* 28:1423-1431.
- López Lauenstein D., Melchiorre M. y Verga A. 2005. Respuestas de los algarrobos al estrés hídrico. *Revista IDIA XXI, INTA Córdoba*, pp. 210-214.

- Luna-Flores W., Estrada-Medina H., Jiménez-Osornio J. y Pinzón-López L. 2012. Efecto del estrés hídrico sobre el crecimiento y eficiencia del uso del agua en plántulas de tres especies arbóreas caducifolias. *Terra Latinoamericana* 30: 343-353.
- Lüttge U. E. 2007. *Physiological ecology of tropical plants*. Springer. Berlin 380 pp.
- Marulanda A., Azcón R. and Ruiz-Lozano J.M. 2003. Contribution six arbuscular mycorrhizal fungal isolates to water uptake by *Lactuca sativa* plants under drought stress. *Physiol. Plant* 119: 526–533.
- Marulanda A., Barea J.M. and Azcón R. 2006. An indigenous drought-tolerant strain of *Glomus intraradices* associated with a native bacterium improves water transport and root development in *Retama sphaerocarpa*. *Microb. Ecol.* 52:670–678.
- Marulanda A., Porcel R., Barea J.M. and Azcón R. 2007. Drought tolerance and antioxidant activities in lavender plants colonized by native drought-tolerant or drought-sensitive *Glomus* Species. *Microb. Ecol.* 54:543-52.
- Montero L., Duarte C., Cun R., y Cabrera J. A. 2010. Efectividad de biofertilizantes micorrízicos en el rendimiento del pimiento (*Capsicum annuum* L. var. Verano1) cultivado en diferentes condiciones de humedad del sustrato. *Cultivos Tropicales* 31: 11-14.
- Moran J.F., Becana M., Iturbe-Ormaetxe I., Frechilla S., Klukas R.V. and Aparicio-Tejo P. 1994. Drought induces oxidative stress in pea plants. *Planta* 194: 346–352.
- Moreno F.L.P. 2009. Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. *Agronomía Colombiana* 27:179-191. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/11131/37762>. Fecha de acceso: 31 de mayo de 2019.
- Mortimer P.E., Pérez Fernandez M.A. and Valentine A.J. 2008. The role of arbuscular mycorrhizal colonization in the carbon and nutrient economy of the tripartite symbiosis with nodulated *Phaseolus vulgaris*. *Soil Biology & Biochemistry* 40: 1019–1027.
- Muhsin T. M. and Zwiazek J. J. 2002. Ectomycorrhizas increase apoplastic water transport and root hydraulic conductivity in *Ulmus Americana* seedlings. *New Phytologist* 153:153 – 158.
- Mujica Pérez Y. y Fuentes Martínez A.G. 2012. Efecto a la biofertilización con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en el cultivo del tomate en condiciones de estrés abiótico. *Cultivos Tropicales* 33:40-46.
- Munns R. and Tester M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59: 651-681.
- Neumann E. and George E. 2010. Nutrient uptake: the arbuscular mycorrhiza fungal symbiosis as a plant nutrient acquisition strategy, in *Arbuscular Mycorrhizas:*

- Physiology and Function, eds Koltai H., Kapulnik Y., (eds.) (New York, NY: Springer), pp. 137–167.
- Núñez-Vázquez M., Dell'Amico-Rodríguez J., Pérez-Hernández M. del C. y Betancourt-Grandal M. 2017. Estrés hídrico y salino en cítricos. Estrategias para la reducción de daños. *Cultivos Tropicales* 38: 65-74.
- Ogawa A, Yamauchi A. 2006. Root osmotic adjustment under osmotic stress in maize seedlings. 2. Mode of accumulation of several solutes for osmotic adjustment in the root. *Plant Prod.* 9: 39-46.
- Paz V., Vera A. Y Páez A. 2003. Distribución de biomasa de *Barleria lupulina* Lindl. en respuesta a tres regímenes de riego. *Revista de la Facultad de Agronomía* 20: 273-281.
- Pérez Moncada U. A. 2011. Evaluación de un sistema para la micorrización in vitro en plantas de Mora de Castilla (*Rubus glaucus*). Master en Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias de Bogotá, 92 pp.
- Porcel R. and Ruiz-Lozano J.M. 2004. Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. *Journal of Experimental Botany* 55: 1743–1750.
- Querejeta J.I., Allen M.F., Caravaca F. and Roldan A. 2006. Differential modulation of host plant delta 1 3C and delta 1 8O by native and non-native arbuscular mycorrhizal fungi in a semiarid environment. *New Phytologist* 169:379- 387.
- Rahimi A., Jahanbin S., Salehi A. and Farajee H. 2017. Changes in Content of Chlorophyll, Carotenoids, Phosphorus and Relative Water Content of Medicinal Plant of Borage (*Borago officinalis* L.) under the Influence of Mycorrhizal Fungi and Water Stress. *Journal of Biological Sciences* 17: 28-34.
- Rani B. 2016. Effect of arbuscular mycorrhiza fungi on biochemical parameters in wheat (*Triticum aestivum* l.) under drought conditions. Doctor of Philosophy in the subject of Biochemistry to the Chaudhary Charan Singh Haryana Agricultural University, Hisar, 109 pp.
- Rapparini F. and Peñuelas J. 2014. Mycorrhizal fungi to alleviate drought stress on plant growth. In: Miransari M (ed.) Use of microbes for the alleviation of soil stresses. Springer Science+Business Media NY, 1: 21–42.
- Rillig M.C. and Mummey D.L. 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist* 171: 41- 53.
- Ruiz-Lozano J. M. 2003. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress: new perspectives for molecular studies. *Mycorrhiza* 13: 309-317.
- Ruiz-Lozano J.M. and Azcón R. 1995. Hyphal contribution to water uptake in mycorrhizal plants as affected by the fungal species and water status. *Physiol. Plant* 95:472–478.

- Ruiz-Lozano J.M. and Azcón R. 2000. Symbiotic efficiency and infectivity of an autochthonous arbuscular mycorrhizal *Glomus* sp from saline soils and *Glomus deserticola* under salinity. *Mycorrhiza* 10:137–143.
- Ruiz-Sanchez M., Aroca R., Munoz Y., Armada E., Polon R. and Ruiz-Lozano J.M. 2010. The arbuscular mycorrhizal symbiosis enhances the photosynthetic efficiency and the antioxidative response of rice plants subjected to drought stress. *J. Plant Physiol.* 167:862–869.
- Salloum M. S., Menduni M. F. and Luna C. M. 2018. A differential capacity of arbuscular mycorrhizal fungal colonization under well-watered conditions and its relationship with drought stress mitigation in unimproved vs. improved soybean genotypes. *Botany* 96: 135-144.
- Sarkar J., Ray A., Chakraborty B. and Chakraborty U. 2016. Antioxidative changes in *Citrus reticulata* L. induced by drought stress and its effect on root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi. *Eur. J. Biol. Res.* 6:1–13.
- Schouteden N., De Waele D., Panis B. and Vos C. M. 2015. Arbuscular mycorrhizal fungi for the biocontrol of plant-parasitic nematodes: a review of the mechanisms involved. *Frontiers in Microbiology* 6:1280.
- Seguel Fuentealba A. 2014. El potencial de las micorrizas arbusculares en la agricultura desarrollada en zonas áridas y semiáridas. *Idesia, Arica* 32:3-8.
- Shao H.B., Chu L.Y., Wu G., Zhang J.H., Lu Z.H. and Hu Y.C. 2007. Changes of some antioxidative physiological indices under soil water deficits among 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at tillering stage. *Colloids Surf. B.* 54:143–149.
- Singh B. and Singh G. 2006. Effects of controlled irrigation on water potential, nitrogen uptake and biomass production in *Dalbergia sissoo* seedlings. *Environ. Exp. Bot.* 55: 209-219.
- Smith S.E. and Read D.J. 2008. *Mycorrhizal symbiosis*. 3rd edn. Academic Press, 787 pp.
- Song F., Song G., Dong A. and Kong X. 2011. Regulatory mechanisms of host plant defense responses to arbuscular mycorrhiza. *Acta Ecológica Sinica* 31:322–327.
- Soriano, A. 1982. La adaptación de las plantas a la sequía. *Anal. Acad. Nac. Cs. Fis. Nat.* 34: 95-110.
- Subramanian K. S., Santhana-krishnan P. and Balasubramanian P. 2006. Responses of field grown tomato plants to arbuscular mycorrhizal fungal colonization under varying intensities of drought stress. *Scientia Horticulturae* 107: 245-253.
- Subramanian K.S., Tenshia V., Jayalakshmi K. and Ramachandran V. 2011. Antioxidant enzyme activities in arbuscular mycorrhizal (*Glomus intraradices*) fungus inoculated and non-inoculated maize plants under zinc deficiency. *Indian J. Microbiol.* 51:37-43.

- Symanczik S., Błaszowski J., Koegel S., Boller T., Wiemken J. and Al-Yahya'ei M. N. 2014. Isolation and identification of desert habituated arbuscular mycorrhizal fungi newly reported from the Arabian Peninsula. *Journal of Arid Land* 6: 488-497.
- Thougnon Islas A.J., Eyherabide M., Echeverría H.E., Rozas H.S. y Covacevich F. 2014. Capacidad micotrófica y eficiencia de consorcios con hongos micorrícicos nativos de suelos de la provincia de Buenos Aires con manejo contrastante. *Rev. Argent. Microbiol.* 46: 133-143.
- Troll W. and Lindsley J. 1954. Aphotometric method for the determination of proline. *J. Biol. Chem.* 215: 655-660.
- Tobar R.M., Azcón R. and Barea J.M. 1994. The improvement of plant N acquisition from an ammonium treated, drought stressed soil by the fungal symbiont in arbuscular mycorrhizae. *Mycorrhizal* 4: 105-108.
- Tyree M. T., Engelbrecht B. M., Vargas G., and Kursar T. A. 2003. Desiccation tolerance of five tropical seedlings in Panama: Relationship to a field assessment of drought performance. *Plant Physiol.* 132: 1439-1447.
- Vanková R., Dobrá J. and Štorchová H. 2012. Recovery from drought stress in tobacco, *Plant Signaling & Behavior* 7: 19-21.
- Villagra P.E. and Cavagnaro J.B. 2006. Water stress effects on the seedling growth of *Prosopis argentina* and *Prosopis alpataco* .*J. Arid Environ.* 64: 390-400.
- Wintermans J.F.G.M. and De Mots A. 1965. Spectrophotometric characteristics of chlorophylls a and b and their pheophytins in ethanol *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biophysics including Photosynthesis* 109: 448-453.
- Wu F., Bao W., Li F. and Wu N. 2008. Effects of drought stress and N supply on the growth, biomass partitioning and water use efficiency of *Sophora davidii* seedlings. *Environ. Exp. Bot.* 63: 248-255.
- Wu Q.S. and Xia R.X. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. *J. Plant Physiol.* 163: 417–425.
- Wu Q.S., Zou Y.N. and Xia R.X. 2006. Effects of water stress and arbuscular mycorrhizal fungi on reactive oxygen metabolism and antioxidant production by citrus (*Citrus tangerine*) roots. *Eur. J. Soil Biol.* 42: 166–172.
- Wu Q.S., Srivastava A.K. and Zou Y.N. 2013. AMF-induced tolerance to drought stress in citrus: a review. *Sci Hortic* 164:77–87.
- Xue H.Q. 2004. Water ecophysiology effects of arbuscular mycorrhizal fungi on *Citrus grandis* L. Osbeck cv. Shatianyou in Changshou. MD thesis, South-west Agriculture University, Chongqing, P.R. China, 43 pp.

- Yooyongwech S.; Phaukinsang N.; Cha-Um S. and Supaibulwatana K. 2013. Arbuscular mycorrhiza improved growth performance in *Macadamia tetraphylla* L. grown under water deficit stress involves soluble sugar and proline accumulation. *Plant Growth Regul.* 69: 285–293.
- Zaouchi Y., Ben Bahri N., Rezgui S. and Bettaieb T. 2013. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation and fertilization on mycorrhizal Statute of *Jacaranda mimosifolia* D.Don cultivated in nurseries. *Comptes Rendus Biologies* 336: 493-499.
- Zhu X., Song F. and Liu S. 2011. Arbuscular Mycorrhiza impacts on drought stress of maize plants by lipid peroxidation, proline Content and activity of antioxidant system. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 9: 583 – 587.
- Zou Y.N., Wu Q.S., Huang Y.M., Ni Q.D. and He X.H. 2013. Mycorrhizal-Mediated lower proline accumulation in *Poncirus trifoliata* under water deficit derives from the integration of inhibition of proline synthesis with increase of proline degradation. *PLOS One* 8: 1–8.

CAPÍTULO 5

EVALUACIÓN DE LA INTERACCION ENTRE LA FERTILIZACIÓN MINERAL Y HONGOS MICORRÍDICOS ARBUSCULARES EN EL CRECIMIENTO DE VIVERO Y TOLERANCIA A LA SEQUÍA DE PLÁNTULAS DE *Prosopis alba*

INTRODUCCIÓN

Las plántulas de buena calidad son necesarias para garantizar el establecimiento y desarrollo apropiado de los bosques implantados (Salifu y Jacobs, 2006). Las plantas de vivero requieren cantidades adecuadas de nutrientes del medio para un equilibrio adecuado, para procesos fisiológicos básicos y para promover el crecimiento y el desarrollo. En general, este aspecto se aborda en el vivero a través de la fertilización, rusticación y la inoculación con microorganismos mutualistas, como la micorriza / o rizobios (Jacobs y Landis, 2009).

La fertilización es una de las prácticas culturales más importantes para obtener plantines de calidad, especialmente en la producción en contenedores, donde limitaciones del volumen de los recipientes restringen seriamente el crecimiento (Landis, 1989). La aplicación de fertilizantes químicos es una práctica común que se realiza en los viveros, ya que en general se utilizan sustratos inertes, con la desventaja que de daños ambientales, como son la contaminación de las aguas subterráneas y del suelo.

Estudios con HMA y nutrientes han mostrado que éstos, además de favorecer la absorción de elementos nutritivos para las plantas, incrementan la eficiencia en el uso de fertilizantes, tanto químicos como orgánicos (Quiñones-Aguilar *et al.*, 2012; Cruz

Hernández *et al.*, 2014), reducen el tiempo de manejo en vivero, y promueven el establecimiento exitoso en campo de especies forestales (Quintos y Valdés, 1987). Tales efectos son atribuidos a mayores valores en altura, biomasa de las plantas micorrizadas (Qiang-Sheng y Ren-Xue, 2006), mayor enraizamiento de estacas y regeneración de las raíces, aumento en la tolerancia a las sales y la reducción en el estrés producido por la sequía y los patógenos (Castellano y Molina, 1989). Por todos estos beneficios, los HMA tienen potencial para la aplicación comercial en la producción de plantas en macetas (Biermann y Linderman, 1983).

Sin embargo, existe escasa información acerca de los requerimientos nutricionales de leguminosas nativas en vivero y del modo en que estos regímenes influyen el establecimiento y mantenimiento de la simbiosis con microorganismos (Goicoechea *et al.*, 2004; Hahne y Schuch, 2006). Además, la colonización por los HMA decrece cuando la fertilidad se incrementa, la aplicación de altos niveles de fósforo (P) y nitrógeno (N) este último bajo la forma de amonio (NH_4^+) han sido citados como factores depresores de la colonización (Biermann y Linderman, 1983; Baath y Spokes 1989). Además, las diferentes prácticas de manejo aplicadas en el vivero pueden afectar drásticamente el establecimiento de la simbiosis micorrizica (Rodríguez-Morelos *et al.*, 2011), ya que se ha observado que la fertilización produce cambios en la composición y el desarrollo de los HMA (Liu *et al.*, 2012). Por otra parte, el uso de HMA en vivero implica modificar los regímenes de fertilización y riego para apoyar las asociaciones de micorrizas (Wilkinson, 2009).

P. alba (algarrobo blanco) es un importante recurso forestal y una de las especies nativas de mayor valor comercial porque tiene usos múltiples y proporciona una amplia gama de productos. Debido a sus atributos, este recurso ha sido sobreexplotado, lo que lleva a la degradación de los bosques en su área de dispersión. En estas condiciones, las plántulas de *Prosopis* están expuestas a una amplia gama de condiciones ambientales que pueden producir estrés hídrico, reduciendo su supervivencia y/o crecimiento (Villagra *et al.*, 2010; Carevic *et al.*, 2017). Consecuentemente, existe la necesidad del establecimiento de plántulas con fines comerciales y/o para restauración de áreas degradadas (Salto *et al.*, 2017).

Particularmente, el empleo de soluciones ajustadas para *Eucalyptus grandis*, durante la producción en vivero de plantines de *P. alba* en contenedor, ha probado ser útil

y apropiado (Salto *et al.*, 2016). Además, Salto *et al.*, (2017) reportaron información sobre las condiciones de manejo de viveros en una especie de gran potencial económico y ecológico, como *P. alba*, contribuyendo a la mejora de su producción y conservación, sin embargo, faltan datos sobre la aplicación de fertilizantes químicos y el efecto combinado de los HMA.

Hipótesis: La aplicación de HMA, puede sustituir parcial o completamente el uso de fertilizantes químicos en el crecimiento de *P. alba* en condiciones de vivero.

El objetivo general de este capítulo fue evaluar bajo condiciones de vivero, el efecto e interacción de la inoculación con HMA autóctonos de algarrobales y la fertilización, y los objetivos específicos fueron: 1) evaluar el efecto de dos inóculos HMA autóctonos y su mezcla (MIX) y la fertilización en las variables de crecimiento de las plántulas de *P. alba* en condiciones de vivero y 2) evaluar la capacidad de rebrote de HMA - *P.alba* después de un estrés por sequía en condiciones de invernadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Evaluación del efecto de inóculos HMA autóctonos y su mezcla (MIX) y la fertilización en las variables de crecimiento de las plántulas de *P. alba* en condiciones de vivero

Inóculos a utilizar Los inóculos corresponden a los sitios de Colonia Benítez y Padre Lozano, y la mezcla de ambos (MIX), (descritos en el Capítulo 2). Se utilizó el inóculo de HMA cuando la colonización micorrícica en las raíces de las plantas presentó al menos el 50 % (Sieverding, 1991).

Ensayo en vivero El ensayo se realizó en el vivero forestal de la Estación Experimental Agropecuaria Concordia, perteneciente al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, (INTA), ubicado en la ciudad de Concordia (31 ° 22 'S y 58 ° 07' O; 47 msnm), provincia de Entre Ríos, Argentina. La región tiene un clima templado cálido sin estación seca, con

una temperatura media anual de 18,7 °C y una precipitación media anual de 1.345 mm. Las semillas de *P. alba* se recolectaron de árboles de La Paz, Entre Ríos (30° 56'25 "S, 59° 36'18" W). Los pasos de tratamiento de germinación previa incluyeron la escarificación mecánica de la semilla con arena, la inmersión en agua a 100 °C y finalmente el enfriamiento a temperatura ambiente y el mantenimiento en agua durante 24 h. Las semillas se sembraron en recipientes de plástico de 125 cm³ (Tubetes, R125, Dassplastic del Mercosur®), usando una mezcla (2: 1: 1 v / v) de corteza de pino compostada, perlita (Perlome® Grueso) y vermiculita (Intersum® Mediano F1) como sustrato. La inoculación se realizó en la siembra aplicando 20 g de inóculo HMA (comprendido por esporas, hifas y raíces micorrizadas y el sustrato que contenía las plantas trampa) en el hoyo de siembra por recipiente de PL, CB y una mezcla de cantidades similares de ambos inóculos (MIX). Un tratamiento no fue inoculado (NI).

El uso de solución nutritiva durante la producción de vivero de plántulas de *P. alba* en contenedores ha demostrado ser útil y apropiado (Salto *et al.*, 2016) y se utilizó para este ensayo. Los tratamientos de fertilización con macro y micronutrientes fueron: fertilización (100 %); fertilización diluida (25 %) consistió en diluir la solución de nutrientes del 100 % al 25 % (v/v) y el tratamiento no fertilizado (NF). Las formulaciones de soluciones de nutrientes se detallan en Salto *et al.*, (2017).

Los tratamientos de fertilización comenzaron 30 días después de la siembra durante la fase de crecimiento. La fase de rusticación, consistió en una etapa controlada de estrés (pleno sol, bajas cantidades de nutrientes disponibles y humedad del suelo limitada) para la aclimatación de las plantas antes de ser llevadas a la plantación y establecimiento a campo (Jacobs y Landis, 2009), se inició 80 días después de la siembra, con una solución bajo en fósforo para todos los tratamientos. En todos los casos, las soluciones de fertirrigación preparadas se aplicaron manualmente dos veces por semana; hasta que la saturación del sustrato.

El diseño experimental aplicado fue dividido en parcelas con bloques completamente aleatorizados con ocho repeticiones y 16 plantas por parcela. Las variables analizadas fueron el diámetro del cuello, la altura total y el número de hojas por plántula, medido en plántulas de 120 días de edad. El porcentaje de colonización micorrízica se determinó en una muestra de cinco plántulas por tratamiento, utilizando el método de

Philips y Hayman, (1970). Las estructuras de AMF se visualizaron en un microscopio óptico, haciendo 120 observaciones por muestra, de acuerdo con McGonigle *et al.* (1990).

Evaluación de la capacidad de rebrote de HMA - *P.alba* después de un estrés por sequía en condiciones de invernadero.

Ensayo de sequía Quince plántulas de *P. alba* de 120 días de edad por tratamiento del ensayo de vivero se transfirieron al invernadero a 20-25 °C, luego de su traslado al Instituto de Fisiología y Recursos Genéticos Vegetales. Las plántulas se aclimataron mediante riego con agua filtrada dos veces por semana para mantener el contenido de agua del suelo cerca de la capacidad del campo durante los primeros 10 días. Posteriormente todos los tubetes se dejaron secar hasta aproximadamente el 10 % del contenido hídrico del suelo. Al final de este experimento, las plántulas de 145 días se regaron hasta su capacidad máxima durante 10 días y se midió la supervivencia, como la capacidad de rebrotado (Nolan *et al.*, 2014; Zeppel *et al.*, 2015), por lo cual se evaluó contando el número de plantas con hojas verdes nuevas. El diseño experimental fue completamente aleatorizado.

Análisis estadístico

Se usó un modelo lineal mixto para el diseño aplicado en el vivero usando el procedimiento MIXED; cuando hubo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos, la prueba de comparación de medias se realizó utilizando la declaración LSMEANS y la opción ADJUST = TUKEY en SAS® V.9.1 (SAS Institute Inc.). Un modelo generalizado con una familia binomial y la función de enlace logit se utilizó para el ensayo de sequía. Los medias ajustados se compararon a posteriori mediante la prueba DGC utilizando InfoStat v. 2017 (Di Rienzo *et al.*, 2017).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación del efecto de dos inóculos HMA autóctonos y su mezcla (MIX) y la fertilización en las variables de crecimiento de las plántulas de *P. alba* en condiciones de vivero

Ensayo de vivero De todos los factores que afectan el establecimiento y la función de la micorriza arbuscular en las plantas, el nivel de fertilizante es uno de los más importantes, en tal sentido, el uso de formulaciones de fertilizantes con menos contenido de P es el que permite la formación de las micorrizas (Linderman y Davis, 2004).

En la Tabla 5.1 se observa que los tratamientos no inoculados no presentaron colonización micorrícica ($p > 0.05$). Los tratamientos no fertilizados (NF), e inoculados con PL, CB y la MIX de ambos, mostraron un porcentaje de colonización micorrícica alrededor del 60 %, el cual fue similar para los tres inóculos ensayados con *P. alba*, luego de 120 días en vivero. La adición de soluciones de fertilización, al 100 % y al 25 %, a los tratamientos inoculados con HMA no promovió diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,4561$) en el porcentaje de colonización micorrícica y fue similar en los tres inóculos HMA, con valores entre 60 % y 70 %, lo que sugiere que el agregado de fertilizante con menor contenido de P no altera la capacidad de colonización micorrícica, siendo ésta similar en los tres inóculos (Tabla 5. 1). Además, no inhibió la formación de las estructuras características de HMA, tales como arbusculos, vesículas e hifas, en las raíces de plántulas de *P. alba*.

Otros estudios han demostrado que altos niveles de P pueden provocar un efecto inhibitorio en el crecimiento de HMA, como consecuencia de la disminución de la permeabilidad de las membranas celulares radicales, lo que reduce la concentración de carbohidratos solubles y compuestos nitrogenados que son los inductores de la formación de la simbiosis (Natale *et al.*, 2004). Por su parte, Yong *et al.* (2011) sugirieron que un alto nivel de fertilización reduciría la actividad de los simbiontes micorrícicos y daría como resultado una gran pérdida de diversidad de HMA. En particular, algunas especies de HMA son más sensibles que otros a las condiciones específicas de fertilización. Esto

probablemente esté relacionado con la diferente capacidad en la absorción de nutrientes de las especies de HMA. Por ejemplo, se han demostrado que especies de Acaulospora son muy eficaces en la absorción de P, y en la transferencia a la planta huésped, en comparación con las especies de Glomeraceae (Jakobsen *et al.*, 1992). En línea con estos hallazgos, las especies de Acaulosporaceae disminuyen su actividad con la fertilización con alto aporte de P o en suelos ricos en P (Lin *et al.*, 2012). Lo mismo se ha observado para Gigasporaceae en suelos enriquecidos con N (Lin *et al.*, 2012; Johnson *et al.*, 2003). Y en especies de Glomeraceae, como *Rhizophagus intraradices*, son capaces de hacer frente a ambientes ricos en nutrientes (Lin *et al.*, 2012, Liu *et al.*, 2012; Berruti *et al.*, 2014).

Tabla 5.1. Porcentaje de micorrización (%) en distintos niveles de fertilización en plantines de *P. alba* de 120 días de edad

Inóculo	Fertilización		
	100 %	25 %	Sin Fert.
PL	63.95	63.47	65.14
CB	69.61	69.58	59.21
MIX	59.93	70.71	61.45
NI	0.00	0.00	0.00

La respuesta de las variables de crecimiento (el largo total y aéreo, el PS y el PF aéreo y el diámetro) en los tratamientos de fertilización 25 % y 100 % sin inocular fueron significativos ($p < 0,05$), siendo proporcional al incremento de la concentración del fertilizante (Tabla 5.2 y Fig. 5.1). En los tratamientos sin fertilizar pero con el agregado de los inóculos de HMA, se incrementó los valores de las variables de crecimiento (Tabla 5.2 y Fig. 5.1 A).

En el tratamiento no inoculado (NI), los parámetros de crecimiento respondieron positivamente a la fertilización. La adición de HMA autóctono aumentó el número de hojas en los tratamientos sin fertilizantes; y el inóculo PL también favoreció el aumento del diámetro del cuello y el alto total (Tabla 5.2 y Fig. 5.1).

El estímulo en el crecimiento por HMA también fue observado por Bashan *et al.* (2009), evaluando tres especies de leguminosas inoculadas con HMA, entre ellas *Prosopis articulata* S. Watson, los autores obtuvieron respuestas positivas para altura total, número de ramas, diámetro de la base del tallo, entre otras variables.

La tasa de fertilización más alta (100 %) estimuló el crecimiento en altura de las plántulas inoculadas con PL, lo que sugiere que los HMA del inóculo PL favorecieron la asimilación de nutrientes. Además, el mayor número de hojas fue obtenido con el inóculo PL inoculado sin fertilizar (Tabla 5.2). La mayor producción de hojas en plantas inoculadas sugiere que las micorrizas estimulan la ontogenia y retrasa la senescencia de las hojas (Beltrano y Ronco 2008).

Las plantas inoculadas con CB con el agregado del fertilizante del 25 % obtuvieron mayor respuesta en la mayoría de las variables medidas. En cuanto a las plantas inoculadas con la MIX, las respuestas fueron similares a las obtenidas por el inóculo CB (Tabla 5.2).

La aplicación simultánea de los inóculos de HMA y 25 % del fertilizante, mejoró el comportamiento de la mayoría de las variables (Tabla 5.2 y Fig. 5.1B). Además, al incrementar el fertilizante al 100 % el crecimiento en el tratamiento con el inóculo de PL fue mayor que con los inóculos de la MIX y CB (Tabla 5.2 y Fig. 5.1C).

Tabla 5.2. Evaluación de variables de crecimiento en *Prosopis alba* Griseb con y sin micorrizas y con y sin el agregado de fertilizante en un 100 % y 25 %.

Tratamiento	Nivel de fertilización (%)	Largo aéreo (cm)	Largo raíz (cm)	Largo Total (cm)	Nº de Hojas	Peso Fresco aéreo (g)	Peso Seco aéreo (g)	Diámetro (mm)
Testigo	0	19,4 d	14,04 a	33,4 c	11,0 b	0,85 c	0,31 d	1,85 c
	25	28,0 c	15,8 a	43,8 b	13,0 b	2,27 b	1,33 d	3,37 a
	100	38,8 b	16,2 a	52,0 a	13,0 b	3,47 a	1,94 b	3,61 a
PL	0	27,4 c	14,4 a	41,8 b	14,2 b	1,59 c	0,61 d	2,25 c
	25	36,4 b	13,6 a	50,0 a	12,4 b	3,29 a	1,53 b	3,73 a
	100	41,0 a	14,4 a	55,4 a	9,2 b	3,81 a	2,25 a	4,00 a
CB	0	19,8 d	14,8 a	34,6 c	13,0 b	0,84 c	0,31 d	1,81 c
	25	31,2 c	14,2 a	45,4 b	17,4 a	2,66 b	1,09 c	2,87 b
	100	30,0 c	13,2 a	43,2 b	16,6 a	3,45 a	1,66 b	3,38 a
MIX	0	23,4 d	14,4 a	37,8 c	13,4 b	1,32 c	0,44 d	2,18 c
	25	29,6 c	13,4 a	43,0 b	16,2 a	2,01 b	0,83 d	2,43 c
	100	28,2 c	12,8 a	41,0 b	15,8 a	2,68 b	1,18 bc	2,91 b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

En *Prosopis juliflora* (SW). DC., encontraron un efecto sinérgico de los HMA y la fertilización con fósforo (0, 20 y 40 mg de P.kg⁻¹ de suelo) y atribuyeron la similitud de crecimiento en altura entre las plantas inoculadas y las no inoculadas en la dosis más alta de P, a que la cantidad de P adicionado fue suficiente para satisfacer las necesidades nutricionales y en consecuencia los HMA no promovieron un crecimiento adicional (Félix de Aguiar *et al.*, 2004). La comprensión en las interacciones entre microbios, fertilizantes y plantas es importante, ya que al obtener más nutrientes en los tejidos de las plantas por el uso de inoculantes microbianos, será posible la aplicación de menores cantidades de fertilizantes aumentando la efectividad de su uso (Adesemoye y Kloepper, 2009).

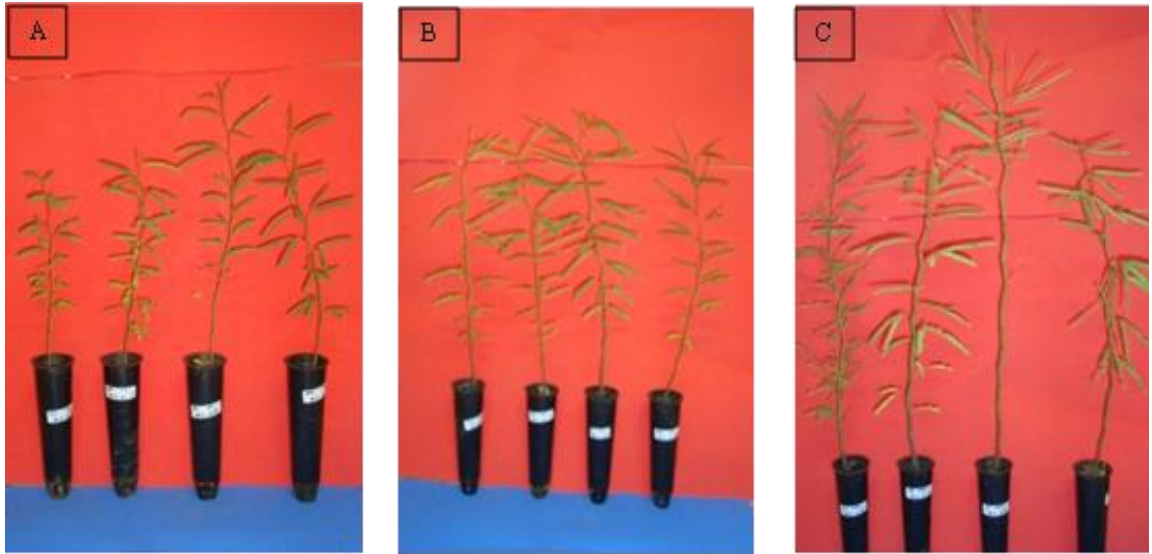


Fig. 5.1. Imágenes correspondientes a plántulas de *P. alba* con los tratamientos con riego normal, ubicados en el siguiente orden: Testigo, CB, PL y MIX. A) Tratamiento con 0 % de fertilización, B) Tratamiento con 25 % de Fertilización y C) Tratamiento con 100 % de fertilización. CB. Colonia Benítez, PL: Padre Lozano y MIX: Mezcla en partes iguales de los inóculos de CB y PL.

Estos resultados revelan que existe una interacción muy positiva entre la fertilización de *P. alba* y la aplicación de inóculos de HMA. En general la simbiosis *P. alba*- HMA no vio afectada su capacidad de colonización micorrizica por el agregado de fertilizantes. Además la inoculación con HMA fue mejorada por la fertilización, sobre todo con el inóculo aislado del sitio de PL.

Evaluación de la capacidad de rebrote de HMA - *P.alba* después de un estrés por sequía en condiciones de invernadero.

Ensayo de sequía El rebrote se considera un rasgo funcional clave de la planta, relacionado con la capacidad de algunas plantas para formar nuevos brotes y aumentar la capacidad de supervivencia después de la destrucción de los tejidos vivos

(Pausas *et al.*, 2016). Muchas especies leñosas han desarrollado estrategias de rebrote para asegurar una recuperación rápida Vesk y Westoby (2004). Esta estrategia promueve menores tasas de mortalidad, y mayor capacidad de recuperación, la cual se relaciona con un retorno más rápido de los flujos de carbono y agua a los niveles previos a la perturbación (Nolan *et al.*, 2014). Por el contrario, Pausas *et al.* (2016) establecieron que las plantas rebrotadas pueden ser vulnerables a la mortalidad por sequía causada por el agotamiento de los carbohidratos y / o la falla hidráulica. Los HMA puede mejorar la adquisición de agua de las plantas hospedantes, lo que podría afectar la respuesta de los árboles al estrés por sequía (Rapparini y Peñuelas, 2014), sin embargo, la capacidad de rebrote no se asoció con la simbiosis HMA.

En esta tesis, la capacidad de rebrote de *P. alba*, después de las condiciones de estrés por sequía, varió con los diferentes niveles de inóculos y fertilización. El tratamiento no inoculado y no fertilizado exhibió el índice de rebrote más bajo de todos los tratamientos. Por el contrario, el efecto del tratamiento (inóculo HMA x Fertilización) fue significativo ($p < 0.05$) aumentando la capacidad de rebrote (Fig. 5.3). Comparaciones a posteriori indican que la proporción de plantas rebrotadas en los tratamientos PL sin fertilización (PL_0%) y PL bajo fertilización 25% (PL_25%) fueron significativamente más altos que el resto del ensayo (Fig. 5.3). Por lo tanto, el efecto del inóculo de PL se mejoró mediante la aplicación de fertilizantes a la tasa más baja (dilución del 25 %), lo cual es consistente con observaciones reportadas por Cruz Hernández *et al.* (2014) en plántulas de *Nicotiana glauca* Graham. Ellos mostraron que al aplicar el 75 % de fertilizante mineral + 0.50 kg de *Glomus cubense* era posible obtener una producción con igual rendimiento y calidad que al aplicar el 100 % de fertilizante mineral.

Es además interesante destacar que, el agregado al inóculo de PL de fertilizante al 100 %, tuvo un efecto totalmente negativo en la capacidad de rebrote y de igual manera se observó para la MIX y CB (Fig. 5.2 C), sugiriendo que altas concentraciones de fertilizante podría afectar negativamente la capacidad de supervivencia en la simbiosis HMA-*P. alba*.

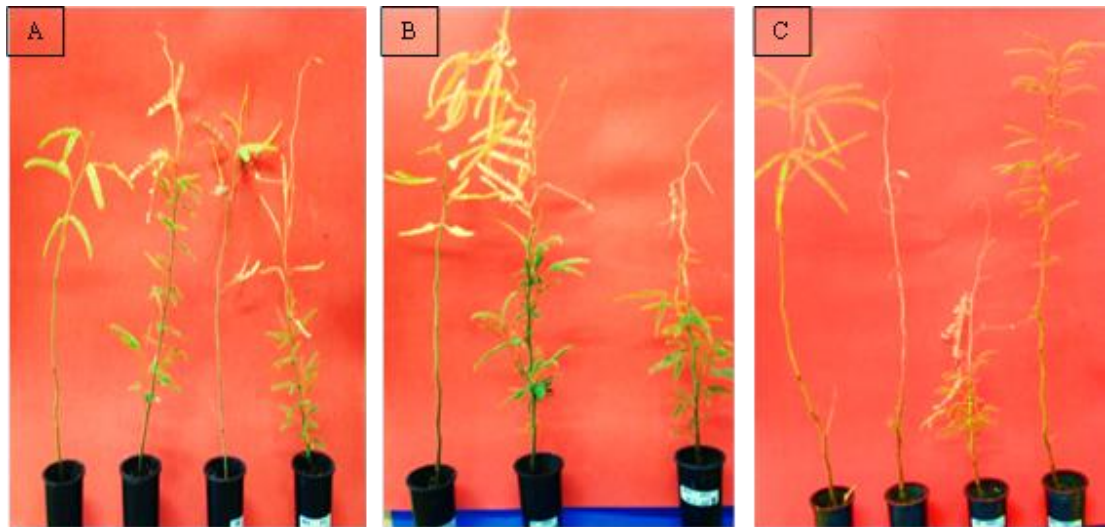


Fig. 5.2. Imágenes correspondientes a plántulas de *P. alba* de 155 días de edad foliar en condiciones de invernáculo, en recuperación después de un período de sequía, ubicados en el siguiente orden: Testigo, PL, CB y MIX. Los tratamientos, después de la sequía fueron: A) Tratamiento con 0 % de Fertilización, B) Tratamiento con 25 % de Fertilización y C) Tratamiento con 100 % de Fertilización. Las plántulas fueron sometidas a un tratamiento de sequía durante 15 días. Las imágenes corresponden a su recuperación después de 10 días en que fueron regadas normalmente. CB: Colonia Benítez, PL: Padre Lozano y MIX: Mezcla en partes iguales de los inóculos de CB y PL.

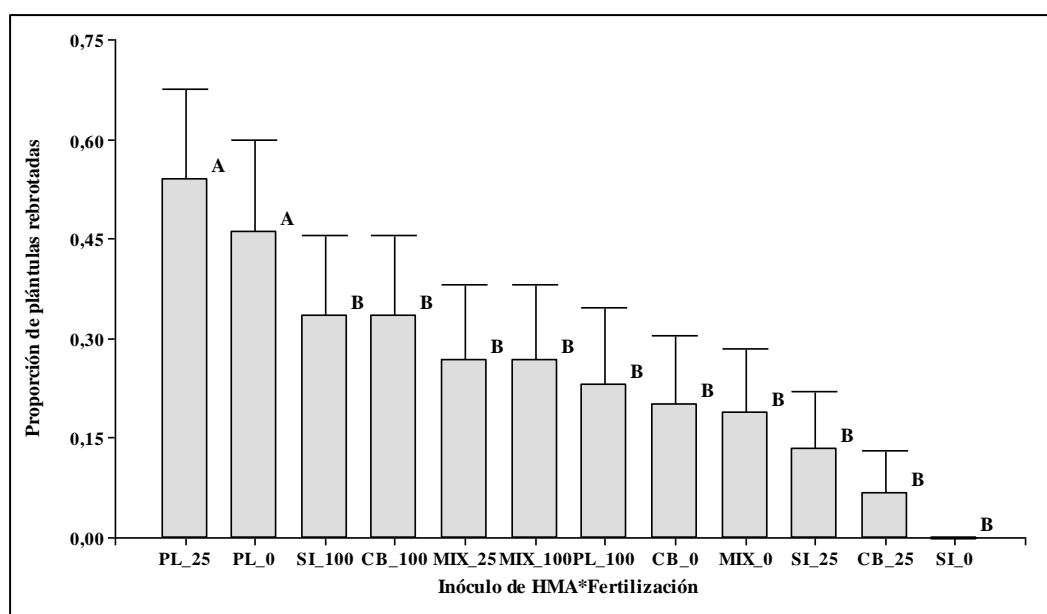


Fig. 5.3. Capacidad de rebrote de *P. alba*, expresado como la cantidad de plantas rebrotadas después de estrés por sequía y su recuperación. Efecto del estrés por sequía en bajo diferentes fertilizaciones y regímenes de inoculación con HMA provenientes de los sitios, Padre Lozano y Colonia Benítez, con precipitaciones pluviométricas contrastantes. Las barras verticales indican el error estándar de la media y las letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) de acuerdo con la prueba de DGC.

De la comparación cualitativa en la Fig. 5.3, se observa que el inóculo de PL seguido por la MIX muestran mejor capacidad de rebrote que su control sin micorriza y el inóculo de CB. Por lo tanto, nuestros resultados sugieren que un inóculo HMA aislado de las regiones semiáridas, como PL, en simbiosis con *P. alba*, podría presentar mayor capacidad de rebrote y mejor supervivencia. Estos resultados concuerdan con las observaciones reportadas por Ruiz-Lozano *et al.* (1995), Klironomos (2003) y Marulanda *et al.* (2006), quienes encontraron que las diferencias en la eficiencia para aumentar la tolerancia a la sequía y el crecimiento de la planta, dependían del origen de la HMA.

Los resultados de esta tesis destacan el papel de los HMA para lograr una mayor eficiencia en el uso de los recursos y una mayor eficiencia en la producción de plántulas de calidad, evitando altos insumos de fertilización y la mejora de su supervivencia bajo estrés hídrico.

CONCLUSIONES

La aplicación combinada de HMA autóctono y la fertilización (con bajo contenido de fosforo) no afectan la colonización micorrícica y favorecen formación de las diferentes estructuras de HMA.

El inóculo PL, originado en regiones de baja precipitación, es el más eficiente en vivero y sequía en condiciones de invernadero, lo que sugiere, que su mayor capacidad para beneficiar a *P. alba* se relaciona con las condiciones ambientales del sitio de origen del inóculo, con su efecto siendo mejorado por la aplicación de bajas tasas de fertilización.

HMA es un aporte microbiológico prometedor para el desarrollo de la producción sostenible de plántulas de *P. alba*; por lo tanto, dado el papel de HMA en el funcionamiento de los ecosistemas y su potencial como fertilizantes biológicos, se propone incluir la inoculación con HMA en los sistemas de producción. Además, los resultados obtenidos muestran que la fertilización a los niveles estudiados estimula el efecto de la HMA en simbiosis con *P. alba*.

Estos resultados de la supervivencia de plantas son relevantes para trabajos de recolonización vegetal con especies nativas en ecosistemas deteriorados, por lo que se muestra que la micorrización favorece la supervivencia de las plantas en el periodo más seco, debido posiblemente al suministro hídrico que aportan los HMA a su hospedero.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Adesemoye A.O. and Kloepper J.W. 2009. Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. *Appl. Microbiol. Biotechnology* 85:1-12.
- Bashan Y., Salazar B. and Puente M.E. 2009. Responses of native legume desert trees used for reforestation in the Sonoran desert to plant growth-promoting microorganisms in screen house. *Biol. Fertil. Soils* 45:655-662.

- Beltrano J. and Ronco M.G. 2008. Improved tolerance of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) to drought stress and rewatering by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroideum*: effect on growth and cell membrane stability. *Braz. J. Plant Physiol.* 20:29–37.
- Biermann B. and Linderman R.G. 1983. Effect of container plant growth medium and fertilizer phosphorus on establishment and host growth response to vesicular-arbuscular mycorrhizae. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 108: 962-971.
- Berruti A., Borriello R., Orgiazzi A., Barbera A.C., Lumini E. and Bianciotto V. 2014. Arbuscular mycorrhizal fungi and their value for ecosystem management. In: Grillo, O. (ed.) *Biodiversity - The dynamic balance of the planet*, In Tech, 8:159-191.
- Carevic F.S., Delatorre-Herrera J. and Delatorre-Castillo J. 2017. Inter-and intrapopulation variation in the response of tree seedlings to drought: physiological adjustments based on geographical origin, water supply and species. *AoB Plants* 9: plx 037.
- Castellano M.A. and Molina R. 1989. Mycorrhizae In: Landis T.D., Tinus R.W., McDonald S.E., Barnett, J.P. (eds.) *The Container Tree Nursey Manual*, Agric. Handbook 674, Washington, DC: US Department of Agriculture, Forest Service, 5: 101-167.
- Cruz Hernández Y., García Rubido M., León González Y.y Acosta Aguiar Y. 2014. Influencia de la aplicación de micorrizas arbusculares y la reducción del fertilizante mineral en plántulas de tabaco. *Cultivos Tropicales* 35: 21-24.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., González L., Tablada M. y Robledo C.W. 2017. *InfoStat Versión 2017*. Grupo InfoStat, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.
- Félix de Aguiar R.L., Maia L.C., Salcedo I.H. and Sampaio E.V. de S.B. 2004. Interação entre fungos micorrízicos arbusculares e fósforo no desenvolvimento da algarroba (*Prosopis juliflora* Sw DC). *Árvore* 28: 589-598.
- Hahne K.S. and Schuch U.K. 2006. Nitrogen form and concentration affect nitrogen leaching and seedling growth of *Prosopis velutina*. *Hort. Science.* 41: 239-243.
- Jacobs D.F. and Landis T.D. 2009. Fertilization. In: Dumroese R.K.; Luna T.; Landis T.D. (eds.) *Nursery manual for native plants: a guide for tribal nurseries*, volume 1: nursery management, Washington, US pp. 201-215.
- Jakobsen I., Read D., Lewis D., Fitter A. and Alexander I. 1992. Phosphorus transport by external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Mycorrhizas in Ecosystems* Wallingford: CAB International pp.48–58.
- Johnson N.C., Rowland D.L., Corkidi L., Egerton-Warburton L.M. and Allen E.B. 2003. Nitrogen Enrichment Alters Mycorrhizal Allocation at Five Mesic To Semiarid Grasslands. *Ecology* 84:1895–908.

- Klironomos J.N. 2003. Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecology* 84:2292-2301.
- Landis T.D. 1989. Mineral nutrients and fertilization, in Landis T.D., Tinus R.W., McDonald S.E. and Barnett J.P. (eds.), *The container Tree Nursery Manual, Agric. Handbook 674*, Washington, D. C., USDA For Serv. 4: 1-67.
- Lin X., Feng Y., Zhang H., Chen R., Wang J., Zhang J., Chu H. 2012. Long-Term Balanced Fertilization Decreases Arbuscular Mycorrhizal Fungal Diversity in an Arable Soil in North China Revealed by 454 Pyrosequencing. *Environ. Sci. Technol.* 46:5764–71.
- Linderman R.V. and Davis EA. 2004. Evaluation of commercial inorganic and organic fertilizer effects on arbuscular mycorrhizae formed by *Glomus intraradices*. *Hort. Technology* 14:196-202.
- Liu Y., Shi G., Mao L., Cheng G., Jiang S., Ma X., An L., Du G., Johnson N.C. and Feng H. 2012. Direct and indirect influences of 8 yr of nitrogen and phosphorus fertilization on Glomeromycota in an alpine meadow ecosystem. *New Phytol.* 194:523-535.
- Marulanda A., Barea J.M. and Azcón R. 2006. An indigenous drought-tolerant strain of *Glomus intraradices* associated with native bacterium improves water transport and root development in *Retama sphaerocarpa*. *Microb. Ecol.* 52:670-678.
- McGonigle T.P., Miller M.H., Evans D.G., Fairchild G.L. and Swan 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.
- Natale W., Mendes-Coutinho E. L., Eneidi-Boaretto A., Andrioli I. 2004. Efecto del fertilizante fosfatado en el cultivo del guayabo. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 10: 189-194.
- Nolan R.H., Mitchell P.J., Bradstock R.A. and Lane P.N.J. 2014. Structural adjustments in resprouting trees drive differences in post-fire transpiration. *Tree Physiology* 34:123–136.
- Pausas J.G., Pratt R.B., Keeley J.E., Jacobsen A.L., Ramirez A.R., Vilagrosa A., Paula S., Kaneakua-Pia I.N. and Davis S.D. 2016. Towards understanding resprouting at the global scale. *New Phytol.* 209:945-954.
- Philips J. and Hayman D. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. of the British Mycol. Soc.* 55:158-161.
- Qiang-Sheng W. and Ren-Xue X. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. *Journal of Plant Physiology* 163: 417-425.

- Quintos M., Valdés M. 1987. El desarrollo de micorriza y el crecimiento de plántulas de Pino real (*Pinus engelmannii*) al inocularse con *Pisolithus tinctorius*. Revista Latinoamericana de Microbiología 29: 189-192.
- Quiñones-Aguilar E.E., Hernández-Acosta E., Rincón-Enríquez G., Ferrera-Cerrato R. 2012. Interacción de hongos micorrízicos arbusculares y fertilización fosfatada en papaya. Terra Latinoamericana 30: 165-176.
- Rapparini F. and Peñuelas J. 2014. Mycorrhizal fungi to alleviate drought stress on plant growth. In: Miransari M. (ed.) Use of microbes for the alleviation of soil stresses. Springer. New York, 1: 21–42.
- Rodríguez-Morelos V.H., Soto-Estrada A., Pérez-Moreno J., Negreros-Castillo P. 2011. Los hongos micorrízicos arbusculares y su implicación en la producción y manejo de especies neotropicales forestales, con énfasis en Meliáceas. Interciencia 36:564-569.
- Ruiz-Lozano J.M., Azcón R. and Gómez M. 1995. Effects of arbuscular-mycorrhizal *Glomus* species on drought tolerance: physiological and nutritional plant responses. J. Appl. Environ. Microbiol. 61:456-460.
- Salifu K.F. and, Jacobs D.F. 2006. Characterizing fertility targets and multi-element interactions in nursery culture of *Quercus rubra* seedlings. Ann. for Sci. 63:231–237.
- Salto C.S., Harrand L., Oberschelp G.P.J. and Ewens M. 2016. Crecimiento de plantines de *Prosopis alba* en diferentes sustratos, contenedores y condiciones de vivero. Bosque 37:527-537.
- Salto C.S., Melchiorre M., Oberschelp G.P.J.; Pozzi E. and Harrand L. 2017. Effect of fertilization and inoculation with native rhizobial strains on growth of *Prosopis alba* seedlings under nursery conditions. Agroforest Syst. 93: 621–629.
- SAS Institute Inc. 2009. Cary, N.C. USA.
- Sieverding E. 1991. Vesicular arbuscular mycorrhizae management in tropical agroecosystem. Technical Cooperation, Federal Republic of Germany, 271 pp.
- Vesk P.A. and Westoby M. 2004. Sprouting ability across diverse disturbances and vegetation types worldwide. J. Ecol. 92: 310–320.
- Villagra P.E., Vilela A., Giordano C. and Álvarez J.A. 2010. Ecophysiology of *Prosopis* species from the arid lands of Argentina: what do we know about adaptation to stressful environments? In: Ramawat K.G. (ed.) Desert Plants: Biology and Biotechnology. Springer, London, New York, pp. 321-340.
- Wilkinson K.M. 2009. Beneficial microorganisms. In: Dumroese R.K., Luna T., Landis T.D. (eds.) Nursery manual for native plants: a guide for tribal nurseries, volume 1: nursery management, Washington, US, pp. 247-261.

- Yong L.J., Shi G.X., Mao L., Cheng G., Jiang S.F. and Feng H.Y. 2011. Effects of fertilization on arbuscular mycorrhizal fungi in *Elymus nutans* roots. *Chin. J. Appl. Ecol.* 22: 3131-3137.
- Zeppel M.J.B., Harrison S.P., Adams H.D., Kelley D.I., Li G., Tissue D.T., Dawson T.E., Fensham R., Medlyn B.E., Palmer A., West A.G. and McDowell N.G. 2015. Drought and resprouting plants. *New Phytol.* 206:583–589.

CAPITULO 6

CONCLUSIONES GENERALES

Las plantas del género *Prosopis* (*Fabaceae*) son un componente fundamental de los bosques chaqueños y pueden establecer simbiosis con hongos micorrícicos arbusculares (HMA). Estos microorganismos pueden promover su sobrevivencia, crecimiento y tolerancia a distintos tipos de estrés. En este estudio se parte de una hipótesis general en donde se plantea que “la mayor eficiencia micorrícica de un inóculo de HMA nativo mixto se relaciona con las características edafoclimáticas del sitio del que fuera aislado”.

Se realizaron muestreos de suelos de rodales de *P. alba*, de dos sitios del Parque Chaqueño Argentino, con regímenes pluviométricos contrastantes, de zona semiárida (PL) y de zona húmeda (CB), los cuales constituyeron la base inicial para la obtención de inóculos mixtos de HMA autóctonos y (con más de una especie de hongo) aislados de cada uno de estos lugares elegidos, con especies de HMA con funciones propias.

Este es el primer estudio en Argentina en donde se mide la infectividad de los suelos y de los inóculos obtenidos de ellos y se reportan las especies de HMA autóctonas de suelos y de inóculos aislados de sitios con *P. alba* del Parque chaqueño.

Los sitios de CB (húmedo) y PL (semiárido) presentan diferencias edafoclimáticas significativas. El sitio de PL tiene las menores precipitaciones y el P es abundante en el suelo, presenta pH ácido mientras que el pH del suelo de CB es levemente alcalino. Este último, por su parte, contiene mayor concentración de sodio, considerándose un suelo salino.

Las diferencias edafoclimáticas de ambos suelos no afectan la capacidad de micorrización.

La dilución del suelo de CB muestra un incremento en el porcentaje de micorrización, sugiriendo la presencia de compuestos tóxicos o fenómenos de competencia entre especies de HMA

En el sitio de CB se identifican especies de HMA que se adaptan a diferentes condiciones ambientales como *Funneliformis geosporum*, *Rhizophagus intraradices*, *Rhizophagus clarus* y *Entrophospora nevadensis*. Mientras que en plantas trampa de PL se identifica *Diversispora spurca* propia de suelos con alto contenido orgánico y tolerante a la sequía.

El sistema de plantas trampa es eficiente para la obtención de especies que se encuentran micorrizando raíces en el suelo, cuyas esporas no son halladas e identificadas en el suelo, también resulta útil para obtener un inóculo mixto de los suelos y es útil para la reproducción del inóculo nativo asociado a *P. alba*, ya que los porcentajes de micorrización son del 60 % al 70 %.

Ambos inóculos, provenientes de CB y PL serán utilizados para realizar, los ensayos de esta tesis doctoral.

Se confirma la hipótesis de que la mayor eficiencia micorrícica de un inóculo mixto de HMA autóctono se relaciona con las características edafoclimáticas del sitio del que fuera aislado.

El sistema experimental desarrollado en función del tiempo pone de manifiesto las diferencias en el comportamiento de los inóculos de HMA probados. Bajo condiciones de riego, el inóculo de HMA autóctono aislado de una región más húmeda como la de CB presenta mayor eficiencia micorrícica en simbiosis con *P. alba*, comparada con el inóculo de HMA autóctono aislado de un sitio semiárido como PL.

Se confirma la hipótesis de que la mayor eficiencia micorrícica de un inóculo mixto de HMA autóctono se relaciona con las características edafoclimáticas del sitio del que fuera aislado.

El inóculo aislado de una región semi árida como PL resulta promisorio, seguido por el inóculo de CB y la mezcla de ambos, en la mitigación de la sequía de *P. alba*. La mayor eficiencia micorrícica es acompañada por una mayor capacidad en la formación de arbuscúlos y la mitigación del daño oxidativo.

La mayor diversidad de HMA por la mezcla de ambos inóculos no mostró un efecto sinérgico en la simbiosis con *P. alba*, tanto bajo condiciones controladas de riego como de sequía.

La aplicación combinada de HMA autóctono y la fertilización (con bajo contenido de fosforo) no afecta la colonización micorrícica y favorecen la formación de las diferentes estructuras de HMA.

El inóculo PL, originado en regiones de baja precipitación, es el más eficiente en vivero y sequía en condiciones de invernadero, lo que sugiere, que su mayor capacidad para beneficiar a *P. alba* se relaciona con las condiciones ambientales del sitio de origen del inóculo, siendo mejorado por la aplicación de bajas tasas de fertilización.

HMA es un aporte microbiológico prometedor para el desarrollo de la producción sostenible de plántulas de *P. alba*; por lo tanto, dado el papel de HMA en el funcionamiento de los ecosistemas y su potencial como fertilizantes biológicos, se propone incluir la inoculación con HMA en los sistemas de producción. Además, los resultados obtenidos muestran que la fertilización a los niveles estudiados estimula el efecto de la HMA en simbiosis con *P. alba*.

Estos resultados de la supervivencia de plantas son relevantes para trabajos de recolonización vegetal con especies nativas en ecosistemas deteriorados, por lo que se muestra que la micorrización favorece la supervivencia de las plantas en el periodo más seco, debido posiblemente al suministro hídrico que aportan los HMA a su huésped.

FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

En general los inóculos obtenidos: CB y PL, seguirán siendo utilizados en ensayos con *Prosopis* y probados en otras especies nativas de árboles y arbustos con problemáticas ambientales.

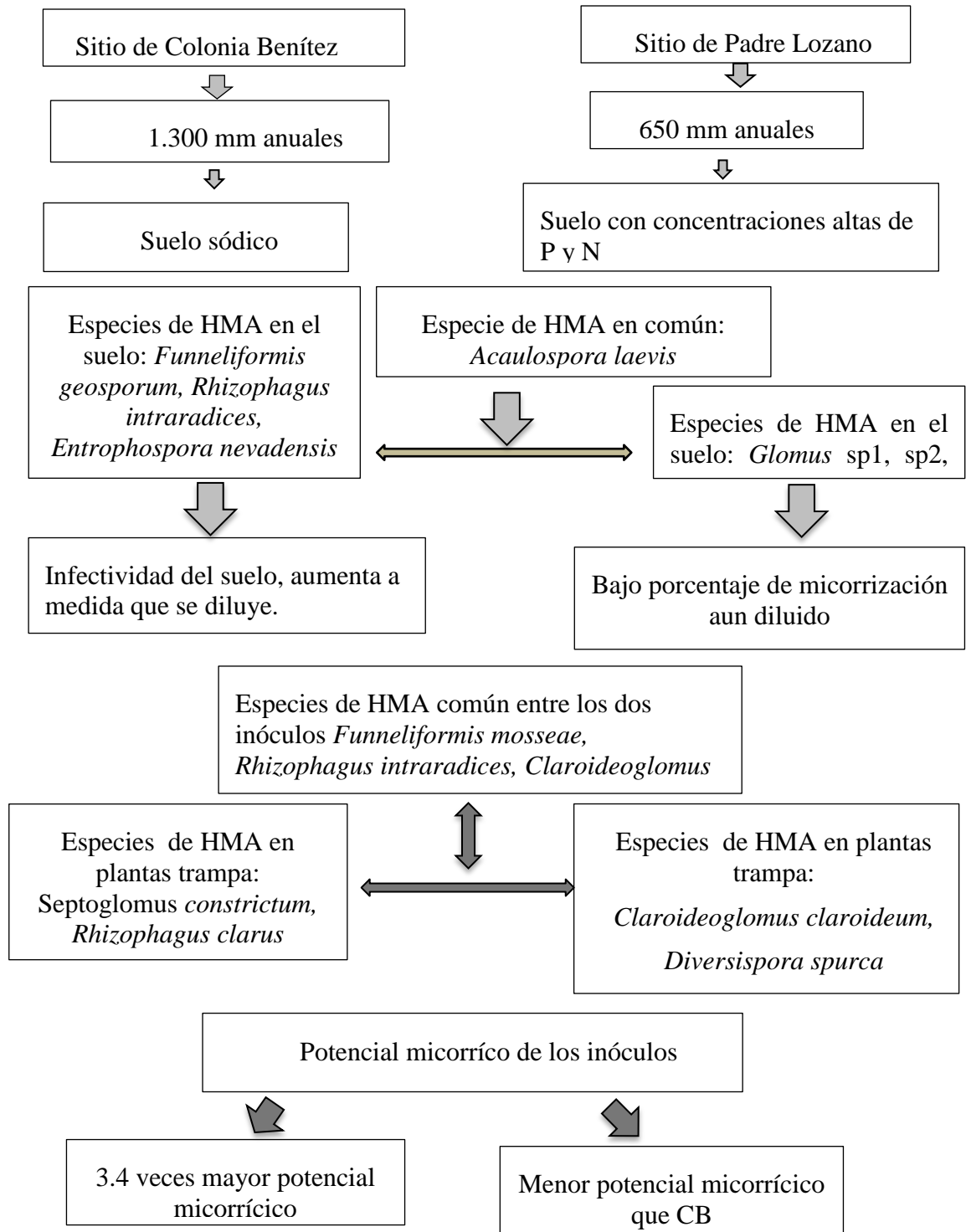
Dentro del Marco del PICT-2017-1321, se realizarán aislamientos de HMA autóctonos de sitios con diferente nivel de degradación en *P. flexuosa*. Los métodos, protocolos, obtención de inóculos, bioensayos estudiados y aprendidos serán empleados en la aplicación de los HMA como estrategia de regeneración de ecosistemas degradados.

Particularmente se evaluará la interacción triple algarrobos-rizobios-HMA, con Inoculación de plantines con aislamientos seleccionados de rizobios y/o HMA en invernáculo y condiciones semi-naturales.

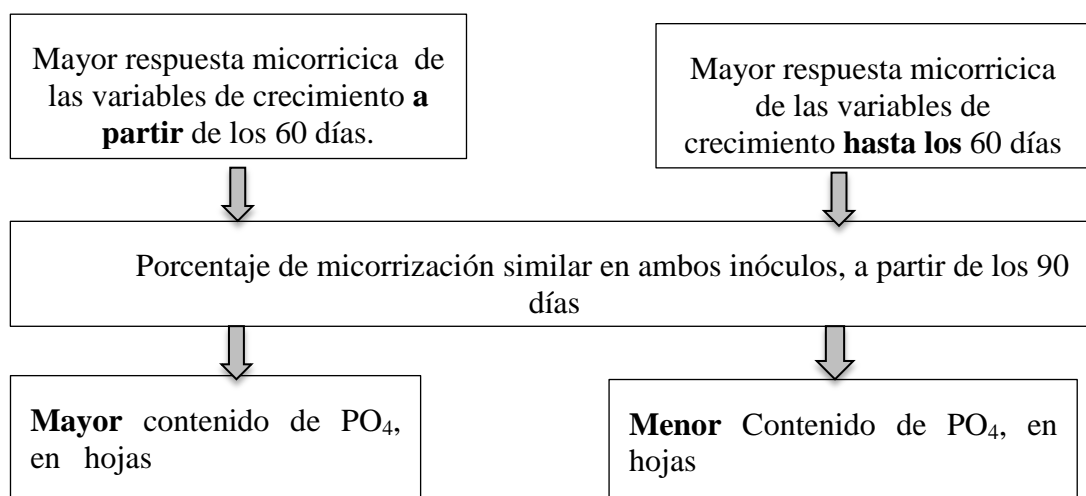
Se evaluará en condiciones de campo (i.e. en ecosistemas boscosos), el crecimiento y la sobrevivencia de plantines de *P. flexuosa* inoculados con los dos aislamientos de rizobios y HMA que sean las más eficientes en condiciones semi-naturales.

ANEXO

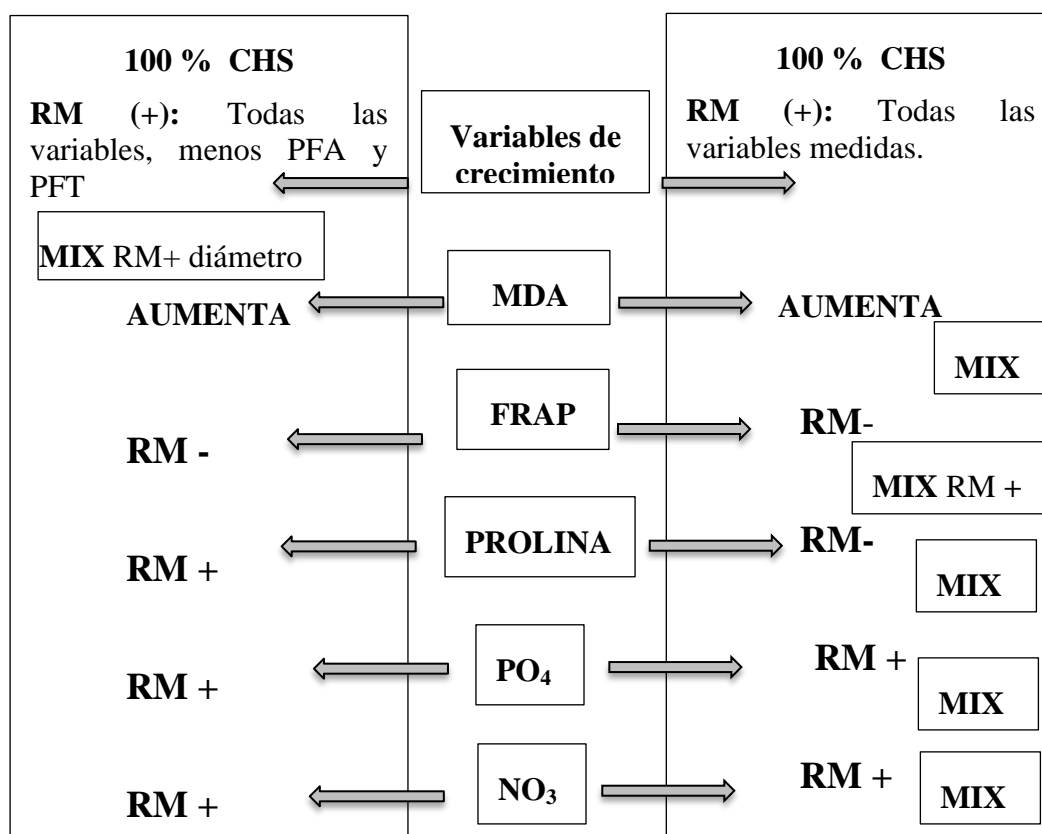
Cuadro Comparativo de la “Identificación y caracterización de los hongos micorrícicos arbusculares autóctonos en simbiosis con *Prosopis alba* y los mecanismos fisiológicos/ bioquímicos bajo condiciones de riego, sequía y en vivero”.

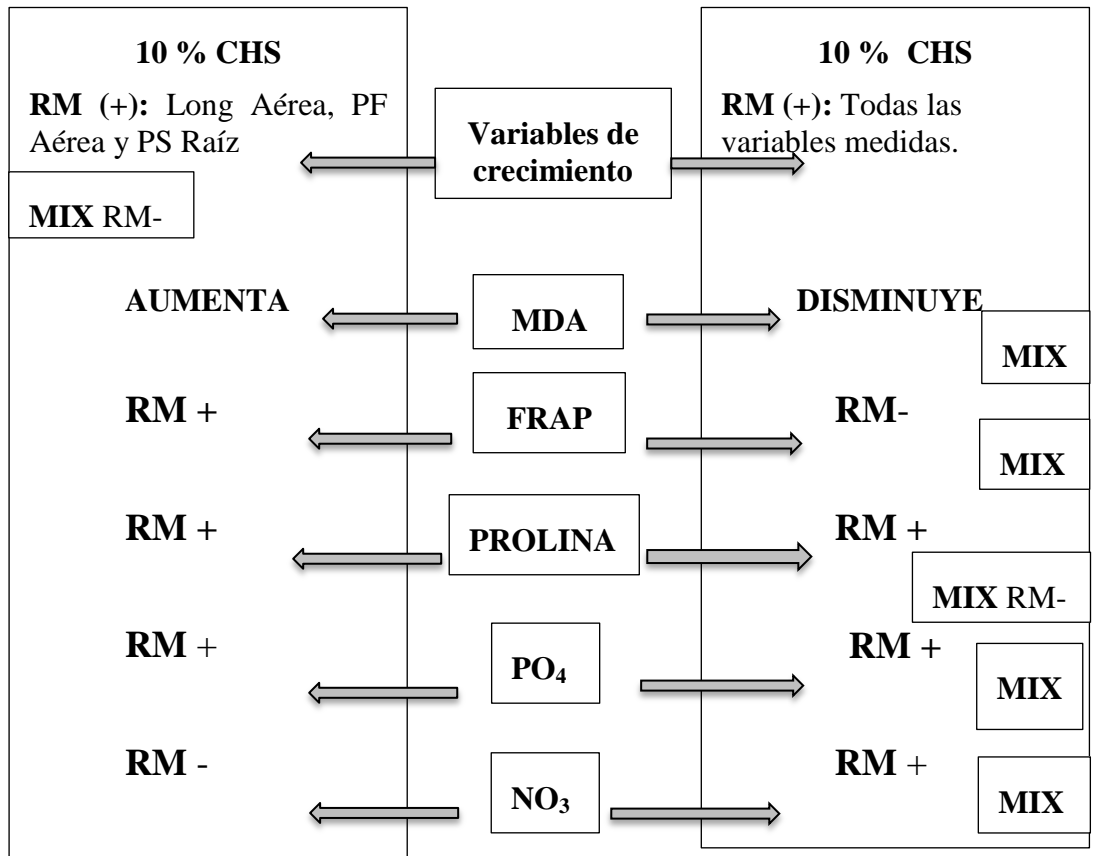
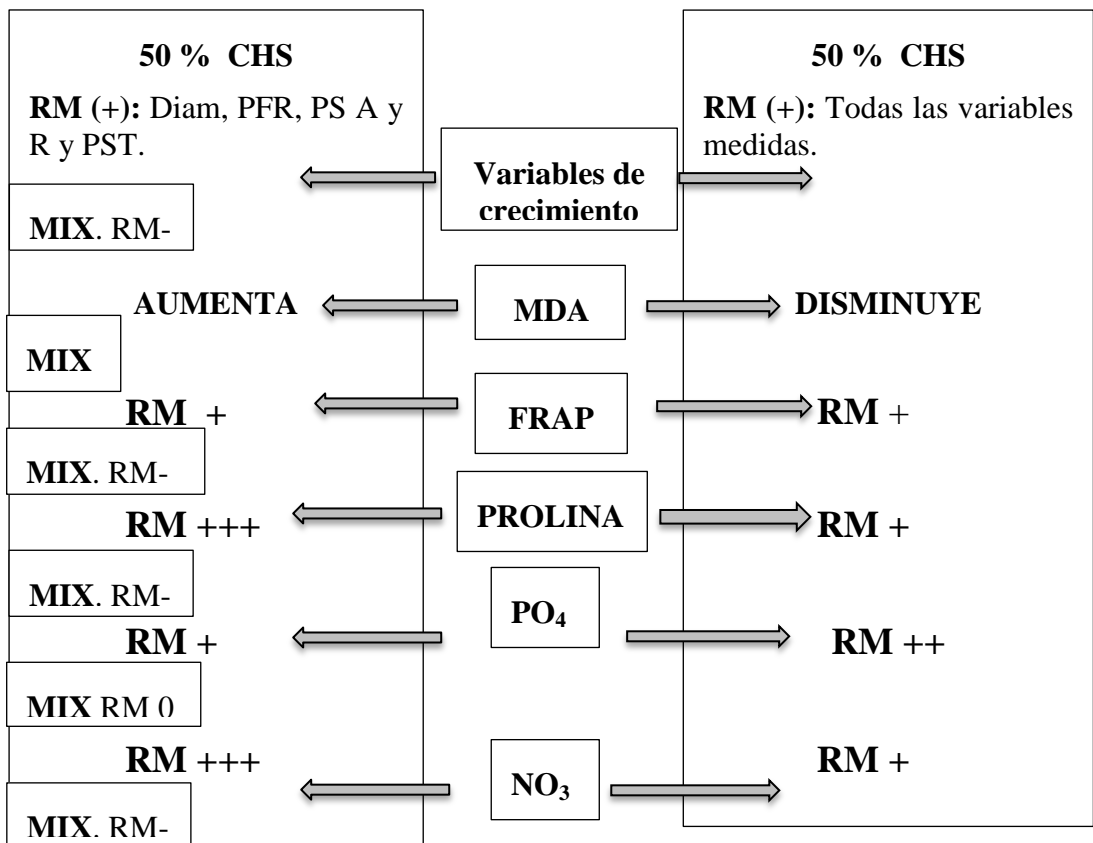


Ensayo de RIEGO

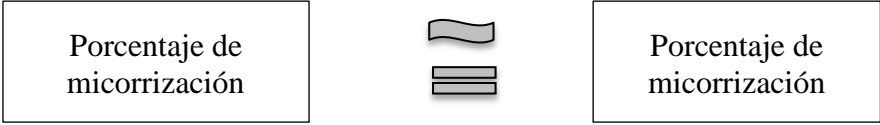


ENSAYO DE SEQUÍA Y SU CONTROL A CAPACIDAD DE CAMPO

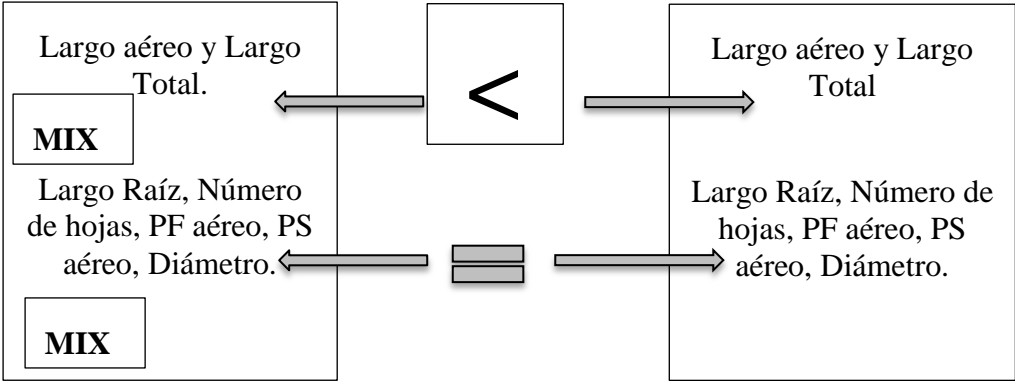




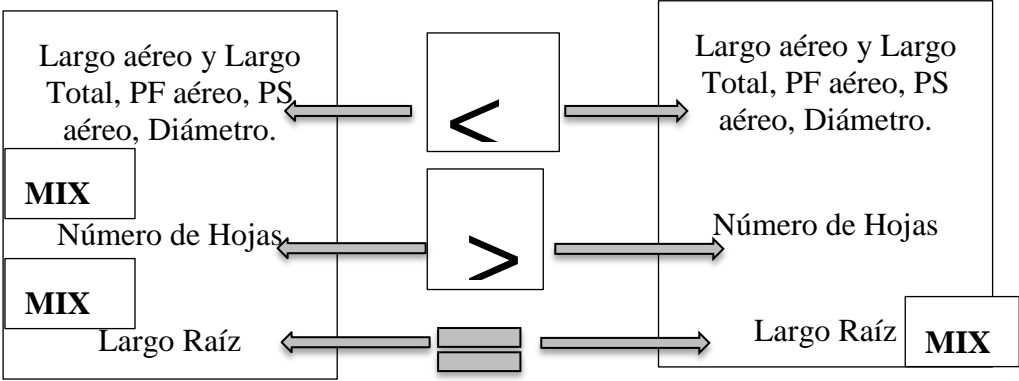
ENSAYO EN VIVERO
Con inoculación y fertilización



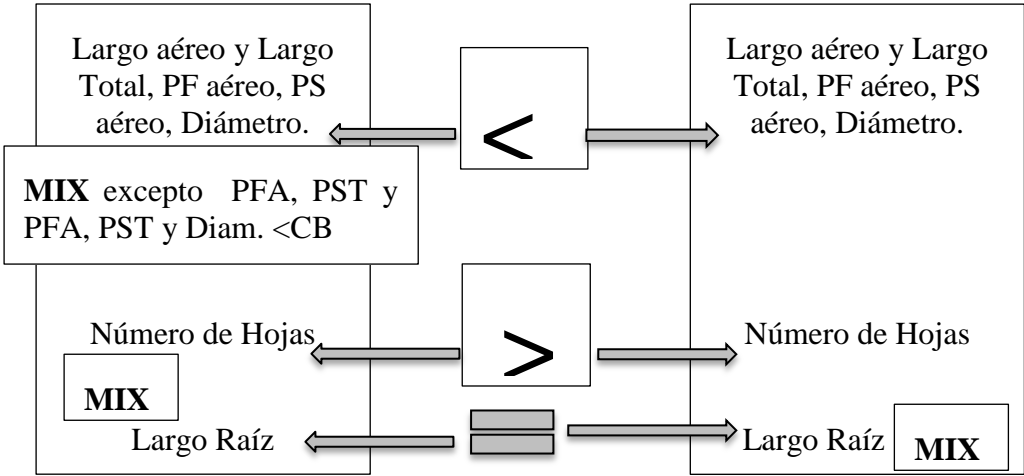
SIN FERTILIZAR E INOCULADO



25 % DE FERTILIZANTE E INOCULADO



100 % DE FERTILIZANTE E INOCULADO



ENSAYO SOMETIDO A SEQUÍA Y RECUPERACIÓN

Capacidad de Rebrote

