

TRABAJO CIENTÍFICO

Respuesta micorrícica a la aplicación de inóculos de hongos micorrícicos arbusculares nativos en simbiosis con *Neltuma alba*

Mycorrhizal response to the application of inoculums of arbuscular mycorrhizal fungi native in symbiosis with Neltuma alba

M. B. Sagadin¹; C. S. Salto²; M. N. Cabello³ y C. M. Luna⁴

¹ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Instituto de Fisiología y Recursos Genéticos Vegetales; Unidad de Estudios Agropecuarios, INTA-CONICET (UDEA). Av. 11 de Septiembre 4755, Córdoba, Argentina. E-mail: sagadin.monica@inta.gob.ar

² Estación Experimental Agropecuaria Concordia, INTA. Ruta provincial 22 y vías del FFCC, Concordia, Entre Ríos. E-mail: salto.carla@inta.gob.ar.

³ Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Instituto Spegazzini. Comisión de Investigaciones Científicas de la Prov. de Buenos Aires. Calle 53 N° 477, La Plata, Buenos Aires, Argentina. E-mail: mcabello@gmail.com.

⁴ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Instituto de Fisiología y Recursos Genéticos Vegetales; Unidad de Estudios Agropecuarios, INTA-CONICET (UDEA). Av. 11 de septiembre 4755, Córdoba, Argentina. E-mail: lunacelina@yahoo.com.ar

Recibido en abril de 2023; Aceptado en noviembre de 2023

RESUMEN

Neltuma alba es un importante recurso forestal en Argentina debido a sus múltiples usos, motivo por el cual ha sido sobreexplotada. En condiciones de campo, los plantines están sometidos a una amplia gama de condiciones ambientales, que podrían resultar en estrés, por lo que se ha sugerido la aplicación de microorganismos simbióticos benéficos para proporcionar a la planta una mayor resistencia a diferentes tipos de estrés durante la implantación. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto del origen edafoclimático de inóculos de hongos micorrícicos arbusculares nativos sobre la colonización y la eficiencia micorrícica en plantines de *N. alba*. Se utilizaron inóculos procedentes de dos sitios edafoclimáticos contrastantes del Parque Chaqueño Argentino: Colonia Benítez (CB, provincia de Chaco, sitio húmedo) y Padre Lozano (PL, provincia de Salta, sitio semiárido). Se midieron: porcentaje de micorrización, respuesta micorrícica de las variables de crecimiento (diámetro, longitud total de la planta y peso fresco total y peso seco total) y del fósforo foliar. Bajo las condiciones evaluadas, se observó un comportamiento diferente en condiciones de riego a capacidad de campo según el tiempo del tratamiento y el inóculo utilizado sobre *N. alba*. El inóculo aislado de CB desarrolló mayoritariamente respuestas micorrícicas positivas y mayor infectividad micorrícica comparado con el inóculo aislado de PL, en similares condiciones de contenido de agua, lo que resalta la importancia de las características edafoclimáticas del sitio de procedencia de los inóculos.

Palabras clave: micorrizas arbusculares, eficiencia micorrícica, concentración de fósforo, algarrobo blanco, parque chaqueño.

ABSTRACT

Neltuma alba is an important forest resource in Argentina due to its multiple uses, which explains why it has been overexploited. Under field conditions, seedlings are subjected to a wide range of environmental conditions that might result in stress. The application of beneficial symbiotic microorganisms has been suggested to provide the plant with greater resistance to different types of stresses along implantation. The objective of this work was to evaluate the effect of the edaphoclimatic nature of the inocula of native arbuscular mycorrhizal fungi over colonization and mycorrhizal efficiency in *N. alba* seedlings. Inocula from two contrasting edaphoclimatic sites of the Argentine Chaqueño Park were used: Colonia Benítez (CB, province of Chaco, humid site) and Padre Lozano (PL, province of Salta, semi-arid site). Their percentage of mycorrhization, mycorrhizal response of the growth variables (i.e. diameter, total plant length, total fresh weight and total dry weight) and foliar phosphorus were measured. Different behavior was observed under irrigation conditions at field capacity depending on the treatment time and the inoculum used on *N. alba*. The inoculum isolated from CB developed mostly positive mycorrhizal responses and greater mycorrhizal infectivity compared to the inoculum

isolated from PL, under similar water content conditions, which highlights the importance of the edaphoclimatic characteristics of the site of origin of the inocula.

Keywords: Mycorrhizal fungi, contrasting sites, mycorrhizal efficiencies, mycorrhizal infectivity, “algarrobo blanco”

1. INTRODUCCIÓN

La simbiosis con hongos micorrícicos arbusculares (HMA) es una de las asociaciones más antiguas y prevalentes de plantas terrestres, ya que aproximadamente el 90 % de las especies de plantas pueden establecer conexiones interdependientes con HMA y, proporcionan a sus huéspedes una amplia variedad de recursos del suelo a cambio de fotosintatos (Smith y Read, 2008). El efecto más conocido de las micorrizas arbusculares es el de la nutrición con P, N y micronutrientes e influir en la producción de fosfatasas en las plantas (Smith y Read, 2008; Smith y Smith, 2011). La incorporación de HMA (nativos o no) mediante la inoculación es una de las estrategias que se utiliza a los efectos de estimular el crecimiento de las plantas (Covacevich y Echeverría, 2010). La forma de cuantificar la eficiencia micorrícica es mediante la respuesta a la micorrización de la planta hospedante en su crecimiento, evaluada como la diferencia en el crecimiento entre plantas cultivadas en presencia y ausencia de HMA, lo cual, además, depende de la especie huésped, del genotipo del hongo, así como de las condiciones ambientales (Janos, 2007).

En los últimos años, se ha puesto especial interés en la caracterización de especies nativas de HMA por considerarse más adaptadas a determinadas condiciones ambientales (Sagadin *et al.*, 2018). Las especies de HMA difieren en sus efectos sobre el crecimiento y la nutrición de las plantas (Grümberg *et al.*, 2015), debido a los cambios en la composición y/o diversidad de HMA del suelo (Manoharan *et al.*, 2017; Marro *et al.*, 2020). Esto permitiría aislar HMA con mayor adaptación a condiciones edafoclimáticas específicas para ser introducidos en situaciones de similares características (Trejo *et al.*, 2011).

El empleo de inóculos nativos mixtos (que contengan tres o más especies de HMA) tiene especial importancia para asegurar mayores efectos benéficos en sus hospedantes que el empleo de especies individuales, dado que las especies presentes en un consorcio micorrícico pueden desempeñar diferentes funciones tanto por su mayor adaptación a determinadas condiciones del entorno como por la mayor diversidad de respuestas potenciales que varias especies de HMA pueden ejercer sobre una planta hospedera (Hoeksema *et al.*, 2010). Así, algunos HMA pueden estimular el crecimiento y otros pueden favorecer la absorción de nutrientes o inducir resistencia a fitopatógenos ante cambios en las condiciones del suelo por la aplicación de diferentes prácticas agrícolas o forestales (Klironomos, 2003; Trejo *et al.*, 2011).

En Argentina se han reportado HMA nativos en distintas regiones y condiciones (Cabello, 2013; Thougnon Islas *et al.*, 2014; Sagadin *et al.*, 2018). Sin embargo, existen pocos estudios sobre la diversidad de HMA nativos en zonas de algarrobales (Piatti and Iglesias 2004) donde sólo se ha informado la colonización micorrícica sin identificar las especies de HMA.

Neltuma alba Griseb. (Hughes *et al.*, 2022) (Familia: Fabáceas) (algarrobo blanco) es considerado un importante recurso forestal y una de las especies arbóreas nativas más valiosas de la Región Chaqueña debido a su multiplicidad de usos (madera, combustible, alimento, entre otros); tiene una amplia distribución abarcando principalmente la región centro-norte de Argentina y, debido a sus atributos, ha sido sobreexplotada lo que ha llevado a la degradación de sus bosques (Salto *et al.*, 2020). El establecimiento de plantas de *N. alba* en el campo, sea con fines comerciales y/o

restauración de áreas degradadas, es de suma relevancia y, bajo estas condiciones, las plantas están expuestas a una amplia gama de condiciones ambientales que pueden comprometer su supervivencia y/o crecimiento (Salto *et al.*, 2020). En este sentido, los HMA constituyen una estrategia promisoriosa para mejorar el crecimiento de los plantines en viveros forestales como así también su supervivencia cuando son trasplantados a condiciones de campo (Kapoor *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2018). Particularmente, en la interacción *N. alba*-HMA, se sugiere que la capacidad para beneficiar el crecimiento de *N. alba* en vivero está relacionada con las condiciones ambientales del sitio de origen del inóculo (Salto *et al.*, 2020), mientras que, Scambato *et al.* (2011) indican que la inoculación con HMA favorece la supervivencia de plantas de *N. alba* cuando son trasplantadas a lugares más áridos.

Particularmente, en la caracterización de los hongos micorrícicos arbusculares aislados de algarrobales (*N. alba*) de sitios contrastantes del Parque Chaqueño Argentino, Sagadin *et al.* (2018) observaron que los sitios de Colonia Benítez (húmedo) y Padre Lozano (semiárido) presentaron diferencias edáficas significativas y que esto fue acompañado de una variabilidad en la diversidad e infectividad de los HMA aislados. Por lo expuesto y, para darle continuidad a la investigación sobre el comportamiento de los inóculos obtenidos, se planteó como objetivo evaluar el efecto del origen edafoclimático contrastante de dos inóculos mixtos de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) nativos sobre la colonización y la eficiencia micorrícica expresada como respuesta micorrícica en plantines de *N. alba* bajo condiciones controladas de riego a Capacidad de Campo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Inóculos de HMA

Los inóculos mixtos de HMA nativos utilizados en el ensayo fueron los obtenidos por Sagadin *et al.* (2018). Estos fueron aislados de rodales de *N. alba* del Parque Chaqueño Argentino con dos regímenes pluviométricos diferentes: Colonia Benítez (CB, provincia del Chaco, 27°20'00"S, 58°55'60"O) con precipitación anual de 1300 mm y Padre Lozano (PL, provincia de Salta, 23°12'51"S, 63°50'39"O) con 650 mm de precipitación anual. Estos inóculos de HMA se mantuvieron en cultivo en maceta por el método de plantas trampa bajo condiciones de invernáculo con fotoperíodo de 16 h de luz ($400 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), a $27 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ y se regaron con agua filtrada. Las plantas trampa utilizadas fueron alfalfa (*Medicago sativa*), sorgo (*Sorghum bicolor*) y algarrobo blanco (*N. alba*) (Sagadin *et al.*, 2018). El inóculo de HMA se constituyó como una mezcla de las raíces de las plantas trampas, esporas, hifas y el sustrato utilizado para el crecimiento y, se lo consideró apto para su uso cuando la colonización de las micorrizas en las raíces de las plantas fue de al menos el 50 % (Sieverding, 1991; Sagadin *et al.*, 2018). La identificación morfo-taxonomica de las especies se realizó a través de las esporas en ambos inóculos de HMA. El inóculo de CB estuvo conformado por las siguientes especies de HMA: *Rhizophagus clarus*, *Funneliformis mosseae*, *Claroideogloium etunicatum*, *Septogloium constrictum* y *Rhizophagus intraradices* y el inóculo de Padre Lozano presentó las siguientes especies: *Claroideogloium claroideum*, *Rhizophagus intraradices*, *Diversispora spurca*. *Claroideogloium etunicatum* y *Funneliformis mosseae* (Sagadin *et al.*, 2018).

Diseño Experimental

El ensayo se efectuó en un experimento trifactorial $2 \times 2 \times 4$ bajo un diseño completamente aleatorizado, con ocho repeticiones por tratamiento. Los factores fueron: a) procedencia inóculo:

PL y CB, b) inoculación: plantas inoculadas (I) y no inoculadas (NI) y c) tiempo de muestreo: 30, 60, 90 y 120 días.

Se utilizaron semillas de *N. alba* 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 Presidencia de la Plaza, provincia de Chaco (27°55'57,8"S, 59°45'59,60"O). Las semillas fueron desinfectadas en hipoclorito de sodio 1 % (v/v) por 5 min, se enjuagaron con abundante agua y se dejaron sumergidas en agua destilada a temperatura ambiente por 24 h para su imbibición. Luego se colocaron en bandejas con papel humedecido y se llevaron a cámara de germinación (temperatura 25 °C y fotoperiodo de 16 h de luz y 8 h de oscuridad). Las plántulas de algarrobo blanco fueron trasplantadas en el estadio de primera hoja verdadera expandida colocando una planta por maceta y se trasladaron a cámara de cría de plantas con condiciones controladas (temperatura 25 ± 2 °C y con un fotoperíodo de 16 h de luz y 8 h de oscuridad). Se emplearon macetas de 5 cm de diámetro por 50 cm de alto que fueron lavadas y esterilizadas con hipoclorito de sodio al 10 %. El sustrato utilizado consistió en una mezcla de tierra y arena (2:1 v/v) previamente esterilizado en autoclave durante 1 hora y a 1 atmósfera, repitiéndose el procedimiento a las 24 h. El análisis de laboratorio indicó que la tierra empleada en la composición del sustrato contenía 4,8 ppm N-NO₃; 2,5 ppm S-SO₄²⁻; 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.

Los tratamientos de inoculación (I) consistieron en el agregado de 20 g de inóculo al momento de la siembra de la semilla pregerminada, mientras que los tratamientos de no inoculación (NI), se basaron en el agregado de la filtración del inóculo conteniendo todos los microorganismos propios del inóculo mixto original excepto los hongos micorrízicos (Kohler *et al.*, 2008). Para ello, se filtraron 20 g de inóculo con 250 ml de agua destilada con un tamiz de 37 micrones y papel filtro Whatman No. 1, que retuvo los fragmentos de raíces, hifas y esporas de hongos micorrízicos (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 tres veces por semana a riego normal, considerando el 100 % del Contenido Hídrico del Suelo (CHS) determinado mediante método gravimétrico, que coincidió con la capacidad de campo (CC) (Cartes Rodríguez *et al.*, 2019). El agua de riego fue filtrada durante todo el ensayo para evitar la reducción de la población de los HMA por la presencia de cloro en la misma. Los muestreos se realizaron a partir de los 30 días de la inoculación y, a intervalos de 30 días durante un período de 120 días. Se seleccionaron al azar 8 plantas (muestreo destructivo) por cada tratamiento, donde cuatro plantas se destinaron para evaluar los parámetros de crecimiento y en las cuatro plantas restantes, se evaluaron el contenido de fósforo foliar (PO₄) en la parte aérea y en la parte radicular el porcentaje de micorrización.

Evaluación del porcentaje de micorrización

Para evaluar el porcentaje de micorrización se aplicó una modificación a la metodología propuesta por Phillips y Hayman (1970). Las muestras de raíces fueron clarificadas en KOH al 10 % durante 1 hora 15 min a 92 °C a baño maría, luego se enjuagaron con abundante agua corriente, se colocó peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 10 % durante cinco minutos (blanqueo). Se retiró la solución y se agregó HCL al 1 % durante 1 hora a temperatura ambiente (neutraliza y prepara a las raíces para la entrada del colorante), se extrajo la solución y se colocó azul de anilina (0,05 % en lactoglicerol) para su tinción durante 15 min a baño maría a 90 °C, se lavaron las raíces teñidas con agua corriente y se colocaron en tubos con el agregado de ácido láctico hasta tapar las raíces, los 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, y los porcentajes de colonización micorrízica (hifas, vesículas, arbuscúlos y colonización total) se calcularon mediante la técnica de intersección magnificada de McGonigle *et al.* (1990).

Medición de variables de crecimiento y del contenido de fósforo foliar (fosfato)

Se midieron variables relacionadas al crecimiento vegetativo de las plantas: longitud total (sumatoria de longitud del tallo y de la raíz, expresada en cm), diámetro del cuello (medida a nivel del cuello con calibre digital, expresado en milímetros), peso fresco total (suma del peso fresco de la parte aérea y parte radical, en gramos) y peso seco total (suma del peso seco del tallo y de la raíz, expresados en gramos). Los valores de peso seco total se obtuvieron a partir de la parte aérea y la parte radicular de cada planta, que fueron colocadas en estufa a 70 °C por 24 h o hasta obtener un peso seco constante.

La medición del contenido de fósforo foliar se determinó 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. Las muestras se agitaron en vortex por 15 min y luego se centrifugaron a 3000 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 Na₂CO₃, 6 mM, desgasificada con sonicador. La temperatura de corrida fue 45 °C. La evaluación del contenido de iones se realizó a partir de los 60 días debido a que el material vegetal extraído a los 30 días no fue suficiente para realizar las determinaciones.

Se calculó la Respuesta Micorrícica (RM) para cada variable de crecimiento y para el contenido de fósforo foliar, de acuerdo con la relación descrita por Cavagnaro *et al.* (2003):

$$RM = [(M - \text{media NM}) / \text{media NM}] \times 100$$

Donde: M corresponde al parámetro individual de las plantas inoculadas y la media NM corresponde a las plantas no inoculadas.

Análisis estadístico

Se realizó el análisis de la varianza (ANOVA) y cuando las diferencias entre los tratamientos fueron significativas, las medias fueron comparadas utilizando la prueba de diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher con un nivel de significancia del 5 %. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Infostat Profesional versión 2017 (Di Rienzo *et al.*, 2017).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los inóculos mixtos de HMA nativos probados en simbiosis con *N. alba* y en condiciones de riego a capacidad de campo, mostraron un comportamiento diferente en la colonización y Respuesta Micorrícica (eficiencia micorrícica). Al evaluar las raíces de las plantas control no micorrizadas se comprobó la ausencia de micorrización.

Al cuantificar la capacidad de micorrización de *N. alba* con ambos inóculos, se observó que, a los 30 días, las plántulas muestreadas no presentaron las estructuras características de la micorrización de los HMA, probablemente a consecuencia del corto tiempo de exposición de las raíces de las plantas a los HMA. Sin embargo, a partir de los 60 días se registró la aparición de

estructuras características, donde 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 (Tabla 1). Particularmente, las plantas inoculadas con CB presentaron una temprana formación de hifas, desde los 60 días 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 1).

Tabla.1. Caracterización de la variabilidad en el porcentaje y estructuras de colonización micorrízica en la simbiosis *N. alba* - inóculos de HMA de CB (Colonia Benítez) y PL (Padre Lozano) en condiciones de riego normal.

Inóculo	Tiempo (días)	hifas	Micorrización (%)				total		
			arbúsculos	vesículas					
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

Los valores con letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según la prueba de LSD Fisher ($p < 0,05$).

El inóculo de CB demostró una importante y significativa capacidad para generar arbúsculos tempranamente (60 días) comparado con el inóculo proveniente de PL (Tabla 1). No obstante, y a partir de los 90 días y hasta los 120 días de tratamiento, ambos inóculos formaron arbúsculos con similar intensidad. Park *et al.* (2015) evidencian que la formación de arbúsculos se relaciona con diferentes niveles de colonización y de simbiosis productiva. La presencia y número de vesículas fue similar en ambos inóculos, observándose tempranamente desde los 60 días y hasta el final del ensayo (Tabla 1).

En general, en una misma especie, la colonización puede ser muy variable, en *Neltuma laevigata* se ha registrado desde 3,5 hasta 53 % de colonización micorrízica (Monroy-Ata *et al.*, 2007; García-Sánchez *et al.*, 2008), mientras que en *Cassia tomentosa* se reportan valores de 41 a 76 % asociándose estas diferencias en la colonización con el origen de los inóculos de HMA empleados.

A partir de los 30 días ambos inóculos mostraron una capacidad similar para mejorar el crecimiento de *N. alba* con una RM positiva en el diámetro, sin embargo, a partir de los 120 días de tratamiento la Respuesta Micorrízica (RM) mostró un comportamiento diferente según los inóculos probados (Figura 1). El inóculo de CB aumentó significativamente la RM para el diámetro en contraste con las plantas inoculadas con PL, donde la RM para el diámetro fue marcadamente menor y se redujo drásticamente a los 120 días de tratamiento en condiciones normales de riego (Figura 1).

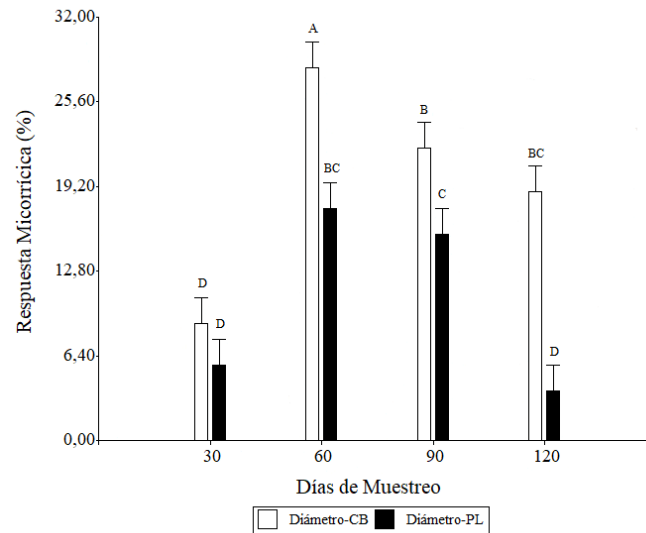


Figura 1. Efecto de la aplicación de inóculos obtenidos de Colonia Benítez (CB) y Padre Lozano (PL) en la simbiosis con *N. alba* sobre la variable diámetro de la planta en tiempos de muestreo de 30, 60, 90 y 120 días. Los resultados se expresan como Respuesta Micorrícica (%). Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

La evaluación de la longitud total de las plantas mostró a los 30 días una respuesta negativa para las plantas inoculadas con CB, pero la RM se incrementó desde los 60 días, manteniéndose positiva hasta el final del ensayo. Por el contrario, las plántulas inoculadas con PL evidenciaron una respuesta positiva en longitud total a los 30 y 60 días, alcanzando el máximo valor a los 60 días. Luego, a los 90 días la respuesta fue prácticamente nula y a los 120 días negativa (Figura 2).

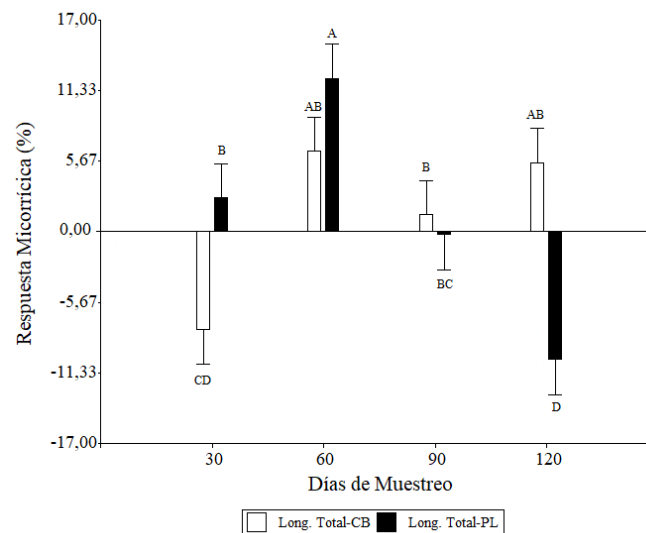


Figura 2. Efecto de la aplicación de inóculos obtenidos de Colonia Benítez (CB) y Padre Lozano (PL) en la simbiosis con *N. alba* sobre la variable longitud total de la planta en tiempos de muestreo de 30, 60, 90 y 120 días. Los resultados se expresan como Respuesta Micorrícica (%). Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

Salto *et al.* (2020) emplearon los mismos inóculos de PL y CB en la producción de plantas de *N. alba* en vivero, bajo condiciones óptimas de riego y distintas dosis de fertilizante. Estos mismos autores mencionan que si bien la fertilización no influye sobre la colonización de los HMA en las raíces de los plantines, el inóculo procedente de CB produce un efecto depresivo del crecimiento del diámetro y altura, inclusive en ausencia de fertilización, en comparación a las plantas no inoculadas, mientras que, el inóculo de PL muestra un efecto sinérgico sobre el crecimiento, sobre todo a bajas dosis de fertilizantes, con un patrón de calidad del plantín acorde a lo indicado para esta especie (Salto *et al.*, 2016; 2020).

Las RM del peso fresco (PF) y peso seco (PS) total de las plántulas a la micorrización con CB fueron negativas a los 30 días. A partir de los 60 días, las RM fueron en general positivas hasta los 120 días. Lo contrario ocurrió con las plántulas con el inóculo de PL que presentaron desde los 30 días una respuesta positiva, a los 60 días los porcentajes alcanzaron los mayores valores disminuyendo hasta obtener respuestas negativas a los 120 días. Las respuestas en PF Total y PS Total a los 90 días para las plantas inoculadas con CB y PL no fueron estadísticamente significativas, sin embargo, se observó que la RM fue positiva para CB y negativa para PL (Figura 3).

Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con Montero *et al.* (2010) quienes indican que, para altos niveles de humedad en el sustrato, las cepas no manifiestan influencia sobre el crecimiento radicular, lo que se puede atribuir a que las plantas tienen agua disponible en el sustrato durante todo el desarrollo de su ciclo biológico para satisfacer sus necesidades hídricas. No obstante, según estos mismos autores, en condiciones de riego cercanos a la capacidad de campo se estimula el contenido de HMA en el sustrato.

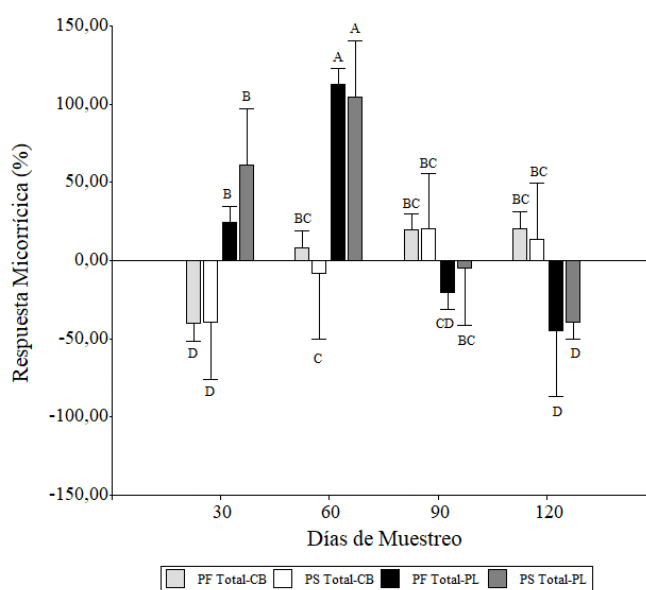


Figura 3. Efecto de la aplicación de inóculos obtenidos de Colonia Benítez (CB) y Padre Lozano (PL) en la simbiosis con *N. alba* en el peso fresco (PF) y seco (PS) total de la planta en tiempos de muestreo de 30, 60, 90 y 120 días. Los resultados se expresan como Respuesta Micorrízica (%). Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

La presencia de *Funneliformis mosseae* fue detectada tanto en los consorcios micorrícicos de CB como de PL (Sagadin *et al.*, 2018). Con relación a ello, Wang *et al.* (2023) evaluaron la respuesta de *Artemisa ordosica* a la inoculación con *F. mosseae* bajo condiciones contrastantes de agua y

fertilización. Estos autores indican que la inoculación con este hongo produce una reducción en crecimiento de la planta en condiciones de baja disponibilidad de agua y nutrientes que en condiciones más favorables. Algunos trabajos muestran que distintas especies vegetales responden diferencialmente a inóculos de HMA que provienen de localidades distintas. En este sentido, García-Sánchez (2011) menciona un comportamiento diferencial de las distintas procedencias de HMA y que se produce un incremento en todas las variables de crecimiento debido a la micorrización en *Neltuma laevigata* y *Mimosa biunciferaun*. No obstante, distintas especies de HMA pueden diferir en su capacidad de estimular el crecimiento de las plantas, así como distintas especies vegetales pueden responder diferencialmente a la inoculación con HMA (Covacevich y Echeverría, 2010); sin embargo, la dirección y magnitud de este efecto depende de la combinación particular hongo-especie de planta, del origen del hongo (nativo o exótico) (Klironomos, 2003), de los rasgos medidos, de los factores ambientales que las plantas experimentan (Wang *et al.*, 2023) y del efecto heredado de la humedad del suelo (Cavagnaro, 2016).

Para el contenido de fósforo foliar (PO_4), también se observó un comportamiento diferente según el tiempo del tratamiento y el inóculo utilizado. A tiempos tempranos (60 días), la RM fue positiva para el contenido de fosfatos en el inóculo de CB, la cual se incrementó a los 120 días (Figura 4). Un mayor contenido de P foliar, como efecto de la inoculación, concuerda con lo expuesto por Green *et al.* (1998), quienes 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. Por el contrario, el inóculo de PL presentó una RM negativa durante todo el ensayo a riego normal para el contenido de fosfatos (Figura 4). El alcance de los resultados obtenidos nos permite sugerir que la simbiosis de *N. alba* con el inóculo de PL, podría estar incrementada de algún modo la movilidad de tan importante nutriente. 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 (Guangli *et al.*, 2009). En apoyo de esta idea es de destacar que, a los 30 y 60 días de tratamiento, la simbiosis *N. alba* con el inóculo de PL mostró una RM positiva en todas las variables de crecimiento, incluido el PF y PS de las raíces.

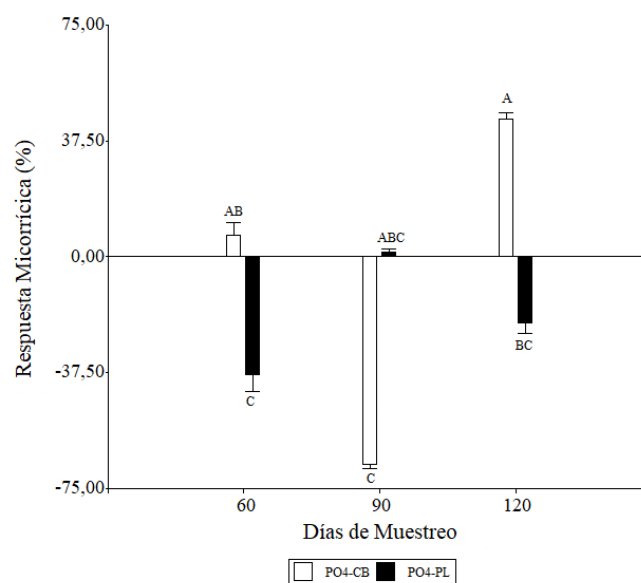


Figura 4. Efecto de la aplicación de inóculos obtenidos de Colonia Benítez (CB) y Padre Lozano (PL) en la simbiosis con *N. alba* en el contenido de fosfatos (fósforo foliar), en tiempos de muestreo de 60, 90 y 120 días. Los resultados se expresan como Respuesta Micorrícica (%).

Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0,05$).

Bajo condiciones de riego normal y, durante todo el ensayo, el inóculo de CB presentó mayor infectividad, que se vio reflejada en la formación de hifas y arbusculos, que el inóculo de PL (Tabla 1). En consecuencia, este efecto fue acompañado de un incremento en la RM para el crecimiento y el contenido de nutrientes (fosfatos) en *N. alba* (Figura 4). Estos resultados sugieren que el gasto energético que implica la manutención del hongo por la planta podría ser fácilmente compensados con el inóculo de CB, cuando existen ventajas de disponibilidad de nutrientes y agua (Black *et al.*, 2000; Bever *et al.*, 2009). Por el contrario, las plántulas en simbiosis con inóculo provenientes de PL, muestra sólo RM positivas a tiempos tempranos (30 y 60 días) donde la provisión de agua es utilizada posiblemente para sus necesidades primarias de crecimiento. No obstante, a tiempos más largos (90 y 120 días) con riego normal, las plantas en simbiosis con el inóculo de PL presentan RM negativas para las variables de crecimiento y contenido en nutrientes (Figuras 1, 2, 3 y 4), sugiriendo un mayor gasto energético destinado al mantenimiento del hongo (Black *et al.*, 2000; Bever *et al.*, 2009). Estos resultados coinciden con lo expresado por Hernández-Zamudio *et al.* (2018), en donde los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) de los ambientes áridos y semiáridos son importantes y más eficientes para el desarrollo de las plantas que crecen bajo estrés biótico y abiótico en áreas naturales o en agroecosistemas.

El comportamiento diferente de las simbiosis *N. alba* - HMA nativos de CB o PL podría guardar relación con el origen o características edafoclimáticas de las cuales se aislaron ambos inóculos de HMA. El hecho de que diferentes especies de HMA mostraran respuestas contrastantes al contenido de agua indica diferencias en las estrategias de vida de estos hongos. Por lo tanto, algunas especies de HMA que no estaban activas inicialmente se volvieron activas después del aumento o disminución del contenido de agua en el suelo (Wang *et al.*, 2021). Así, es conocido que 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 de las condiciones ambientales y del origen de las especies asociadas (Klironomos, 2003; Wang *et al.*, 2023). Estos resultados indican claramente que los nutrientes del suelo, el crecimiento, la nutrición de las plantas y la capacidad de respuesta de las micorrizas se ven afectados por el efecto heredado de la humedad del suelo (Cavagnaro, 2016). Las respuestas de crecimiento o contenido de fosfato a los HMA no siempre son positivas, sino que pueden variar de positivas a neutrales y negativas dado que la capacidad de respuesta de la asociación micorrícica depende del genotipo de la planta y del hongo, así como de las condiciones ambientales (Berger y Gutjahr, 2021).

4. CONCLUSIONES

Se confirma que la mayor eficiencia micorrícica de un inóculo mixto de HMA nativo se relaciona con las características edafoclimáticas del sitio del que fue aislado. El sistema experimental desarrollado con riego a capacidad de campo en función del tiempo pone de manifiesto las diferencias en el comportamiento de los inóculos de HMA probados. La capacidad de respuesta a la micorrización estuvo fuertemente influenciada por el efecto heredado de la humedad del suelo de los dos inóculos mixtos de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) nativos. Por lo que, bajo condiciones de riego, el inóculo de HMA nativo aislado de una región húmeda como la de Colonia Benítez presenta mayor eficiencia micorrícica, expresada como Respuesta Micorrícica, en simbiosis con *N. alba* a partir de los 60 días y hasta el final del tratamiento, comparada con el inóculo de HMA nativo aislado de un sitio semiárido como Padre Lozano.

La utilización de hongos micorrícicos arbusculares es un aporte microbiológico prometedor para el desarrollo de la producción sostenible de plantas de *N. alba*; por lo tanto, y dado el papel de HMA en el funcionamiento de los ecosistemas y su potencial como fertilizantes biológicos, proponemos incluir la inoculación con HMA en los sistemas de producción.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por los proyectos PROMEF, Proyecto Nacional Forestales, INTA (PNFOR-1104073) y Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT 2012-0339). La Ing. Agr. Mónica B. Sagadin fue financiada por una beca de formación INTA (Res. 516/07 y 935/10). Los autores agradecen al Dr. Aníbal Verga por su colaboración proveyendo infraestructura e insumos para este trabajo. Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses y no haber realizado experimentos en seres humanos ni animales.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bethlenfalvay, G. J.; M. S. Brown; R. L. Franson and L. K. Mihara. 1989. The Glycine-Glomus-*Bradyrhizobium* symbiosis. IX Nutritional, morphological and physiological responses of nodulated soybean to geographic isolates of the mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Physiologia Plantarum* 76: 226-232. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1989.tb05637.x>.
- Berger, F. and C. Gutjahr. 2021. Factors affecting plant responsiveness to arbuscular mycorrhiza. *Current Opinion in Plant Biology* 59: 101994. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2020.101994>
- Bever, J. D.; S. C. Richardson; B. M. Lawrence; J. Holmes and M. Watson. 2009. Preferential allocation to beneficial symbiont with spatial structure maintains mycorrhizal mutualism. *Ecology Letters* 12: 13-21 <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01254.x>.
- Black, K. G.; D. T. Mitchell and B. A. Osborne. 2000. Effect of mycorrhizal-enhanced leaf phosphate status on carbon partitioning, translocation, and photosynthesis in cucumber. *Plant Cell & Environment* 23: 797-809. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2000.00598.x>.
- Cabello, M. 2013. Biodiversidad de hongos formadores de micorrizas arbusculares reportada para Argentina. Pp. 179-193 En: A. S. Albanesi (ed.). *Microbiología Agrícola*. Un aporte de la investigación en Argentina, 2° ed., Ediciones Magma.
- Cartes Rodríguez, E.; M. Acevedo Tapia; M. González Ortega; C. Álvarez Maldini; P. Mena Marín; E. García Rivas. 2019. *Manual de manejo de riego y fertilización en viveros de plantas a raíz cubierta*. Manual N° 51, Instituto Forestal Chile. Editorial INFOR. 110 p. <https://doi.org/10.52904/20.500.12220/29152>.
- Cataldi, T.; M. Angelotti; L. D'Erchia and G. Altieri. 2003. Ion-exchange chromatographic analysis of soluble cations, anions, and sugars in milk whey. *European Food Research and Technology* 216: 75-82. <https://doi.org/10.1007/s00217-002-0598-7>.
- Cavagnaro, T. R. 2016. Soil moisture legacy effects: impacts on soil nutrients, plants and mycorrhizal responsiveness. *Soil Biology and Biochemistry* 95: 173-179. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.12.016>.
- Cavagnaro, T. R.; F. A. Smith; S. M. Ailing and S. E. Smith. 2003. Growth and phosphorus nutrition of a Paris-type arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist* 157(1): 127-134. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00654.x>.

- Chen, M.; M. Arato; L. Borghi; E. Nouri and D. Reinhardt. 2018. Beneficial Services of Arbuscular Mycorrhizal Fungi - From Ecology to Application. *Frontiers in Plant Science* 9: 1270. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01270>
- Covacevich, F.; H. E. Echeverría. 2010. Indicadores para seleccionar inóculos de hongos micorrícicos arbusculares eficientes en suelos moderadamente ácidos. *Ciencia del Suelo* 28 (1): 9-22.
- Di Rienzo, J. A.; F. Casanoves; M. G., Balzarini; L. González; M. Tablada y C. W. Robledo. 2017. *Infostat Versión 2017*. Grupo InfoStat, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.
- García-Sánchez, R.; A. Monroy-Ata y E. Chimal-Sánchez. 2008. Hongos micorrizógenos arbusculares asociados a diferentes plantas y matorrales del Valle del Mezquital, Hidalgo, México. Pp. 123–136 En: Montaña N. M.; S. L. Camargo-Ricalde; R. García-Sánchez; A. Monroy-Ata (eds.). *Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos*. Mundi Prensa, México.
- 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 p.
- Green, C. D.; A. R. Stdola, and A. Augé. 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. <https://doi.org/10.1007/s005720050218>.
- Grümberg B. C.; C. M. Urcelay; A. Shroeder; S. Vargas-Gil and C. M. Luna. 2015. The role of inoculum identity in drought stress mitigation by arbuscular mycorrhizal fungi in soybean. *Biology Fertility Soils* 51 (2015), pp. 1-10, <https://doi.org/10.1007/s00374-014-0942-7>
- Guangli, X.; L. Tingxuan; Z. Xizhou; Y. Haiying; H. Huagang and D.K. Gupta. 2009. Uptake and accumulation of phosphorus by dominant plant species growing in a phosphorus mining area. *J. Hazardous Materials* 171 (1-3): 542-550. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.06.034>.
- Hernández-Zamudio, G.; J. Sáenz-Mata; A. Moreno-Reséndez; G. Castaneda-Gaytán; A. Ogazc, S. Carballar-Hernández y L. Hernández-Cuevas. 2018. Dinámica de la diversidad temporal de los hongos micorrícicos arbusculares de *Larrea tridentata* (Sesse & Mocino ex DC) Coville en un ecosistema semiárido. *Revista Argentina de Microbiología* Volumen 50 (3): 301-310. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.07.007>
- Hoeksema, J. D.; V. B. Chaudhary; C. A. Gehring; N. C. Johnson; J. Karst, R. Koide; A. Pringle; C. Zabinski; J. D. Bever; J. N. Moore; G. W. T. Wilson; J. N. Klironomos and J. Umbanhowar. 2010. A meta-analysis of context-dependency in plant response to inoculation with mycorrhizal fungi. *Ecology Letters* 13: 394-407. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.20>
- Hughes, C. E.; J. J. Ringelberg; G. P. Lewis and S. A. Catalano. 2022. Disintegration of the genus *Prosopis* L. (Leguminosae, Caesalpinioideae, mimosoid clade). In: Hughes CE, de Queiroz LP, Lewis GP (Eds) *Advances in Legume Systematics* 14. Classification of Caesalpinioideae Part 1: New generic delimitations. *PhytoKeys* 205: 147-189. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.205.7537909.01430.x>

- Janos, D. P. 2007. Plant responsiveness to mycorrhizas differs from dependence upon mycorrhizas. *Mycorrhiza* 17: 75-91. <https://doi.org/10.1007/s00572-006-0094-1>.
- Kapoor, R.; D. Sharma and A. K. Bhatnagar. 2008. Arbuscular mycorrhizae in micropropagation systems and their potential applications. *Scientia Horticulturae* 116: 227-239. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.02.002>.
- Klironomos, J. N. 2003 Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecology* 84(9): 2292-2301. <https://doi.org/10.1890/02-0413>.
- Kohler, J.; G. Tortosa; J. Cegarra, F. Caravaca and A. Roldan. 2008. Impact of DOM from composted "alperujo" on soil structure, AM fungi, microbial activity and growth of *Medicago sativa*. *Waste Management* 28 (8): 1423-1431. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2007.05.008>.
- Manoharan, L.; N. P. Rosenstock; A. Williams and K. Hedlund. 2017. Agricultural management practices influence AMF diversity and community composition with cascading effects on plant productivity. *Applied Soil Ecology* 115: 53-59. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.03.012>
- Marro, N.; N. Cofré; G. Grilli; C. Álvarez; D. Labuckas; D. Maestri and C. Urcelay. 2020. Soybean yield, protein content and oil quality in response to interaction of arbuscular mycorrhizal fungi and native microbial populations from mono-and rotation-cropped soils. *Applied Soil Ecology* 152, 103575. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103575>
- McGonigle, T. P.; M. H. Millers; D. G. Evan; G. L. Fairchild and J. A. Swan. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 115: 495-501. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1990.tb00476.x>
- Monroy-Ata, A.; J. Estévez Torres; R. García Sánchez and R. Ríos Gómez. 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 (Suplemento): 49-57. <https://doi.org/10.17129/botsoci.1756>.
- Montero, L.; C. Duarte; R. Cun y J. A. Cabrera. 2010. Efectividad de biofertilizantes micorrícicos en el rendimiento del pimiento (*Capsicum annuum* L. var. Verano 1) cultivado en diferentes condiciones de humedad del sustrato. *Cultivos Tropicales* 31(3): 11-14.
- Mortimer, P. E.; M. A. Perez Fernández and A. J. Valentine. 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(5): 1019-1027. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.11.014>.
- Park, H. J.; D. S. Floss; V. Levesque-Tremblay; A. Bravo and M. J. Harrison. 2015. Hyphal Branching during Arbuscule Development Requires Reduced Arbuscular Mycorrhiza. *Plant Physiology* 169: 2774-2788. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01155>.
- Phillips, J. M. and D. S. Hayman. 1970. Improves procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*. 55(1): 158-161. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3).

- Piatti, C. L. and M. C. Iglesias. 2004. Registro y cuantificación de la presencia de micorrizas vesículo-arbusculares en suelos de algarrobales. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas*. Resumen: A-058.
- Sagadin, M. B.; M. I. Monteoliva; C. M. Luna y M. N. Cabello. 2018. Diversidad e infectividad de hongos micorrícicos arbusculares nativos provenientes de algarrobales del Parque Chaqueño argentino con características edafoclimáticas contrastantes. *Agriscientia* 35(2): 19-33. <https://doi.org/10.31047/1668.298x.v35.n2.21001>.
- Salto, C. S.; L. Harrand; G. P. J. Oberschelp y M. Ewens. 2016. Crecimiento de plantines de *Prosopis alba* en diferentes sustratos, contenedores y condiciones de vivero. *Bosque* 37(3): 527-537. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002016000300010>
- Salto, C. S.; M. B. Sagadin; C. M. Luna; G. P. J. Oberschelp; L. Harrand and M. N. Cabello. 2020. Interactions between mineral fertilization and arbuscular mycorrhizal fungi improve nursery growth and drought tolerance of *Prosopis alba* seedlings. *Agroforest Systems* 94: 103-111. <https://doi.org/10.1007/s10457-019-00371-x>.
- Scambato, A. A.; M. Echeverría; P. Sansberro; R. V. Ruíz and A. B. Menéndez. 2011. *Glomus intraradices* improved salt tolerance in *Prosopis alba* seedlings by improving water use efficiency and shoot water content. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 22: 285-289. <http://dx.doi.org/10.1590/S1677-04202010000400008>.
- Sieverding, E. 1991. *Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems*. Agrosystem. Deutsche Gesellschaft fur technische Zusammenarbeit GTZ. Eschborn, Germany. 371 p. ISBN 103880854629
- Smith S. E. and D. J. Read. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. 3rd ed. Elsevier / Academic Press, Amsterdam. The Netherlands. Pp. 787. <https://doi.org/10.1016/B978-012370526-6.50001-5>.
- Smith, F. A. and S. E. Smith. 2011. What is the significance of the arbuscular mycorrhizal colonization of many economically important crop plants? *Plant and Soil* 348: 63-79. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-0865-0>.
- Thougnon Islas, A. J.; M. Eyherabide; H. E. Echeverria; H. R. Sainz Rozas y F. Covacevich. 2014. Capacidad micotrófica y eficiencia de consorcios con hongos micorrícicos nativos de suelos de la provincia de Buenos Aires con manejo contrastante. *Revista Argentina de Microbiología* 46(2): 133-143. [https://doi.org/10.1016/S0325-7541\(14\)70062-8](https://doi.org/10.1016/S0325-7541(14)70062-8).
- Trejo, D.; R. Ferrera-Cerrato; R. García; L. Varela; L. Lara; A. Alarcón. 2011. Efectividad de siete consorcios nativos de hongos micorrícicos arbusculares en plantas de café en condiciones de invernadero y campo. *Revista Chilena de Historia Natural* 84 (1): 23-31. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2011000100002>
- Wang, M.; Z. Wang; M. Guo; L. Qu and A. Biere. 2023. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth and herbivore infestation depend on availability of soil water and nutrients. *Frontiers. In Plant Science*. 14: 1101932. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1101932>.
- Wang, J.; J. Zhang; C. Wang; G. Ren; Y. Yang and D. Wang. 2021. Precipitation exerts a strong influence on arbuscular mycorrhizal fungi community and network complexity in a semiarid steppe ecosystem. *European Journal of Soil Biology* 102: 103268. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2020.103268>

