

Labranza y fertilización como moduladores de la dinámica de comunidades microbianas asociadas a un cultivo de trigo en el sudeste bonaerense (Argentina)

Tillage and fertilization as modulators of the dynamics of microbial communities associated with a wheat crop of southeast of Buenos Aires (Argentina)

Germán Ricardo Pérez¹, Pablo Andres Barbieri^{1,3}, Keren Hernandez Guijarro¹, Hernán Eduardo Echeverría¹, Fernanda Covacevich^{1,2*}

Originales: *Recepción*: 02/06/2016 - *Aceptación*: 03/11/2016

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue evaluar a campo el efecto de la labranza y la fertilización con macro y micronutrientes, sobre el crecimiento y la colonización de raíces por hongos micorrícicos arbusculares y la abundancia de microorganismos solubilizadores de P en la rizósfera del cultivo de trigo. Para ello, se realizó el monitoreo del crecimiento y la colonización micorrícica de un cultivo de trigo ("Buck SY 300") durante dos campañas en Balcarce (Pcia. Buenos Aires). Se evaluó el crecimiento, la colonización micorrícica del cultivo y las características químicas del suelo de un ensayo dispuesto en tres bloques completamente aleatorizados con arreglo de tratamientos en parcelas divididas. La parcela principal correspondió a los tratamientos de labranza: siembra directa y labranza convencional y las subparcelas a los siguientes tratamientos: Sin Fertilizar (Testigo); Fertilizado con N, P y S (NPS); y Fertilizado con N, P, S; y los micronutrientes Cu y Zn (NPS+Mi). Durante el segundo año se cuantificó además la abundancia de microorganismos cultivables totales y de solubilizadores de P. La fertilización incrementó el crecimiento y rendimiento del cultivo; sin embargo, la labranza no tuvo efectos significativos. La fertilización (NPS y NPS+Micronutrientes) afectó negativamente la colonización micorrícica nativa, mientras que la labranza deprimió la micorrización solo en macollaje. Ni la labranza ni la fertilización afectaron significativamente la abundancia de bacterias totales. Independientemente de la labranza, la fertilización con macro y micronutrientes ocasionó una reducción en los recuentos de solubilizadores de P (solP). En este estudio, se confirma la falta de efecto de la labranza, aunque es evidente el efecto depresivo de la fertilización sobre la colonización micorrícica y la abundancia de solubilizadores de

-
- 1 UI (Unidad Integrada) FCA-UNMdP (Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata) /EEA INTA. Correo Postal Ruta 226 Km 73,5. CC 276. (7620) Balcarce. * covacevich.fernanda@inta.gob.ar
 - 2 CONICET-INBIOTEC (Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología) /FIBA (Fundación para Investigaciones Biológicas Aplicadas). Vieytes 3103. (7600) Mar del Plata
 - 3 CONICET

P asociados a un cultivo de trigo. Los resultados muestran que aun en sistemas productivos intensivos, los hongos micorrícicos arbusculares y las bacterias solubilizadoras de P se asocian al cultivo de trigo y que estrategias de fertilización son requeridas para lograr mantener alta productividad sin deprimir las poblaciones microbianas nativas del suelo.

Palabras clave

hongos micorrícicos arbusculares • solubilizadores de P • *Triticum aestivum* • manejo agrícola

ABSTRACT

The objective was to evaluate under field conditions, the effect of tillage and fertilization with macro and micronutrients on growth of wheat crop, root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi and the abundance of P solubilizing microorganisms in the rhizosphere. Wheat crop (cv. "Buck SY 300") growth, root mycorrhizal colonization and soil chemical characteristics were assessed during two growing seasons (two years) in Balcarce (Buenos Aires province) of a trial arranged in three completely randomized blocks with treatments arranged in split plot. The main plot treatments were tillage: non-tillage and conventional tillage and subplots following treatments: unfertilized (control); fertilized with N, P and S (NPS); and fertilized with N, P, S; Cu and Zn and micronutrients (NPS + Mi). During the second year abundance of total bacteria and P solubilizer (solP) were also assessed. Fertilization increased growth and yield of the wheat crop; however, tillage had no significant effect. Fertilization (NPS and NPS+Micronutrients) negatively affected mycorrhizal colonization, while tillage depressed root colonization only in tillering. Tillage and fertilization did not affect the abundance of total cultivable bacteria. Instead, tillage and fertilization with macro and micronutrients reduced solP abundance. We confirmed lack of tillage effect but depressive fertilization effect on mycorrhizal colonization and solP associated of wheat crop of Balcarce (Buenos Aires Province). Furthermore, this results shown that even in intensive production systems, arbuscular mycorrhizal fungi and soil P solubilizer bacteria are associated to the wheat crop and fertilization strategies are required in order to maintain high productivity without depressing the native soil microbial populations.

Keywords

arbuscular mycorrhizal colonization • P solubilisers • *Triticum aestivum* • crop management

INTRODUCCIÓN

Actualmente, la siembra del trigo en Argentina ocupa 4,2 millones de ha, lo que representa un 10,32% de la superficie total destinada a la agricultura (17). Además, la producción de trigo se ha incrementado en un 12,2% en relación con la campaña anterior; estimándose que la producción de la campaña triguera 2014-15, alcanzó 9,2 millones de toneladas (41).

De los cultivos más extendidos en la región, el trigo es el que consume más nutrientes por lo que es uno de los cultivos que recibe la mayor cantidad de fertilizantes. Sin embargo, en escasas ocasiones, los productores consideran los balances de nutrientes previos a la fertilización; y tampoco consideran los efectos de esta práctica sobre las poblaciones microbianas nativas, particularmente las que podrían cumplir roles significativos en el ciclado de nutrientes de importancia agrícola. Entre ellos, las bacterias fijadoras de N, microorganismos solubilizadores de P y hongos micorrícicos arbusculares (HMA) podrían desempeñar un rol importante en la productividad de los cultivos sin atentar contra la sostenibilidad de los ecosistemas agrícolas (21).

Los suelos agrícolas de la provincia de Buenos Aires tienen una considerable diversidad microbiana general (1, 33) y de HMA, particularmente en agroecosistemas poco degradados (27, 29, 36, 45). Sin embargo, en ocasiones la micorrización nativa puede presentarse en bajo número y ser afectada negativamente por las prácticas agrícolas intensivas, particularmente fertilización intensiva y localizada que resulta en elevados contenidos de P disponible en el suelo (13, 14, 43). Estudios previos han puesto en evidencia la presencia de HMA nativos en un monocultivo de trigo

y su relación negativa con la fertilización fosfatada (11, 14). Estudios en cultivos de maíz (2), indican que la fertilización con micronutrientes no afecta la dinámica de la colonización micorrícica. Sin embargo, aún se desconoce si la fertilización con micronutrientes afecta la micorrización en el cultivo de trigo.

Por otra parte, algunos reportes indican que la labranza puede afectar negativamente la formación de la red de hifas de HMA y consecuentemente su capacidad de colonización (8, 24). Se menciona que la ausencia de labranza (siembra directa, SD) para el cultivo de trigo en el noreste de la Provincia de Buenos Aires no promueve una mayor riqueza de especies o familias de HMA (*Glomeromycotina*) (37). Se desconoce si la SD, aplicada en el sudeste bonaerense ocasiona cambios en la dinámica de la colonización por HMA.

El conocimiento sobre las comunidades de HMA asociadas con los diferentes cultivos tiene suma importancia para el manejo de las mismas mediante la inoculación (22, 44), para propender a un uso más eficiente de la fertilidad del suelo. Por otra parte, considerando el rol de los HMA en la estabilidad de los agregados del suelo (por la producción de glomalinas) (32), una abundante colonización con HMA podría garantizar una adecuada estructura del suelo. Por otra parte, se desconoce si el manejo agrícola (particularmente la labranza y fertilización), puede afectar la abundancia de microorganismos solubilizadores de P (partir de fuentes de P no disponibles) asociados con el cultivo de trigo.

Considerando los efectos de los manejos agrícolas que buscan una alta productividad y desde la perspectiva de una producción sustentable, es necesario el entendimiento de la dinámica de la actividad de estos grupos de microorganismos, a efectos de definir

estrategias de manejo que no afecten sus poblaciones nativas (24).

Objetivo

Evaluar a campo el efecto de la labranza y la fertilización con macro y micronutrientes, sobre la colonización de raíces por HMA y la abundancia de microorganismos solubilizadores de P en la rizósfera del cultivo de trigo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio y descripción del experimento

El sitio experimental se estableció en la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) INTA Balcarce (37°45' S; 58°18' W) en el sudeste de la provincia de Buenos Aires. El suelo del sitio es un complejo Argiudol Típico y Paleudol Petrocálcico de textura franca, con más de 30 años de historia agrícola con labranza convencional (LC). El experimento se desarrolló en el marco de un ensayo de rotaciones iniciado en 2001, el que contempla la realización de cuatro cultivos en tres años (maíz, soja, trigo/soja de segunda). El estudio se realizó en el cultivo de trigo (cultivar Buck SY 300; sembrado en el mes de julio a una densidad de 280 plantas m⁻²) durante las campañas 2010 y 2013.

El diseño experimental fue en tres bloques completamente aleatorizados con arreglo de tratamientos en parcelas divididas. La parcela principal correspondió a los tratamientos de labranza: SD y LC y las subparcelas a los siguientes tratamientos: Sin Fertilizar (Testigo); Fertilizado con N, P y S (NPS); y Fertilizado con N, P, S; y los micronutrientes Cu y Zn (NPS+Mi). El tamaño de las parcelas fue 25m x 35m y el de las subparcelas 5m x 25m.

En los tratamientos con N, P y S la fertilización se realizó al voleo a principios del mes de septiembre en estadio de macollaje (100 kg ha⁻¹ N como urea 46-0-0; 60 kg ha⁻¹ de P como superfosfato 0-46-0; y 40 kg ha⁻¹ de S como sulfato de Ca). Los micronutrientes Cu y Zn se aplicaron al follaje en forma líquida a razón de 0,5 kg ha⁻¹ a principios del mes de noviembre cuando el cultivo se encontraba en estadio de antesis. A partir de los registros de precipitaciones de la EEA INTA, Balcarce se realizó el balance hídrico decádico (15).

Muestreos y procesamiento de las muestras

En las dos campañas evaluadas (2010 y 2013) se realizaron muestreos de suelo y material vegetal aéreo y radical en los estadios de macollaje (Z65) (48), antesis (Z92) y madurez fisiológica del cultivo (en los meses de septiembre, noviembre y enero; a los 60, 120 y 160 días después de siembra respectivamente). En cada muestreo se colectaron 18 muestras correspondientes a 6 tratamientos (2 Labranza x 3 Fertilización) y 3 bloques. Cada muestra tanto de material aéreo como de suelo+raíces estuvo compuesta por 6 submuestras.

En cada muestreo, el material vegetal aéreo se colectó en una superficie de 6 m² (realizando 6 cortes de 1 m al azar dentro de cada parcela, donde se cortó el material vegetal aéreo 1 cm por encima del suelo). Las muestras fueron almacenadas en bolsas plásticas con orificios que permitieran la circulación de aire, colocadas en estufa a 60°C durante 72 h, luego de lo cual se cuantificó la materia seca aérea (MSA) por gravimetría. En madurez fisiológica se colectó material vegetal de 10 m² (10 cortes de 1 m), se determinó la MSA y se extrajeron los granos mediante trilladora. Se cuantificó el contenido de humedad y el peso de los granos al 14% de humedad.

Cuando el cultivo se encontraba en estadio de hoja bandera (Z39) se midió el índice de verdor (IV) registrando las lecturas del haz de luz que atravesaron de manera no destructiva hojas totalmente expandidas, utilizando el equipo SPAD Minolta 502; Konika Minolta, Japan. En cada parcela se realizaron 2 lecturas por planta, en 18 plantas individuales.

Las muestras de suelo con las raíces de trigo fueron colectadas en los mismos sectores que el material aéreo. Para ello se tomaron 6 submuestras con muestreador de 5 cm de diámetro y 20 cm de profundidad, las cuales fueron homogeneizadas.

Posteriormente se separó el material radical del suelo por tamizado (2 mm) el que fue inmediatamente procesado para la determinación de la colonización micorrícica, la que fue cuantificada como intensidad de micorrización (MA%) y contenido de arbusculos (Ar%) (7). Para ello, las raíces fueron teñidas con solución de azul tripán (0,05%) conteniendo ácido láctico-glicerol-agua destilada (1:1:1), de acuerdo con una modificación de la metodología original (30), en la que se ha omitido la utilización de fenol en los reactivos.

Parte del suelo fue utilizado para el análisis de contenido de materia orgánica (46), pH (relación suelo: agua de 1:2,5), disponibilidad de P, por el método de Bray (6), y de Zn y Cu (26). Para ello, el suelo fue secado en estufa a 30°C durante 72 h en oscuridad, molido y tamizado a 2 mm procediéndose luego a cada análisis específico.

En el muestreo de anátesis de la campaña 2013, parte del suelo del sector rizosférico fue utilizado para el conteo de bacterias totales y solubilizadoras de P. Para ello,

el suelo fue conservado en oscuridad en heladera hasta su procesamiento 24 h más tarde. Se realizaron diluciones seriales al décimo, a partir de 10 g de suelo en 90 mL de solución fisiológica estéril, sembrando alícuotas (0,1 mL) de las diluciones 10^{-4} a 10^{-6} en Placas Petri conteniendo agar nutritivo para bacterias mesófilas totales y de las diluciones 10^{-3} a 10^{-5} en medio NBRIP (Nacional Botanical Research Institute Phosphate Growth Medium) para las solubilizadoras de P visualizadas a través de la formación de un halo alrededor de las colonias (18). Los halos de solubilización fueron medidos y las colonias que formaron mayor halo de solubilización fueron aisladas y conservadas en medio NBRIP con glicerol (20%) a -20°C para futuros estudios. Se determinó el contenido de humedad del suelo y los valores de abundancia de bacterias fueron expresados en $\log g^{-1}$ de suelo seco.

Análisis estadístico

Se realizaron análisis de varianza (ANOVA) para todas las variables evaluadas (excepto las características químicas del suelo) y las diferencias entre medias fueron determinadas por el test de Diferencias Mínimas Significativas ($p < 0,05$). Las comparaciones fueron realizadas entre tratamientos de fertilización para cada fecha de muestreo y cada campaña (particionado por efecto labranza) y sus interacciones. Previamente se testeó el efecto labranza utilizando el procedimiento Proc Mixed. Para todos los análisis estadísticos se utilizó el programa SAS (34).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parámetros climáticos y edáficos

Durante la campaña agrícola 2010 no se registró déficit hídrico en los estadios previos a los muestreos, pero posteriormente hubo mayor evapotranspiración potencial que precipitaciones (figura 1), lo que indica cierto grado de estrés hídrico, más severo en los períodos próximos a la madurez.

En la campaña 2013 no se registró déficit hídrico durante el ciclo del cultivo. En ambas campañas la temperatura media y humedad relativa durante la estación de crecimiento se mantuvieron próximas a las medias históricas para la zona (datos no mostrados).

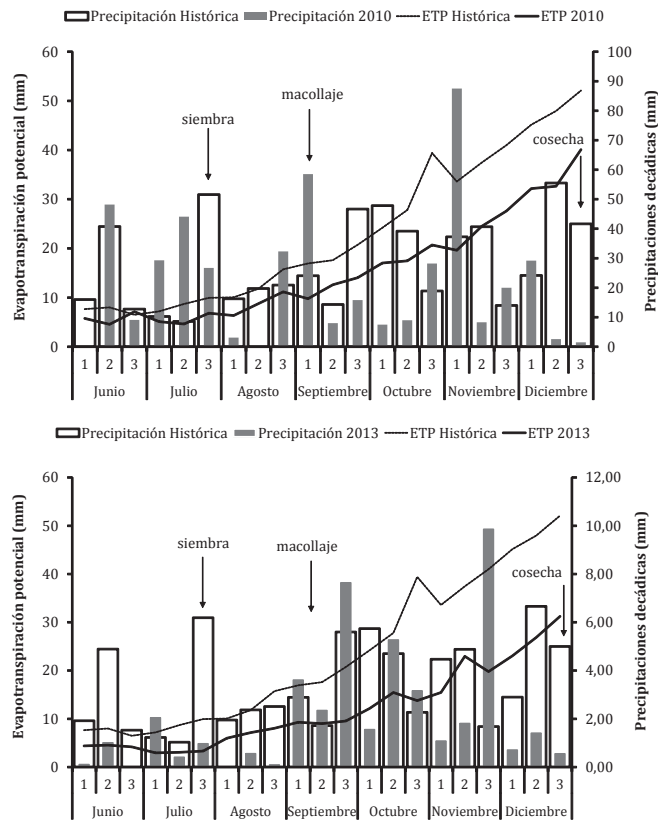


Figura 1. Evolución de las precipitaciones decádicas, y evapotranspiración potencial (ETP) durante el cultivo de trigo. Balcarce 2010 y 2013.

Figure 1. Evolution of decadal rainfall, and potential evapotranspiration (ETP), during wheat crop. Balcarce 2010 and 2013.

Como era de esperar, la fertilización fosfatada incrementó (duplicando y hasta triplicando) el contenido de P disponible en el suelo (tabla 1). En general, el pH y el contenido de MO se mantuvieron dentro de un rango similar entre sistemas de labranza y tratamientos de fertilización, siendo los contenidos registrados normales para la zona en estudio.

Los resultados muestran que, a pesar de la prolongada historia agrícola del sitio experimental (más de 50 años), la disponibilidad de Zn y Cu en el suelo estuvo por encima de los umbrales de deficiencia (0,12-0,25 y 0,80-1,0 mg kg⁻¹, para Cu y Zn, respectivamente) mencionados en la literatura para el normal desarrollo y crecimiento de cultivo de trigo (42).

Tabla 1. Contenidos de P disponible, materia orgánica (MO), Zn y Cu; y pH, en el suelo (campañas de trigo 2010 y 2013), en función de la fertilización y la labranza (LC= labranza convencional; SD= siembra directa).

Table 1. Soil pH, available P, organic matter (MO), Zn and Cu contents, (2010 and 2013 wheat growth seasons) in relation to fertilization and tillage (LC= conventional tillage; SD= no tillage).

Estadio	Labranza	Fertilización	pH	MO (g kg ⁻¹)	P	Zn	Cu
					------(mg kg ⁻¹)-----		
Macollaje	LC	Testigo	6,21 (± 0,0)	47,4 (± 0,0)	15,28 (± 2,1)	1,41 (± 0,3)	1,43 (± 0,1)
		NPS	5,89 (± 0,0)	44,0 (± 0,0)	37,32 (± 4,9)	2,10 (± 1,4)	2,09 (± 0,1)
		NPS+Mi	6,16 (± 0,1)	46,7 (± 0,1)	35,77 (± 2,1)	1,32 (± 0,0)	1,67 (± 0,1)
	SD	Testigo	6,20 (± 0,1)	49,4 (± 0,2)	14,29 (± 1,7)	1,15 (± 0,2)	1,60 (± 0,0)
		NPS	5,85 (± 0,0)	46,5 (± 0,1)	38,91 (± 4,2)	1,60 (± 0,2)	1,69 (± 0,1)
		NPS+Mi	5,73 (± 0,1)	49,5 (± 0,2)	43,97 (± 3,8)	0,99 (± 0,1)	1,29 (± 0,3)
Floración	LC	Testigo	6,21 (± 0,1)	46,7 (± 0,4)	12,79 (± 0,5)	n.d.	n.d.
		NPS	6,02 (± 0,4)	47,3 (± 0,0)	33,83 (± 6,8)	n.d.	n.d.
		NPS+Mi	5,91 (± 0,3)	42,5 (± 0,7)	24,83 (± 2,4)	n.d.	n.d.
	SD	Testigo	6,20 (± 0,0)	43,1 (± 0,6)	12,61 (± 0,9)	n.d.	n.d.
		NPS	6,00 (± 0,3)	45,3 (± 0,1)	32,62 (± 6,4)	n.d.	n.d.
		NPS+Mi	5,91 (± 0,0)	47,0 (± 0,1)	33,71 (± 6,6)	n.d.	n.d.
Madurez	LC	Testigo	6,30 (± 0,1)	47,1 (± 0,7)	15,92 (± 1,0)	n.d.	n.d.
		NPS	6,01 (± 0,2)	48,3 (± 0,3)	42,10 (± 9,4)	n.d.	n.d.
		NPS+Mi	6,01 (± 0,1)	44,2 (± 0,4)	30,65 (± 2,0)	n.d.	n.d.
	SD	Testigo	6,39 (± 0,4)	49,3 (± 0,5)	15,68 (± 2,1)	n.d.	n.d.
		NPS	6,02 (± 0,3)	49,1 (± 0,5)	41,90 (± 6,1)	n.d.	n.d.
		NPS+Mi	5,95 (± 0,2)	51,0 (± 0,2)	39,91 (± 5,0)	n.d.	n.d.

Los valores son promedios entre las dos campañas. Valores entre paréntesis corresponden al desvío estándar. n.d. = no determinado.

Values are the averages between the two growing seasons. Values in parentheses correspond to standard deviation. n.d.= no determined.

Producción de material vegetal e índice de verdor

En general, la producción de materia seca aérea (MSA) y el rendimiento (RTO) fueron mayores en la campaña 2013 para todos los períodos y tratamientos, principalmente en los estadios iniciales de crecimiento del cultivo. En este sentido, la producción de MSA del 2013 superó en más del 150% y 50% a las registradas durante macollaje y anthesis del 2010, respectivamente; mientras que el rendimiento en grano del 2013 superó en un 17% al registrado en el 2010.

Los valores fueron similares a otros reportados para la zona durante las mismas campañas (31) y las diferencias entre campañas podrían asociarse a la mejor disponibilidad hídrica del cultivo en la campaña 2013.

En general, la labranza afectó la producción de MSA solo en macollaje, obteniéndose bajo SD una merma de aproximadamente del 80% en relación con la LC, tanto para 2010 como 2013. En los estadios más avanzados del cultivo los valores de MSA fueron similares para ambas labranzas en ambas campañas.

La fertilización incrementó la producción de MSA en relación con el testigo en las dos campañas y no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos (figura 2, pág. XXX). Como era de esperar, los menores rendimientos (aproximadamente 5900 kg ha^{-1}) se obtuvieron en el testigo mientras que no se determinaron diferencias significativas por la aplicación de micronutrientes (figura 2, pág. XXX).

Si bien la labranza no afectó significativamente el rendimiento, bajo LC durante la campaña 2013, se obtuvieron 366 kg ha^{-1} más que en SD lo que representó un 5,64% de incremento de rendimiento (figura 2, pág. XXX). De manera similar, otros

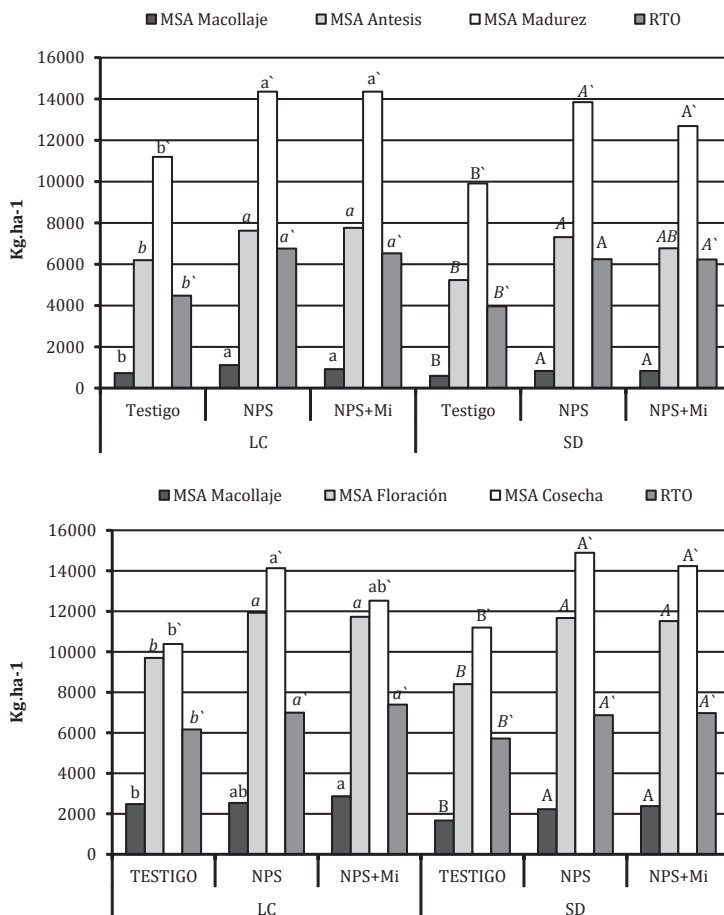
reportes mencionan cierto incremento de rendimiento del cultivo de trigo bajo LC en relación con SD, aunque las diferencias tampoco fueron significativas (4).

Los valores de Índice de Verdor (IV) durante la campaña 2013 fueron similares a los mencionados para cultivos de trigo en la zona (16). Los IV más bajos se obtuvieron en el testigo (IV 39,95 promedio entre fechas, labranzas y campañas) los que se diferenciaron de los tratamientos fertilizados. Sin embargo, no se evidenciaron diferencias entre los tratamientos fertilizados (IV 44,23 y 44,28 para NPS y NPS+Mi, respectivamente) ni por la labranza (IV 43,4 y 42,2 promedio particionado por labranza, bajo SD y LC, respectivamente).

Colonización micorrícica y abundancia bacteriana

La colonización micorrícica (registrada como intensidad de colonización-MA%- y contenido de arbusculos -Ar%- de HMA en las raíces de trigo) fue siempre mayor durante la segunda campaña que durante la primera (tabla 2, pág. XXX). Es probable que la menor disponibilidad de agua durante la primera campaña haya afectado negativamente la colonización micorrícica.

Varios reportes mencionan disminución en la colonización en situaciones de deficiencia hídrica a campo y una respuesta de rápido crecimiento oportunista del micelio cuando se restablece la humedad normal en el suelo (3). Sin embargo, otros autores mencionan que el estrés hídrico prolongado puede promover la colonización (5, 25). En este caso, debido a que se evaluó el mismo ensayo, que fue manejado en las mismas condiciones durante las dos campañas y cuya principal diferencia fue la disponibilidad hídrica, se podría atribuir la menor colonización micorrícica a la menor disponibilidad de agua en la primera campaña.



Para cada campaña y sistema de labranza, letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de fertilización (Test Diferencias Mínimas Significativas, $p < 0,05$). Detalle de fuentes tipográficas utilizadas: minúscula para labranza convencional (LC), mayúscula para siembra directa (SD); para cada labranza, fuente normal en macollaje, cursiva en floración, con apóstrofe en cosecha, en cursiva y con apóstrofe utilizada para rendimiento en grano. NPS: fertilizado con macronutrientes, NPSMi: fertilizado con macro y micronutrientes.

For each season and tillage system, different letters indicate significant differences among fertilization treatments (Least Significant Differences Test, $p < 0.05$). Details of typographic used fonts: lowercase for conventional tillage (LC), capital for non-tillage (SD); at each management condition, regular fonts used in tillering, italics in flowering, with apostrophe at physiological maturity, italics plus apostrophe fonts were used for grain yield. NPS: fertilized with macronutrients, NPSMi: fertilized with macronutrients plus micronutrients.

Figura 2. Producción de materia seca aérea (MSA) y rendimiento (RTO) en grano en el cultivo de trigo durante el estadio de macollaje, floración y madurez, en función de la labranza y fertilización durante las campañas de trigo 2010 y 2013 en Balcarce.

Figure 2. Shoot dry matter (MSA) and grain yield (RTO) of the wheat crop during tillering, flowering and maturity, during wheat growing seasons 2010 and 2013 in Balcarce.

Tabla 2. Intensidad de micorrización (MA) y contenido de arbusculos (Ar) en tres estadios fenológicos del cultivo de trigo durante dos campañas.**Table 2.** Mycorrhizal intensity (MA) and arbuscules content (Ar) at three phenological stages of the wheat crop during two growing seasons.

Estadio	Campaña		
	2010	2013	
Macollaje	MA (%)	37.97 b	56.24 a
	Ar (%)	19.45 b	40.55 a
Antesis	MA (%)	20.93 b	83.71a
	Ar (%)	6.81 b	54.84 a
Madurez	MA (%)	34.62 b	84.43 a
	Ar (%)	8.85 b	66.21 a

Campaña		Estadio		
		Macollaje	Antesis	Madurez
2010	MA (%)	37.97 a	20.93 c	34.62 b
	Ar (%)	19.45 a	6.81 c	8.85 b
2013	MA (%)	56.24 b	83.71 a	84.43 a
	Ar (%)	40.55 c	54.84 b	66.21 a

En cada fila, valores con letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre campañas para diferentes estadios fenológicos (parte superior de la tabla), o entre estadios fenológicos para cada campaña (parte inferior de la tabla).

In each row, values with different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between growing seasons for different growing state (top of the table), or between growing states for each growing season (bottom of the table).

Durante la campaña 2010, la colonización micorrícica disminuyó desde macollaje a antesis para luego recuperar parcialmente los niveles iniciales durante la madurez (tabla 2, figura 3, pág. XXX).

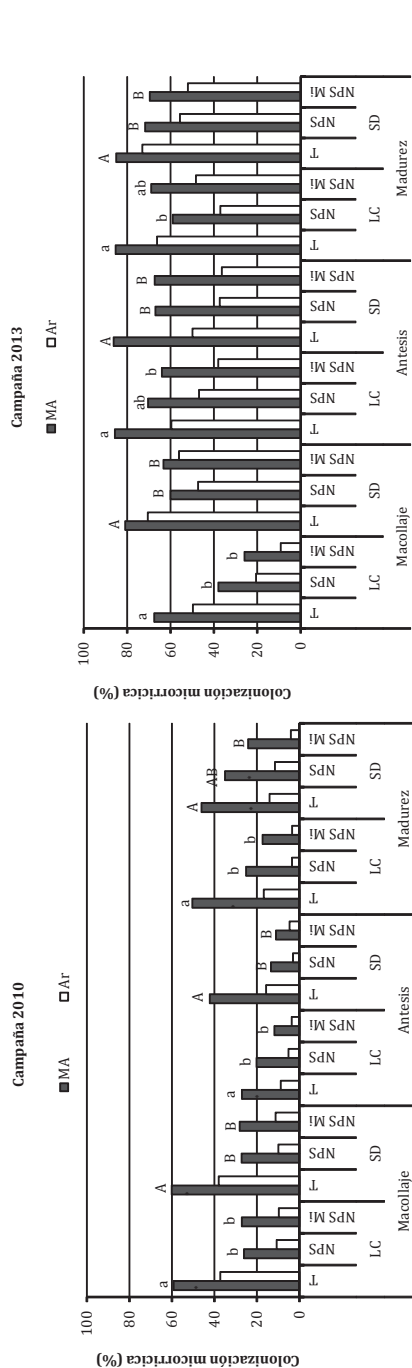
Contrariamente, en el 2013, la colonización aumentó desde macollaje hasta antesis y esos niveles se mantuvieron en madurez fisiológica (tabla 2, figura 3, pág. XXX).

La disminución de la colonización micorrícica en madurez ocurrida durante la primera campaña sería coincidente con algunos reportes (11, 28, 46) donde mencionan que, para los cultivos de grano en general, y para el trigo en particular, el pico máximo de colonización se detecta

en antesis y disminuye hacia madurez fisiológica, debido al cambio de destino de los fotosintatos de raíz hacia los granos.

En la segunda campaña este comportamiento no se registró y, aunque se desconocen las causas del comportamiento diferencial durante las dos campañas, es probable que la mayor disponibilidad hídrica durante el año 2013 haya favorecido el mayor desarrollo de la colonización micorrícica en todos los estadios, incluido madurez fisiológica, en relación con la campaña anterior.

En general, la labranza no afectó significativamente la colonización micorrícica.



Letras diferentes indican diferencias significativas (Test Diferencias Mínimas Significativas (Test Diferencias Mínimas Significativas, $p < 0,05$). T= Testigo; NPS= fertilizado con NPyS; NPSMi= fertilizado con NPS y Micronutrientes. Detalle de fuentes tipográficas utilizadas: primera fuente: minúsculas indican diferencias entre tratamientos de fertilización para labranza convencional (LC), mayúscula para siembra directa (SD); segunda fuente: fuente normal indica diferencias entre labranzas para tratamientos de fertilización con NPS, con apóstrofe indica diferencias entre labranzas para fertilización con NPSMi, en cursiva y con apóstrofe indica diferencias entre labranzas parcelas Testigo.

Different letters indicate significant differences (Minimum Significant Differences Test, $p < 0.05$). T= Control; NPS= fertilized with NP and S; NPSMi= fertilized with NPS and Micronutrients. Detail of used fonts: first letter: lower case indicate differences among fertilization treatments for conventional tillage (LC), a capital letter for non-tillage (SD); second letter: normal source indicates differences between tillage to fertilization treatments with NPS, with apostrophe indicates differences between tillage to fertilization treatments with NPSMi, in italics and apostrophe indicates differences between tillage in control plots.

Figura 3. Evolución de la colonización micorrícica (colonización total MA% y contenido de arbusculos Ar%) espontánea en raíces de un cultivo de trigo a campo en Balcarce durante las campañas 2010 y 2013, asociados con la fertilización y la labranza. Para cada campaña y sistema de labranza, letras diferentes indican diferencias significativas para MA y Ar entre tratamientos de fertilización (Test Diferencias Mínimas Significativas, $p < 0,05$). Detalle de fuentes tipográficas utilizadas: minúscula para labranza convencional (LC), mayúscula para siembra directa (SD). T= Testigo; NPS= fertilizado con NPyS; NPSMi= fertilizado con NPS y Micronutrientes.

Figure 3. Indigenous root mycorrhizal colonization (total colonization MA% and arbuscules Ar%) of a wheat crop in Balcarce during 2010 and 2013 growing seasons, associated with fertilization and tillage. For each season and tillage system, different letters indicate significant differences for MA and Ar among fertilization treatments (Least Significant Differences Test, $p < 0.05$). Details of typographic fonts used: lowercase for conventional tillage (LC), capital for non-tillage (SD). T= Control; NPS= fertilized with NP and S; NPSMi= fertilized with NPS and Micronutrients.

Solo se evidenciaron leves incrementos no significativos ($p > 0,05$) de la micorrización bajo SD en macollaje durante la segunda campaña, efecto que se minimizó en los estadios más avanzados (figura 3, pág. XXX). Estos resultados no permiten confirmar reportes de otras investigaciones que mencionan el efecto depresor de la LC sobre los propágulos de HMA y, como resultado de esto, sobre la micorrización (20, 23, 24, 36, 43). Aun así, estos resultados fueron consistentes durante las dos campañas evaluadas.

La falta de efecto de la labranza sobre la colonización micorrícica fue también observada en un cultivo de maíz en el mismo ensayo durante otra campaña (2).

Es probable que el suelo bajo LC en las condiciones evaluadas no se encuentre en un grado de deterioro que pueda haber afectado la colonización micorrícica. Esto podría evidenciarse, en parte, por el similar contenido de MO de las parcelas bajo SD y LC durante las dos campañas (tabla 1, pág. XXX).

Los mayores valores de colonización micorrícica se obtuvieron en los tratamientos no fertilizados, mientras que entre los tratamientos fertilizados, en general no se detectaron diferencias significativas (figura 3, pág. XXX).

La menor micorrización por la aplicación de fertilizantes, particularmente P ha sido bien documentada para cultivos en general así como para trigo (12, 13, 40, 43). En este sentido, se ha sugerido que la disminución en la colonización por el aumento del P disponible en el suelo podría ser debido a una reducción en el crecimiento del hongo, así como a un aumento en el crecimiento de las raíces (9, 43); sin embargo, estas variables son de difícil cuantificación en condiciones de campo.

La fertilización con micronutrientes, juntamente con el agregado de N, P y S,

no afectó significativamente la colonización micorrícica.

Algunos reportes mencionan efectos depresivos de la fertilización con micronutrientes en condiciones controladas (2, 38) mientras que para otros, no hay efectos evidentes (39).

Es probable que en este trabajo, la falta de efecto de la aplicación de micronutrientes esté asociada a que su aplicación no ocasionó incrementos en los contenidos de los mismos en el suelo (tabla 1, pág. XXX).

En coincidencia, se ha reportado ausencia de efecto depresivo de la fertilización con micronutrientes sobre la colonización micorrícica en un cultivo de maíz en otra campaña en el mismo ensayo (2), lo que fue justificado porque los contenidos de Zn no variaron por la fertilización.

Los valores de bacterias totales (cuantificadas solo en la campaña 2013) variaron en un rango de 5,2 a 6,0 $\log_{10} \text{g}^{-1}$ (tabla 3, pág. XXX) y no fueron afectados por la fertilización bajo LC, aunque sí bajo SD.

Si bien la ausencia de reportes en la misma zona impide comparar la magnitud de estos valores, estos resultados fueron menores a los registrados en suelos de la zona semiárida bonaerense (oeste de la provincia), donde se obtuvo un rango de 6,80-6,96 $\log_{10} \text{g}^{-1}$, para diferentes sistemas de labranza (19).

Los mayores recuentos de bacterias aeróbicas mesófilas totales (BAMT) se registraron en las parcelas testigo, manejadas bajo SD y los menores en las parcelas testigo bajo LC (tabla 3, pág. XXX).

En un ensayo de largo plazo en la localidad de Teodelina, Provincia de Santa Fe, las bacterias totales en un cultivo de maíz, se incrementaron en los tratamientos fertilizados con P (10), en valores similares a los obtenidos bajo LC en este estudio.

Tabla 3. Abundancia de bacterias mesófilas aeróbicas totales (BAMT) y de solubilizadoras de P asociadas a la rizósfera de un cultivo de trigo durante la campaña 2013.

Table 3. Total aerobic mesophilic bacteria (BAMT) and P solubilizers associated to the rhizosphere of a wheat crop during the 2013 growing season.

Labranza	Fertilización	BAMT	Solubilizadores de P
		-----($\log_{10} \text{ g}^{-1}$)-----	
LC	Testigo	5,20bb`	5,19 aa`
LC	NPS	5,92aa	5,30 aa
LC	NPS Mi	5,78aa`	4,38 ba`
SD	Testigo	6,03Aa`	5,40 Aa`
SD	NPS	5,76Ba	5,01 ABa
SD	NPS Mi	5,78Ba`	4,42 Ba`

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Minúsculas: diferencias entre tratamientos dentro de cada sistema de labranza; mayúsculas: diferencias entre sistemas de labranza dentro de cada tratamiento. LC: labranza convencional, SD: siembra directa, NPS: fertilizado con macronutrientes, NPSMi: fertilizado con macro y micronutrientes.

Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$). Lower: cases differences among fertilization treatments within each tillage system; capital letters: differences between tillage systems within each treatment. SD: non tillage; LC: conventional tillage; NPS: fertilized with macronutrients, NPSMi: fertilized with macronutrients plus micronutrients.

El halo de solubilización de las colonias que fueron consideradas como solubilizadoras de P varió entre 2 a 10 mm (desde el borde hasta el centro de la colonia).

La abundancia de solubilizadores de P se mantuvo en un rango de 4,38-5,40 \log_{10} . Los menores valores se registraron en los tratamientos con fertilización con macro y micronutrientes, tanto bajo SD como LC (tabla 3). Aun así, en el tratamiento fertilizado con NPSMi bajo SD se observaron las colonias con mayor halo de solubilización (10 mm). No se detectaron diferencias en abundancia de solubilizadores entre los tratamientos testigo y los fertilizados solo con macronutrientes. De manera coincidente Saucedo Castillo *et al.* (2015), determinaron ausencia de efecto de la fertilización fosfatada en la actividad fosfatasa y deshidrogenasa de bacterias nativas de suelos de Brasil.

No se dispone de reportes similares, por lo que estos resultados constituirían los primeros datos en cultivo de trigo en el sudeste bonaerense bajo diferentes sistemas de labranza y prácticas de fertilización.

CONCLUSIONES

Este estudio pone en evidencia que en sistemas agrícolas del sudeste bonaerense, la labranza no afecta la micorrización en el cultivo de trigo.

La fertilización con macro nutrientes, deprimió, en general, la colonización micorrícica lo que confirma algunos reportes previos.

La ausencia de fertilización favoreció la abundancia de bacterias aeróbicas mesófilas totales de la rizósfera del cultivo de trigo solo en SD.

Independientemente de la condición de labranza, la fertilización con micronutrientes deprimió la abundancia de bacterias solubilizadoras de P.

Futuros estudios deberían tender a evaluar el posible sinergismo entre hongos micorrícicos y bacterias solubilizadoras de P sobre el crecimiento de cultivos de importancia agrícola.

Recomendaciones de fertilización que cubran la reposición de nutrientes extraída por los cultivos sin ocasionar aplicaciones excesivas o innecesarias son requeridas para el mantenimiento de la microbiota nativa asociada con el cultivo de trigo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aon, M. A.; Cabello, N. M.; Sarena, D. E.; Colaneri, A. C.; Franco, M. G.; Burgos, J. L.; Cortassa, S. 2001. Spatio-temporal patterns of soil microbial and enzymatic activities in an agricultural soil. *Applied Soil Ecology*. 18: 239-254.
2. Astiz Imaz, P.; Barbieri, P. A.; Echeverría, H. E.; Sainz Rosas, H. R.; Covacevich, F. 2014. Indigenous mycorrhizal fungi from Argentina increase Zn nutrition of maize modulated by Zn fertilization. *Soil and Environment*. 31(1): 23-32.
3. Auge, R. M. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*. 11: 3-42.
4. Barbieri, P. A.; Sainz Rosas, H. R.; Covacevich, F.; Echeverría, H. E. 2014. Phosphorus placement effects on phosphorus recovery efficiency and grain yield of wheat under no-tillage in the humid pampas of Argentina. *International Journal of Agronomy*, ID 507105, 12 pages Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/507105>
5. Bolgiano, N. C.; Safir, G. R.; Wamacke, D. D. 1983. Mycorrhizal infection and growth of onion in the field in relation to phosphorus and water availability. *J Am Soc Hort Sci*. 108: 819-825.
6. Bray, R. H.; Kurtz, L.T. 1945. Determination of total organic and available form of phosphorus in soil. *Soil Science*. 59: 360-361.
7. Brundrett, M. 2008 [en línea] <<http://mycorrhizas.info/method.html>> [consulta: 15 de febrero 2016].
8. Bucking, H.; Liepold, E.; Ambilwade, P. 2012. The role of the mycorrhizal symbiosis in nutrient uptake of plants and the regulatory mechanisms underlying these transport processes. *Plant Science*. Capítulo 4. p. 107-138.
9. Cavagnaro, T. R. 2008. The role of arbuscular mycorrhizas in improving plant zinc nutrition under low soil zinc concentrations: a review. *Plant and Soil*. 304: 315-325.
10. Conforto, E. C.; Figoni, G.; Rovea, A.; Boxler, M.; Oddino, C.; García, J.; March, G.; Meriles, J.; Vargas Gil, S. 2010. Evaluación del efecto de la fertilización sobre las comunidades microbianas edáficas. *International Plant Nutrition Institute (IPNI). Informaciones Agronómicas del Cono Sur*. 3 p.
11. Covacevich, F.; Echeverría, H. E.; Andreoli, Y. E. 1995. Micorrización vesículo arbuscular espontánea en trigo en función de la disponibilidad de fósforo. *Ciencia del suelo*. 13: 47-5111.
12. Covacevich, F.; Marino, M. A.; Echeverría, H. E. 2006. The phosphorus source determines the arbuscular mycorrhizal potential and the native mycorrhizal colonization of tall fescue and wheatgrass in a moderately acidic Argentinean soil. *European Journal of Soil Biology*. 42: 127-38.
13. Covacevich, F.; Echeverría, H. E.; Aguirrezabal, L. A. N. 2007. Soil available phosphorus status determines indigenous mycorrhizal colonization into field and glasshouse-grown spring wheat in Argentina. *Applied Soil Ecology*. 35: 1-9.
14. Covacevich, F.; Eyherabide, M.; Sainz Rosas, H. R.; Echeverría, H. E. 2012. Capacidad micotrófica arbuscular y características químicas de suelos agrícolas y prístinos de Buenos Aires (Argentina). *Ciencia del Suelo*. 30(2): 119-128.

15. Della Maggiora, A. L.; Irigoyen, A.; Gardiol, J. M.; Caviglia, O.; Echarte, L. 2003. Evaluación de un modelo de balance de agua en el suelo para el cultivo de maíz. *Revista Argentina de Agrometeorología*. 2(2): 167-176.
16. Echeverría, H. E. 2005. Módulo de Investigación del Proyecto Fertilizar-INTA. Ensayos de Calidad en Trigo en Balcarce y Mar del Plata. 16 p.
17. FAO [en línea]. Disponible en: www.fao.org [consulta: 04 de febrero de 2016].
18. FAO Soils Bulletin 1967. A Practical Manual of Soil Microbiology Laboratory Methods. 68 p.
19. Gomez, M.; Kruger, H.; Sagardoy, M. 1996. Actividad biológica en un suelo de la zona semiárida bonaerense cultivado con la secuencia soja-trigo bajo tres prácticas agrícolas. *Ciencia del Suelo*. 14: 37-41.
20. Goss, M. J.; de Varennes, A. 2002. Soil disturbance reduces the efficacy of mycorrhizal associations for early soybean growth and N₂ fixation. *Soil Biology and Biochemistry*. 34: 1167-1173.
21. Guerra Sierra, B.E. 2008. Micorriza arbuscular. Recurso microbiológico en la agricultura sostenible. *Tecnología en Marcha*. 21(1):191-201.
22. Jin, H.; Germida, J. J.; Walley, F. L. 2012. Impact of arbuscular mycorrhizal fungal inoculants on subsequent arbuscular mycorrhizal fungi colonization in pot-cultured field pea (*Pisum sativum* L.). *Mycorrhiza* [en línea] <<http://www.springerlink.com/content/91121q3r87n7601w/fulltext.pdf>> [consulta: 20 de febrero 2016]
23. Kabir, Z. 2005. Tillage or no-tillage: Impact on mycorrhizae. *Canadian Journal of Plant Science*. 85: 23-29.
24. Kabir, Z.; O' Halloran, I. P.; Fyles, J. W.; Hamel, C. 1997. Seasonal changes of arbuscular mycorrhizal fungi as affected by tillage practices and fertilization: Hyphal density and mycorrhizal root colonization. *Plant and Soil*. 192: 285-293.
25. Kuhn, D. K.; Weber, H. C.; Dehne, H. W.; Gworgwor, N. A. 1991. Distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on a fallow agriculture site. I. Dry habitat. *Angew Bot*. 65: 169-185.
26. Lindsay, W. L.; W. A. Norvell. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Science Society American Journal* 42:421-428.
27. Lugo, M.; Cabello, M. 2002. Native arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from mountain grassland (Córdoba, Argentina) I. Seasonal variation of fungal spore diversity. *Mycología*. 94: 579-86.
28. MC Gonigle, T. P.; Miller, M. H. 1993. Mycorrhizal development and phosphorus absorption in maize under conventional and reduced tillage. *Soil Science Society of America Journal*. 57: 1002-1006.
29. Menendez, A. B.; Scervino, J. M.; Godeas, A. M. 2001. Arbuscular mycorrhizal populations associated with natural and cultivated vegetation on a site of Buenos Aires province, Argentina. *Biology and Fertility of Soils*. 33: 373-381.
30. Phillips, J.; Hayman, D. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*. 55: 158-161.
31. Reussi Calvo, N. I.; Sainz Rozas, H.; H. E. Echeverría, H. E.; Diovisalvi, N. 2015. Using canopy indices to quantify the economic optimum nitrogen rate in spring wheat. *Agronomy Journal*. 107(2): 459-465.
32. Rillig, M. C.; Mummey, D. L. 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytol*. 171: 41-53.
33. Romaniuk, R.; Giuffré, L.; Costantini, A.; P. Nannipieri, P. 2011. Assessment of soil microbial diversity measurements as indicators of soil functioning in organic and conventional horticulture systems. *Ecological Indicators*. 11: 345-1353.
34. SAS Institute. 1985. SAS user's guide. Statistics. Version 5. SAS Institute, Inc., Cary, NC.
35. Saucedo Castillo, O.; de Mello Prado, R.; Castellanos González, L.; Ely, N.; Silva Campos, C. N.; Pereira Da Silva, G.; Assis, L. C. 2015. Efecto de la fertilización fosfatada con cachaza sobre la actividad microbiana del suelo y la absorción de fósforo en caña de azúcar (*Saccharum* spp.). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina*. 47(1): 33-42.

36. Schalamuk, S.; Velazquez, S.; Chidichimo, H.; Cabello, M. 2006. Fungal spore diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with spring wheat: effects of tillage. *Mycologia*. 98(1): 16-22.
37. Schalamuk, S.; Chidichimo, H.; Cabello, M. 2007. Variaciones en la composición de especies de Glomeromycota (Fungi) en un cultivo de trigo bajo distintos sistemas de labranza. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 42(1-2): 45-53.
38. Shirmohammadi, E. N.; Aliasgharzag, S. H.; Oustan, N.; Najafi, B. 2010. Effects of micronutrients deficiency and inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi on chelator exudation by tomato root. *ejgcst* 2010. 1(3): 63-70. Disponible en http://ejgcst.iut.ac.ir/browse.php?a_code=A-10-230-2&slc_lang=en&sid=1
39. Shirmohammadi, E. N.; Aliasgharzag, S. H. 2013. Influence of *Glomus etunicatum* and *Glomus intraradices* fungi inoculums and micronutrients deficiency on root colonization and dry weights of tomato and sorghum in perlite bed culture. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 12(25), p. 3957-3962.
40. Siddiqui, Z. A.; Akhtar, M. S.; Futai, K. 2008. Mycorrhizae: sustainable agriculture and forestry. Dordrecht, The Netherlands, Springer. p. 362.
41. SIIA (Sistema Integrado de Información Agropecuaria) [en línea]. Disponible en: www.sii.gov.ar [consulta: 04 de febrero de 2016]
42. Sims, J. T.; Johnson, G. V. 1991. Micronutrient soil tests. En: *Micronutrients in agriculture*. Mortvedt, J. J.; Cox F. R.; Shuman L. M.; M.R. Welch (Eds.) Ed. SSSA Madison, Wisconsin, USA. Book series. 4: 427-476.
43. Smith, S. E.; Read, D. J. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*, 3^o ed. Academic Press, New York. 800 p.
44. Thougnon Islas, A. J.; Eyherabide, M.; Echeverría, H. E.; Sainz Rosas, H. R.; Covacevich, F. 2014. Capacidad micotrófica y eficiencia de consorcios con hongos micorrízicos nativos de suelos de la Provincia de Buenos Aires con manejo contrastante. *Revista Argentina de Microbiología*. 46(2): 133-143.
45. Thougnon Islas, A. J.; Hernandez Guijarro, K.; Eyherabide, M.; Sainz Rosas, H. R.; Echeverría, H. E.; Covacevich, F. 2016. Can soil properties and agricultural land use affect arbuscular mycorrhizal fungal communities indigenous from the Argentinean Pampas soils? *Applied Soil Ecology*. 101: 47-56.
46. Tinker, P. B. H. 1975. Effects of vesicular mycorrhizae on higher plants. *Phil Trans Royal Society of London B*. 273: 445-461.
47. Walkley, A.; Black. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*. 37: 29-37.
48. Zadoks, J. C.; Chang, T. T.; Konzak, C. F. 1974. A decimal code for growth stages of cereals. *Weed Research*. 14: 415-421.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el financiamiento otorgado por proyectos de INTA (PNSuelo 1134043/1134024), CONICET (PIP), ANPCyT-PICT y la FCA UNMdP.