

Infektividad micorrícica nativa en suelos de la Región Pampeana con cultivo de soja, diferentes historiales y características edáficas

VALERIA S. FAGGIOLI¹; MARTA N. CABELLO² & FERNANDA COVACEVICH³✉

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), EEA Marcos Juárez. ²Instituto Spegazzini (Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP). Comisión de Investigaciones Científicas de la Prov. de Buenos Aires (CICPBA), Argentina.

³Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología (INBIOTEC)-FIBA. Mar del Plata, Argentina.

RESUMEN. La expansión del cultivo de soja en la Argentina reemplazó a otros cultivos, a la ganadería extensiva y a ecosistemas forestales. Se desconoce el impacto sobre poblaciones microbianas nativas edáficas que podrían brindar servicios ecosistémicos, como los hongos micorrícicos arbusculares (HMA). Los HMA son simbiontes de las raíces de la mayoría de las plantas superiores y son reconocidos por favorecer la nutrición y el crecimiento del hospedador, y la sustentabilidad edáfica. La magnitud del aporte por los HMA depende, en parte, de su abundancia en el suelo y de su potencial para formar micorrizas con las raíces. Nuestro objetivo fue analizar variaciones en la infektividad micorrícica (IMS_{50}) del suelo y en la colonización micorrícica arbuscular (MA) espontánea en raíces de cultivos de soja implantados en tres sitios agrícolas del norte de la Región Pampeana (Córdoba), en relación con el historial de uso de suelo (Agrícola [soja por más de 60 años], Mixto agrícola-ganadero [A-G, soja en los últimos 35 años], y Sierras [soja en los últimos 20 años]). Un bioensayo *in vivo* permitió determinar que las mayores IMS_{50} ocurrieron en el sitio Agrícola y en el de Sierras, en relación con el Mixto A-G, cuyo contenido de P disponible en el suelo es mayor. Tanto la IMS_{50} como la micorrización correlacionaron negativamente con el P del suelo; la IMS_{50} se asoció negativamente con el contenido de arena y positivamente con el de agua, carbono y arcilla. Se detectó un alto grado de potencialidad infectiva por HMA nativos en suelos destinados al cultivo de soja con diferente historial de uso. El IMS_{50} fue un método de detección más sensible que la determinación de la colonización MA a campo. Se concluye que la IMS_{50} podría utilizarse para definir estrategias de manejo agrícola tendientes a mantener/favorecer las comunidades de HMA nativos.

[Palabras clave: hongos micorrícicos, colonización micorrícica, historial de suelo, Región Pampeana]

ABSTRACT. Native mycorrhizal infectivity in soils of Pampean Region with soybean crop, different historical land uses and edaphic characteristics. The expansion of soybean crop in Argentina replaced other crops, extensive livestock and forest ecosystems. It's unclear whether this has altered native microbial communities that could supply ecosystem services, such as arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), symbionts of the roots of most higher plants and known to promote host nutrition and growth, and soil sustainability. However, the magnitude of the contribution by the AMFs depends, in part, on maintaining its abundance in the soil and their potential to form mycorrhizae with roots. Our objective was to analyze variations in mycorrhizal infectivity (IMS_{50}) and in spontaneous arbuscular mycorrhizal colonization (AM) of soybean crops cropped at three agricultural sites from the north of the Pampean Region (Córdoba), in relation to the historical land use (Agricultural [soybeans for more than 60 years], Mixed agricultural-livestock [A-G, soybean in the last 35 years], and Sierras [soybean in the last 20 years]). An *in vivo* bioassay revealed that the highest IMS_{50} occurred at the Agricultural and Sierras sites, in relation to the Mixed A-G one, the site with the highest available soil P content. Both the IMS_{50} and AM negatively correlated with soil P, while IMS_{50} was negatively associated with sand content, and positively with water, carbon and clay content. A high degree of infective potential by native AMF was detected in soils destined for soybean crop at the Pampean Region with different historical land use. The IMS_{50} was a more sensitive detection method than the determination of AM colonization in the field. It is concluded that IMS_{50} could be used to define agricultural management strategies to maintain/favor native AMF communities.

[Keywords: mycorrhizal fungi, mycorrhizal colonization, land soil use history, Pampean Region]

INTRODUCCIÓN

La Argentina es el tercer exportador mundial de soja. La expansión del cultivo se concentró tanto en la Región Pampeana —por ser la de mayor fertilidad y con mejores condiciones agroclimáticas del país— como en otras zonas denominadas ‘extrapampeanas’, que hasta entonces tenían un menor desarrollo de la producción extensiva de granos (Satorre 2005; García and Puppi 2007). La expansión de la soja en la Argentina no constituye un proceso neutral desde el punto de vista ambiental, dado que sus implicancias e impactos negativos están siendo evidenciados (Cacace and Molina 2019). Mientras que en la Región Pampeana el cultivo avanzó reemplazando a otros cultivos anuales y a la ganadería extensiva, en las provincias del norte, el cultivo de soja reemplazó en gran medida a la vegetación nativa, con la consecuente pérdida de biodiversidad e impacto sobre la dinámica climática e hídrica (Paruelo et al. 2005).

La deforestación de los bosques nativos afecta negativamente a varios servicios ecosistémicos que brindan tanto la flora como las comunidades microbianas edáficas asociadas (Mónaco et al. 2020). Entre la vasta diversidad de microorganismos edáficos, los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) están presentes en la mayoría de los hábitats naturales y en los suelos agrícolas, y proporcionan una serie de servicios ecosistémicos; en particular, mejoran la nutrición de las plantas, la resistencia y la tolerancia al estrés, la estructura y la fertilidad del suelo (Chen et al. 2018). Los HMA son simbiontes obligados de las raíces de las plantas, y mediante la colonización interna de las raíces —denominada micorriza— traslocan nutrientes a la planta hospedante y reciben de ésta fotosintatos, en estructuras características denominadas arbusculos (Finlay 2008). Por lo tanto, el nivel de infectividad micorrízica (habilidad natural de un suelo de inducir la formación de micorrizas en las plantas) representa un parámetro de la fertilidad edáfica (Verbruggen et al. 2011). El diagnóstico y el seguimiento del nivel de infectividad micorrízica del suelo podría ser clave para aumentar la productividad de los cultivos y la sustentabilidad de los agroecosistemas (Plenchette et al. 1989). Los suelos con mayor infectividad han sido relacionados con incrementos en las tasas de crecimiento y mejoras en la nutrición de las plantas, por lo cual se sugirió la necesidad de establecer umbrales de infectividad considerados

‘normales’ para ciertos manejos de suelo y condiciones ambientales (Jansa et al. 2009). Hart y Reader (2005) compararon la función del micelio externo de HMA durante la etapa inicial de infección radical y observaron que la colonización era más rápida en presencia de mayor número y tamaño de estructuras infectivas y puntos de contacto con las raíces. Jansa et al. (2009) proponen que la capacidad de un suelo de inducir la formación de micorrizas debería ser considerada como un indicador de la calidad del suelo.

El manejo del suelo con fines destinados a la producción agrícola puede afectar la infectividad micorrízica, y en consecuencia, los servicios ecosistémicos que proporcionan los HMA. En este sentido, se ha reportado que los sistemas de labranza, fertilización y la rotación de cultivos influyen sobre la colonización de raíces por los HMA nativos del suelo (Covacevich et al. 2007; Wang et al. 2008; Schalamuk and Cabello 2009). En la Argentina se reportó la colonización nativa en suelos de la Región Pampeana de especies silvestres y cultivadas (Covacevich et al. 2018; Sagadin et al. 2018), y se determinaron, además, umbrales de colonización para sistemas bajo fertilización fosfatada (Covacevich et al. 2007). Urcelay y Batistella (2007) reportaron variaciones en la colonización por HMA nativos de zonas serranas de la provincia de Córdoba, obteniendo mayor micorrización en dicotiledóneas en relación a monocotiledóneas e informando que las diferencias estarían asociadas a la arquitectura radical y diferencial asignación de carbono de las plantas hospedadoras. Sorpresivamente, Cofré et al. (2018) detectaron, en un relevamiento que incluyó cuatro sitios agrícolas de la Región Pampeana, mayor potencial de colonización micorrízica en sistemas con monocultivo en relación con sistemas bajo rotaciones y un pastizal natural. Los autores atribuyeron los resultados al mayor aporte de fertilizantes en los sistemas de rotaciones.

Faggioli et al. (2019) evidenciaron, a través de secuenciamiento de regiones del DNA ribosomal específicas para HMA, cambios en la diversidad de HMA nativos asociados a historiales de uso de suelos destinados al cultivo de soja en la Región Pampeana. Además, demostraron la elevada dependencia de la soja a la micorrización nativa de dicha región (Faggioli et al. 2020). Se plantea, entonces, la necesidad de ampliar el conocimiento de la potencialidad nativa de los suelos destinados al cultivo de soja

para formar micorrizas. Esto permitiría un acercamiento a la elaboración de estrategias de manejo del cultivo que no conspiran contra la diversidad o funcionalidad de los HMA nativos. Kiers y Denison (2014) sostienen que una producción agrícola sustentable es aquella que tiene en cuenta tanto la *performance* de los cultivos como de las comunidades de microorganismos simbióticos del suelo. Sin embargo, no se dispone de información de la capacidad infectiva de suelos de la Región Pampeana con diferentes historiales de uso destinados al cultivo de soja. Resulta de interés, además, comparar parámetros que reflejen el potencial micorrícico actual *in situ* con otros que sean independientes del cultivo a campo o su cultivar así como de las condiciones medioambientales que podrían condicionar la actividad de los propágulos nativos. Nuestro objetivo fue analizar variaciones en la infectividad micorrícica del suelo y en la colonización micorrícica espontánea por HMA de cultivos de soja implantados en tres sitios agrícolas del norte de la Región Pampeana (Córdoba) con diferentes historiales de uso de suelo, y analizar sus asociaciones con variables edáficas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de colecta y muestreos

El estudio se llevó a cabo en tres sitios con diferente historial de uso de suelo y actualmente destinados a la producción de soja de una amplia región del centro-sur de la provincia de Córdoba, Argentina. Considerando la heterogeneidad de condiciones edáficas y climáticas de los sitios con usos históricos predominantes, estos fueron identificados como: sitio Agrícola, sitio con sistemas Mixtos Agrícolas - Ganaderos (A-G) y sitio de Sierras (este último, destinado a la agricultura luego de desmonte de vegetación nativa en la región de Sierras del Oeste de la provincia). De acuerdo con el mapa de unidades de vegetación de Argentina propuesto por Oyarzabal et al. (2018), el área de estudio abarcó mayoritariamente a la Provincia Fitogeográfica Pampeana con predominio de la Pseudoestepa de mesófitas con estepa de halófitas (Pampa Interior Plana), la Estepa psamofítica de *Sorghastrum pellitum* y *Elionurus muticus* (Pampa Interior Occidental) y, en menor medida, el Bosque de esclerófitas con *Prosopis nigra* y *Prosopis alba* (Algarrobal) y el Bosque de xerófitas con *Schinopsis marginata* (Chaco Serrano).

El sitio Agrícola ha estado bajo producción agrícola intensiva por más de 60 años. El tipo de suelo predominante en este sitio es Argiudol (USDA 2014), con alta fertilidad y productividad (INTA 2004). El sitio denominado Mixto A-G presenta suelos tipo Haplustol, con fertilidad moderada (INTA 2004), utilizados con fines de producción pecuaria con rotación con pastos perennes, con inclusión gradual del cultivo de soja desde 1990. El sitio denominado Sierras corresponde a un área montañosa (500-900 m s. n. m.), con suelos del tipo Haplustol, de alta fertilidad (INTA 2004). Originariamente, presentaba arbustos nativos (*Prosopis* spp., *Acacia* spp., *Zanthoxylum coco* Engl., *Schinopsis marginata* Engl., *Festuca* spp., *Stipa* spp., *Setaria* spp.), que en los últimos 20 años fueron reemplazados gradualmente por el cultivo de soja.

Muestreo de campo

Los sitios presentaron diferentes superficies en relación con su historial de uso y de tipo de suelo; es por ello que los de mayor superficie fueron divididos en subzonas. Cada subzona se encontró a una distancia mínima de otra de 10 km y máxima de 320 km. El sitio de mayor superficie fue el Mixto A-G, que se dividió en cuatro sub-zonas; en cada una de ellas se colectó suelo de diferentes lotes: Lab (Laboulaye, 19 lotes), Río IV (Río Cuarto, 5 lotes), VH (Villa Huidobro, 18 lotes) y VM (Villa María, 4 lotes). El sitio Agrícola se dividió en dos sub-zonas que fueron subdivididas en 18 lotes: Ca (Canals, 7 lotes) y MJ (Marcos Juárez, 11 lotes). El sitio Sierras, por su menor superficie, no se dividió en subzonas, y de toda el área se colectaron muestras de 5 lotes. En cada lote se tomaron muestras de suelo y raíces de cultivos de soja en estadios vegetativos o reproductivos tempranos (R1-R3) (Fehr et al. 1971).

Los puntos de muestreo se distribuyeron de manera uniforme y aleatoria sobre los lotes descriptos anteriormente (Figura 1). La distancia entre un lote y otro fue, en general, de al menos 10 km en la dirección E-O, y de ~30 km en la dirección N-S. Dentro de cada lote se seleccionaron 4 puntos de muestreo. Cada punto de muestreo se ubicó a 20 m de distancia del otro. Las muestras se extrajeron a partir de 100 m de distancia del alambrado periférico del lote para evitar efectos de bordura. Las muestras extraídas de los cuatro puntos de muestreo se mezclaron y constituyeron una muestra compuesta por lote.

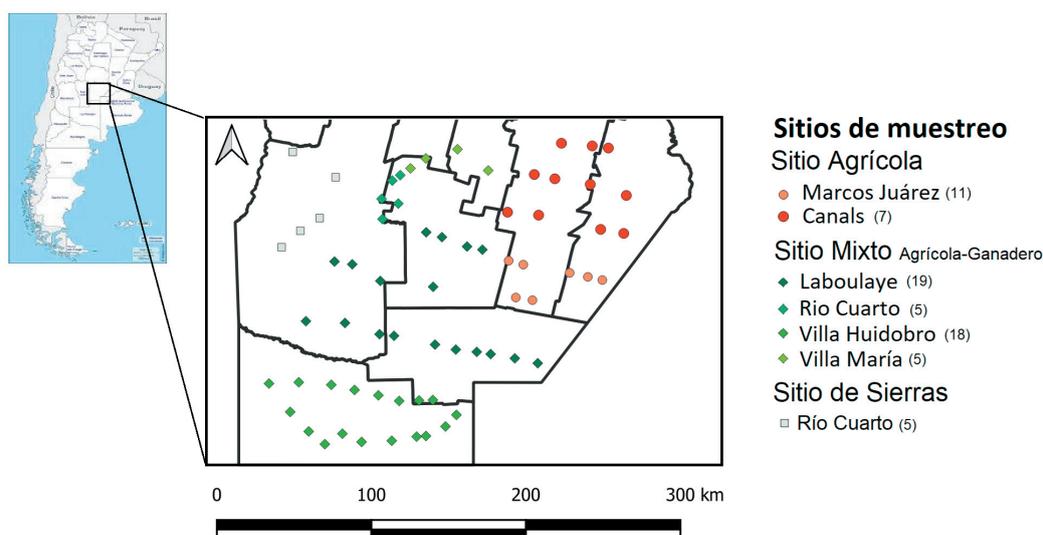


Figura 1. Sitios de colecta de suelo y raíces de cultivos de soja implantados en la Región Pampeana, provincia de Córdoba, Sudamérica. Se muestrearon lotes de soja distribuidos en tres sitios con diferente historial de uso de suelo: Agrícola (círculos), Mixto A-G (rombos) y Sierras (cuadrados). Los símbolos del mismo color y forma corresponden a una misma sub-zona perteneciente al sitio con similar forma de símbolo tal como se indica en la leyenda. Entre paréntesis se presenta el número correspondiente de lotes muestreados en cada sub-zona. Se muestrearon 4 puntos por lote.

Figure 1. Sites where soil and root of soybean crops were collected from the Pampean Region, Córdoba province, South America. Soybean plots distributed in three sites with different land use history were sampled: Agricultural (circles), Mixed A-G (diamonds) and Sierras (squares). Points with the same colors indicate collection sites belonging to the same sub-zone belonging to the site with similar symbol shape as indicated in the legend. The corresponding number of field plots sampled in each sub-zone are shown in parentheses. At each plot, samples were collected of 4 points.

Para los estudios de infectividad por HMA se colectó un total de 4 kg de suelo, de los 4 puntos de colecta (0-20 cm) de cada lote. El suelo se extrajo de la zona de crecimiento de las raíces en la línea de siembra del cultivo, por lo que de aquí en adelante, nos referiremos a esta muestra como 'suelo asociado a las raíces'. Para los análisis físicos y químicos de suelo, se extrajeron muestras de 0-20 cm de profundidad, con barreno (2.5 cm de diámetro; un total de 20 piques por lote colectados con muestreador de fertilidad, distribuidos entre los 4 puntos de extracción de muestras). Se colectaron 20 plantas homogéneas de cada lote (i.e., 5 plantas por punto, 4 puntos por lote). Inmediatamente después, se separó la parte aérea de la radical, y ambas fueron manipuladas por separado. Se homogeneizaron todas las sub-muestras de los puntos de muestreo en una muestra única por lote. Todas las muestras colectadas a campo, tanto de suelo y raíces como de material vegetal aéreo, se mantuvieron en condiciones refrigeradas hasta ser procesadas en laboratorio.

Determinaciones en el cultivo

Materia seca y contenido de fósforo en plantas de soja. Los órganos aéreos de las plantas de

soja se secaron en estufa a 60 °C durante 48 h, se pesaron y se molieron a 0.5 mm. Para la determinación de fósforo (P), se pesaron 0.07 g del material vegetal molido y se lo calcinó en mufla a 500 °C durante 16 h (Fernández et al. 2009). Las cenizas se re-suspendieron en 8 mL de 0.1 N HCl, y el contenido de P se determinó por colorimetría según la metodología de Murphy y Riley (1962).

Colonización micorrícica. Las raíces colectadas y homogeneizadas fueron lavadas de manera de extraer el suelo asociado a las raíces, y se seleccionó 1 g de raíces finas de cada muestra para proceder a su clarificación y tinción con azul tripán en lactoglicerol (Phillips and Hayman 1970), omitiendo el uso de fenol en la solución de tinción. Las muestras se conservaron en glicerol hasta cuantificar la formación de micorizas. El porcentaje de raíces con presencia de estructuras correspondientes a HMA se midió de acuerdo a la metodología propuesta por McGonigle et al. (1990), utilizando microscopio óptico (Nikon SMZ745, aumento 400).

Determinaciones en los suelos

Propiedades físicas y químicas de los suelos. Se determinó el contenido de P extractable

(Bray and Kurtz 1945), de N de nitratos (Bremmer 1965), carbono (C) (Walkley and Black 1934), humedad gravimétrica por secado de cada muestra en estufa a 105 °C hasta peso constante, conductividad eléctrica a 25 °C, pH en agua con una relación 1:2.5 (p/v), y las fracciones de arena, arcilla y limo (Gee and Boudier 1986).

Infectividad potencial de los suelos. El principio de la metodología destinada a cuantificar la infectividad micorrízica potencial (IMS_{50}) de los suelos en estudio se basó en un bio-ensayo propuesto por Plenchette et al. (1989), que proporcionó la estimación del nivel de infectividad independiente de las plantas hospedadoras y condiciones climáticas *in situ*. Este parámetro fue comparado con la colonización micorrízica *in situ* de los cultivos a campo de cada zona y correlacionado con los parámetros químicos de los suelos.

El suelo asociado a las raíces extraído de los 69 lotes de soja muestreados que pertenecían a los tres sitios motivo de este estudio, fue tamizado por malla de 2 mm inmediatamente después de la colecta y conservado a 5 °C hasta su uso en el bioensayo de infectividad una semana más tarde. Para ello se realizaron 4 diluciones del suelo colectado con arena fina de río previamente enjuagada con agua corriente; luego, con agua destilada y finalmente la arena lavada se tinalizó a 121 °C en autoclave, en dos períodos consecutivos de 1 h cada 48 h. El bioensayo del suelo de cada lote se realizó en macetas (150 cc) mezclando suelo y arena esterilizada para lograr diluciones de suelo de 3, 10, 30, 100% de suelo natural en arena fina, con 4 réplicas por dilución y por lote. En consecuencia, en total el experimento estuvo compuesto por 1104 macetas (16 macetas/lote [4 diluciones con 4 réplicas por dilución] * 69 lotes).

En cada maceta se sembró puerro (*Allium porrum* L. var *Carentan*) como planta hospedadora del bioensayo por su reconocida capacidad de establecer simbiosis con HMA (Plenchette et al. 1989). Previamente a la siembra, las semillas fueron desinfectadas (10% H_2O_2 , 5 minutos) y pregerminadas en arena lavada y tinalizada durante 7 días. De acuerdo con resultados preliminares de laboratorio y con Plenchette et al. (1989), se trasplantaron 10 plántulas de tamaño uniforme en cada maceta, lo que garantizó el volumen de raíces necesario para el análisis del bioensayo. Las plantas se mantuvieron en condiciones controladas de luz y temperatura (fotoperíodo de día/noche

equivalente a 8/16 h, 500 $\mu\text{mol fotones}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, temperatura 25-20 °C y humedad 40-60%, día-noche, respectivamente) durante 28 días. Al finalizar el experimento, las plantas se extrajeron y se descartó la biomasa aérea. El sistema radical fue teñido para evaluar presencia de HMA, como se describió previamente, y se registró la presencia-ausencia de estructuras micorrízicas por observación en microscopio estereoscópico (Nikon SMZ745, aumento 200) de la totalidad de las raíces presentes en cada maceta.

Para calcular la infectividad micorrízica se construyeron curvas entre la concentración de suelo expresado en peso de suelo seco (eje x) y el porcentaje de plantas con presencia de micorrizas (eje y) con el conjunto de suelos de los lotes de cada sub-zona. Se ajustó su respectiva función logarítmica y se calculó la cantidad de suelo necesario para infectar el 50% de las plantas bajo las condiciones evaluadas. En base a esta información se estimó el índice de infectividad micorrízica del suelo (IMS_{50}) según Plenchette et al. (1989).

Análisis estadístico

Debido a que los datos de infectividad no presentaron distribución normal (prueba de Shapiro-Wilks, $P < 0.007$), se realizaron comparaciones mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, que es el equivalente al análisis de varianza lineal de una vía y es más indicado para conjuntos de datos con diferente número de observaciones entre grupos. Para todas las variables del presente estudio, se realizó en primer lugar un análisis con Sitio como criterio de clasificación, y luego, una segunda prueba con todas las sub-zonas. Se analizó la correlación entre IMS_{50} y estructuras micorrízicas con variables del suelo y del cultivo mediante correlaciones de Spearman. Para los análisis estadísticos se utilizó el *software* Infostat (Di Rienzo et al. 2014).

RESULTADOS

Características de los suelos y del cultivo

Se observaron diferencias estadísticamente significativas en las variables edáficas y de cultivo, tanto entre sitios como entre sub-zonas (Tabla 1 y Material Suplementario-Tabla 1S). Los contenidos de P extractable difirieron entre sitios y sub-zonas, y se mantuvieron en el rango de 12-30 mg P/kg suelo. Los suelos del sitio de historial Mixto A-G exhibieron

Tabla 1. Características del suelo de los sitios y sub-zonas estudiadas en la provincia de Córdoba (Región Pampeana). Sitios: A=Agrícola, A-G=Mixto agrícola-ganadero, S=Sierras. Sub-zonas: Ca=Canals, MJ=Marcos Juárez, La=Laboulaye, RC=Río Cuarto, VH=Villa Huidobro, VM=Villa María, RCs=Río Cuarto Sierras. P_{Bray} =fósforo extractable. $N\text{-NO}_3^-$ =nitrógeno de nitratos. C=carbono. CE=conductividad eléctrica. Valores entre paréntesis (n) indican número de lotes muestreados por sub-zona. Para cada parámetro, valores (para cada sub-zona el valor corresponde al promedio entre lotes en los que se colectaron 20 submuestras por lote que fueron homogeneizadas) con letras distintas, indican diferencias significativas ($P<0.05$) entre sitios (mayúsculas) y entre subzonas (minúsculas), según prueba no paramétrica de comparación de rangos Kruskal-Wallis.

Table 1. Soil characteristics of the studied sites and sub-zones at the Córdoba province (Pampean Region). Sites: A=Agricultural, A-G=Mixed A-G, S=Hills. Sub-zones: Ca=Canals, MJ=Marcos Juárez, La=Laboulaye, RC=Río Cuarto, VH=Villa Huidobro, VM=Villa María, RCs=Río Cuarto Sierras. P_{Bray} =extractable phosphorus. $N\text{-NO}_3^-$ =nitrogen of nitrates. C=carbon. CE=electrical conductivity. Values in parentheses (n) indicate number of plots sampled per subzone. For each parameter, values (for each sub-zone, the value corresponds to the average between lots in which 20 subsamples per lot were collected and homogenized) with different letters indicate significant differences ($P<0.05$) between sites (uppercase) and subzones (lowercase) according to Kruskal-Wallis non-parametric range comparison test.

Sitio	Sub-zona (n)	P_{Bray} (mg/kg)	$N\text{-NO}_3^-$ (mg/kg)	C (%)	pH	CE ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Agua (%)	Arena (%)	Arcilla (%)
A		16.9B	41.4A	2.5A	6.2B	160.0A	13.2A	30.9B	69.1A
	Ca (7)	12.1b	64.3a	2.2ab	6.3c	159.7a	21.8a	42.8bc	57.2ab
	MJ (11)	19.9ab	26.5b	2.6a	6.2bc	168.2a	7.6bc	23.3c	76.6a
A-G		26.2A	42.0A	1.5B	6.2B	90.0A	6.0B	56.6A	43.4B
	LA (19)	30.1a	56.5a	1.7bc	6.1c	103.9ab	9.8b	55.3ab	44.5bc
	RC (5)	21.9ab	51.8ab	1.5c	6.2bc	113.6ab	4.6cd	59.7ab	40.3bc
	VH (18)	26.5a	31.1b	1.3c	6.3ab	71.9b	2.4d	62.4a	37.6c
	VM (4)	13.8b	20.1b	1.7bc	6.4ab	70.0b	7.0bc	33.2c	66.7a
S	RCs (5)	19.5Bab	64.8Aa	3.1Aa	6.9Aa	225.0Aa	8.2ABbc	37.3Bc	62.7Aa
P-valor Kruskal-Wallis									
	Sitio	<0.001	ns	<0.001	<0.001	ns	<0.001	<0.001	<0.001
	Sub-zona	<0.001	<0.01	<0.001	<0.001	<0.01	<0.001	<0.001	<0.001

mayor contenido de P (con un promedio de 26.23 mg/kg suelo), en comparación con los de los sitios Agrícola y de Sierras, que alcanzaron valores promedio de 16.9-19.5 mg/kg suelo, respectivamente. El contenido de $N\text{-NO}_3^-$ y la conductividad eléctrica no difirieron estadísticamente entre sitios, pero sí se observaron diferencias entre sub-zonas. Los suelos del sitio Mixto A-G registraron los menores valores de C, y con mayor contenido de arena y menor de arcilla, en comparación con los sitios Agrícolas y de Sierras (Tabla 1).

La mayor producción de MS se registró en el cultivo de soja de los sitios Agrícola y de Sierras. La menor producción de MS se registró en el sitio Mixto A-G, donde se destaca que en la sub-zona de Río Cuarto se alcanzó la mitad de la producción de MS que en el sitio de Sierras. El P absorbido por el cultivo se mantuvo en el rango 7.7-15.2 mg P/planta, y no difirió significativamente entre sitios o sub-zonas (Material Suplementario-Tabla 1S).

Infectividad del suelo

En la Figura 2 se presentan las funciones ajustadas resultantes del porcentaje de plantas micorrizadas en función de las diluciones de suelo testeadas en el bioensayo destinado a determinar la infectividad. En promedio, el sitio Agrícola y el de Sierras evidenciaron mayor infectividad en el suelo por HMA nativos con valores que prácticamente duplicaron a los registrados en suelos del sitio Mixto A-G (Figura 3).

Formación de micorrizas en cultivo de soja a campo

Las raíces de soja no presentaron diferencias en el porcentaje de hifas asociadas a las raíces, así como tampoco de vesículas ni de arbusculos intracelulares formados por los HMA de acuerdo con el sitio de implantación del cultivo de soja (Figura 4). Cuando se analizó la colonización por sub-zonas, se mantuvo un patrón similar al descripto para los sitios, y

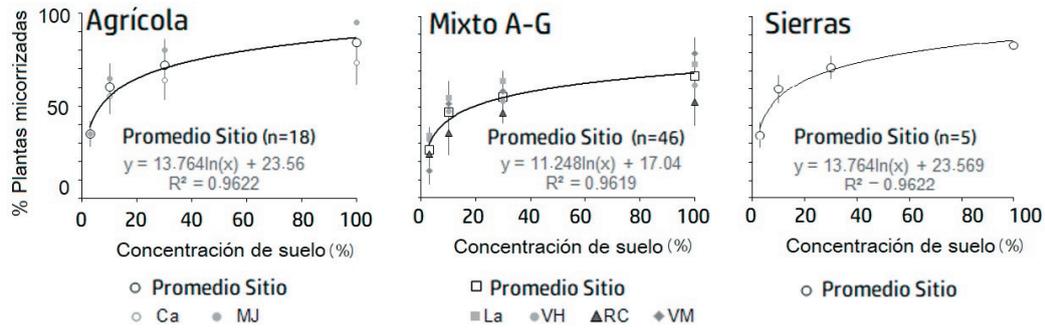


Figura 2. Relación entre la concentración de suelo (%) y el porcentaje de plantas micorrizas del bioensayo destinado a estimar la infectividad micorrizica potencial de suelos extraídos de tres sitios de soja del sur de la provincia de Córdoba (Región Pampeana). Para cada sitio, la curva representa el promedio entre los lotes de muestreo.

Figure 2. Relationship between soil concentration (%) and the percentage of mycorrhizal plants in the bioassay that allows the estimation of potential mycorrhizal infectivity of soils extracted of soybean crop from three sites of the south of the Córdoba province (Pampean Region). For each site, the curve represents the average between sampling plots.

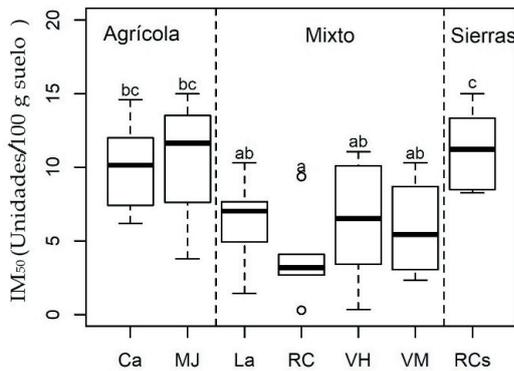


Figura 3. Infectividad del suelo (IMS_{50}) ocasionada por hongos micorrizicos arbusculares, estimada a partir de un bioensayo con suelo asociado a las raíces de soja de tres sitios del sur de la provincia de Córdoba (Argentina): Agrícola (n=18), Mixto A-G (n=46) y Sierras (n=5). Las líneas sólidas representan la mediana. Letras distintas en las cajas indican diferencias significativas entre sitios ($P < 0.05$) según la prueba no paramétrica de comparación de rangos Kruskal Wallis.

Figure 3. Soil infectivity (IMS_{50}) by arbuscular mycorrhizal fungi estimated through a bioassay with root associated soil from soybean sites in the south of the Córdoba province (Argentina): Agrícola (n=18), Mixto A-G (n=46) and Sierras (n=5). Solid lines represent the median. Different letters in the boxes indicate significant differences among sites ($P < 0.05$), according to the non-parametric Kruskal Wallis rank comparison test.

Tabla 2. Análisis de correlación de Spearman entre la infectividad del suelo (IMS_{50}) y diferentes parámetros de colonización micorrizica arbuscular (MA) con variables de suelo, cultivo y raíces de soja.

Table 2. Spearman's correlation analysis between soil infectivity (IMS_{50}) and different parameters of arbuscular mycorrhizal colonization (MA) with soil, crop and root of soybean crop variables.

Variable		Hifas	MA Arbúsculos	Vesículas	IMS_{50}
Suelo					
P	mg/kg	-0.29**	-0.28**	-0.33***	-0.31**
C	%	-0.05	-0.04	0.03	0.41***
N-NO ₃ ⁻	mg/kg	0.01	0.01	-0.01	0.09
pH		-0.05	-0.03	0.18	0.03
CE	μS/cm	-0.05	-0.01	0.01	-0.04
Arena	%	-0.06	-0.06	-0.10	-0.29**
Arcilla	%	0.06	0.06	0.10	0.29**
Agua	%	0.02	0.14	-0.07	0.30**
Cultivo					
P	g/pl	0.17	0.08	0.22**	0.28**
Biomasa	g/m	0.21*	0.16	0.16	0.35***
Raíces					
Hifas	%	---	---	---	0.22*
Arbúsculos	%	0.93***	---	---	0.27**
Vesículas	%	0.62**	0.40**	---	0.13

* Diferencias estadísticamente significativas (* $P < 0.5$, ** $P < 0.1$, *** $P < 0.01$)

* Statistically significant differences (* $P < 0.5$, ** $P < 0.1$, *** $P < 0.01$)

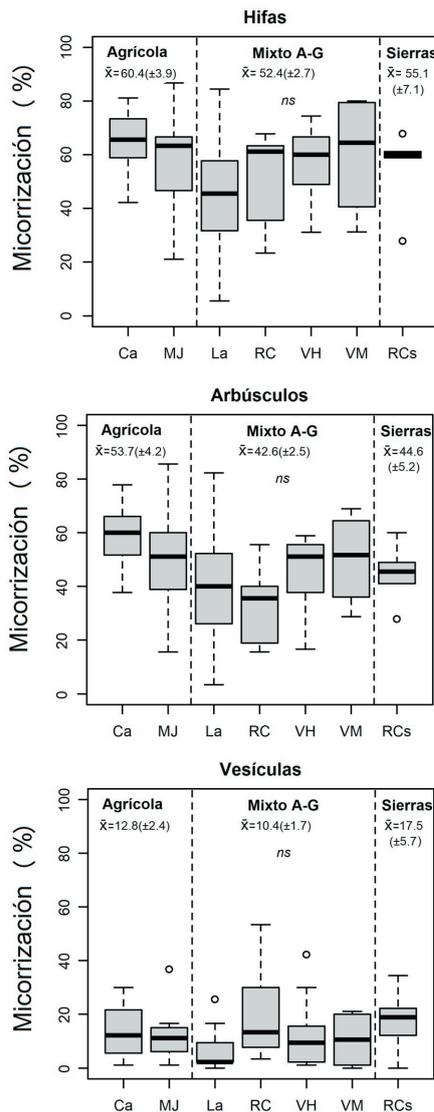


Figura 4. Porcentaje de colonización micorrícica (micorrización) evidenciada por presencia de hifas, arbusculos o vesículas en raíces de soja cultivadas en el sur de la provincia de Córdoba (Región Pampeana). En el sitio Agrícola ($n=18$) se representan las sub-zonas Canals (Ca) y Marcos Juárez (MJ); en el sitio Mixto A-G ($n=46$), Laboulaye (La), Villa Huidobro (VH), Río Cuarto (RC) y Villa María (VM), y en el sitio de Sierras ($n=5$), Río Cuarto (RCs). Las líneas sólidas representan la mediana. ns: no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre sitios ni entre sub-zonas en la formación de hifas, arbusculos ni vesículas, según la prueba de Kruskal Wallis ($P>0.05$).

Figure 4. Percentage of mycorrhizal colonization (micorrización) evidenced by the presence of hyphae, arbuscules or vesicles on soybean roots cropped in the south of the province of Córdoba (Pampean Region). In the Agricultural site ($n=18$), two sub-zones are represented: Canals (Ca) and Marcos Juárez (MJ); in the Mixto A-G site ($n=46$), Laboulaye (La), Villa Huidobro (VH), Río Cuarto (RC) and Villa María (VM), and in the Sierras site ($n=5$), Río Cuarto (RCs). Solid lines indicate the median. ns: no statistical differences were detected in hyphae, arbuscules or vesicles among sites nor sub-zones, according to Kruskal Wallis test ($P>0.05$).

no se detectaron diferencias significativas para ninguno de los parámetros analizados entre sub-zonas (Figura 4).

Correlaciones entre colonización nativa e infectividad con variables de suelo, cultivo y fúngicas

La colonización micorrícica en el cultivo de soja así como la infectividad del suelo correlacionaron negativamente con el contenido de P extractable del suelo (Tabla 2). De manera similar, la infectividad se asoció negativamente con el contenido de arena, aunque positivamente con el de agua, C y arcilla, también con los parámetros de crecimiento y de colonización micorrícica del cultivo.

DISCUSIÓN

En general, pudo determinarse que las condiciones edáficas de cada sitio y sub-zonas ofrecieron ambientes diferentes para el cultivo de soja, lo que fortalece la necesidad de subdividir las grandes áreas estudiadas (sitios) en sub-zonas para estudios de este tipo. La división del área geográfica en sitios y sub-zonas realizada en este estudio permitió detectar variaciones en la infectividad nativa del suelo (IMS_{50}) ocasionada por HMA en zonas que comparten un mismo historial de uso o condiciones edafoclimáticas similares. En este sentido, sugerimos que la división en sub-zonas contribuyó a la robustez de las determinaciones y los resultados obtenidos. Las mayores diferencias en las características edáficas entre sitios y sub-zonas se encontraron en la disponibilidad del P extractable, contenido de C y de arena en el suelo. Los valores registrados para el P extractable fueron los esperados para los sitios en estudio, de acuerdo con reportes en suelos de Córdoba destinados al cultivo de soja (Espósito et al. 2009). Asimismo, al no haberse detectado diferencias significativas en la absorción de P entre cultivos de soja de los diferentes sitios o sub-zonas en el estadio fenológico en que se realizaron los muestreos a campo, y las diferencias en la acumulación de MS entre sub-zonas fueron en general de baja significancia, sugerimos que las variaciones encontradas en la IMS_{50} no serían consecuencia de efectos propios de las plantas hospedadoras sobre los HMA, sino que otros aspectos serían los condicionantes de las variaciones obtenidas.

El desarrollo de la colonización micorrícica es afectado por varios factores; el más

importante es el número y el tamaño de los propágulos infectivos: hifas del micelio extraradical, fragmentos de raíces micorrizadas y esporas, así como la *performance* de la planta hospedadora y el costo destinado para sostener la simbiosis que puede cambiar entre especies (Valentine et al. 2018). En este estudio, si bien hubo variación entre los cultivares en los diferentes lotes, la especie de planta hospedadora de la que se colectó el material vegetal (aéreo y radical) fue la misma (*Glycine max*) para todos los lotes. Asimismo, para evaluar la IMS_{50} se utilizó otra especie (*Allium porrum*) para todos los bioensayos. Es por ello que se descartan variaciones asociadas a la planta hospedadora, tanto para el estudio de colonización a campo como el de infectividad. Se destaca, además, que en este estudio, las raíces para la evaluación de la colonización micorrízica a campo se colectaron en período vegetativo-prefloración debido a que estudios previos determinaron que en estos momentos es cuando se detecta mayor colonización de raíces por HMA nativos (Pérez et al. 2017) y se pueden apreciar diferencias entre tratamientos, si las hubiera. Tanto la IMS_{50} como la colonización dependen de la abundancia de los propágulos en el suelo. Sin embargo, ante una determinada cantidad de inóculo, la colonización es la que define el inicio de la infección radical (Hart and Reader 2005) o sea que estaría indicando la actividad actual de los HMA (Stoian et al. 2019), mientras que debido a la dormancia o quiescencia que pueden alcanzar los propágulos (Gemma and Koske 1988), la IMS_{50} estaría indicando —además de la actividad actual— el historial de infectividad del suelo estudiado.

En este estudio se comparó la IMS_{50} del suelo (que puede ser considerada como una cuantificación indirecta de la cantidad de propágulos presentes en el suelo) con la colonización nativa de raíces colectadas a campo, lo que permitió identificar cuál de los dos parámetros fue el indicador más sensible para evidenciar cambios en el historial de uso de suelo y variaciones en algunas características edáficas. El nivel de IMS_{50} difirió entre los suelos de los diferentes sitios en estudio. Sin embargo, si bien el patrón de respuesta fue similar, no se detectaron diferencias significativas de la colonización a campo, probablemente debido a una mayor variabilidad intrínseca a los cultivares o a las condiciones climáticas, entre otras, variables que no fueron analizadas en este estudio. Esto sugeriría que el método de infectividad fue

más sensible para detectar la potencialidad de los suelos de sitios con diferente historial o condiciones edáficas para colonizar espontáneamente cultivos implantados que la determinación de la colonización a campo.

La IMS_{50} estuvo relacionada con el historial de uso de los suelos, así como con las características edáficas propias de los ambientes. Se observó que los sitios con suelos de uso Mixto A-G tuvieron una IMS_{50} significativamente más baja que la registrada en suelos de los sitios Agrícola y de Sierras. El sitio Mixto A-G fue históricamente considerado marginal para la producción agropecuaria debido a su condición semiárida de bajo régimen pluviométrico y suelos arenosos. De esta manera, se determinó asociación negativa entre el contenido de arena y la IMS_{50} . Asimismo, se destaca que el sitio Mixto A-G presentó el menor contenido hídrico y el mayor contenido de P extractable en el suelo. En este sentido, Covacevich et al. (2007) determinaron que niveles superiores a 27 mg P/kg suelo serían depresivos para la potencialidad de colonización por HMA nativos del sudeste de la Región Pampeana, valores que fueron superiores en los suelos del sitio Mixto A-G. Estudios realizados en zonas semiáridas (Armenta Calderón et al. 2019) demostraron la importancia de mantener los HMA nativos en zonas marginales debido al rol que estos hongos cumplen en conservar la estructura y el C del suelo. Nuestros resultados, juntamente con reportes previos, nos permiten sugerir que, además del historial de uso de suelo y las características edáficas que fueron detectadas como moduladoras de la IMS_{50} en este estudio, otras características no cuantificadas (caracteres topográficos, climáticos, etc.) también podrían haber contribuido a los resultados obtenidos.

En este estudio se observaron correlaciones negativas significativas entre la disponibilidad de P edáfico con la IMS_{50} del suelo, así como con la colonización de las raíces de soja. Varios antecedentes (Covacevich et al. 2007; Fernández et al. 2009; Jansa et al. 2009; Covacevich et al. 2012) demuestran el rol negativo del P extractable sobre la colonización de raíces por los HMA. Nuestros resultados amplían los reportes previos, dado que demuestran que, además, la IMS_{50} es afectada negativamente por el P extractable, lo que agrega una nueva evidencia para confirmar los resultados previos. Si bien existen controversias en cuanto a si es el P del suelo o de la planta el que condiciona la depresión de la micorrización,

la ausencia de asociación negativa entre el contenido de P del cultivo y la micorrización y la IMS_{50} obtenida en este estudio confirmaría los resultados informados por Covacevich et al. (2007). Un estudio reciente (Faggioli et al. 2020), motivado por las respuestas erráticas del cultivo de soja a la fertilización fosforada en la Región Pampeana, demostró la elevada dependencia del cultivo a la micorrización nativa. Esto debe tenerse en cuenta a la hora de establecer estrategias de manejo de cultivos, tales como la fertilización. Además, la asociación positiva entre el IMS_{50} y algunos parámetros indicadores de la colonización micorrízica con el P absorbido por el cultivo y su producción de material vegetal reforzaría la idea de que el IMS_{50} es un buen indicador de la *performance* del cultivo.

La IMS_{50} se correlacionó en forma positiva con el contenido de C, agua y arcilla del suelo, siendo la correlación con el C la de mayor significancia estadística (Spearman, $r=0.41$; $P<0.001$). Al respecto, se ha evidenciado el rol clave que los HMA desempeñan en los ciclos biogeoquímicos de los ecosistemas terrestres (van der Heijden et al. 2015). Experimentos de campo y laboratorio demuestran que las plantas destinan a los HMA entre un 10% y un 20% de los fotosintatos (Nottingham et al. 2010). Entonces, si se tiene en cuenta que en este estudio los niveles de micorrización oscilaron entre 49% y 61% en promedio (Hifas), puede inferirse que los HMA habrían aportado gran parte del stock de C edáfico. Esto es porque las reservas de C micorrízicas están compuestas por el micelio y las esporas del hongo que permanecen en el suelo y se acumulan en los sucesivos ciclos de cultivos.

Clemmensen et al. (2013) observaron que los HMA son reguladores importantes de la dinámica de C en el suelo debido a la degradación gradual de las estructuras fúngicas residuales o no activas. Además, otra parte de la reserva de C de origen micorrízico es la que conforman los exudados de estos hongos; en particular, una glicoproteína denominada glomalina, que contribuye a agregar y a acumular materia orgánica del suelo (Wilson et al. 2009). En consecuencia, la relación hallada entre la IMS_{50} con el C del suelo confirma el rol clave de estos integrantes de la biota edáfica en la dinámica del C edáfico. Asimismo, los mayores IMS_{50} registrados en los sitios Agrícola y de Sierras, suelos donde también se registraron los mayores niveles de C edáfico, fortalecen el mencionado resultado. Nuestros resultados

indican, además, asociaciones negativas de la IMS_{50} con el contenido de arcilla. Se sabe que los suelos arcillosos poseen mayor poder de retención de agua que los arenosos (Lal and Shukla 2004). Sin embargo, a diferencia del tenor de arcilla, el contenido hídrico es altamente influenciado por prácticas de manejo del suelo. Por ejemplo, en ciertas áreas destinadas a la siembra de soja en siembra directa (práctica de manejo actual del cultivo en la Argentina), la inclusión adecuada de un cultivo de cobertura invernal permite mejorar el aprovechamiento hídrico gracias al residuo vegetal que atenúa las pérdidas de agua por evapotranspiración (Bashe et al. 2016). En síntesis, un manejo sustentable no sólo debe contemplar la *performance* de un cultivo, sino que también debe ser favorable para la biota simbiótica asociada (Kiers and Denison 2014) y abarcar un abordaje holístico que priorice la sustentabilidad. En términos generales, el nivel de IMS_{50} registrado fue el parámetro microbiológico cuantificado que proporcionó más información sobre procesos claves para el funcionamiento del suelo relacionados al C, P y agua, lo cual confirma la importancia de los HMA en los agroecosistemas. Se destaca entonces que, para la producción sustentable del cultivo de soja, deberían considerarse además de niveles de fertilización fosforada no excesivos, prácticas destinadas al mantenimiento de los niveles de C y de la humedad en el suelo, tales como la inclusión de los cultivos de cobertura.

Un estudio de diversidad de HMA nativos realizado a través de secuenciamiento masivo de suelo y de raíces en los mismos sitios donde se realizó este estudio (Faggioli et al. 2019) determinó la menor riqueza de especies en el sitio de historial de uso Mixto A-G y la menor diversidad —con representantes pertenecientes exclusivamente a Glomeraceae— en los sitios Agrícola y Mixto A-G, mientras que el sitio de Sierras estuvo caracterizado por un gran número de especies indicadoras. Éstas pertenecieron a 4 familias de HMA: Acaulosporaceae, Diversisporaceae, Gigasporaceae y Glomeraceae. Sugerimos, entonces, que en particular en las áreas con historial de uso Agrícola y Mixto A-G es donde más esfuerzos habría que destinar al establecimiento de estrategias de manejo sustentables que favorezcan el desarrollo de los HMA nativos. Asimismo, y si bien no fue motivo de estudio en este trabajo, se destaca que la deforestación de zonas con historial no agrícola (tales como la de Sierras) con destino agrícola extensivo tendrá consecuencias

climáticas y probablemente en el mediano-largo plazo sobre la biodiversidad ambiental que deberían tenerse en cuenta a la hora de definir estrategias de usos de suelos. En este sentido, estudios recientes de Fernández Gnecco et al. (2020) demostraron que sistemas de cultivo de soja con inclusión de cultivos de cobertura o rotaciones, favorecieron la diversidad de hongos y bacterias nativas de suelos del sudeste de la Región Pampeana, en comparación con sistemas de monocultivo de soja. Esta, entre otras, podría ser una estrategia a tener en cuenta que permita compatibilizar las demandas de la producción agropecuaria con el mantenimiento de la sostenibilidad del sistema.

Por último, y destacando que la IMS_{50} evidenció ser un adecuado indicador de la abundancia de HMA nativos en sistemas bajo cultivo de soja en la Región Pampeana, futuros estudios deberían tender a definir umbrales de infectividad de los suelos por regiones de similar uso de suelo o características edáficas. Para ello habría que sumar además de las determinaciones realizadas, lotes prístinos para cada sitio. Esto permitirá definir prácticas de manejo a nivel regional de manera tal de favorecer la actividad y diversidad de los HMA en sistemas productivos de soja, en el marco de una agricultura sustentable.

CONCLUSIONES

La infectividad del suelo (IMS_{50}) por hongos micorrícicos arbusculares (HMA) nativos demostró ser un indicador de su capacidad

para iniciar la formación de micorrizas en raíces. Se detectó un menor nivel de IMS_{50} en los suelos de sitios con historial Mixto A-G en relación con los de los sitios con historial Agrícola o de Sierras. La menor infectividad en el sitio Mixto A-G se atribuyó al mayor contenido de P extractable y de arena, así como al menor contenido de C del suelo, en relación con los otros sitios estudiados. Es probable que dichas propiedades sean consecuencia tanto del historial de uso (A-G) como de características edáficas. La colonización espontánea de raíces, por el contrario, no evidenció ser un buen indicador de cambios en el uso de suelo o características de los mismos.

La IMS_{50} estuvo fuertemente correlacionada con variables edáficas y del cultivo. En base a los análisis de correlaciones se corroboró el rol inhibitorio sobre los HMA y la formación de la simbiosis que posee el P del suelo y el favorecimiento de la presencia de propágulos de HMA ante mayores niveles de C edáfico. La acumulación de materia seca y P del cultivo estuvieron correlacionadas con la IMS_{50} de modo colectivo, lo cual fortalece la idea de que los HMA cumplen roles de importancia al brindar servicios ecosistémicos. Es necesario entonces considerar los condicionantes del potencial del suelo para formar micorrizas a la hora de definir prácticas de manejo agrícola extensivas y a largo plazo.

AGRADECIMIENTOS. Este trabajo fue financiado con fondos de proyectos INTA (2019-PD-E2-I037-002), del FONCyT (PICT 2015-0392) y de CONICET (PIP0424).

REFERENCIAS

- Armenta Calderón, A. D., S. F. Moreno-Salazar, E. Furrázola Gómez, and A. Ochoa-Meza. 2019. Arbuscular mycorrhiza, carbon content and soil aggregation in Sonoran Desert plants. *Spanish Journal of Soil Science* 9:42-53. <https://doi.org/10.3232/SJSS.2019.V9.N1.03>.
- Basche, A. D., T. C. Kaspar, S. V. Archontoulis, D. B. Jaynes, T. J. Sauer, T. B. Parkin, and F. E. Miguez. 2016. Soil water improvements with the long-term use of a winter rye cover crop. *Agricultural Water Management* 172:40-50. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2016.04.006>.
- Bray, R. H., and L. Kurtz. 1945. Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. *Soil Science* 59(1):39-46. <https://doi.org/10.1097/00010694-194501000-00006>.
- Bremner, J. 1965. Nitrogen availability indexes. *Methods of soil analysis, part 2*:1324-1345. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr9.2.c37>.
- Cacace, G. P., and J. O. Morina. 2019. Expansión de la soja transgénica y deforestación en la Argentina, 1990-2018. VII Congreso Nacional de Geografía de Universidades Públicas y XXI Jornadas de Geografía de la UNLP. URL: tinyurl.com/5n6br7dd.
- Clemmensen, K., A. Bahr, O. Ovaskainen, A. Dahlberg, A. Ekblad, H. Wallander, J. Stenlid, R. Finlay, D. Wardle, and B. Lindahl. 2013. Roots and associated fungi drive long-term carbon sequestration in boreal forest. *Science* 339(6127): 1615-1618. <https://doi.org/10.1126/science.1231923>.
- Chen, M., M. Arato, L. Borghi, E. Nouri and D. Reinhardt. 2018. Beneficial Services of Arbuscular Mycorrhizal Fungi - From Ecology to Application. *Front Plant Sci* 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01270>.
- Covacevich, F., H. E. Echeverría, and L. A. N. Aguirrezabal. 2007. Soil available phosphorus status determines indigenous mycorrhizal colonization into field and glasshouse-grown spring wheat in Argentina. *Applied Soil Ecology* 35:1-9.

- <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2006.06.001>.
- Covacevich, F., M. Eyherabide, H. R. Sainz Rozas, and H. E. Echeverría. 2012. Capacidad micotrófica arbuscular y características químicas de suelos agrícolas y prístinos de Buenos Aires (Argentina). *Ciencia del Suelo* 30(2):119-128.
- Covacevich, F., J. Martínez Verner, and G. A. A. Dosio. 2018. Mycorrhizal colonization in maize and sunflower submitted to source or sink limitations is differentially related to carbohydrates concentration. *Crop and Pasture Science* 69(10): 974-984. <https://doi.org/10.1071/CP17340>.
- Di Rienzo, J. A., F. Casanoves, M. G. Balzarini, L. González, M. Tablada, and C. W. Robledo. 2014. InfoStat version 2014. Grupo InfoStat. Agrarias FdC, Córdoba UNd, Argentina.
- Espósito, G. P., C. A. Castillo, G. R. Balboa, and R. G. Balboa. 2009. Nivel crítico de fósforo y azufre en suelos del sur de Córdoba para el cultivo de soja. *Informaciones agronómicas* 43:16-18. URL: tinyurl.com/3ayedh8v.
- Faggioli, V. S., M. N. Cabello, G. Grilli, M. Vasard, F. Covacevich, and M. Öpik. 2019. Root colonizing and soil borne communities of arbuscular mycorrhizal fungi differ among soybean fields with contrasting historical land use. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 269:174-182. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.10.002>.
- Faggioli, V. S., M. Cabello, N. M. Melchiorre, and F. Covacevich. 2020. Contribución de hongos micorrízicos nativos a la nutrición fosforada y su impacto en la partición de fotoasimilados de soja. *Ciencia del Suelo* 38(1):1-13.
- Fehr, W., C. Caviness, D. Burmood, and J. Pennington. 1971. Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. *Crop Science* 11(6):929-931. <https://doi.org/10.2135/cropsci1971.0011183X001100060051x>.
- Fernández, M., H. Belinque, F. G. Boem, and G. Rubio. 2009. Compared phosphorus efficiency in soybean, sunflower and maize. *Journal of Plant Nutrition* 32(12):2027-2043. <https://doi.org/10.1080/01904160903308135>.
- Fernández-Gnecco, G. A., K. Smalla, L. Maccario, S. J. Sørensen, P. A. Barbieri, V. F. Consolo, F. Covacevich, and D. Babin. 2021. Microbial community analysis of soils under different soybean cropping regimes in the Argentinean south-eastern Humid Pampas. *Fems Microbiology Ecology* fiab007. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiab007>.
- Finlay, R. D. 2008. Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. *Journal of Experimental Botany* 59 (5):1115-1126. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern059>.
- García, M., and N. L. Puppi. 2007. Tenencia de la tierra y tecnología en productores de soja de Santiago del Estero: comparación con productores bonaerenses. *Revista de la Facultad de Agronomía* 27:155-171.
- Gee, G. W., and J. W. Bauder. 1986. Particle-size analysis. Pp. 383-411 *en* A. Klute (ed.). *Methods of soil analysis. Part 1. 2nd ed.* Agron Monogr 9. ASA and SSSA, Madison, WI, USA. <https://doi.org/10.2136/sssabookser5.1.2ed.c15>.
- Gemma, J. N., and R. E. Koske. 1988. Seasonal Variation in Spore Abundance and Dormancy of *Gigaspora gigantea* and in Mycorrhizal Inoculum Potential of a Dune Soil. *Mycologia* 80(2):211-216. <https://doi.org/10.2307/3807795>.
- González, M. C., and M. Román. 2009. Expansión agrícola en áreas extra-pampeanas de la Argentina. Una mirada desde los actores sociales. *Cuadernos de Desarrollo Rural* 6(62):99-120.
- Hart, M. M., and R. J. Reader. 2005. The role of the external mycelium in early colonization for three arbuscular mycorrhizal fungal species with different colonization strategies. *Pedobiología* 49(3):269-279. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2004.12.001>.
- INTA. 2004. Carta de Suelos de la República Argentina. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.
- Jansa, J., H.-R. Oberholzer, and S. Egli. 2009. Environmental determinants of the arbuscular mycorrhizal fungal infectivity of Swiss agricultural soils. *European Journal of Soil Biology* 45(5):400-408. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2009.07.004>.
- Kiers, E. T., and R. F. Denison. 2014. Inclusive fitness in agriculture. *Philosophical Transaction of the Royal Society - Biological Sciences* 369(1642):20130367. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0367>.
- Lal, R. and M.K. Shukla. 2004. Principles of soil physics: CRC Press. <https://doi.org/10.4324/9780203021231>.
- McGonigle, T., M. Miller, D. Evans, G. Fairchild, and J. Swan. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 115(3):495-501. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1990.tb00476.x>.
- Mónaco, M. H., P. L. Peri, F. A. Medina, H. P. Colomb, V.A. Rosales, F. Berón, E. Manghi, M. L. Miño, J. Bono, J. R. Silva, J. J. González Kehler, L. Ciuffoli, F. Presta, A. García Collazo, M. Navall, C. Carranza, D. López, and G. Gómez Campero. 2020. Causas e impactos de la deforestación de los bosques nativos de Argentina y propuestas de desarrollo alternativas. Argentina Unida. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible Argentina. Pp. 60. URL: tinyurl.com/2p8cm4nh.
- Murphy, J., and J. P. Riley. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta* 27:31-36. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)88444-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)88444-5).
- Nottingham, A. T., B. L. Turner, K. Winter, M. G. van der Heijden, and E. V. Tanner. 2010. Arbuscular mycorrhizal mycelial respiration in a moist tropical forest. *New Phytologist* 186(4):957-967. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03226.x>.
- Oyarzabal, M., J. Clavijo, L. Oakley, F. Biganzoli, P. Tognetti, I. Barberis, H. Maturo, R. Aragón, P. Campanello, D. Prado, M. Oesterheld, and R. J. C. Leon. 2018. Unidades de vegetación de la Argentina. *Ecología Austral* 28:040-063. <https://doi.org/10.25260/EA.18.28.1.0.399>.
- Paruelo, J. M., J. P. Guerschman, and S. R. Verón. 2005. Expansión agrícola y cambios en el uso del suelo *Ciencia Hoy* 15(87):14-23.
- Pérez, G. R., P. A. Barbieri, K. Hernández Guijarro, H. E. Echeverría, and F. Covacevich. 2017. Labranza y fertilización

- como moduladores de la dinámica de comunidades microbianas asociadas a un cultivo de trigo en el sudeste bonaerense (Argentina). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCUYO* 49(2):219-234.
- Phillips, J. M., and D. S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions 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).
- Plenchette, C., R. Perrin, and P. Duvert. 1989. The concept of soil infectivity and a method for its determination as applied to endomycorrhizas. *Canadian Journal of Botany* 67(1):112-115. <https://doi.org/10.1139/b89-016>.
- Sagadin, M. B., M. I. Monteoliva, C. M. Luna, and 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>.
- Satorre, E. H. 2005. Cambios tecnológicos en la agricultura argentina actual. *Ciencia Hoy* 15(87):24-31.
- Schalamuk, S., and M. Cabello. 2009. Arbuscular mycorrhizal fungal propagules from tillage and no-tillage systems: possible effects on Glomeromycota diversity. *Mycología* 102(2):261-268. <https://doi.org/10.3852/08-118>.
- Stoian, V., R. Vidican, I. Crişan, C. Puia, M. Şandor, V. A. Stoian, F. Păcurar, and I. Vaida. 2019. Sensitive approach and future perspectives in microscopic patterns of mycorrhizal roots. *Scientific Reports* 9:10233. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46743-2>.
- Urcelay, C., and R. Battistella. 2007. Colonización micorrícica en distintos grupos funcionales en plantas herbáceas del centro de Argentina. *Ecología Austral* 17:179-188.
- USDA. 2014. USDA Soil Classification. Soil Survey Staff. Keys to Soil Taxonomy (12th ed.). USDA Natural Resources Conservation Service, Washington, DC, USA.
- Valentine A. J., P. E. Mortimer, A. Kleinert, and V. A. Benedito. 2013. Carbon Metabolism and Costs of Arbuscular Mycorrhizal Associations to Host Roots. Pp. 233-252 *en* R. Aroca (ed.). *Symbiotic Endophytes*. Soil Biology 37. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-39317-4>.
- van der Heijden, M. G., F. M. Martin, M. A. Selosse, and I. R. Sanders. 2015. Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. *New Phytologist* 205(4):1406-1423. <https://doi.org/10.1111/nph.13288>.
- Verbruggen, E., E. T. Kiers, P. N. C. Bakelaar, W. F. M. Roling, and M. G. van der Heijden. 2011. Provision of contrasting ecosystem services by soil communities from different agricultural fields. *Plant and Soil* 350(1):43-55. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-0828-5>.
- Walkley, A., and I. A. Black. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37(1):29-38. <https://doi.org/10.1097/00010694-193401000-00003>.
- Wang, Y. Y., M. Vestberg, C. Walker, T. Hurme, X. Zhang, and K. Lindstrom 2008. Diversity and infectivity of arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural soils of the Sichuan Province of mainland China. *Mycorrhiza* 18(2):59-68. <https://doi.org/10.1007/s00572-008-0161-x>.
- Wilson, G. W., C. W. Rice, M. C. Rillig, A. Springer, and D. C. Hartnett. 2009. Soil aggregation and carbon sequestration are tightly correlated with the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi: results from long-term field experiments. *Ecology Letters* 12(5):452-461. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01303.x>.