



*Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental*

*“Variación temporal de la simbiosis
entre micorrizas arbusculares y plantas
en un gradiente hídrico, salino y sódico
de la Cuenca del Río Salado”*

*Tesis presentada para optar al título de Doctor de la
Universidad de Buenos Aires en el área de Ciencias Biológicas*

Ileana Vanesa García

*Director: Ing. Agr. Rodolfo Ernesto Mendoza
Consejero de Estudios: Prof. Dra. Alicia Godeas*

Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia”

Buenos Aires, 2008

Resumen

“Variación temporal de la simbiosis entre micorrizas arbusculares y plantas en un gradiente hídrico, salino y sódico de la Cuenca del Río Salado”

Se estudiaron cambios estacionales en la asociación simbiótica entre hongos formadores de MA y plantas en un pastizal natural (Cuenca del Río Salado) sometido a un gradiente hídrico, salino y sódico, con el objetivo de asociar cambios en las condiciones climáticas, edáficas y estado nutricional de la planta (N y P), con la dinámica de colonización radical y la infectividad del inóculo en suelo.

Muestras de suelo y plantas (*Lotus tenuis*, *Paspalum vaginatum* y *Stenotaphrum secundatum*) fueron recolectadas estacionalmente a lo largo del gradiente topográfico. La estacionalidad reguló la densidad de propágulos en suelo y la morfología de colonización micorrícica en raíz. Esta fue independiente de una combinación particular entre especie vegetal y variables edáficas de cada sitio del gradiente. La infectividad del inóculo disminuyó con aumentos en la fertilidad edáfica.

En invernadero se estudió el impacto del exceso o déficit hídrico sobre el crecimiento y morfología de *L. tenuis*, contenido de N y P en tejido, nodulación de *Rhizobium* sp, propiedades edáficas y características de la simbiosis hongos MA-planta en un suelo salino-sódico del gradiente.

Ante inundación, *L. tenuis* disminuyó el crecimiento radical pero aumentó el vástago, promoviendo la eliminación de agua por transpiración. Las MA redujeron la colonización por arbusculos, disminuyeron los puntos de entrada y densidad de propágulos en suelo, pero incrementaron la colonización por vesículas. Ante sequía, *L. tenuis* disminuyó el crecimiento del vástago y en menor proporción el de raíz, disminuyendo la transpiración. Las MA redujeron el micelio externo pero disminuyeron la colonización por arbusculos y mantuvieron una proporción similar de vesículas y esporas en suelo en relación con las plantas a capacidad de campo.

Palabras clave: estacionalidad, gradiente hídrico-salino-sódico, *Lotus tenuis* y gramíneas, micorrizas arbusculares, N y P, variables edáficas, déficit y exceso hídrico.

Abstract

“Temporal variation of the symbiosis between arbuscular mycorrhiza and plants along hydrologic, saline and sodic gradients of the River Salado Basin ”

Temporal changes of AM symbiosis and plants in a natural temperate grassland (Salado River Basin) along a hydrologic and saline-sodic gradient were recorded in an attempt to explain whether seasonal changes in climatic conditions, soil characteristics and N and P in plant tissue are associated to the dynamics of mycorrhizal colonization and the soil infectivity.

Soils and plants (*Lotus tenuis*, *Paspalum vaginatum*, *Stenotaphrum secundatum*) samples were collected seasonally across a topographic gradient. Seasonality regulated both propagule density and AM colonization, and was independent of a particular combination between plant species and soil sites. Inoculum infectivity decreased under high values of soil fertility.

The impact of water deficit and waterlogging of soil on plant growth, morphological plant features, N and P plant nutrition, *Rhizobium* sp nodulation, soil properties and the symbiosis between AM fungi and *L. tenuis* were studied in a saline-sodic soil under greenhouse conditions.

Under waterlogging plants significantly decrease root growth and increase shoot growth to facilitate water elimination by transpiration. AM fungi significantly reduce nutrient transfer structures (arbuscules), the number of entry points, and spore and hyphal densities in soil, but significantly increase resistance structures (vesicles). Under water deficit plants significantly decrease root growth but mainly shoot growth. As a result, transpiration is reduced. AM fungi reduce external hyphae and arbuscules to some extent, investing more in maintaining a similar proportion of vesicles in roots and spores in soil compared to field capacity.

Keywords: seasonality, hydrologic and saline-sodic gradients, *Lotus tenuis* and grasses, arbuscular mycorrhizas, N and P, edaphic variables, deficit and excess of soil water.

Agradecimientos

A mi director Rodolfo Mendoza por haber confiado en mí, por permitirme trabajar con absoluta libertad, por el sentido del humor y por brindarme todos sus conocimientos, experiencia y vivencias. *Muchas gracias!!*

A la Dra. Alicia Godeas, por sus consejos y la fuerza que me ha dado.

A Macri y Carlos por su invaluable colaboración en la realización de esta tesis.

A Liliana Marbán por su enorme ayuda en la medición de propiedades edáficas y por su calidez humana.

A Marta Collantes por su colaboración en la determinación de especies vegetales.

Al Dr. Ginzo por sus invalorable comentarios de nuestros trabajos.

A Tere y Dany por su enorme ayuda, su gran disposición a colaborar en cada muestreo, la sonrisa permanente, los buenos momentos y por bancarme.

Al Ing. Calvelo por permitirnos acceder a su estancia y su permanente interés en nuestras investigaciones.

Al personal del CEFYBO por haberme brindado su ayuda y cariño.

Al personal del MACN por abrirnos las puertas del museo y brindarnos un espacio fantástico para trabajar.

A mi madre, la persona que me dió más que la vida. Gracias por el sacrificio que has hecho para brindarme todo. Gracias por enseñarme a no bajar los brazos nunca. Te quiero mucho.

A mis abuelos, Luis, Elvira, Mingo y Ñata que son el ejemplo a seguir en la vida. Gracias por quererme y cuidarme tanto.

A mi familia, por el apoyo de siempre y por su amor.

A mi adorada Isis.

A mi amor Ale, por estar siempre a mi lado, por su apoyo constante, por ayudarme a superar obstáculos, por comprenderme, por quererme tanto. Te amo.

*A mis abuelos,
mi mamá y
mi amor Ale*

Resultados Publicados

Algunos de los resultados presentados en esta Tesis han sido publicados en los siguientes trabajos:

- I. García and R. Mendoza (2007) Arbuscular mycorrhizal fungi and plant symbiosis in a saline-sodic soil. *Mycorrhiza*. 17(3): 167-174.
- I. García and R. Mendoza (2008) Relationships among soil properties, plant nutrition and arbuscular mycorrhizal fungi-plant symbioses in a temperate grassland along hydrologic, saline and sodic gradients. *FEMS Microbiology Ecology*. 63: 359-371.
- I. García, R. Mendoza, M.C. Pomar (2008) Deficit and excess of soil water impact on plant growth of *Lotus tenuis* by affecting nutrient uptake and arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil*. DOI: 10.1007/s11104-007-9526-8.

Índice

<i>Resumen</i>	1
<i>Abstract</i>	2
<i>Agradecimientos</i>	3
<i>Dedicatorias</i>	4
<i>Resultados Publicados</i>	5
<i>Índice</i>	7
<i>Introducción</i>	11
La Cuenca del Río Salado (Provincia de Buenos Aires)	12
Ubicación y clima	12
Comunidad vegetal	14
Simbiosis Micorrícica	17
Clasificación taxonómica	17
Desarrollo de la colonización micorrícica	18
Beneficios	20
Micorrizas arbusculares y bacterias fijadoras de nitrógeno	21
Factores que afectan la distribución y abundancia de los hongos MA	21
Variación estacional de la colonización por hongos MA	24
Dinámica de P y N en el suelo	27
Fósforo	27
Nitrógeno	29
Colonización micorrícica y dinámica de P y N en tejido vegetal	30
Fósforo	30
Nitrógeno	32
Infectividad del inóculo de hongos MA en suelo	33
Exceso o déficit hídrico sobre la asociación micorrizas arbusculares-planta.	34
<i>Objetivos</i>	39
<i>Hipótesis</i>	42
<i>Materiales y Métodos</i>	44
Capítulo 1	45
Variabilidad espacial y estacional en la asociación micorrizas arbusculares-planta y su relación con variables edáficas y niveles de N y P en tejido vegetal	

1.1 Ubicación y descripción del lugar del estudio	45
1.2 Diseño experimental	46
1.3 Descripción de la comunidad vegetal	47
1.4 Especies vegetales estudiadas	48
Descripción morfológica	48
<i>Lotus tenuis</i>	48
<i>Paspalum vaginatum</i>	49
<i>Stenotaphrum secundatum</i>	50
Procesamiento del material vegetal	51
1.5 Medición de N y P en tejido vegetal	52
1.6 Descripción de la morfología de colonización de hongos MA y nodulación radical en <i>L. tenuis</i> .	52
1.7 Dinámica de la morfología de colonización micorrícica en plantas del pastizal	53
1.8 Determinación de la densidad de propágulos de hongos MA en suelo	54
Densidad de esporas	54
Densidad de micelio externo	54
1.9 Propiedades físico-químicas del suelo	55
1.10 Análisis estadístico de los datos	56
Capítulo 2	58
Evaluación de la infectividad micorrícica del suelo a lo largo del gradiente hídrico, salino y sódico	
2.1 Test biológico	59
2.2 Cálculo de la infectividad micorrícica del suelo	60
Capítulo 3	61
Efecto del déficit y exceso hídrico sobre el crecimiento y morfología vegetal, nutrición de N y P, propiedades del suelo y simbiosis MA-<i>L. tenuis</i> en un suelo salino-sódico	
3.1 Diseño experimental	61
3.2 Características morfológicas	62
3.3 Crecimiento vegetal y adquisición de N y P	63
3.4 Colonización micorrícica y nodulación radical	63
3.5 Propiedades edáficas	64
3.6 Determinación de la densidad de propágulos de hongos MA	64
Viabilidad de esporas de hongos MA	64
3.7 Tasa de crecimiento relativo (RGR) y de colonización relativa de hongos MA (RCR)	65
3.8 Índice de Susceptibilidad (IS)	66
3.9 Histología	66
3.10 Análisis estadístico	67

Resultados	68
Capítulo 1	69
Variabilidad espacial y estacional en la asociación micorrizas arbusculares-planta y su relación con variables edáficas y niveles de N y P en tejido vegetal	
Descripción estacional de las condiciones edafo-climáticas a lo largo del gradiente topográfico	69
Caracterización de la comunidad vegetal	73
Patrón estacional de N y P en <i>L. tenuis</i> y gramíneas co-dominantes	74
Dinámica estacional de la colonización micorrícica y nodulación radical a lo largo del gradiente topográfico	78
Gradiente topográfico y variables edáficas	89
Gradiente topográfico y comunidad vegetal	90
Gradiente topográfico y variables de MA	91
Influencia de las propiedades edáficas sobre las variables micorrícicas	93
Influencia de la concentración de nutrientes en tejido vegetal sobre las variables micorrícicas	97
Capítulo 2	99
Evaluación de la infectividad micorrícica del suelo a lo largo del gradiente hídrico, salino y sódico	
Capítulo 3	101
Efecto del déficit y exceso hídrico sobre el crecimiento y morfología vegetal, nutrición de N y P, propiedades del suelo y simbiosis MA-<i>L. tenuis</i> en un suelo salino-sódico	
Propiedades edáficas	101
Crecimiento y morfología vegetal	103
N y P en tejido vegetal	106
Colonización por hongos MA y nodulación radical	109
Discusión	113
Variabilidad espacial y estacional en la asociación micorrizas arbusculares-planta y su relación con variables edáficas y niveles de N y P en tejido vegetal	114
Dinámica de la colonización micorrícica y propágulos en suelo	114
Patrón estacional de las propiedades edáficas a lo largo del gradiente topográfico	119
Variabilidad temporal en la concentración de N y P en tejido vegetal	120
Infectividad del inóculo micorrícico	123

Efecto del déficit y exceso hídrico sobre el crecimiento y morfología vegetal, nutrición de N y P, propiedades del suelo y simbiosis MA-<i>L. tenuis</i> en un suelo salino-sódico	124
Crecimiento vegetal	124
Propiedades edáficas	126
N y P en tejido vegetal y nodulación radical	128
Colonización micorrícica	129
<i>Conclusiones</i>	133
<i>Bibliografía</i>	138

Introducción

La Cuenca del Río Salado (Provincia de Buenos Aires)

Ubicación y clima

La Cuenca del Río Salado se sitúa sobre el sector septentrional de la Provincia de Buenos Aires, la parte sur de la Provincia de Santa Fé y una pequeña porción de Córdoba. La superficie de la Cuenca ocupa 87775,34 km² según el Atlas Digital de los Recursos Hídricos Superficiales de la República Argentina (Subsecretaría de Recursos Hídricos e Instituto Nacional del Agua 2002) (Fig. 1).

Climáticamente la Cuenca del Salado se encuentra situada en la zona sur del cinturón subtropical de altas presiones del hemisferio sur. Sus temperaturas corresponden a las del clima templado con promedios anuales que varían entre los 16°C en el norte y 14°C en el sur, sintiéndose el efecto de la latitud. La amplitud térmica se halla entre los 11,5°C y los 14,5°C y disminuye hacia el este por la presencia del Océano Atlántico y el Río de la Plata.

La influencia de los vientos es notoria debido a que el relieve no impide su avance desde distintas direcciones. Los vientos son menores en el oeste con mayor intensidad en otoño e invierno. Su influencia aumenta hacia el este y son notorios los vientos del Sudeste y Pampero. En invierno, los vientos secos producen una disminución de las precipitaciones. El régimen de precipitaciones es irregular y durante el verano penetran vientos cálidos y húmedos que provocan el incremento de las mismas con máximas en enero. Su monto se encuentra entre 700 y 1000 mm anuales, disminuyendo de norte a sur y aumentando en la zona de las sierras.

La evapotranspiración potencial se encuentra cercana a 800 mm, dicho valor representa un excedente hídrico importante. En verano, la evapotranspiración es mayor que la cantidad de agua precipitada y en invierno la relación es inversa. Esta situación conduce a períodos de déficit y exceso hídrico afectando directamente los cuerpos de agua, y en consecuencia a la vegetación y al comportamiento de la Cuenca.

Los suelos son de llanura alta desarrollados sobre loess y limos pampeanos mal drenados, y alcalinos, con presencia de toscas calcáreas y suelos salinos en la zona costera. Son escasos los sectores con buena aptitud agrícola por lo cual los campos son destinados a la cría de ganado. Esta actividad está basada principalmente en el pastoreo de pastizales naturales y en menor medida en pasturas cultivadas.

El Río Salado es el más extenso de la provincia de Buenos Aires y el más austral de los colectores de la Cuenca del Plata. Su nacimiento se encuentra a 75 m de altura sobre el nivel del mar al sudeste de la Provincia de Santa Fe y Córdoba. Presenta numerosos meandros y cambios de rumbo y luego de recorrer 650 Km con rumbo noroeste-sureste desemboca al Río de la Plata en la Ensenada de Samborombón (CFI 1962). Debido a la topografía plana que atraviesa forma lagunas y bañados donde desembocan ríos y arroyos en época de creciente, provocando un aumento en el caudal. Los mayores aportes provienen de la zona serrana con materiales de suspensión que se depositan al entrar en contacto con la depresión, y en época de precipitaciones, importantes masas de agua avanzan lentamente cubriendo grandes áreas. El régimen del río es exclusivamente pluvial, debido a las lluvias caídas y a las que llegan por escurrimiento subterráneo desde el sur de Santa Fe y noroeste de la Provincia de Buenos Aires. La falta de pendiente y el inadecuado manejo de las cuencas causan inundaciones frecuentes. Las precipitaciones extraordinarias provocan el ascenso de la napa de agua en suelos que están cercanos a la saturación, junto con el aumento del contenido de humedad edáfico se produce la movilización de iones hacia los horizontes superiores, incrementando la salinidad y por ende la rigurosidad de las condiciones de estrés.

La composición del suelo es un factor fundamental en la capacidad de su infiltración. Los suelos predominantes son Molisoles y Alfisoles, pesados e imperfectamente drenados con un horizonte B_{2t} arcilloso y alcalino. Las partículas finas retienen mayor cantidad de agua que las gruesas con escaso poder de infiltración, y entonces el escurrimiento del agua, junto con la evapotranspiración son determinantes en la frecuencia y duración de las inundaciones.

La Cuenca no solo es afectada por períodos prolongados de exceso hídrico, sino también por períodos de sequía como consecuencia de un almacenamiento insuficiente de agua en el suelo y la pérdida por evaporación.

El relieve topográfico de la Cuenca del Río Salado se caracteriza por ser muy heterogéneo. Si se considera un relieve característico de la zona es posible distinguir básicamente cuatro tipos de suelos: altos o de loma, intermedios media loma, bajos dulces y bajos alcalinos. Los pastizales naturales se asocian a los suelos dominantes denotando características particulares en cada sitio (Hidalgo y Cauhépé 1991).

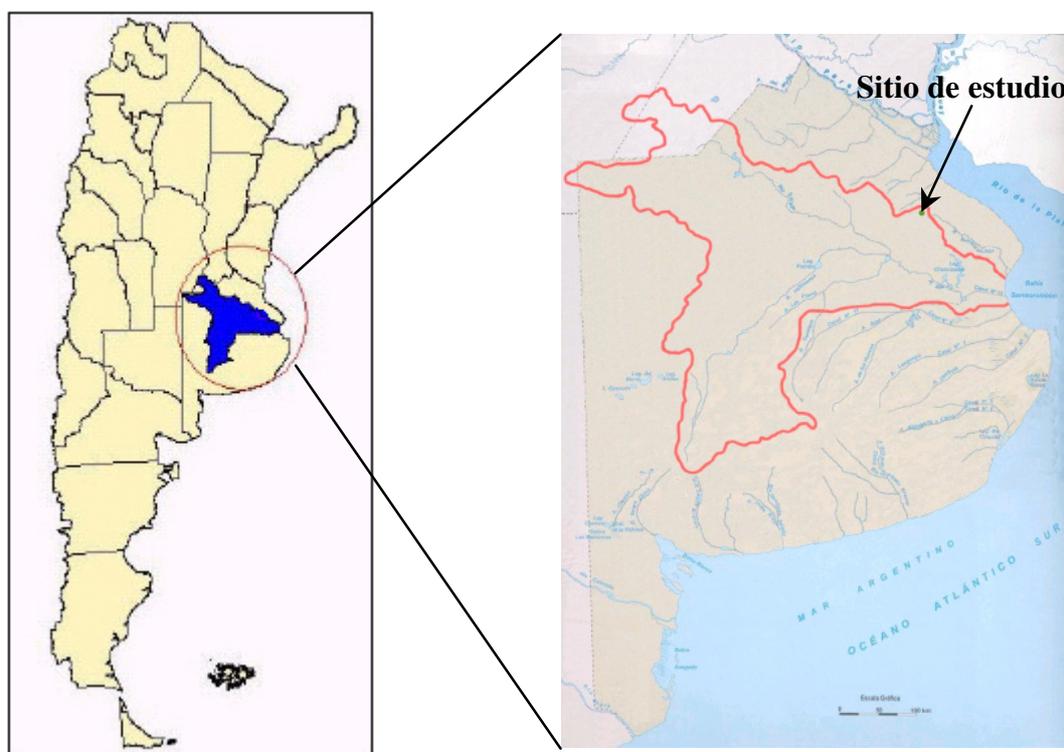


Fig. 1 Ubicación de la Cuenca del Río Salado, provincia de Buenos Aires (modificación Atlas Digital de Recursos Hídricos Superficiales de la República Argentina 2002).

Comunidad vegetal

La posición topográfica y el clima determinan un mosaico de condiciones edáficas en la Cuenca del Río Salado, el cual se manifiesta desde los lugares bajos y anegados hasta los sitios de mayor altitud y fertilidad, como una sucesión de paisajes. Dichas variaciones conducen a cambios en la disponibilidad de nutrientes en el suelo, y a la presencia y crecimiento de las plantas que conforman el pastizal. Los pastizales naturales de la Cuenca del

Salado son comunidades vegetales de diversos tipos (León 1975), y poco productivos en calidad y cantidad si se comparan con las praderas cultivadas. Están compuestos casi en su totalidad por gramíneas, y en muy poca medida por leguminosas anuales. La comunidad vegetal en la loma está formada principalmente por los géneros *Lolium*, *Briza*, *Eragrostis*, *Panicum*, *Piptochaetium*, *Stipa*, *Sporobolus*, *Bothriochloa*, *Paspalum* y *Setaria*. La comunidad en la media loma se caracteriza por los géneros *Danthonia*, *Stenotaphrum*, *Stipa*, *Piptochaetium* y *Sporobolus*. Los géneros *Agrostis*, *Eragrostis*, *Leersia*, *Glyceria*, *Panicum* y *Chaetotropis* en el bajo dulce; y *Distichlis*, *Eleocharis*, *Stipa*, *Sporobolus* y *Paspalum* en el bajo alcalino.

Numerosos trabajos han reportado la baja disponibilidad de nutrientes para el crecimiento vegetal en suelos de la región. En este sentido, existe una amplia bibliografía coincidente referida al aumento del rendimiento de las pasturas ante el agregado de P (fósforo) (Mendoza 1980), y de N (nitrógeno) y P (Mendoza et al. 1983; Ginzo et al. 1986). También coinciden en que el P más que el N, es el principal limitante del crecimiento vegetal en los pastizales de la Cuenca del Salado (Ginzo et al. 1986; Soriano 1992; Lavado et al. 1993). La mayoría de esos trabajos han concluido que el aumento en la disponibilidad de N y/o P en el suelo determina un aumento en la producción de forraje y un cambio en la composición florística del pastizal.

Uno de los factores que disminuyen la calidad de los pastizales es la falta de leguminosas nativas. Desde hace varias décadas, *Lotus tenuis* Waldst. & Kit. una especie de excelente valor forrajero y gran plasticidad se ha expandido y naturalizado en distintos ambientes de la Cuenca, desde zonas bajas, anegables hasta sitios de mayor altitud y fertilidad (Fig. 2). Estrictamente, *L. tenuis* es la única leguminosa perenne de crecimiento inverno-primavero-estival, que define en muchos casos la calidad forrajera de los pastizales naturales (Hidalgo y Cahuépe 1991; Hidalgo y Rimoldi 1992), y resulta determinante en la ganancia de peso del ganado, especialmente en invierno (Rosso y Gomez 1995).

Diversos trabajos han reportado a *L. tenuis* como una especie adaptada a condiciones de baja fertilidad, sin embargo responde significativamente al agregado de P (Mendoza y Gigli 1995), Además, es tolerante a condiciones de salinidad (Schachtman y Kelman 1991; Rogers et al. 1997), inundación (Vignolio et al. 1994; Striker et al. 2005), y a la combinación de ambos factores de estrés (Mendoza et al. 2005 a, b; Teakle et al. 2006, 2007). Mendoza y Pagani (1997) y Mendoza et al. (2000) han reportado altos niveles de colonización micorrícica en las raíces de *L. tenuis* y una elevada dependencia de la asociación con hongos formadores de micorrizas arbusculares (MA) para crecer en suelos deficientes en P. Estas características la han convertido en una especie de interés para el estudio de su interacción con hongos formadores de MA, especialmente ante diferentes condiciones edafoclimáticas, las cuales constituyen un factor regulador de la presencia y desarrollo de las plantas componentes del pastizal característico de cada ecosistema en la Cuenca del Río Salado.



Fig. 2 *Lotus tenuis* en la Cuenca del Río Salado.

Simbiosis Micorrícica

El término “Micorriza”, el cual literalmente significa “hongo-raíz” fue usado por primera vez en 1885 (Frank 1885) para describir la asociación mutualista que ocurre entre las raíces de las plantas y hongos. Las asociaciones micorrícicas se encuentran agrupadas en diferentes tipos, de los cuales la simbiosis micorrícica arbuscular es la más común, y ha sido estimado que ocurre en más del 80% de las plantas con flor sobre el planeta. Estas asociaciones son extremadamente ancestrales, y los hongos formadores de MA han sido identificados en plantas terrestres fósiles del Devónico temprano – es probable que los hongos asistieran a las plantas en su colonización de la tierra.

Los hongos formadores de MA son biótrosos obligados y colonizan las células radicales desarrollando estructuras típicas tales como vesículas y arbusculos. Además del crecimiento dentro de la raíz, el hongo también desarrolla esporas asexuales en suelo y una red de micelio externo aseptado y ramificado dicotómicamente, el cual absorbe y transloca fosfato y otros nutrientes minerales desde el suelo hacia la raíz. Diversos trabajos han reportado mejoras en el crecimiento, salud y resistencia al estrés de las plantas, particularmente aquellas plantas que viven en suelos pobres (Smith y Read 1997). Los hongos MA dependen del carbono provisto por las plantas hospedantes para completar su ciclo de desarrollo.

Clasificación taxonómica

Los hongos formadores de MA pertenecen al phylum Glomeromycota, dentro del cual se distinguen los ordenes Archaeosporales, Diversisporales, Glomerales y Paraglomales (Morton y Redecker 2001; Schübler et al. 2001; Walker y Schübler 2004).

La clasificación de los hongos MA está basada en características morfológicas de las esporas y de su pared celular. Otro carácter empleado es la forma de germinación de las esporas. Además de las características morfológicas, en los últimos años se han incorporado técnicas moleculares en la clasificación taxonómica de este grupo.

Desarrollo de la colonización micorrícica

En general, las hifas fúngicas que crecen desde las esporas germinadas en el suelo o desde raíces vecinas contactan la superficie radical y se diferencian para formar un apresorio. Este es el primer signo de reconocimiento entre el hongo y la planta. La penetración de la raíz ocurre cuando a partir del apresorio se desarrolla una hifa que se introduce en la raíz entre células epidérmicas contiguas o bien por pelos radicales. Una vez dentro de la raíz, la hifa cruza la hipodermis y producirá coils intracelulares en las células subepidérmicas, seguido por crecimiento intercelular entre las células de la corteza radical (aunque algunas veces se observa solo hifas intercelulares). Las hifas penetran en las células corticales y se diferencian para formar estructuras terminales altamente ramificadas conocidas como arbusculos. El hecho que los arbusculos incrementan el área de contacto entre los simbios, soporta el supuesto general que la transferencia de nutrientes minerales: fosfatos, N y un número de elementos traza, y de compuestos carbonados tiene lugar preferentemente entre las interfases arbusculares (Smith y Smith 1990; Marschner y Dell 1994). La transferencia bidireccional involucra transportadores específicos y bombas protónicas (Smith y Smith 1990).

Gallaud (1905) observó que la asociación con hongos MA en especies diferentes formaban dos tipos morfológicos distintivos, los cuales denominó como *Arum* y *Paris* (Fig. 3). En raíces con asociación micorrícica tipo *Arum*, las hifas proliferan en la corteza creciendo longitudinalmente en los espacios intercelulares presentes, penetran la pared celular de las células corticales y finalmente se ramifican en el apoplasto dando lugar al desarrollo de un arbusculo (Fig. 3 a) (Brundrett et al. 1985). En el tipo morfológico de colonización *Paris* las hifas crecen de célula en célula desarrollando coils intracelulares en toda la corteza radical con numerosos pero pequeños arbusculos por célula (coils arbusculados) (Fig. 3 b). Además se ha observado la presencia de coils intracelulares junto con el desarrollo de hifas

intercelulares, a este tipo de colonización se la ha denominado Intermedia (Yamato 2004). Los arbuscúlos y las adaptaciones de las células corticales adyacentes no representan el estado final de desarrollo. Ellos son parte de una interacción dinámica entre la planta y el hongo, y decaen aproximadamente después de diez días (Alexander et al. 1988). Estos eventos se encuentran asociados no solo con funciones celulares de la planta, sino también con actividades fúngicas específicas (Dickson y Smith 2001).

Otra de las estructuras características de la colonización micorrícica son las vesículas, de pared celular delgada, son formadas terminal o intercaladamente a partir de las hifas en la corteza radical, y constituyen estructuras de reserva que contienen lípidos y una numerosa cantidad de núcleos (Barker et al. 1998; Hirsch y Kapulnik 1998). Las vesículas pueden desarrollar paredes gruesas en raíces viejas y se estima que pueden actuar como propágulos cuando son aisladas de las raíces (Biermann y Lindermann 1983; Plenchette y Strullu 2003).

Las esporas se forman como ensanchamientos sobre una o más hifas de sustento en suelo y/o en las raíces en todos los géneros excepto *Gigaspora*. Estas estructuras contienen lípidos, citoplasma y numerosos núcleos. Las esporas desarrollan usualmente paredes engrosadas con más de una capa y funcionan como propágulos y/o estructuras de resistencia. Pueden ser solitarias o bien encontrarse agregadas en esporocarpos. La esporulación se produciría cuando los nutrientes son movilizados desde las raíces ante la senescencia de la asociación. Las esporas pueden formar estructuras de germinación especializadas, o la hifa puede emerger a través de la hifa de sustento o crecer directamente a través de la pared.

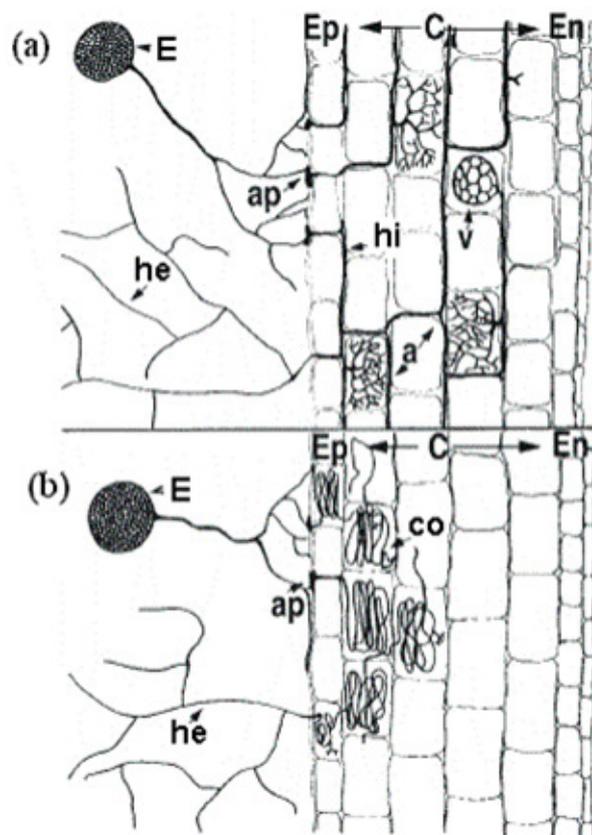


Fig. 3 Tipos morfológicos de colonización MA. (a) Tipo *Arum* y (b) Tipo *Paris* (E: espora, he: hifa extraradical, ap: apresorio, Ep: epidermis, C: corteza, En: endodermis, hi: hifa intercelular, a: arbusculo, v: vesícula, co: coil intracelular) (modificación de Barker et al. 1998).

Beneficios

La asociación simbiótica tiene una importancia particular en el mejoramiento de la nutrición vegetal (Smith y Read 1997). El efecto es principalmente debido a la habilidad del micelio micorrízico de adquirir P, o nutrientes con baja movilidad como el Zn y el Cu (Marschner y Dell 1994), más allá de los límites de la zona de depleción en la rizósfera (Li et al. 1991). Otro beneficio de la asociación micorrízica es la disminución del efecto perjudicial de la salinidad del suelo (Ruiz-Lozano et al. 1996), a través del mejoramiento en la absorción de nutrientes y en el balance hídrico (Ruiz-Lozano y Azcón 1995; Al-Karaki y Clark 1998). Estos efectos le permiten a la planta incrementar el crecimiento y subsecuentemente diluir el efecto tóxico de los iones en el tejido vegetal (Juniper y Abbott 1993). Los hongos MA interaccionan con bacterias fijadoras de nitrógeno y rizobacterias promotoras del crecimiento

vegetal afectando el balance nutricional de la planta (Azcón-Aguilar y Barea 1992), y además protegen a las plantas de patógenos (Newsham et al. 1995). El micelio extraradical contribuye a la agregación y estabilidad estructural del suelo (Rilling 2004).

Micorrizas arbusculares y bacterias fijadoras de nitrógeno

La simbiosis planta-hongos MA y planta-bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico (*Rhizobium* sp) actúan sinérgicamente, ambas sobre la tasa de colonización y sobre la nutrición mineral y crecimiento de la planta. Ante condiciones limitantes de N y P, los hongos MA mejorarían la absorción de P, y la mayor concentración de P en tejido vegetal beneficia la simbiosis con bacterias fijadoras de N₂, acompañado por un incremento en la biomasa de los nódulos, el contenido de leghemoglobina, y la actividad nitrogenasa, contribuyendo al aumento de la fijación de nitrógeno, promoviendo el desarrollo de la raíz y de la micorrización. Como consecuencia, la interacción con hongos MA y *Rhizobium* es altamente dependiente de la fertilización fosforada o nitrogenada (Cardoso y Kuyper 2006; Chalk et al. 2006).

Los hongos MA pueden ayudar a las leguminosas y *Rhizobium* a obtener otros nutrientes, principalmente Zn, Cu, Mo o Ca. También ha sido demostrado que las MA incrementan el suplemento de Fe a la simbiosis leguminosa-*Rhizobium*. Estas evidencias señalan que los hongos MA pueden afectar la infectividad y la efectividad simbiótica de *Rhizobium* (Azcón-Aguilar y Barea 1992).

Factores que afectan la distribución y abundancia de los hongos MA

La simbiosis entre hongos formadores de MA y plantas es una de las estrategias que le permiten a las plantas crecer ante una variedad de condiciones de estrés (Sylvia y Williams 1992; Entry et al. 2002). Diversos estudios han registrado la habilidad de las plantas para ser colonizadas por hongos MA en diferentes ecosistemas: ambientes anegados total o parcialmente con suelos de elevada salinidad (pantanos) (Brown y Bledsoe 1996; Carvalho et al. 2001; 2004; Landwehr et al. 2002; Wang et al. 2004), pastizales semiacuáticos (Miller y

Bever 1999; Miller 2000), pastizales (Bentivenga y Hetrick 1992; Sanders y Fitter 1992 a; Lugo et al. 2003; Escudero y Mendoza 2005; Gai et al. 2006), sistemas de dunas (Al-Agely y Reeves 1995; Sigüenza et al. 1996; Blaszkowski et al. 1998), y ambientes áridos y semiáridos entre otros (Fontenla et al. 2001; He et al. 2002; Muthukumar y Udaiyan 2002; Titus et al. 2002; Camargo-Ricalde et al. 2003; Apple et al. 2005; Pezzani et al. 2006).

El suelo raramente provee condiciones ideales para el crecimiento y supervivencia de plantas y microorganismos, pues interacciona de manera continua con el clima. Desde la premisa que las condiciones del suelo cambian continuamente, el medio ambiente edáfico favorecería el desarrollo de hongos MA en un sitio y en un período determinado, e inhibiría el desarrollo micorrícico en otro sitio y en otro período de tiempo.

La distribución de ciertas especies de hongos MA ha sido relacionada con el pH (Wang et al. 1993), nivel de P, C (carbono) y N total (Johnson et al. 1991), salinidad y grado de disturbio del suelo (Abbott y Robson 1991), vegetación (Johnson et al. 1992), la condición hidrológica del suelo (Miller y Bever 1999; Escudero y Mendoza 2005), la posición en el paisaje (Day et al. 1987; Gibson y Hetrick 1988), y la temperatura (Koske 1987).

En general, se ha establecido que valores altos de pH en suelo, nivel de nutrientes, contenido de humedad y salinidad están relacionados con una disminución en la colonización por hongos MA o en el número de propágulos en suelo (Abbott y Robson 1991; Entry et al. 2002). Sin embargo, se sugiere que el efecto de cada factor sobre las MA es específico para cada situación en particular, y no necesariamente el incremento de un factor determinado tiene un efecto negativo sobre las MA (García y Mendoza 2007).

Entre el gran número de especies de hongos MA existe una considerable variación en el efecto del pH edáfico sobre la colonización y la germinación de esporas. El crecimiento de algunos hongos MA sería estimulado por incrementos o disminuciones del pH edáfico, mientras que otros no responderían al pH del suelo (Siqueira et al. 1984; Wang et al. 1993).

Sin embargo, es de esperar que cada comunidad fúngica esté adaptada a su suelo nativo (Robson y Abbott 1989).

Elevadas tasas de colonización micorrícica fueron observadas en suelos húmedos en relación con las tasas encontradas en suelos muy secos o bien inundados (Miller y Bever 1999; Miller 2000; Miller y Sharitz 2000). Troeh y Loynachan (2003) registraron densidades de esporas elevadas en suelos pobremente drenados, y Escudero y Mendoza (2005), y Mendoza et al. (2005 a) en suelos inundados. Wetzal y van der Valk (1996) no encontraron una relación entre la humedad del suelo y la colonización radical en praderas húmedas. Estos trabajos indicarían que ante exceso hídrico la formación y el desarrollo de hongos MA están relacionados con el crecimiento vegetal.

El desarrollo y la actividad de los hongos MA son influenciados también por la salinidad del suelo a través de diversos mecanismos. La salinidad afecta la germinación de esporas retrasando o previniendo todas o bien alguna de las fases involucradas en el proceso germinativo, en consecuencia se retrasaría o inhibiría el desarrollo hifal y por ende la colonización radical y el posterior establecimiento de la simbiosis (Juniper y Abbott 1993, 2006; McMillen et al. 1998). Sin embargo, Estaun (1989) observó un retraso en el crecimiento hifal en el suelo y en la formación de nuevos puntos de entrada, pero la densidad de colonización podría continuar incrementándose vía el crecimiento hifal en los espacios intercelulares de la corteza radical.

Otro factor a ser considerado es la comunidad vegetal. Las plantas hospedantes pueden influenciar la composición de hongos MA directamente regulando la partición de carbono a las raíces, produciendo metabolitos secundarios, o por cambios en las condiciones edáficas (Johnson et al. 1992). La planta hospedante sería uno de los factores más importantes en la regulación de las especies fúngicas porque cada fase del ciclo de vida de los hongos MA está influenciada por las raíces (Sanders y Fitter 1992 a; Bever et al. 1996)

A pesar de la importancia de los hongos MA en la fisiología y nutrición vegetal, así como en el modelado de las comunidades vegetales (Van der Heijden et al. 1998; Smith et al. 1999), los factores que afectan la presencia y distribución espacial de hongos MA se encuentran aún poco comprendidos, particularmente en las condiciones edafoclimáticas que caracterizan los diferentes ecosistemas descriptos en la Cuenca del Río Salado.

Variación estacional de la colonización por hongos MA

La estacionalidad en la colonización micorrícica ha sido evidenciada en distintas especies vegetales y en diferentes ecosistemas, y la dinámica temporal de la micorrización está relacionada íntimamente con la fenología de la planta hospedante, factores edáficos y variaciones climáticas (Bentivenga y Hetrick 1992; Sanders y Fitter 1992 a; De Mars y Boener 1995; Allen 1996; Lugo et al. 2003; Escudero y Mendoza 2005).

Diversos estudios, llevados a cabo en ambientes diferentes, muestran que los niveles de colonización por arbusculos son mayores en primavera, es decir durante los períodos en los cuales las plantas alcanzan su máximo crecimiento. van Duin y colaboradores (1989) observaron que la formación de arbusculos tenía lugar en los meses de primavera en un pantano holandés. Allen (1983) también encontró que la colonización por arbusculos en *Atriplex gardneri* (Moq.) D. Dietr. fue mayor en primavera (25%) ante suelos saturados, pero disminuyó al 3% en verano durante una sequía severa. Mullen y Schmidt (1993) establecieron que la colonización micorrícica sigue cercanamente las demandas nutricionales generadas por los diferentes estados de crecimiento de las plantas. Sanders y Fitter (1992 a) han reportado beneficios significativos para la planta hospedante durante el período de crecimiento en un pastizal semi-natural. En este estudio además, se ha encontrado asociación entre la morfología de colonización y los distintos estados fenológicos de la planta, sugiriendo un incremento en la tasa de transferencia de nutrientes entre ambos integrantes de la simbiosis durante los períodos favorables para el desarrollo de la planta. Los estudios citados indicarían la

existencia de una asociación funcional entre hongos MA y planta hospedante debido a la presencia de arbusculos (Smith y Read 1997).

Miller (2000) caracterizó la colonización de hongos MA en las raíces de pastos semi-acuáticos a lo largo de un gradiente hídrico. De la mencionada investigación se pudo concluir que la colonización alcanza un pico máximo ante la fase de crecimiento más activa de la planta, y cae hacia el final de la estación de crecimiento. También se estableció que la disminución en la colonización micorrícica está relacionada con el incremento del contenido de agua edáfico, constituyendo la inundación un factor inhibitorio en forma parcial de la colonización. La colonización por arbusculos siguió patrones paralelos a lo largo del gradiente hidrológico en la estación de crecimiento. Esto sugiere que mientras la colonización total y la actividad arbuscular dependerían en cierto grado de la humedad del suelo, el patrón estacional de la colonización micorrícica se encuentra probablemente bajo el control de la planta.

Bohrer y colaboradores (2004) evidenciaron que la variación estacional en la colonización de hongos MA estaría influenciada principalmente por el tipo de especie vegetal que por factores abióticos en un estudio llevado a cabo en un humedal. De este trabajo se desprende que la demanda de P de la planta es probablemente mayor que el P disponible en suelo durante la primavera cuando ocurre un crecimiento vegetativo rápido y la formación de nuevas raíces; en consecuencia, los autores predicen que la colonización MA también sería elevada en primavera y menor hacia fin del verano independientemente del nivel de P durante ese período y de la posición en el paisaje. Además, la colonización por arbusculos también fue observada en primavera, dando indicios de la funcionalidad de la simbiosis. Estos hallazgos sugieren que la tendencia estacional en la colonización MA fue influenciada por los eventos fenológicos de la planta, especialmente la formación de nuevas raíces y el crecimiento vegetativo. Estos resultados coinciden con los informados por van Duin et al. (1989), Stenlund y Charvat (1994), Miller (2000) y Carvalho et al. (2001).

La estacionalidad de hongos MA en *Cyperus iria* L. y *C. rotundus* L. de un pastizal tropical semi-árido fue estudiada por Muthukumar y Udaiyan (2002). Los resultados de esta investigación establecieron evidencias de la influencia de factores edáficos sobre la formación y función de MA en ecosistemas naturales, donde existe una correlación negativa entre las variables asociadas a los hongos MA y la humedad del suelo o las precipitaciones contrariamente a lo expuesto en otros ambientes.

Sigüenza y colaboradores (1996) caracterizaron estacionalmente la colonización de hongos MA en plantas de dunas costeras en Baja California. La mayoría de las plantas estudiadas registraron altos niveles de colonización después de la floración y crecimiento de las raíces. Con relación a los cambios temporales en la morfología de colonización micorrícica observaron mayor colonización de arbusculos en la estación húmeda y vesículas en la estación seca. La densidad de esporas fue mayor hacia el final de la estación de crecimiento, sin embargo muchas de esas esporas permanecieron en el suelo hasta que el contenido de humedad permitió iniciar la germinación en el siguiente período de crecimiento.

El primer trabajo en el cual se caracterizaron los patrones de colonización de hongos MA en plantas de *L. tenuis* en suelos salinos de la Cuenca del Río Salado corresponde al grupo de Sannazzaro y colaboradores (2004). En el mencionado estudio se observaron al menos nueve patrones de colonización micorrícica. El tipo de colonización *Arum* fue predominante entre las raíces analizadas, pero también se encontró el tipo *Paris* en menor proporción. Además, los autores evidenciaron la presencia de esporas intraradicales, las que corresponderían a *Glomus intraradices*.

La descripción de la dinámica temporal de hongos MA en pastizales a lo largo de un gradiente hídrico en la Cuenca del Río Salado fue establecida por Escudero y Mendoza (2005). Este estudio es la primera contribución que describe el efecto de la variación estacional sobre las poblaciones fúngicas que difieren en las condiciones edáficas, y además emplea a *L. tenuis* como planta test entre otras. La dinámica temporal en la densidad de

esporas, tipo de esporas, colonización radical, composición florística y características químicas del suelo fueron observadas en cada sitio analizado, las cuales denotaron diferencias entre los sitios. La colonización de hongos MA y la esporulación fueron mayores en verano (estación seca) y disminuyeron en invierno (estación húmeda), pero ambas variables mostraron estar pobremente relacionadas. Sin embargo, la densidad de esporas correlacionó significativamente con la colonización radical perteneciente a tres meses antes, lo cual sugiere que una alta colonización en una estación precede a una alta esporulación en la siguiente estación.

Aún cuando es generalmente aceptado que las plantas de un pastizal natural se encuentran colonizadas por hongos MA, la información existente relacionada con la dinámica estacional de la simbiosis MA-planta y su relación con las variables edáficas que caracterizan distintas posiciones del paisaje es escasa. En especial estudios que analicen a las mismas plantas (gramíneas y leguminosas) ante diferentes propiedades del suelo, comunidades vegetales y por ende comunidades de hongos MA.

Dinámica de P y N en el suelo

Fósforo

Las diferentes formas de los compuestos fosforados presentes en el suelo están categorizadas en inorgánico y orgánico. La distribución relativa de estas dos formas en el suelo depende de varios factores los cuales incluyen el tipo de vegetación, la historia de fertilización, la actividad microbiana y el tipo de suelo (Hedley et al. 1982).

El P inorgánico (P_i) puede encontrarse en la solución del suelo adsorbido sobre las superficies del suelo o precipitado como fosfatos de Fe y Al en suelos ácidos y como fosfatos de Ca y Mg en suelos alcalinos y calcáreos. Aunque el P_i de la solución del suelo constituye solo una pequeña proporción del P total (<1%), las plantas derivan la mayor parte de sus requerimientos de P inmediatos desde esta fuente.

El P orgánico se presenta como P soluble en la solución de suelo, como P insoluble adsorbido sobre las partículas del suelo o como un componente de la materia orgánica del suelo (Anderson 1980). En los suelos, el P orgánico es generalmente mineralizado a Pi antes que éste se encuentre disponible para las plantas. La mineralización es causada por autólisis simple o por desfosforilización enzimática (Cosgrove 1977). La tasa de mineralización de P orgánico es limitada frecuentemente por la tasa del suministro de Pi.

Los nutrientes iónicos alcanzan la superficie radical por tres mecanismos (Barber 1984): intercepción radical; flujo de masa y difusión.

La intercepción radical es el proceso por el cual los nutrientes son absorbidos cuando las raíces entran en contacto directo con un nutriente. El volumen de las raíces depende de las especies vegetales y de la presencia de hongos MA, la cantidad de nutrientes absorbidos por este proceso también dependerá de esos factores.

El flujo de masa es el movimiento de nutrientes hacia la superficie radical en el flujo convectivo de agua durante la absorción de agua por la planta. Es ampliamente aceptado que iones tales como nitrato, cloruro, sulfato, calcio y magnesio, los cuales son menos retenidos por los suelos que fosfatos y potasio, son suministrados por flujo de masa.

La difusión es el movimiento de nutrientes hacia la superficie radical causada por el gradiente de concentración controlado principalmente por los mecanismos de adsorción y desorción. En ausencia de flujo de masa, la absorción continua de nutrientes por las raíces reduce la concentración de nutrientes disponibles en la superficie radical causando un gradiente de concentración perpendicular a la superficie radical. Cuando un gradiente de concentración existe, hay un movimiento neto desde la zona de mayor concentración en la solución del suelo hacia la zona de menor concentración en la superficie radical. El monto de nutrientes suministrados por el proceso de difusión depende de la tasa de difusión la cual es afectada por las propiedades de los iones en cuestión y del suelo. En el caso del fosfato, la mayor parte de los requerimientos vegetales son obtenidos por el proceso de difusión. El

fosfato, el cual es adsorbido fuertemente por el suelo, tiene un coeficiente de difusión bajo. Ese valor bajo crea un gradiente de concentración escalonado y entonces solo los fosfatos en el suelo cerca de la zona radical (zona de difusión) alcanzan la raíz. Los mecanismos de adsorción – desorción son los principales factores que controlan la tasa de difusión de P y determinan su disponibilidad para las plantas (Barrow 1983). El suministro total de P hacia las plantas en un sistema edáfico es representado en la Fig. 4.

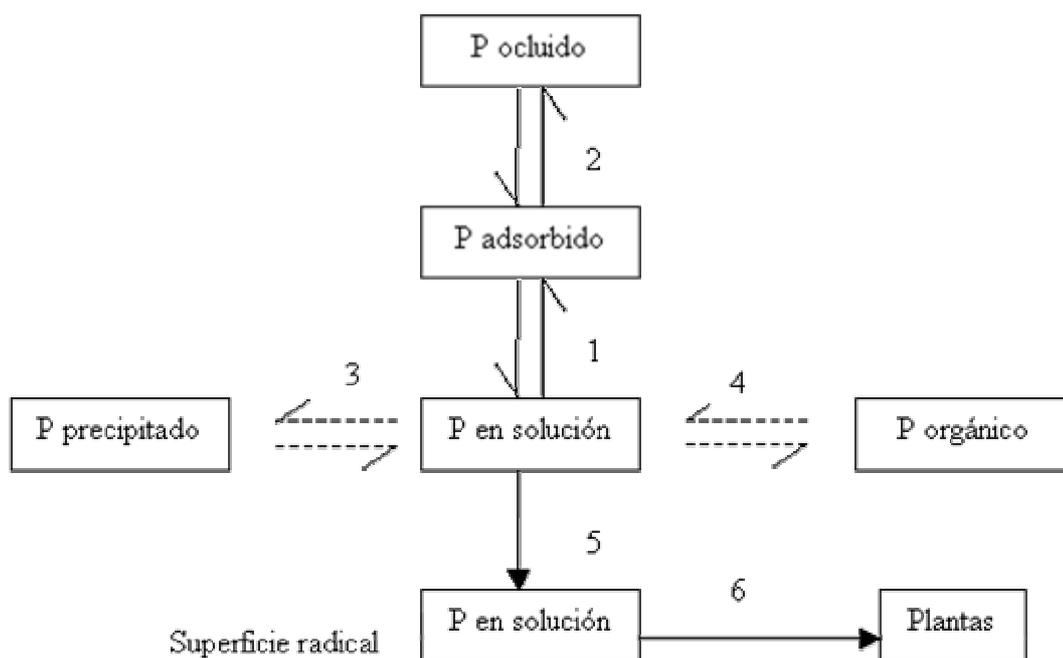


Fig. 4 Representación esquemática del suministro de P a las raíces vegetales en un sistema edáfico (Bolan 1991). (1. Adsorción-desorción; 2. Difusión al estado sólido; 3. Precipitación-disolución; 4. Inmovilización-mineralización; 5. Difusión en solución; 6. Movimiento hacia las raíces).

Nitrógeno

El N se encuentra ampliamente distribuido en la superficie terrestre en distintas formas: como sólido, disuelto o gaseoso. Además es el nutriente mineral de mayor demanda para las plantas. El N atómico existe en diferentes estados de oxidación y el pasaje de un estado al otro está mediado comúnmente por microorganismos del suelo (Fig. 5). El reservorio biológicamente disponible de N es la atmósfera. El N gaseoso es fijado por microorganismos simbiotes o de vida libre. Como NO_3^- es fácilmente soluble en agua, por lo tanto puede ser sujeto a lixiviación o transporte. En la forma de NH_4^+ es sujeto a

volatilización y a fijación en las partículas de arcilla y materia orgánica del suelo. Los cambios en los diferentes estados de oxidación conducen a la formación de compuestos inorgánicos que son perdidos desde el ecosistema, por lo tanto la escasez de N habitualmente limita el crecimiento vegetal.

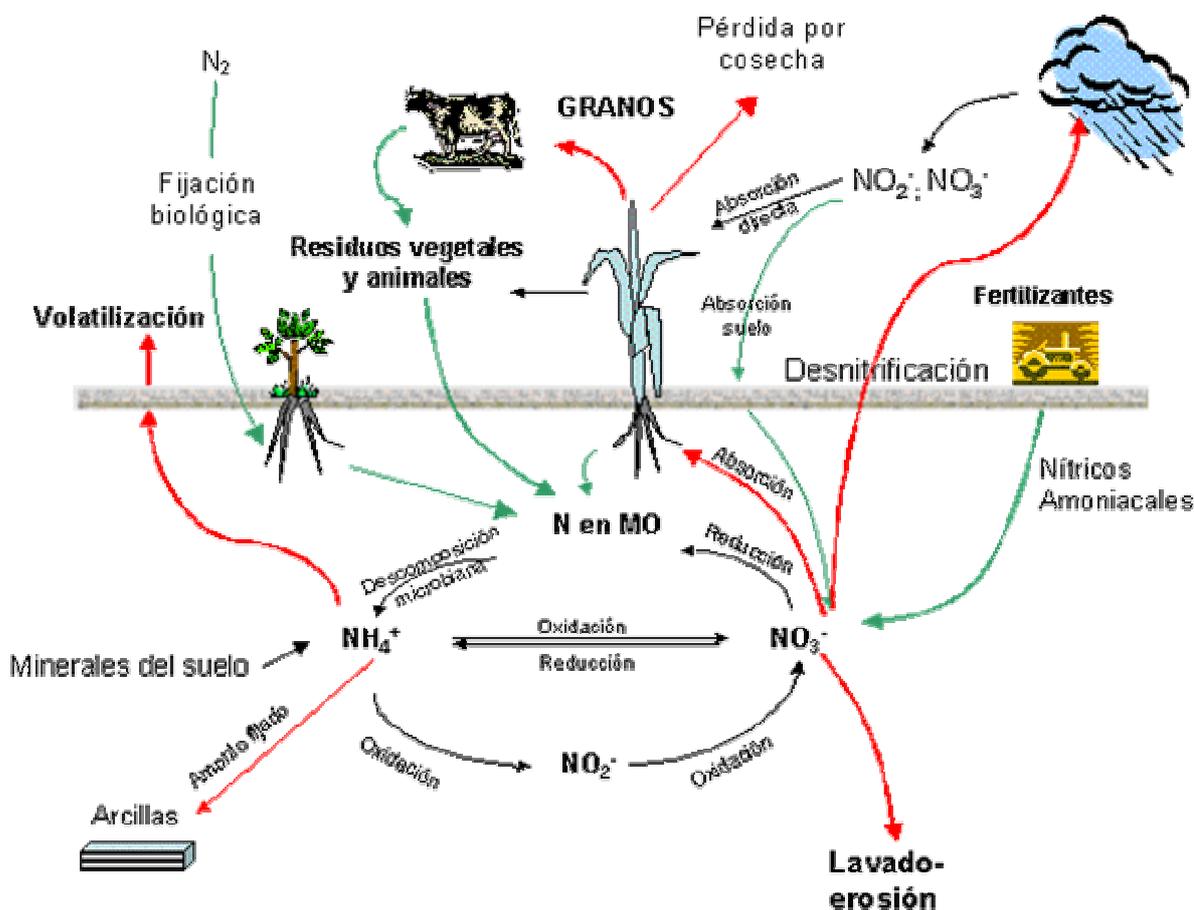


Fig. 5 Ciclo del Nitrógeno en el suelo (modificación de Stevenson 1982).

Colonización micorrícica y dinámica de P y N en tejido vegetal

Fósforo

La contribución de la asociación micorrícica en la absorción eficiente de P por las plantas es ilustrada en la Fig. 6. El incremento en el crecimiento vegetal por la asociación micorrícica es debido al incremento en la absorción de nutrientes desde la solución del suelo, el cual puede ser causado por: una mayor exploración física del suelo, incrementos en el movimiento de nutrientes hacia el micelio, modificación del ambiente radical, incremento del

almacenamiento del P absorbido, transferencia eficiente del P hacia las raíces de la planta, y utilización eficiente del P dentro de la planta.

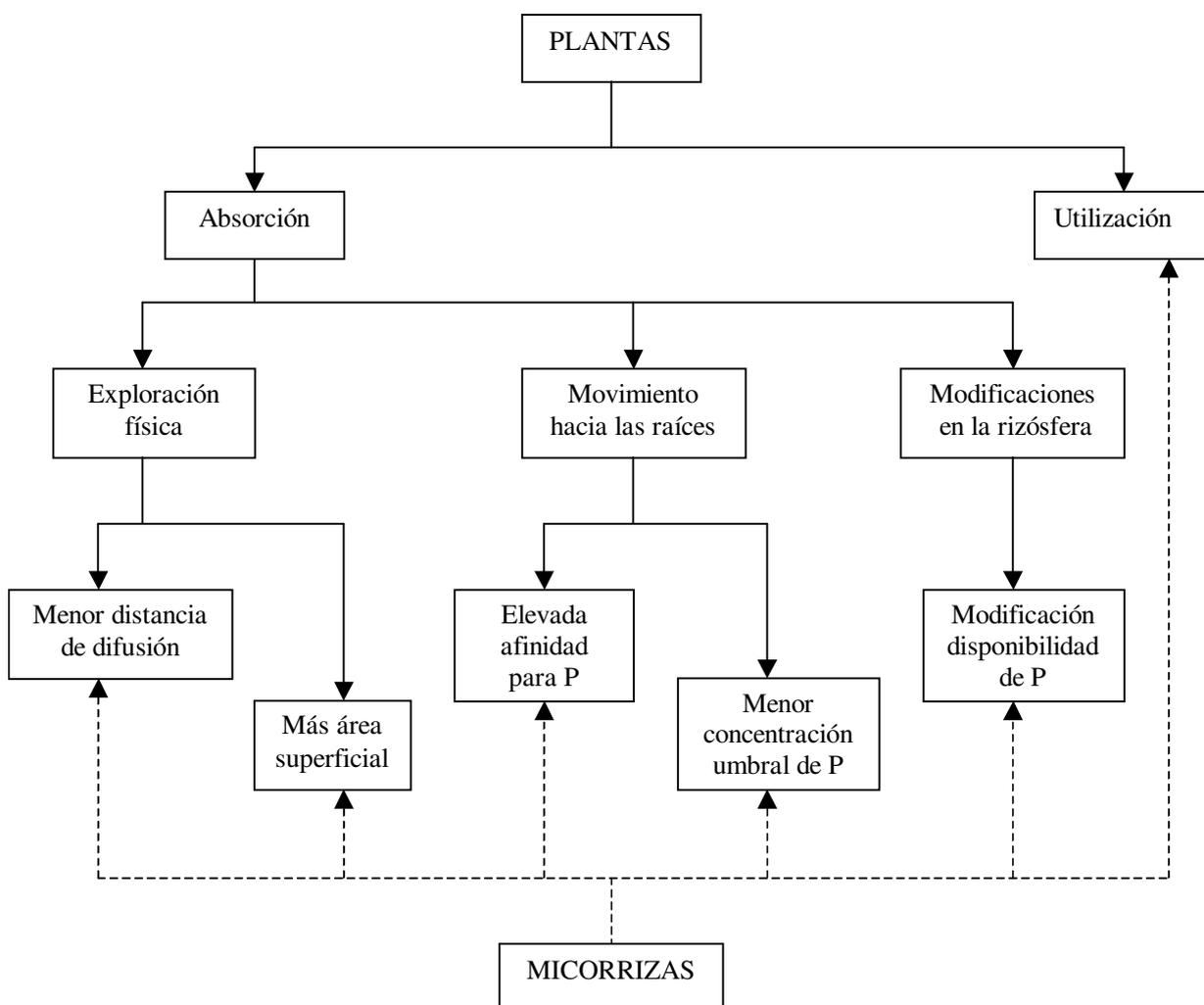


Fig. 6 Mecanismos posibles por los cuales los hongos MA incrementan la absorción de P por las plantas desde el suelo (Barrow 1978, modificado por Bolan 1991).

Aunque el vínculo entre la absorción de P y la colonización micorrícica ha sido investigado bajo condiciones controladas en diversos trabajos, es factible encontrar diferencias entre estos y un pastizal natural. Distintos estudios en laboratorio mostraron que un incremento en la concentración de P en suelo o tejido vegetal está relacionado con una disminución en el largo total de raíz colonizada y la proporción del largo radical colonizado por arbusculos (Braunberger et al. 1991; Mendoza y Pagani 1997; Cornwell et al. 2001).

Braunberger y colaboradores (1991) señalaron que la concentración de P en vástago afectaría la densidad de puntos de entrada a través de la reducción en el desarrollo de micelio extraradical, el cual limitaría la formación de puntos de colonización secundaria. En este trabajo también reportaron un retraso en la máxima colonización de vesículas, lo cual es consistente con el trabajo previo realizado por Brundrett y colaboradores (1985), quienes señalaron además que la formación de vesículas ocurre después de la formación de arbusculos.

Sanders y Fitter (1992 b) observaron que no hay relación entre la colonización por hongos MA y la concentración de P, cobre y zinc en vástago de plantas presentes en un pastizal semi-natural, y solo en ciertos casos la absorción de nutrientes estuvo relacionada con la colonización. Aunque los resultados hallados no avalaron la hipótesis que la colonización micorrícica es beneficiosa para la nutrición vegetal, altos niveles de absorción de P fueron observados en determinados períodos durante la estación de crecimiento, sugiriendo que las micorrizas pueden promover la absorción de nutrientes por la planta en ese período.

Nitrógeno

La nutrición nitrogenada de la planta es influenciada por la colonización micorrícica dependiendo si la fuente de N es amonio o nitrato (Valentine et al. 2002). Los efectos de los hongos MA pueden ser ventajosos (Hawkins et al. 2000), desfavorables (Azcón et al. 2003) e inclusive pueden no ejercer efectos sobre la nutrición nitrogenada del hospedante (Carling et al. 1978).

Mäder y colaboradores (2000) determinaron que el flujo de N es mayor en las raíces micorrizadas que en las no micorrizadas. El transporte de N por el micelio extraradical es regulado por la concentración de este nutriente en la planta hospedante (Azcón et al. 2001). La utilización del amonio es más eficiente en las plantas micorrizadas en relación con las no micorrizadas, este hecho conduciría el incremento de la secreción de H^+ hacia la rizósfera

(Smith et al. 1985; Bolan et al. 1991). Si las plantas micorrizadas inducen la disminución del pH rizosférico, este efecto contribuiría a una mayor absorción de P por solubilización de fosfatos de Ca, Fe y Al, y por ende aumentaría la disponibilidad de P para las raíces y el micelio externo (Marschner 1995). El incremento en la absorción de P y el crecimiento vegetal en plantas suplementadas con amonio ha sido explicado también a través de otro mecanismo. La explicación se fundamenta en que el amonio estimularía exudados radicales los cuales liberan P desde la fase del suelo y entonces incrementan la adquisición de P (Ortas et al. 1996).

El nitrato presenta mayor movilidad que el amonio, consecuentemente sería la mejor fuente nitrogenada para las plantas micorrizadas en suelos neutro-alcalinos y particularmente ante condiciones de sequía (Azcón et al. 1996)

En la actualidad, son escasos los estudios que relacionan a las propiedades edáficas y el estado nutricional de la planta (especialmente P y N) con la dinámica estacional en la morfología de colonización MA ante condiciones naturales y particularmente en pastizales. Esta clase de enfoque de la simbiosis micorrícica es necesaria para comprender como las variables climáticas, las propiedades edáficas y el nivel nutricional de la planta influyen la dinámica de la relación planta-hongos MA en un pastizal natural sometido a condiciones de estrés abiótico.

Infectividad del inóculo de hongos MA en suelo

Los hongos formadores de MA presentan una variedad de propágulos viables: esporas, fragmentos hifales y micelio dentro de raíces vivas o bien senescentes. Las esporas son generalmente consideradas la forma de propágulo micorrícico más durable y son necesarias en el desarrollo, dispersión y persistencia de los hongos MA. La supervivencia de estos propágulos difiere entre las especies fúngicas y es afectada por distintas condiciones ambientales. En la naturaleza, los propágulos micorrícicos deben permanecer viables de un

período de crecimiento de la raíz al siguiente. Sin embargo, ante condiciones de estrés, la pérdida de la viabilidad sería un factor crítico en el éxito y supervivencia de los hongos MA afectando de esta forma la infectividad y efectividad del inóculo.

Plenchette y colaboradores (1989) extendieron el concepto de infectividad del inóculo edáfico para incluir a los hongos MA, y lo definieron como la habilidad de un suelo natural que contiene hongos MA para inducir infección micorrícica sobre una planta hospedante, la cual puede ser medida a través de un bio-ensayo que determina la colonización micorrícica en la planta test. Este método permite evaluar la capacidad del inóculo de establecer asociaciones MA teniendo cuenta los distintos componentes del mismo.

Exceso o déficit hídrico sobre la asociación micorrizas arbusculares-planta.

El balance hídrico del suelo, desde el exceso hasta el déficit de agua, puede tener un impacto muy fuerte sobre el desarrollo y supervivencia de las plantas y microorganismos del suelo, y en consecuencia sobre el funcionamiento del ecosistema.

La inundación causa hipoxia o anoxia en los suelos como resultado de la baja solubilidad y difusión del oxígeno en agua y el rápido uso del oxígeno disuelto por parte de microorganismos y raíces. En consecuencia, hay una disminución en la mineralización de la materia orgánica y un incremento en la desnitrificación, que provoca la acumulación de productos fitotóxicos provenientes de los procesos reductivos llevados a cabo por los microorganismos (como sulfuro de hidrógeno, Fe^{2+} y Mn^{+} (Ponnamperuma 1984; Ernst 1990; Crawford 1992), y etileno (Visser et al. 1996) el cual puede inhibir fuertemente el desarrollo del sistema radical (Visser et al. 1997). En muchos suelos anegados también se han observado incrementos en la disponibilidad de P, y son principalmente debidos a la solubilización de fosfatos de hierro, pero la respuesta no siempre muestra la misma tendencia (Willet 1989).

Las fluctuaciones en el nivel hídrico del suelo inducen el desarrollo de una variedad de características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas en la planta. La raíz es el principal

órgano afectado por el exceso hídrico, el cual denota una disminución en la tasa de crecimiento (Drew 1992; Vignolio et al. 1999; Mendoza et al. 2005 a) y en la absorción de nutrientes (Kleiman et al. 1992). Una estrategia típica de las especies que permanecen regular o permanentemente ante condiciones de inundación es la presencia de aerénquima en la corteza de sus raíces (Visser et al. 2000). El aerénquima es un tejido especializado el cual consiste en una red de espacios intercelulares llenos de gas que conecta la parte sumergida de la planta con la atmósfera, permitiendo la difusión o ventilación de gases entre los órganos de la planta. Otra característica morfológica es la formación de raíces adventicias, las cuales se desarrollan en días luego del anegamiento en plantas resistentes a la inundación (Kleiman et al. 1992; Vignolio et al. 1999; Mendoza et al. 2005 a).

El vástago también es afectado por el exceso hídrico: algunas especies cesan el crecimiento inmediatamente después del anegamiento, mientras que otras mantienen o bien aumentan la producción de biomasa. Una respuesta adaptativa descrita en plantas resistentes a la inundación es la elongación del vástago que permite el contacto con el espacio abierto (Blom y Voeselek 1996). Otros síntomas de estrés son marchitez, deficiencia de nutrientes, senescencia de hojas basales, menor emergencia y expansión foliar y cambios en el balance hormonal, los que pueden conducir a la muerte de la planta (Moog y Janiesch 1990; Vignolio et al. 1994; Vartapetian y Jackson 1997).

Diversos estudios postularon que las condiciones de anaerobiosis perjudicarían la supervivencia de los hongos MA en sitios sometidos a frecuentes períodos de exceso hídrico, debido a que los hongos MA son organismos aerobios obligados (Mosse et al. 1981). Pero estudios más recientes han mostrado la presencia de hongos MA en diferentes ambientes anegados. Miller y Bever (1999) identificaron dos mecanismos por los cuales los hongos MA podrían sobrevivir en condiciones de anoxia. El primero establece que ciertas especies de hongos MA requerirían una menor cantidad de oxígeno que la que se pensaba originalmente. El segundo mecanismo plantea que los hongos MA podrían estar concentrados cerca de las

raíces, obteniendo oxígeno directamente desde la raíz o bien el oxígeno que difunde desde la raíz hacia la rizósfera.

El exceso hídrico puede suprimir la colonización por hongos MA (Muthukumar et al. 1997; Miller 2000; Miller y Sharitz 2000), o bien puede no afectar en forma adversa a la asociación micorrícica (Stevens y Peterson 1996; Mendoza et al. 2005 a, b; Ipsilantis y Sylvia 2007). Esto dependerá de la extensión de la colonización MA establecida previamente a que ocurra el anegamiento. En cambio la respuesta de la planta a la colonización MA dependerá de la severidad, frecuencia y duración del período de estrés (Mendoza et al. 2005 a, b).

Ha sido demostrado que los hongos MA incrementan la tolerancia de la planta al estrés hídrico. Este efecto parecería estar mediado por un mejoramiento en el ajuste osmótico, estimulando la acumulación de azúcares solubles y prolina en vástago, y a través de un incremento en la adquisición de N en plantas ante exceso hídrico de *Aster tripolium* L. (Neto et al. 2006). Fougnyes y colaboradores (2007) reportaron que la colonización por *Glomus intraradices* contribuyó a incrementar la tolerancia ante inundación de plántulas de *Pterocarpus officinalis* Jacq. mejorando el crecimiento vegetal y la adquisición de P.

En la Cuenca del Río Salado, durante los períodos de precipitaciones abundantes, la inundación es un fenómeno común en las zonas de menor altitud en el paisaje, y la duración dependerá de la estación, y de la topografía y características edáficas de cada sitio. Los eventos de exceso hídrico son seguidos por períodos de sequía ante el incremento de la temperatura ambiente. *L. tenuis* puede permanecer bajo condiciones de inundación por períodos prolongados (Escudero y Mendoza 2005), y posteriormente continuar su desarrollo ante niveles de humedad edáfica significativamente inferiores. En consecuencia, la alternancia entre exceso y déficit hídrico someten a las plantas de *Lotus* a diferentes tipos de estrés que afectarían a la simbiosis con hongos MA, y por ende al desarrollo y nivel nutricional de la planta.

La disminución en la humedad del suelo resulta en un descenso en la tasa de difusión de nutrientes (particularmente P) desde la matriz del suelo hacia la superficie de absorción de la raíz (Pinkerton y Simpson 1986), y por ende una disminución en la absorción de nutrientes por parte de las raíces y el transporte desde las raíces hacia el vástago.

Las condiciones de déficit hídrico, en general, alteran las tasas fotosintética y de crecimiento de la planta (Mwanamwenge et al. 1999). Diversas evidencias señalan que una disminución en la fotosíntesis sería atribuida en primer lugar al cierre estomático, el cual constituye la primer línea de defensa contra la desecación. Ante períodos prolongados de sequía predominan las limitaciones no relacionadas con el cierre estomático, y la fotosíntesis sería controlada por la capacidad de fijar CO₂ de los cloroplastos (Faver et al. 1996; Herpich y Peckmann 1997).

La simbiosis con hongos MA puede proteger a la planta hospedante del efecto perjudicial causado por el déficit hídrico (Ruiz-Lozano y Azcón 1995; Augé 2001; Sanchez Blanco et al. 2004; Subramanian et al. 2006). La contribución de la simbiosis micorrícica a la tolerancia al estrés hídrico de la planta es el producto de una combinación de efectos físicos, nutricionales, fisiológicos y celulares (Ruiz-Lozano 2003). Los mecanismos propuestos incluyen mejoras en la regulación estomática (Goicoechea et al. 1997; Wu et al. 2007); en el ajuste osmótico (Porcel y Ruiz-Lozano 2004; Wu y Xia 2006), e incrementos en la actividad de enzimas involucradas en la defensa mediante antioxidantes y en la asimilación de nitratos (Ruiz-Lozano y Azcón 1996; Ruiz-Lozano et al. 2001; Caravaca et al. 2005; Wu et al. 2007).

El micelio edáfico juega un rol importante en la influencia de los hongos MA sobre el nivel hídrico de la planta debido a que puede extraer agua de poros pequeños, los cuales no logran ser alcanzados por las raíces (Augé 2001; Bearden 2001; Augé 2004). El micelio extraradical estabiliza los agregados del suelo que incrementan la retención de humedad (Augé et al. 2001) y mejoran la absorción de agua y P (Augé et al. 2003; Marulanda et al. 2003; Khalvati et al. 2005). Los efectos de la sequía sobre la colonización micorrícica y la

germinación de esporas de hongos MA es sumamente variada, pudiendo aumentar, disminuir o bien no ser afectadas ante el déficit hídrico (Ruiz-Lozano y Azcón 1996; Augé 2001).

Debido a las características topográficas de la Cuenca del Río Salado es necesario estudiar el impacto del exceso y déficit hídrico sobre el crecimiento y morfología de *L. tenuis*, nutrición vegetal, formación de nódulos radicales de bacterias fijadoras de nitrógeno, variables edáficas y la dinámica de la relación con hongos MA en un suelo salino-sódico característico de la región.

Objetivos

El objetivo general fue estudiar cambios temporales en la asociación simbiótica entre hongos formadores de MA y plantas en un pastizal natural de la Cuenca del Río Salado a lo largo de un gradiente hídrico, salino y sódico; y posteriormente asociar los cambios en las condiciones climáticas, edáficas y estado nutricional de la planta, con la dinámica de la colonización radical y la infectividad del inóculo en suelo.

Objetivos específicos

Mediante un estudio llevado a cabo en un pastizal natural de la provincia de Buenos Aires se propuso:

- Estudiar la influencia de las condiciones edafoclimáticas como reguladoras de la simbiosis planta-hongos MA a lo largo de un gradiente topográfico que abarca un rango de condiciones edáficas comúnmente presentes en la Cuenca del Río Salado.
- Describir cambios estacionales en la densidad de propágulos en suelo y en la morfología de colonización de hongos MA en raíces de *L. tenuis* y en gramíneas de elevada frecuencia relativa presentes en cada comunidad vegetal de las diferentes posiciones topográficas que conforman un gradiente hídrico, salino y sódico.
- Determinar la asociación entre los cambios estacionales en los niveles de N y P en plantas de *L. tenuis* y gramíneas co-dominantes con los patrones de colonización micorrícica en raíces a lo largo de un gradiente hídrico, salino y sódico.

- Asociar los cambios en las distintas fracciones que componen la morfología de colonización micorrícica con la formación de puntos de entrada en raíces de *L. tenuis* y gramíneas co-dominantes.

Mediante ensayos en invernadero se propuso:

- Evaluar la infectividad del inóculo de hongos MA presente en suelos provenientes de las diferentes posiciones topográficas a lo largo de un gradiente de humedad, salinidad y sodicidad.
- Estudiar el efecto del exceso y déficit hídrico en un suelo salino-sódico sobre el crecimiento y morfología vegetal, adquisición de nutrientes (N y P), propiedades del suelo y asociación hongos MA-*L. tenuis*.

Hipótesis

En relación con los antecedentes y objetivos mencionados se plantearon las siguientes hipótesis:

- Existe un patrón estacional y espacial en la densidad de propágulos en suelo y en la morfología de colonización de hongos MA asociado con las propiedades edáficas de cada sitio del gradiente topográfico. Dicho patrón difiere entre *L. tenuis* y las gramíneas co-dominantes de la comunidad.
- Los cambios en los niveles de N y P en tejido vegetal que se encuentran relacionados con los diferentes estados de crecimiento de la planta, y están asociados con cambios específicos en la morfología de colonización micorrícica.
- Los sitios de mayor altitud con mayores niveles de materia orgánica y fertilidad poseen un potencial de infectividad de hongos MA inferior al observado en los sitios con menor altitud y condiciones adversas para el crecimiento vegetal.
- El estrés por déficit o exceso hídrico modifican la morfología de colonización micorrícica en raíces de *L. tenuis*, la densidad de esporas y micelio externo en suelo. De esta manera, la simbiosis MA-planta se mantiene efectiva ante condiciones de estrés regulando los beneficios entre el hongo y la planta.
- El déficit y exceso hídrico modifican las propiedades del suelo, la adquisición de nutrientes (N y P) y el crecimiento y morfología de *L. tenuis*. Ante déficit hídrico, la estrategia de la planta consiste en disminuir la relación tallo:raíz para economizar el agua absorbida, mientras que ante exceso hídrico en aumentarla para eliminar parte del agua absorbida.

Materialles y Métodos

Capítulo 1

Variabilidad espacial y estacional en la asociación micorrizas arbusculares-planta y su relación con variables edáficas y niveles de N y P en tejido vegetal

1.1 Ubicación y descripción del lugar de estudio

El estudio se llevó a cabo en un pastizal natural ubicado en la Cuenca del Río Salado en la localidad de San Vicente, Provincia de Buenos Aires, Argentina. La temperatura media anual fue de 16,90 °C y la precipitación media anual de 3,41 mm.

La topografía del lugar determina un gradiente hídrico, salino y sódico, que establece características edáficas diferentes a lo largo del mismo. En el área de estudio se seleccionaron cuatro sitios separados en longitud (0-510 metros) y en altitud (0-0,65 metros) (Fig. 7). El sitio 1 (35° 6' 9,24" S y 58° 33' 16,72" W) se ubicó en la zona más baja y por ende más húmeda y salina del gradiente, los sitios 2 (35° 6' 8,89" S y 58° 33' 21,32" W) y 3 (35° 6' 8,52" S y 58° 33' 27,52" W) en la zona intermedia y el sitio 4 (35° 6' 8,24" S y 58° 33' 30,69" W) en la zona más alta y con menor contenido de humedad y salinidad (Fig. 7).

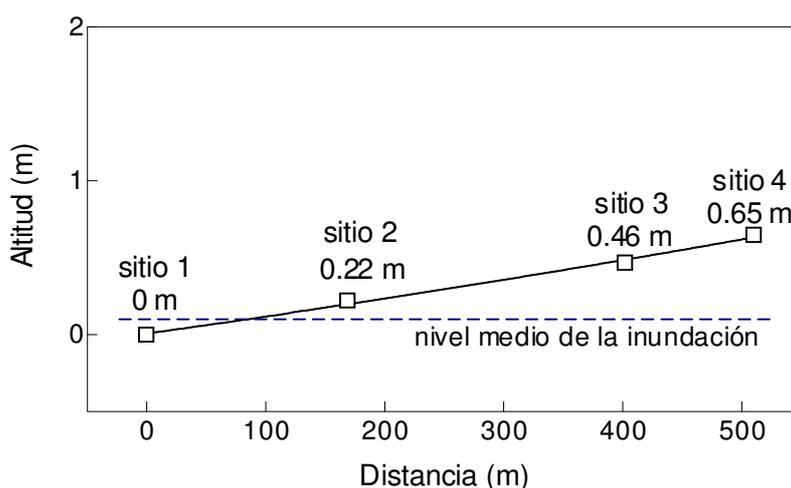


Fig. 7 Esquema que detalla la ubicación de los sitios de estudio a lo largo del gradiente topográfico. Se indica además el nivel medio que alcanza la inundación en determinados períodos del año (otoño-primavera).

El suelo en los sitios 1 y 2 se clasificó como un Natracuall típico y en los sitios 3 y 4 como Natraquoll típico (INTA-CIRN 1990). Según la composición textural el suelo del sitio 1 fue franco arcillo limoso, y en los sitios 2, 3 y 4 fue franco limoso. Las características físico-químicas del suelo en cada uno de los sitios se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Propiedades físico-químicas del suelo en los cuatro sitios analizados. Los datos corresponden a los valores medios de cada variable (\pm error estándar) obtenidos durante el desarrollo de la experiencia en cada uno de los sitios.

Variable	Sitio			
	1	2	3	4
pH (1:2,5; H ₂ O)	9,38 \pm 0,05	9,22 \pm 0,04	7,90 \pm 0,12	6,90 \pm 0,28
Ct (g/kg)	11,00 \pm 0,50	12,20 \pm 0,49	13,55 \pm 0,77	20,77 \pm 1,15
Nt (g/kg)	1,14 \pm 0,04	1,13 \pm 0,05	1,21 \pm 0,06	1,94 \pm 0,99
Cs (g/kg)	2,83 \pm 0,28	2,88 \pm 0,23	3,75 \pm 0,32	3,63 \pm 0,29
Ndd (mg/kg)	114,94 \pm 9,28	136,00 \pm 12,84	147,74 \pm 12,74	241,60 \pm 22,03
P Bray I (mg/kg)	7,20 \pm 0,37	7,77 \pm 0,34	5,10 \pm 0,20	4,77 \pm 0,41
CE (dS/m)	9,25 \pm 0,37	6,12 \pm 0,43	1,45 \pm 0,18	1,69 \pm 0,36
CIC (cmol _c /kg)	23,54 \pm 0,82	17,17 \pm 0,56	15,59 \pm 0,61	15,79 \pm 0,53
Ca ⁺⁺ (cmol _c /kg)	5,57 \pm 0,36	3,90 \pm 0,32	3,36 \pm 0,28	5,53 \pm 0,43
K ⁺ (cmol _c /kg)	2,97 \pm 0,18	2,13 \pm 0,12	2,02 \pm 0,13	1,69 \pm 0,15
Mg ⁺⁺ (cmol _c /kg)	3,04 \pm 0,17	3,49 \pm 0,18	3,21 \pm 0,31	2,96 \pm 0,22
Na ⁺ (cmol _c /kg)	17,96 \pm 0,60	11,58 \pm 0,63	5,67 \pm 1,05	4,49 \pm 0,95
PSI (%)	77,43 \pm 2,95	65,58 \pm 3,27	37,52 \pm 6,00	28,29 \pm 5,59
Humedad (%)	28,79 \pm 0,74	25,99 \pm 0,46	22,31 \pm 0,69	23,00 \pm 0,83
Arcilla (%)	34,80	19,40	21,90	22,20
Limo (%)	45,40	58,80	55,50	54,40
Arena (%)	29,80	21,80	22,60	23,40

Ct (C total); Nt (N total); Cs (C lábil); Ndd (N lábil); P Bray I (P disponible); CE (conductividad eléctrica); CIC (capacidad de intercambio catiónico); Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, Na⁺, K⁺ (iones intercambiables); PSI (porcentaje de sodio intercambiable).

1.2 Diseño experimental

El estudio se realizó dentro de dos círculos permanentes y concéntricos de 8 y 12 metros de diámetro en cada uno de los sitios estudiados. El círculo de muestreo de 452,39 m², se dividió en cinco parcelas angulares iguales de 72 ° que se utilizaron como repeticiones, donde el círculo interno de 8 metros de diámetro se empleó en la descripción estacional de la composición florística de la comunidad, y la superficie definida por los 4 metros restantes que conforman el círculo externo se usaron para la recolección de muestras de suelo y plantas. De esta manera la superficie de muestreo destinada a describir los cambios estacionales de la

comunidad vegetal fue de 201,06 m², dividida en 5 parcelas de 40,21 m²; mientras que la superficie empleada para obtener las muestras de suelo y planta fue de 251,33 m², dividida en 5 parcelas de 50,27 m².

Debido a la ausencia de replicas por subsitio no se pudo determinar diferencias estadísticas significativas entre los sitios. Sin embargo, el diseño experimental permitió analizar los datos originados a partir de observaciones de una misma variable sobre cada unidad experimental a lo largo del tiempo (Rowell y Walters 1978).

Los muestreos se realizaron hacia el final de cada estación durante 18 meses en las siguientes fechas: verano (18-03-03), otoño (17-06-03), invierno (18-09-03) y primavera (3-12-03).

Se tomaron al azar tres plantas adultas de *L. tenuis* y de la especie acompañante de mayor frecuencia relativa en la comunidad por parcela en cada uno de los sitios. Cada planta se recolectó con la muestra de suelo rizosférico. Se cosechó la biomasa del vástago y raíz, y muestras de suelo ubicado entre los 2 y 12 cm de profundidad (horizonte superficial). Las muestras de suelo se conservaron a 4° C hasta ser procesadas.

Las muestras de suelo se utilizaron en el estudio de la dinámica estacional de las propiedades edáficas, densidad de esporas y micelio externo de hongos MA, y las muestras de plantas en la caracterización de la colonización micorrícica en raíces y la concentración de N y P en tejido vegetal.

1.3 Descripción de la comunidad vegetal

La descripción temporal y espacial de la composición florística de la comunidad vegetal se realizó por el método de Daget y Poissonet (1971). Se analizaron las siguientes variables asociadas a la comunidad vegetal: frecuencia relativa (Fr), diversidad (H), riqueza (R) y equitatividad (E).

La composición florística del sitio 1 fue dominada por *Lotus tenuis* Waldst. & Kit., *Paspalum vaginatum* Swartz, *Distichlis spicata* (L) Greene., *Eleocharis viridans* Kükenth y *Cynodon dactylon* (L) Pers.; el sitio 2 por *L. tenuis*, *Stenotaphrum secundatum* (Walt.) O.K., *Lolium multiflorum* Lam. y *Paspalum dilatatum* Poir.; el sitio 3 por *L. tenuis*, *C. dactylon*, *S. secundatum* y *P. dilatatum*, y el sitio 4 por *L. tenuis*, *C. dactylon*, *S. secundatum*, *Bromus unioloides* H.B.K. y *L. multiflorum*.

1.4 Especies vegetales estudiadas

L. tenuis presentó elevada frecuencia relativa a lo largo del gradiente topográfico. Junto con la leguminosa se seleccionó una especie co-dominante en la comunidad vegetal. En el sitio 1 la especie acompañante (especie de mayor frecuencia relativa) fue *P. vaginatum* y en los sitios 2, 3 y 4 *S. secundatum*.

Descripción morfológica

Lotus tenuis

Hierba perenne, de crecimiento invierno-primavero-estival, postrado, con una raíz principal pivotante que se ramifica en raíces laterales, sin rizomas, con varias ramas erectas o decumbentes, de 2-9 dm de largo, glabras; estípulas glandiformes, castañas o naranjas; hojas de 9-23 mm de largo, raquis 2-6 mm de largo. Inflorescencias axilares en la mayoría de los nodos superiores, umbelada, pedunculada; pedúnculos(1-)2-12 cm de largo; umbelas con 1-4(-7) flores, flores de 7-10 mm de largo, amarillas, glabras, cáliz campanulado, 4-6 mm largo. Vainas castañas, semillas pequeñas de 1,3 x 1 mm (Fig. 8).

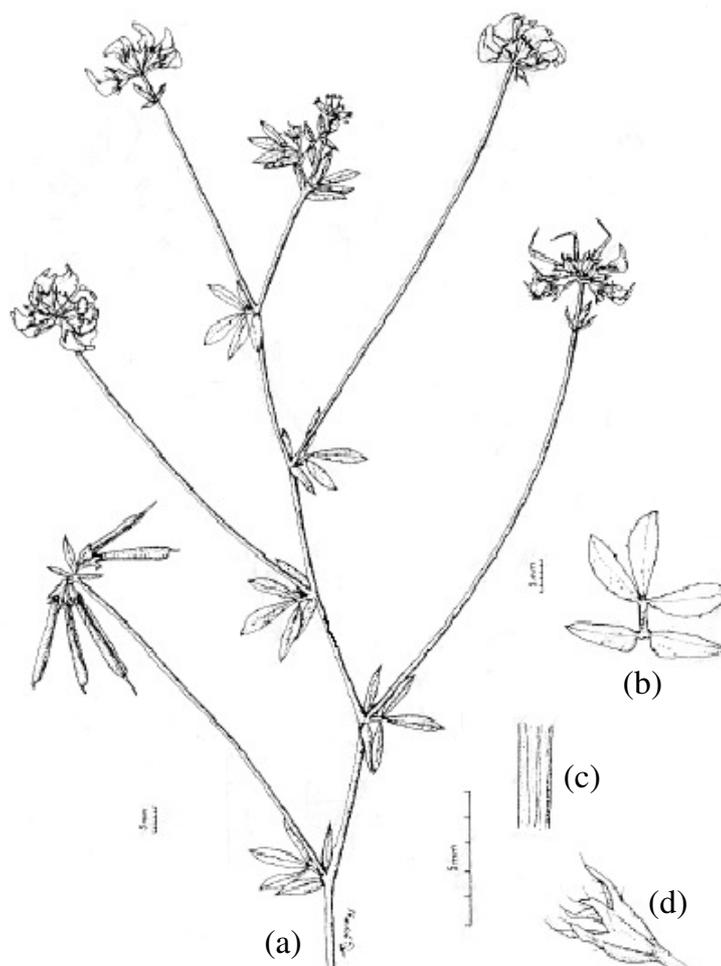


Fig. 8 *L. tenuis*, (a) inflorescencias y vainas ; (b) hoja; (c) tallo; (d) cáliz (Beuselinck 1999).

Paspalum vaginatum

Hierba perenne, de crecimiento primavero-estival, rizomatosa, con rizomas profundos y estolones largos y ramificados formando extensas colonias. Cañas floríferas de 8-60 cm de altura. Hojas con vainas frecuentemente superpuestas, flojas, a menudo carenadas, con pequeñas aurículas en el ápice; lígulas membranáceas, de 0,5 mm de largo, con una hilera de pelitos blancos en su dorso; láminas más o menos rígidas, convolutas, de 25-150 mm de largo por 3-8 mm de ancho, atenuadas hacia el ápice. Inflorescencia formada por dos racimos geminados en forma de V, más o menos igualmente pedunculados (raramente con otro racimo inserto más abajo), de 15-75 mm de longitud. Espiguillas solitarias, brevemente pediceladas, dispuestas en dos hileras alternadas, ovalo-lanceoladas, de 2,7-3,3 mm de largo, por 1,2-1,5

mm de ancho. Gluma inferior a veces presente, reducida; gluma superior glabra; lemma estéril glabra (Fig. 9).

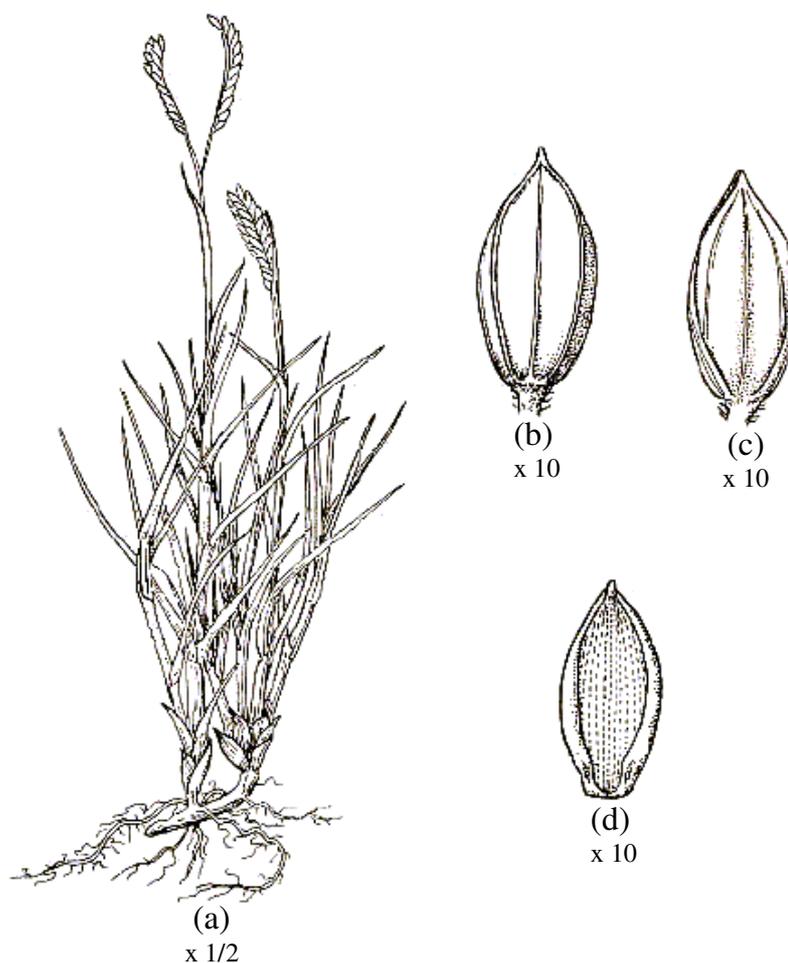


Fig. 9 *P. vaginatum*, (a) planta; (b y c) espiguilla en vista dorsal y ventral; (d) antecio fértil (Cabrera 1970).

Stenotaphrum secundatum

Hierba perenne, de crecimiento primavero-estival, rastrera, de 10-70 cm de longitud, con tallos comprimidos y radicantes. Hojas cortas, alternas o subopuestas, con vaina abierta y estriada. Lígula cortamente pilosa de 0,2-0,4 mm de alto; lámina navicular de ápice obtuso y mucronado, con nervadura media engrosada, de 4-12 (2-20) cm de largo y 4-10 mm de ancho. Espigas de 5-10 (3-12) cm de largo, con raquis articulado y excavado. Espiguillas de 4-5 cm de longitud. Glumas desiguales, la inferior de 1-2 mm de longitud, la superior de 4 mm. Antecio terminal masculino o estéril con lemma del largo de la gluma superior. Antecio

terminal hermafrodita con pálea papirácea. Tres estambres. Cariopse oval-elíptico, comprimido, de 2,5 mm de longitud (Fig. 10).

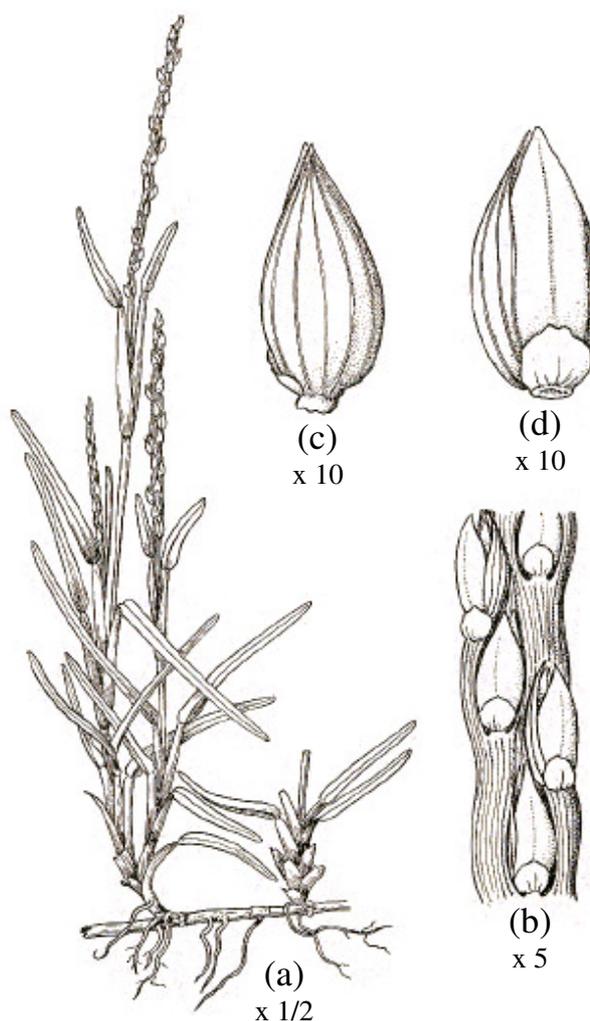


Fig. 10 *S. secundatum*, (a) planta; (b) detalle de la espiga; (c y d) espiguilla en vista dorsal y ventral (Cabrera 1970).

Procesamiento del material vegetal

La biomasa del vástago de cada una de las especies seleccionadas se secó en estufa por 48 hs a 75°C. Dicho material se empleó en la determinación de N y P. Las muestras de raíz de cada planta se lavaron con agua de red y se enjuagaron con agua des-ionizada. Posteriormente se procedió a dividir la masa radical en dos partes: una de ellas se empleó en la descripción de

la colonización por hongos MA, y la otra parte se secó en estufa y luego se empleó en la medición de N y P.

1.5 Medición de N y P en tejido vegetal

Las porciones de vástago y raíz de *L. tenuis* y especies co-dominantes destinadas al análisis de N y P, se molieron en forma separada, se digirieron en ácido sulfúrico para determinar N por Kjeldahl, y en ácido nítrico-perclórico para P por el método del ácido vanadomolibdofosfórico (Jackson 1958). La concentración de N y P se expresó como %N y %P respectivamente.

1.6 Descripción de la morfología de colonización de hongos MA y nodulación radical en *L. tenuis*.

Las raíces de *L. tenuis* y las especies acompañantes se cortaron en fragmentos de 1,5 cm y luego se procedió a su tinción según una modificación de la técnica de Phillips y Hayman (1970). Las raíces se clarificaron con una solución de KOH 10% por 10 min a 90°C, se lavaron con agua de red y se sumergieron en una solución de HCl 10% por 2 min. Se descartó el ácido y se colorearon con una solución de azul de Tripán 0,05% en láctico-glicerol por 20 min a 90°C. Las raíces se mantuvieron en láctico-glicerol para su observación.

La morfología de colonización de hongos MA se describió según McGonigle et al. (1990). Para cada especie analizada se tomaron 35 fragmentos de raíz y se observaron en microscopio óptico bajo un aumento de x200. Esta metodología permitió determinar la fracción total de la raíz colonizada (MC) y las fracciones de la raíz que contenían arbusculos (AC), vesículas (VC) e hifa solamente (HO). Se distinguieron los dos tipos morfológicos de

colonización: *Arum* y *Paris*, establecidos por Gallaud (1905) (citado por Smith y Smith 1997). También se reconoció el tipo Intermedio de colonización citado por Yamato (2004).

La estimación del número de puntos de entrada se midió cada 3 mm a lo largo de las raíces con un aumento de x200 (Amijee et al. 1989). La medición se expresó como número de puntos de entrada por mm de raíz colonizada.

El número de nódulos de *Rhizobium* sp se estimó en la totalidad del sistema radical de la leguminosa empleando una lupa binocular (x7,5).

1.7 Dinámica de la morfología de colonización micorrícica en plantas del pastizal

Con el objetivo de caracterizar la dinámica de la morfología de colonización micorrícica en el pastizal natural sometido a estrés abiótico se realizó un análisis de las relaciones entre los índices de colonización y el número de puntos de entrada. La caracterización incluyó un análisis de regresión simple entre valores medios obtenidos a partir de variables micorrícicas y de relaciones entre las mismas: MC, AC:MC, VC:MC, HO:MC en función de PE en los cuatro sitios que dan lugar al gradiente hidrológico. En el sitio 1 se incluyó a *D. spicata* debido a que es una especie vegetal característica de ese lugar salino y anegado, donde existe una baja diversidad y riqueza en la comunidad vegetal.

La relación entre variables medidas en las cuatro plantas a lo largo del gradiente se estimó a través de ajustes de regresión de ecuaciones exponenciales, donde los valores de y varían entre 0 y 1. En la ecuación (1):

$$y = 1 - \exp(-ax) \quad \text{Ec. (1)}$$

y representa a los índices MC, AC:MC y VC:MC; y x a PE. La Ec. (1) es una exponencial positiva, donde el valor de los índices de colonización aumenta hasta un máximo de 1 con aumentos en el número de puntos de entrada.

De manera similar, la Ec.(2) representa a una exponencial negativa donde los valores de y disminuyen a partir de 1 con aumentos en el número de puntos de entrada.

$$y = \exp(-ax) \quad \text{Ec. (2)}$$

donde y representa a HO:MC y x a PE; y el valor de a en ambas ecuaciones es un coeficiente que define a la pendiente de la relación para cada valor de PE.

El método de ajuste de las ecuaciones fue el de mínimos cuadrados y se realizó mediante el software Graph Pad Prism 4.0.

1.8 Determinación de la densidad de propágulos de hongos MA en suelo

Densidad de esporas

Las esporas de hongos MA se aislaron de 30 gr de suelo rizosférico por una modificación de la técnica de tamizado húmedo seguida por centrifugación en gradiente de sacarosa (Daniels y Skipper 1982). Se incorporó agua a una muestra de suelo y la solución se filtró a través de un tamiz de 500 μm seguido por uno de 35 μm . La fracción recolectada en el último tamiz se centrifugó en una solución de sacarosa al 80% a 3000 rpm durante 7 min. Las esporas recuperadas de la interfase agua-sacarosa se colocaron en el tamiz de 35 μm y se lavaron con agua des-ionizada. Luego se procedió al recuento bajo lupa con un aumento de $\times 35$. La densidad de esporas se expresó como número de esporas por gramo de suelo seco.

Densidad de micelio externo

La densidad de micelio en suelo se midió en verano e invierno. El micelio se aisló a partir de una muestra de suelo empleando una modificación de la técnica propuesta por

Abbott et al. (1984). Una muestra de suelo rizosférico de 2,5 gr se humedeció y se agitó por 30 segundos. La suspensión se filtró a través de un tamiz de 250 μm seguido por uno de 35 μm para recolectar el micelio. El material recuperado en el último tamiz se resuspendió en agua y se agitó por 15 segundos, luego se dejó reposar por 1 minuto. El sobrenadante (que contiene el micelio) se filtró bajo presión (tamaño de poro de 2 μm). Dicho procedimiento se repitió tres veces para asegurar una completa extracción del micelio del suelo. El papel de filtro se tiñó con azul de Tripán 0,05 % en lacto-glicerol, se cortó a la mitad y ambas partes se montaron sobre portaobjetos con PVLG (Polivinil-lactico-glicerol). El largo del micelio recuperado se midió sobre 150 campos por papel de filtro, usando una modificación del método de intercepción de línea de Giovannetti y Mosse (1980) bajo un aumento de x200. La densidad hifal se expresó como cm hifa por cm^3 suelo seco.

1.9 Propiedades físico-químicas del suelo

Las muestras de suelo se remitieron al Instituto de Geocronología y Geología Isotópica (INGEIS-CONICET) para su análisis. Las propiedades analizadas fueron composición textural (Gee y Bauder 1986), contenido de humedad, pH (1:2,5 en agua), conductividad eléctrica (CE) (dS/m) (Jackson 1958), Ca^{++} , Mg^{++} , Na^+ y K^+ intercambiables (cmol_c/kg) (Jackson 1958), capacidad de intercambio catiónico (CIC) (cmol_c/kg) (Chapman 1965), P extraíble (Bray I) (mg/kg) (Bray y Kurtz 1945), carbono total (Ct) (g/kg) (Richter y Wistinghausen 1981), carbono lábil (Cs) (g/kg) (Richter y Wistinghausen 1981), nitrógeno total (Nt) (g/kg) (Bremmer y Mulvaney 1982) y nitrógeno lábil (Ndd) (mg/kg) (Bremmer y Mulvaney 1982).

1.10 Análisis estadístico de los datos

Para analizar los cambios estacionales en las variables pertenecientes a hongos MA, propiedades del suelo y nutrientes en planta dentro de cada sitio en particular, se realizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA). En el caso de las variables que no presentaron una distribución normal se transformaron a logaritmo natural, y si persistía la variabilidad, se empleo el test no paramétrico de Kruskal-Wallis. En todos los casos se incluyó test de Tukey (HSD) para la comparación múltiple de medias dentro de cada sitio. El software empleado en el análisis estadístico fue Statgraphic 5.0 plus.

El presente estudio incluye a un gran número de variables de suelo, nutrientes en planta, y micorrizas arbusculares que dificultan una comparación múltiple para cada variable medida con diferencias en el tiempo y el espacio. Si bien es apropiado asumir que existen diferencias entre los sitios, pues se encuentran ubicados sobre un gradiente topográfico, hídrico y salino, y fueron seleccionados sobre la base de muestreos previos; resulta importante visualizar que diferencias existen en las variables entre los sitios y de esta manera conocer si la variabilidad entre sitios es mayor a la variabilidad estacional dentro de cada sitio. Con este objetivo se realizaron tres Análisis de Componentes Principales (ACP) correspondientes a los valores estacionales y espaciales de las variables edáficas (pH, CE, Ct, Nt, P, Ca⁺ intercambiable, Na⁺ intercambiable y contenido de humedad), los correspondientes a la colonización micorrícica (densidad de esporas, fracción total de la raíz colonizada en *L. tenuis* y en las gramíneas acompañantes-*P. vaginatum* en el sitio 1 y *S. secundatum* en los sitios 2-4, las fracciones de la raíz que contienen arbusculos (AC) o vesículas (VC) en la leguminosa y gramíneas) y los relativos a las variables descriptivas de la comunidad vegetal (H, R, E, FR *L. tenuis*, FR gramíneas acompañantes), y luego observar como se ordenan las observaciones en un gráfico para conjunto de variables (edáficas, micorrícicas y descriptivas

de la comunidad vegetal). El programa utilizado pertenece al sistema PCORD de Análisis Multivariado (McCune 1991).

El ACP es un método del Análisis Multivariado que consiste en sintetizar la información sobre un grupo de individuos, dada por un conjunto de variables continuas X . Para ello, se calculan nuevas variables F , denominadas Componentes Principales, que son funciones lineales de las variables X y que tienen la propiedad de ser incorrelacionadas entre sí y cuya variabilidad total es igual a la del conjunto original. Estas variables F se ordenan por varianzas decrecientes, acumulándolas, hasta tener un porcentaje alto de la varianza total (García R 2004).

Por otra parte también se utilizó el Análisis de Correspondencia Canónica (ACC) por el algoritmo CANOCO (Ter Braak 1987-1992). El ACC es un método del Análisis Multivariado que usa regresión múltiple para seleccionar la combinación lineal de variables de suelo, nutrientes y ambientales que mejor explican la variación en datos ordenados obtenidos a partir de variables micorrícicas sobre cada eje. Este método no solo expresa los patrones de variación de las observaciones estacionales, sino también permite inferir acerca de que variable ambiental se encuentra asociada en mayor medida con cada variable de hongos MA. Se realizaron sucesivas aproximaciones del ACC con diferentes combinaciones de variables antes de seleccionar el conjunto final de variables a emplear. Se incluyó una variable extra solo si esta inclusión disminuía significativamente la varianza total. La combinación de variables seleccionadas se basó en el menor número de variables y la menor varianza total registrada. Se realizaron dos ACC; en uno se incluyeron variables asociadas a la colonización micorrícica y suelo, y en el otro análisis las mismas variables relacionadas con MA y nutrientes en tejido vegetal.

En el primer ACC se utilizaron siete variables en la matriz principal relacionadas con MA: densidad de esporas (DE) en suelo, fracción total de la raíz colonizada en *L. tenuis* (MCLt), o en las gramíneas acompañantes (*P. vaginatum* en el sitio 1 y *S. secundatum* en los

sitios 2-4 (MCGs), las fracciones de la raíz que contienen arbusculos (ACLt) o vesículas en *L. tenuis* (VCLt), y arbusculos o vesículas en *P. vaginatum* o *S. secundatum* (ACGs, VCGs), que constituyeron un total de 4 x 4 (sitios x estaciones) observaciones. En la matriz secundaria se incluyeron siete variables edáficas (pH, CE, Na⁺ intercambiable, P, Ct, Nt y contenido de humedad), que corresponden también a 4 x 4 observaciones. El ACC permitió identificar la mejor combinación de variables edáficas que influyen a las variables relacionadas con MA.

En el segundo ACC, la matriz principal fue la misma que en el caso anterior y la segunda incluyó ocho variables asociadas al nivel nutricional de las plantas estudiadas: %P en vástago (PVLt), %P en raíz (PRLt) de *L. tenuis*, %P en vástago (PVGs) y %P en raíz (PRGs) de las gramíneas acompañantes (*P. vaginatum* en el sitio 1 y *S. secundatum* en los sitios 2-4), %N en vástago (NVLt), %N en raíz (NRLt) de *L. tenuis*, %N en vástago (NVGs) y %N raíz (NRGs) en las gramíneas co-dominantes. El formato fue también de 4 x 4 observaciones estacionales. En ambos estudios se analizó la significancia ($P < 0.05$) de los tres primeros ejes canónicos mediante el test de permutación Monte Carlo.

Capítulo 2

Evaluación de la infectividad micorrícica del suelo a lo largo del gradiente hídrico, salino y sódico

Con el objetivo de evaluar la capacidad de un suelo que contiene hongos MA para inducir colonización micorrícica sobre una planta hospedante a lo largo del gradiente topográfico se realizó un ensayo en invernadero según una modificación de la técnica propuesta por Plenchette et al. (1989).

2.1 Test biológico

La infectividad del inoculo MA en suelo puede ser estimada a través de un bio-ensayo con distintas diluciones de suelo y observar la respuesta de la colonización micorrícica en una planta test en condiciones ambientales controladas.

Se recolectaron muestras de suelo proveniente de cada uno de los sitios en Mayo de 2004, luego se secó al aire y se tamizó con una malla de 2 mm de diámetro de poro. El suelo de cada sitio se diluyó con una mezcla de perlita:vermiculita (1:1) tinalizada (1 h, tres días seguidos). Para cada sitio, se ensayaron cinco diluciones: 1%, 3%, 10%, 30% y 100%, con cinco repeticiones por dilución, en macetas sin drenaje y con una capacidad de 320 ml.

Se esterilizaron superficialmente semillas de *L. tenuis* con una solución de EtOH:H₂O₂ (1:1) por 8 min, y luego se lavaron con agua des-ionizada estéril. Posteriormente, permanecieron 4 hs en burbujeo y a continuación se colocaron en germinadores estériles, y luego de 24 hs se sembraron siete semillas germinadas en cada maceta que contenían las diferentes diluciones de suelo. Las macetas se mantuvieron en invernadero bajo un régimen de fluctuaciones en la temperatura media entre 30 °C ± 4 °C (día) y 19 °C ± 3 °C (noche), 65% ± 15% humedad relativa y un fotoperíodo de 10 h en Octubre a 14 h en Noviembre de 2004. Las plantas se cultivaron al 80% de la capacidad de campo mediante dos riegos diarios con agua des-ionizada y suplementadas con solución nutritiva Hoagland (1938) (una vez por semana).

Se cosechó el sistema radical a los 55 días de iniciada la experiencia y se lavó con agua de red. La biomasa radical se pesó y posteriormente se procedió a su tinción según la metodología de Phillips y Hayman (1970) descrita en el Capítulo 1. El sistema radical completo se observó bajo lupa con un aumento de x35. El criterio utilizado para determinar la colonización micorrícica de una planta fue la presencia de tan solo un punto de entrada en el

sistema radical. Los datos se expresaron de manera porcentual como el número de plantas colonizadas en relación con el número total de plantas por maceta.

2.2 Cálculo de la infectividad micorrícica del suelo

La infectividad del inóculo MA en el suelo de cada sitio se estimó a través de ajustes de regresiones no lineales para cada uno de los casos. La ecuación de ajuste fue utilizada anteriormente por Barrow y Mendoza (1990), que tiene una flexibilidad que permite ajustes de diferentes tipos de respuestas:

$$y = 1 - (1/(1+m c x^n)^{1/m}) \quad \text{Ec. (3')}$$

donde y representa al número de plantas colonizadas por maceta, x representa a los distintos niveles de dilución del suelo (%), y m , c y n son coeficientes que se obtienen del ajuste del análisis de regresión.

Inicialmente, se describieron en forma conjunta los datos correspondientes a los cuatro sitios por una sola curva de ajuste, y luego se ajustaron cuatro curvas por separado correspondientes a cada uno de los sitios y se compararon estadísticamente ambos ajustes. Se evaluó la mejora en el ajuste a través de la disminución de mínimos cuadrados residuales de ambos ajustes. Se utilizó el método Simplex (Nelder y Mead 1965) que minimiza las sumas de cuadrados residuales a través de modificaciones en el valor de los coeficientes de las ecuaciones utilizadas.

El análisis de regresión y la unidad de infectividad micorrícica del suelo (IMS) se determinó calculando el valor al cual el 50% de las plantas estaban micorrizadas. La infectividad del suelo se expresó como unidad de infectividad micorrícica del suelo/ 100 gr de suelo. Un IMS es el peso seco de suelo mínimo requerido para colonizar el 50% de una

población vegetal bajo condiciones controladas (IMS₅₀). Para cada suelo, el número de plantas colonizadas/ total de plantas por maceta se graficó vs. el logaritmo de la concentración de suelo no esterilizado.

Capítulo 3

Efecto del déficit y exceso hídrico sobre el crecimiento y morfología vegetal, nutrición de N y P, propiedades del suelo y simbiosis MA-*L. tenuis* en un suelo salino-sódico

A partir del estudio estacional llevado a cabo a lo largo del gradiente topográfico surgieron interrogantes particulares en cada sitio analizado. El sitio 2 se encuentra sometido a períodos de exceso y déficit hídrico a lo largo del año. Esta combinación de factores genera un proceso de salinización favorecidos por el ascenso y descenso de la napa de agua. Estas características someten a las plantas ante diferentes tipos de estrés que convierten al sitio 2 en apropiado para el estudio de objetivos específicos. En este sentido, se llevó a cabo un ensayo en invernadero empleando suelo que proviene del sitio 2 y plantas de *L. tenuis* para observar los cambios en el crecimiento y morfología vegetal, nutrición de N y P, propiedades del suelo y simbiosis MA-*L. tenuis* ante situaciones de déficit y exceso hídrico e intentar explicar de esta manera los efectos estacionales sobre la simbiosis en la naturaleza.

3.1 Diseño experimental

Las muestras de suelo se recolectaron en Mayo de 2004, entre los 2 y 12 cm de profundidad (horizonte superficial). El suelo se secó al aire y posteriormente se tamizó con una malla de 2 mm de diámetro de poro. El porcentaje de saturación de humedad del suelo fue de 40%, la capacidad de campo 36% y el punto de marchitez permanente de 12%. Un total de 20 macetas sin drenaje, con una capacidad de 2 L, se llenaron con 1,35 kg de suelo, en las

cuales se plantaron cinco semillas pre-germinadas de *L. tenuis* (metodología de esterilización e incubación de semillas descrita en el Capítulo 2).

Las plantas se cultivaron en condiciones de invernadero bajo un régimen de fluctuaciones en la temperatura media entre $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (día) y $19\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ (noche), $65\% \pm 15\%$ humedad relativa y un fotoperíodo de 10 h a 14 h (Septiembre-Diciembre de 2004) durante 75 días y luego sometidas a condiciones de inundación (exceso hídrico), sequía (déficit hídrico) y mantenidas bajo capacidad de campo por un período adicional de 35 días. Luego del período inicial de 75 días de crecimiento a 30% de humedad (83% de la capacidad de campo), 5 de las 20 macetas se cosecharon (t_o). Cinco de las 15 macetas restantes se inundaron con agua des-ionizada, el nivel de agua fue mantenido en 1 cm por encima de la superficie del suelo (tratamiento: inundación), 5 macetas se mantuvieron cerca del 20% w/w de humedad (tratamiento: sequía), y 5 macetas control se mantuvieron cerca de 30% w/w del contenido de agua (tratamiento: control). Las plantas de los tres tratamientos (control, sequía e inundación) se cultivaron por un período adicional de 35 días (t_f) y luego se cosecharon.

3.2 Características morfológicas

En cada cosecha se registraron las características morfológicas de vástago y raíz para cada tratamiento. En vástago: número de tallos principales, largo del 6^{to} entrenudo (estimado desde el ápice) y largo y ancho de la fronde media que pertenece a la hoja basal del 6^{to} entrenudo. En raíces: diámetro de la corona, largo radical y largo radical por unidad de peso fresco. Posteriormente vástagos y raíces se cosecharon en forma separada. La biomasa radical se separó en dos porciones, una se secó en estufa y la otra se destinó a la medición de la morfología de colonización micorrícica, número de nódulos de *Rhizobium sp* y observaciones histológicas. Luego de cada cosecha se procesaron las muestras y se midieron diversas variables en suelo y material vegetal según se describe a continuación.

3.3 Crecimiento vegetal y adquisición de N y P

La biomasa del vástago y raíz se secaron a 75 °C por 48 hs, luego se registró el peso seco y se procedió a su digestión en forma separada en una mezcla de ácido nítrico-perclórico para determinar P por el método del ácido molibdovanadofosforico, y en ácido sulfúrico para determinar N por Kjeldahl (Jackson 1958). Para ambos nutrientes se calcularon tres expresiones de la eficiencia de absorción de nutrientes: a) contenido total de nutrientes por unidad de peso seco total, b) contenido total de nutrientes por unidad de peso seco radical, y c) peso seco de vástago por el contenido total de nutrientes. Estas mediciones permitieron comparar las eficiencias de la nutrición nitrogenada y fosforada entre tratamientos (Mendoza et al. 2000).

3.4 Colonización micorrícica y nodulación radical

La biomasa radical se tiñó según la metodología explicada para el estudio de raíces en la naturaleza (Capítulo 1). La descripción de la morfología de colonización micorrícica se realizó según McGonigle et al. (1990). El número de puntos de entrada se estimó de acuerdo con la metodología propuesta por Amijee et al. (1989). El largo total de raíz y el largo de raíz colonizada por MA (mc), arbusculos (ac), vesículas (vc) e hifa solamente (ho) se determinaron por el método de intercepción de línea (Giovanetti y Mosse 1980).

El número de nódulos de *Rhizobium sp* se estimó en la totalidad del sistema radical empleando una lupa binocular (x7,5).

3.5 Propiedades edáficas

Las muestras de suelo (450 gr aproximadamente) se tomaron del centro de cada maceta y posteriormente se dividieron en dos partes, una porción se empleó en la descripción de propiedades edáficas y la otra en el registro de la densidad de esporas y micelio externo. Las muestras de suelo se conservaron en bolsas plásticas a 4°C hasta ser procesadas.

Se estimaron las siguientes propiedades edáficas luego de cada cosecha en el Instituto de Geocronología y Geología Isotópica (INGEIS-CONICET): pH (H₂O, 1:2,5), conductividad eléctrica (CE) (dS/m) (Jackson 1958), Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, Na⁺ y K⁺ intercambiables (cmol_c/kg) (Jackson 1958), capacidad de intercambio catiónico (CIC) (cmol_c/kg) (Chapman 1965), P extraíble (Bray I) (mg/kg) (Bray y Kurtz 1945), carbono total (Ct) (g/kg) (Richter y Wistinghausen 1981), carbono lábil (Cs) (g/kg) (Richter y Wistinghausen 1981), nitrógeno total (Nt) (g/kg) (Bremmer y Mulvaney 1982) y nitrógeno lábil (Ndd) (mg/kg) (Bremmer y Mulvaney 1982).

3.6 Determinación de la densidad de propágulos de hongos MA

La densidad de esporas y de micelio externo se registraron según los métodos propuestos en el ensayo en la naturaleza (Capítulo 1).

Viabilidad de esporas de hongos MA

Las esporas viables se estimaron según la metodología propuesta por An y Hendrix (1988). El colorante usado fue 3-(4,5-dimetilthiazol-yl)-2,5-difenil-2H-bromuro tetrazolio (MTT). Las esporas de color rojo brillante luego de la incubación con MTT fueron consideradas esporas vivas. Las esporas muertas retuvieron su color original. Se preparó una

solución stock de 0,5 mg MTT/ml. Luego se colocaron volúmenes iguales de la solución stock de MTT y una suspensión acuosa de esporas de hongos MA en un tubo eppendorf. El tubo se incubó tapado a temperatura ambiente por 40 hs en oscuridad. En el grupo control se emplearon esporas previamente sumergidas en una solución de etanol 70% por 30 min. Luego del período de incubación las esporas se retiraron de los tubos (tratamientos y control) y se observaron bajo lupa a fin de determinar su coloración. Se estimó el número de esporas viables en relación con el número total de esporas incubadas como porcentaje.

3.7 Tasa de crecimiento relativo (RGR) y de colonización relativa de hongos MA (RCR)

La tasa de crecimiento relativo de la biomasa total (RGR_t), el vástago (RGR_v), la raíz (RGR_r), y el largo de la raíz (RGR_{lr}) de las plantas pertenecientes a los grupos control, sequía e inundación durante los 35 días de tratamiento se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\mathbf{RGR}_i = (\ln W_{tf} - \ln W_{to}) / (tf - to) \quad \text{Ec. (4)}$$

donde *i* representa a la variable usada (peso seco total, del vástago o la raíz) para medir RGR (día⁻¹), *tf* es el período total de crecimiento (días) desde la germinación, *to* es el período inicial de crecimiento de 75 días en capacidad de campo desde la germinación. *W_{tf}* es el peso seco de la planta (total, vástago o raíz) al final período experimental (110 días), *W_{to}* es el peso seco de la planta al inicio del período experimental (75 días), y (*tf - to*) es la diferencia entre el período inicial y el período total de crecimiento (35 días) para las plantas control y tratadas (sequía e inundación). El cálculo de RGR asume que las tasas de crecimiento diario fueron constantes durante el período de 35 días.

Las tasas de colonización relativa de am (RCRam), ac (RCRac), vc (RCRvc), PE (RCRpe), el número de esporas (RCResp) y micelio externo (RCRmy) se calcularon mediante la ecuación (4) en todos los tratamientos.

3.8 Índice de Susceptibilidad (IS)

Para todas las variables medidas sobre planta y suelo (variables de crecimiento, morfológicas, absorción de nutrientes, micorrícicas y edáficas) en el grupo control y en ambos tratamientos: sequía e inundación, se estimó un Índice de Susceptibilidad (IS), el cual se calculó según Hiler et al. (1972):

$$\text{IS} = 1 - (\text{planta ante estrés} / \text{planta control}) \quad \text{Ec.(5)}$$

IS es positivo si éste disminuye la magnitud de la variable medida, o negativo si éste la incrementa.

3.9 Histología

Las raíces se fijaron en formaldehído-ácido acético-alcohol (FAA), deshidratado a través de una serie graduada de alcohol y embebidas en parafina. Se cortaron con micrótopo secciones de 10 μm (Minot JUNG), luego se fijaron sobre portaobjetos y se tiñeron con safranina-fast green.

Los preparados histológicos de las raíces mantenidas en condiciones de exceso y déficit hídrico y de plantas control se observaron con un microscopio óptico Olympus BX50 y se tomaron fotografías con una cámara digital Olympus Camedia C-4000 ZOOM.

3.10 Análisis estadístico

Las variables asociadas con el crecimiento vegetal, morfología vegetal, absorción de nutrientes (N y P), micorrizas arbusculares y suelo se analizaron para determinar si cada set de datos presentaban distribución normal y varianzas homogéneas. Los datos sin distribución normal se transformaron a logaritmo (\ln).

El análisis de varianza (ANOVA) se usó para comparar medias entre tratamientos. En los casos donde persistió la no-normalidad de los datos, las medias se analizaron mediante el test no paramétrico de Kruskal-Wallis. El software empleado en el análisis estadístico fue Statgraphic 5.0 plus.

Resultados

Capítulo 1

Variabilidad espacial y estacional en la asociación micorrizas arbusculares-planta y su relación con variables edáficas y niveles de N y P en tejido vegetal

Descripción estacional de las condiciones edafo-climáticas a lo largo del gradiente topográfico

Los sitios analizados se encuentran ubicados sobre un gradiente topográfico, que determina distintos tipos de condiciones edáficas. Las diferencias en las variables físico-químicas del suelo entre los sitios seleccionados son características propias de la Cuenca del Río Salado, que comprende desde sitios bajos con alto pH, CE, Na^+ intercambiable, contenido de humedad y porcentaje de arcilla (sitios 1 y 2) hasta sitios de mayor altitud con pH ácido a neutro, menor contenido de humedad y porcentaje de arcilla y mayor fertilidad (Ct y Nt) (sitios 3 y 4) (Fig. 11). Los sitios 1 y 2 son salino-sódicos con valores de CE y PSI mayores a 4 dS/m y 15 % respectivamente, y los sitios 3 y 4 son no salino-sódicos con valores de CE menores a 4 dS/m y PSI mayores al 15 % (Richards 1974). Estas características edáficas determinan un gradiente de humedad, salinidad y sodicidad entre los sitios estudiados.

Las variables físico-químicas analizadas a lo largo del gradiente presentaron cambios estacionales y espaciales (Fig. 11). Los sitios ubicados a menor altitud (sitios 1 y 2) presentaron valores de pH, CE, PSI y CIC mayores a los obtenidos en los sitios situados a mayor altitud sobre el gradiente (sitios 3 y 4) (Fig. 11 a, b, c y d).

Con relación al contenido de bases de cambio, tanto el Ca^{++} como el Mg^{++} intercambiables mostraron valores similares a lo largo del gradiente topográfico, pero registraron diferencias estacionales dentro de cada sitio en particular (Fig. 11 e y f). El Na^+ intercambiable presentó un patrón espacial asociado con la altitud y los patrones de pH, CE, y

PSI (Fig. 11 g). El K^+ intercambiable mostró valores mayores en el sitio 1 y escasas diferencias estacionales entre los sitios restantes (Fig. 11 h).

Los niveles de Ct, Nt y Ndd mostraron valores mayores en el sitio 4 con pocas diferencias entre los sitios restantes (Fig. 11 i, k y j). El Ct solo presentó estacionalidad en los sitios 1 y 3, y el Nt en el sitio 3. Las medidas de C lábil (Cs) mostraron leves diferencias estacionales en los sitios 1, 3 y 4 (Fig. 11 j). El N lábil (Ndd) presentó un patrón estacional en todos los sitios analizados, con una marcada disminución hacia el final del otoño (Fig. 11 l). La relación C:N, por su parte mostró estacionalidad solamente en el sitio 1, con incrementos hacia invierno y primavera (Fig. 11 m). La disponibilidad de P fue mayor en los sitios bajos con mayor humedad (sitios 1 y 2) que en los sitios de mayor altitud (sitios 3 y 4), y mostró incrementos hacia fin de la primavera solo en los sitios 1 y 2 (Fig. 11 n).

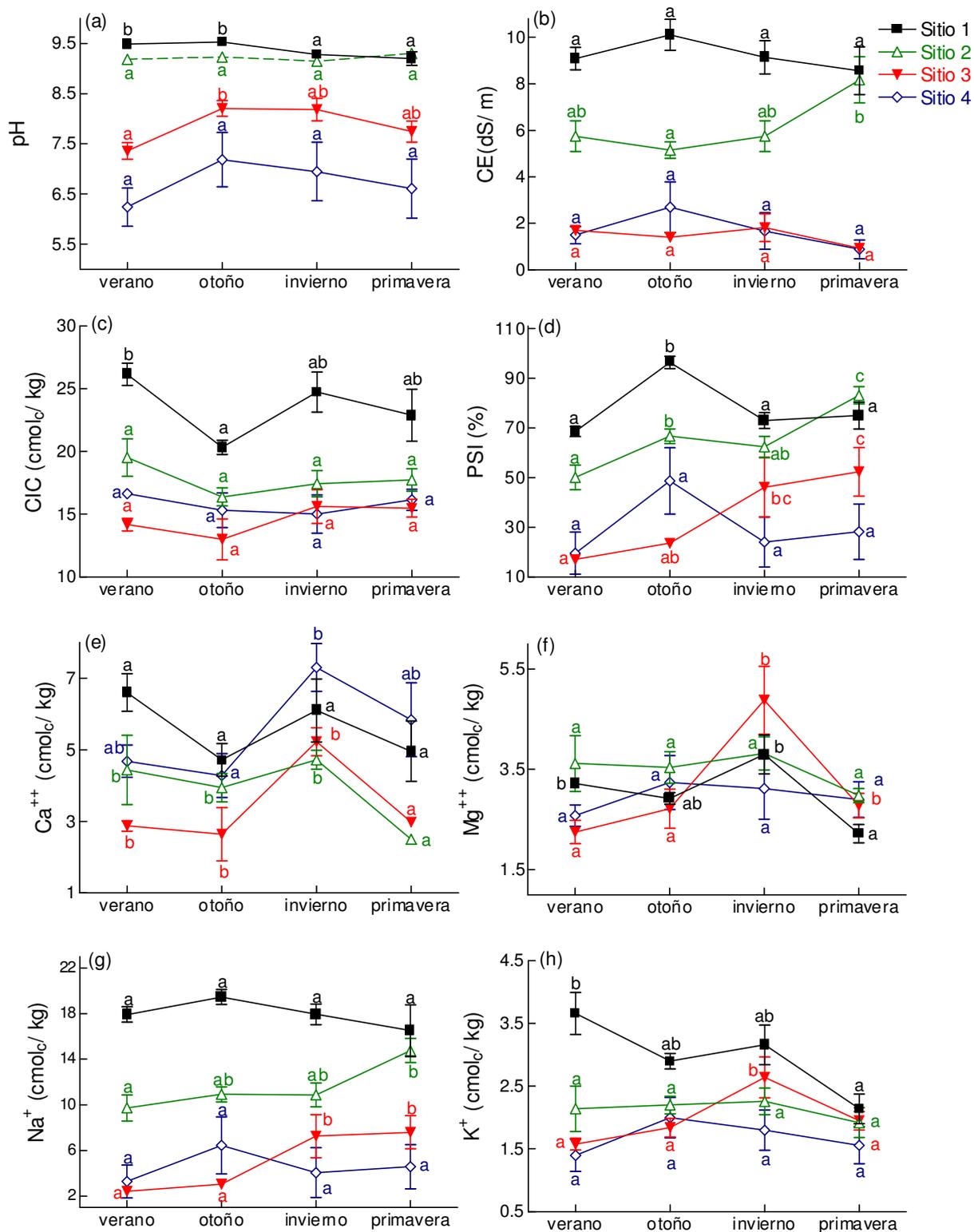
El contenido de humedad en suelo fue siempre mayor en el sitio 1 y disminuyó con el incremento en altitud (Fig. 11 o). El período de mayor contenido de humedad en suelo fue el verano, con valores de 31, 26, 22 y 21% para los sitios 1 al 4 respectivamente. El período de menor contenido hídrico fue la primavera, con valores de 25, 23, 19 y 20% para los sitios 1 al 4 respectivamente (Fig. 11 o). El sitio 2, ubicado en una altitud intermedia, sufre frecuentemente el efecto del ascenso y descenso de la napa de agua salina que favorece el proceso de salinización.

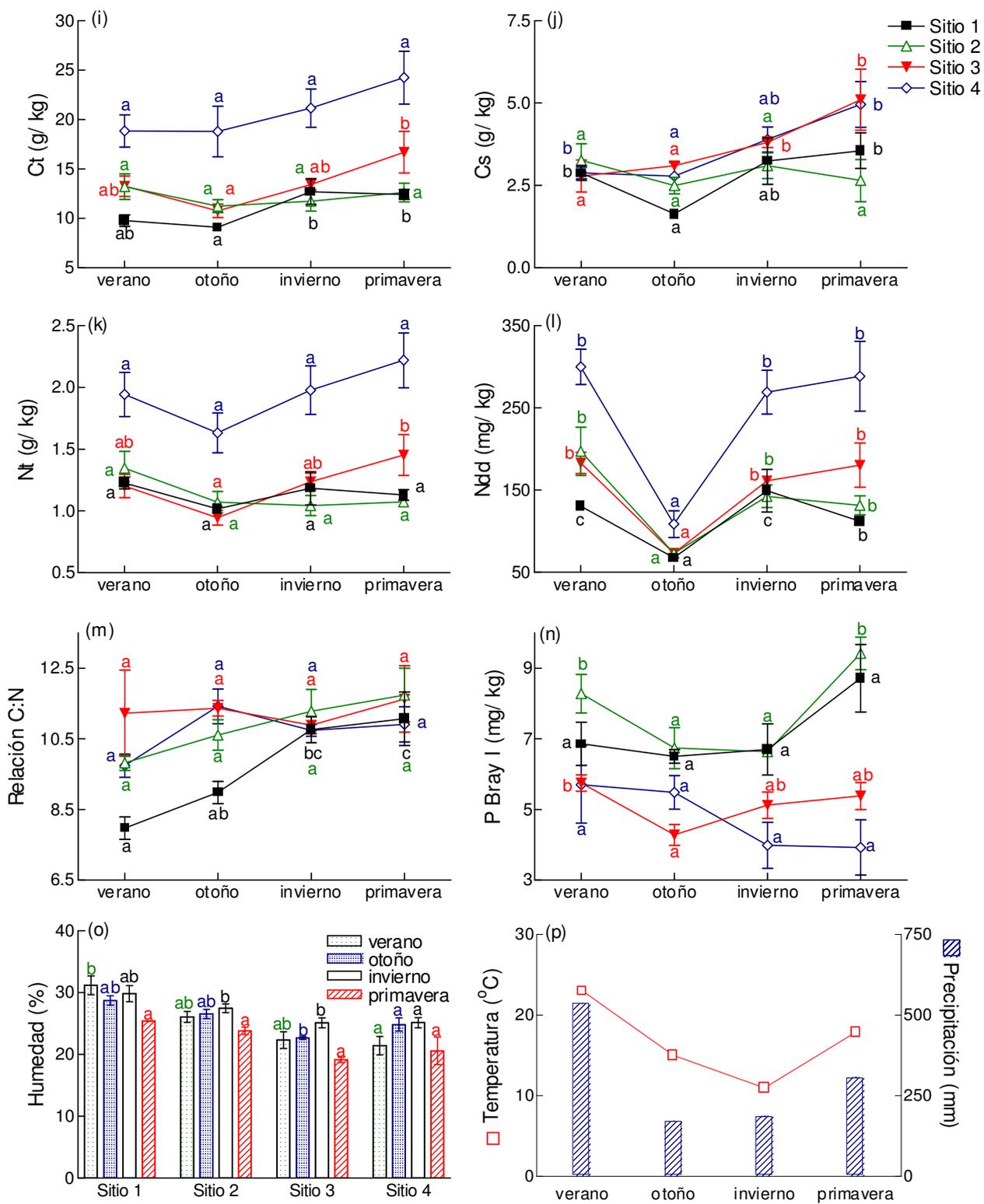
El régimen de temperaturas y precipitaciones ocurrido en el lugar de estudio se observan en la Figura 11 p y presentan un patrón estacional característico de la zona.

Fig. 11 Variación estacional de las propiedades del suelo. Se muestran los valores medios (\pm errores estándar) de cinco repeticiones. CE = conductividad eléctrica; CIC = capacidad de intercambio catiónico; PSI = porcentaje de sodio intercambiable; Ca^{++} , Mg^{++} , Na^+ , K^+ = iones intercambiables; Ct = carbono total; Cs = carbono lábil; Nt = nitrógeno total; Ndd = nitrógeno lábil; P Bray I = fósforo disponible.

Medias seguidas por letras distintas son significativamente diferentes ($P < 0.05$) por el test de Tukey.

Nt en el sitio 1, Ndd en el sitio 2 y Ct, PSI, Na^+ intercambiable y CE en el sitio 3 fueron analizados como *ln* dato. pH, Mg^{++} intercambiable, Ct, Cs y Ndd en el sitio 1, Ca^{++} intercambiable en el sitio 2, y Cs, Ndd y contenido de humedad en el sitio 3 fueron analizados por el test no paramétrico Kruskal-Wallis.





Caracterización de la comunidad vegetal

Las comunidades vegetales observadas a lo largo del gradiente topográfico fueron típicas de la Cuenca del Río Salado (Tabla 2). En el sitio 1, la comunidad vegetal estuvo conformada principalmente por *C. dactylon*, *D. spicata*, *E. viridans*, *L. tenuis*, *Paspalidium paludivagum* (A.S. Hitchc. & Chase) Parodi, *P. vaginatum* y *Triglochin striata* (R. & P.). En el sitio 2, *C. dactylon*, *D. spicata*, *L. multiflorum*, *L. tenuis*, *P. dilatatum*, *P. vaginatum* y *S. secundatum*. En el sitio 3, *C. dactylon*, *Juncus imbricatus* Laharpe, *J. Microcephalus* Kunth, *L. multiflorum*, *L. tenuis*, *P. dilatatum* y *S. secundatum*; y en el sitio 4 se encontraron las siguientes especies: *C. dactylon*, *L. multiflorum*, *L. tenuis*, *P. dilatatum* y *S. secundatum* (Tabla 2).

La diversidad (H) de especies vegetales presentó un patrón estacional semejante a lo largo del gradiente topográfico, con incrementos hacia fines del verano y primavera (Tabla 2). El patrón temporal de la riqueza de especies (R) coincidió con el patrón de la diversidad y mostró también un patrón espacial, con mayor cantidad de especies hacia el sitio de mayor altitud (sitio 4) (Tabla 2).

Tabla 2 Variación temporal de las frecuencias relativas de las especies estudiadas, y la diversidad (H), riqueza (R) y equitatividad (E) de la comunidad a lo largo del gradiente hídrico y salino-sódico. Se muestran los valores medios para cada estación.

Sitio	Especie	Estación			
		Verano	Otoño	Invierno	Primavera
1	<i>Distichlis spicata</i>	9,39	10,72	13,49	10,43
	<i>Lotus tenuis</i>	1,05	1,05	0,95	2,12
	<i>Paspalum vaginatum</i>	18,27	14,99	20,76	22,08
	H	1,62	1,65	1,54	1,88
	R	5,60	6,00	5,80	8,00
	E	0,98	0,92	0,90	0,91
2	<i>Lotus tenuis</i>	10,65	14,81	18,57	16,38
	<i>Stenotaphrum secundatum</i>	16,03	27,95	26,21	21,77
	H	1,92	1,43	1,55	1,67
	R	8,40	5,00	6,00	7,00
	E	0,91	0,90	0,88	0,87
3	<i>Lotus tenuis</i>	9,38	5,76	8,07	6,75
	<i>Stenotaphrum secundatum</i>	23,47	30,66	23,16	24,00
	H	1,91	1,45	1,64	1,90
	R	9,00	5,40	6,60	9,40
	E	0,88	0,86	0,88	0,85
4	<i>Lotus tenuis</i>	9,60	9,75	10,66	14,16
	<i>Stenotaphrum secundatum</i>	19,32	19,15	20,58	18,64
	H	2,10	1,82	1,86	2,08
	R	10,00	7,80	8,40	11,00
	E	0,92	0,89	0,88	0,87

Patrón estacional y espacial de N y P en *L. tenuis* y gramíneas co-dominantes

La concentración de N en tejido vegetal fue mayor en *L. tenuis* que en *P. vaginatum* y *S. secundatum* (Fig. 12). La estacionalidad no tuvo un efecto marcado sobre la concentración de N en las distintas plantas estudiadas. En *L. tenuis* solo se observó un incremento del %N en vástago hacia fin de otoño e invierno en los sitios 1 y 4, y no se registraron diferencias significativas en los sitios 2 y 3. El %N en raíz no denotó cambios a lo largo del estudio en forma espacial (Fig. 12 a, c, e y g). La concentración de N en vástago de las gramíneas co-dominantes aumentó hacia fin de invierno. El %N en raíz mostró cambios estacionales en *P. vaginatum*, registrando el menor valor en invierno (Fig. 12 b), mientras que en las raíces de *S. secundatum* no se observaron cambios estacionales significativos en los sitios 2, 3 y 4 (Fig. 12 d, f y h).

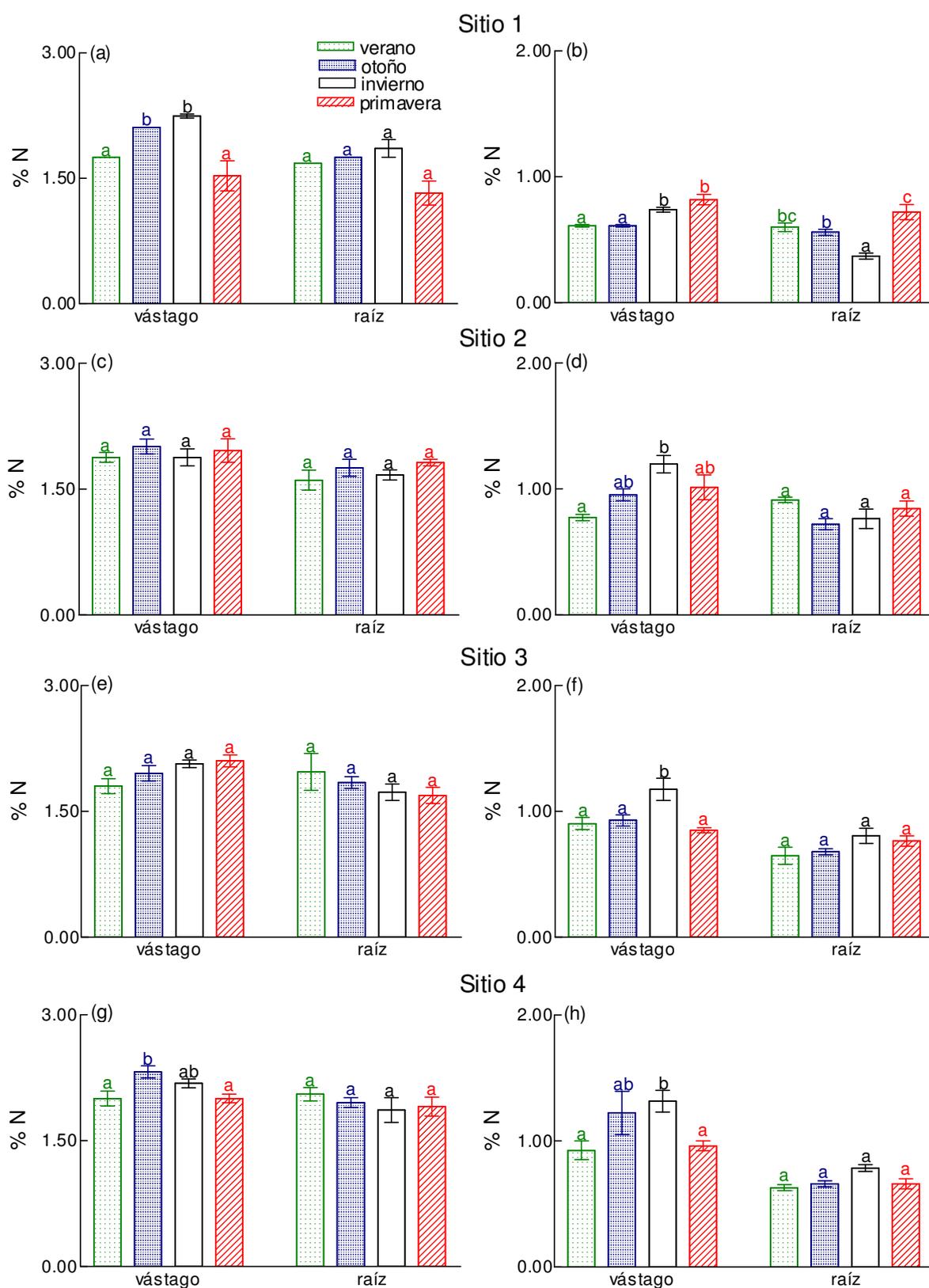
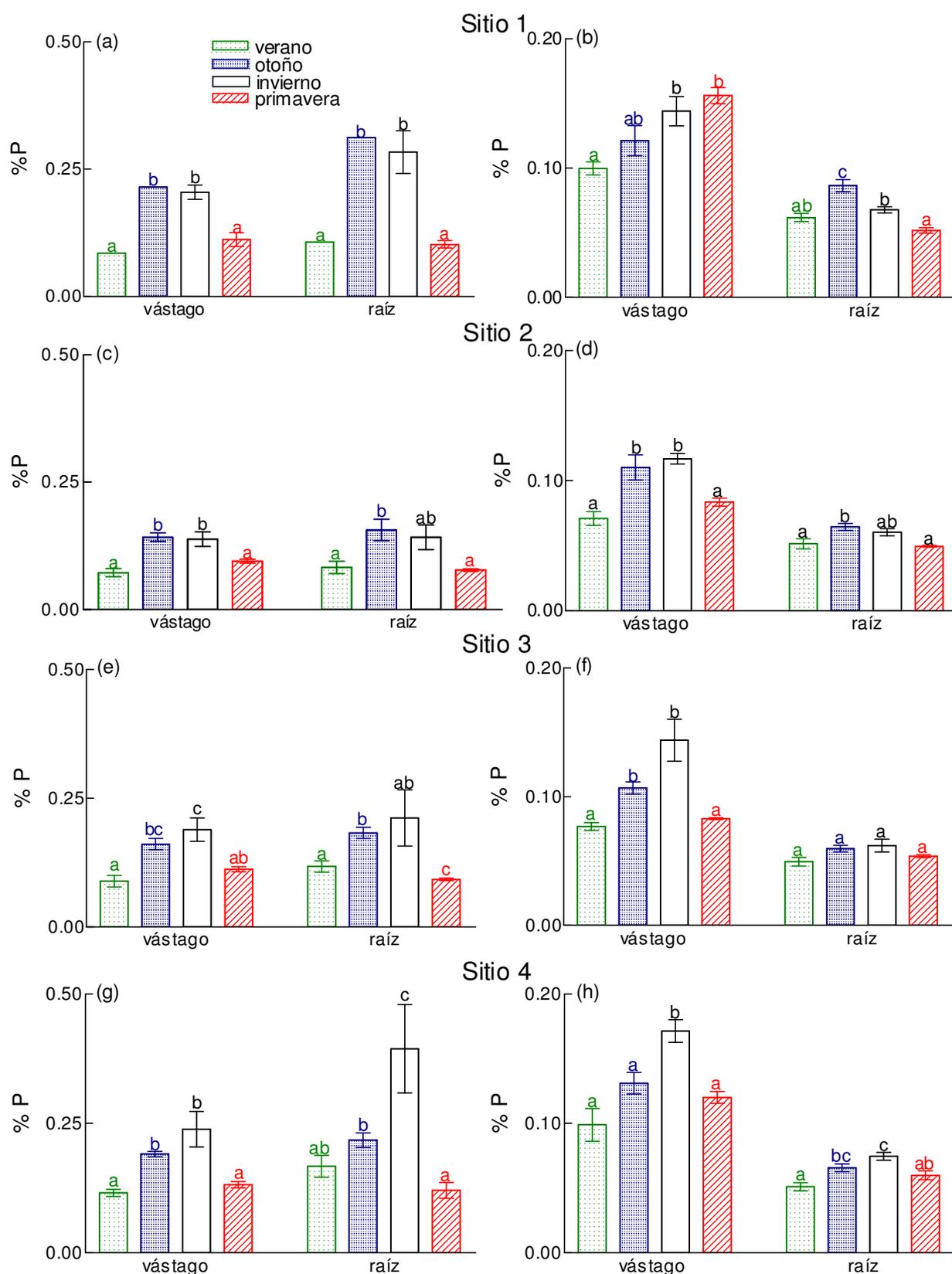


Fig. 12 Dinámica estacional y espacial de la concentración de N en vástago y raíz de *L. tenuis* (a, c, e y g), *P. vaginatum* (b) y *S. secundatum* (d, f y h). Se muestran los valores medios de cinco réplicas \pm error estándar. En cada sitio, medias seguidas por letras distintas indican diferencias estacionales significativas ($P < 0.05$) por el test de Tukey.

Sitio 1, N en vástago de *L. tenuis* fue analizado por el test no-paramétrico Kruskal-Wallis. El N en vástago de *P. vaginatum* (sitio 1) y *S. secundatum* (sitios 3 y 4) fue analizado como *In* dato.

En plantas de *L. tenuis*, la concentración de P también fue mayor en comparación con las gramíneas co-dominantes, sin embargo todas las especies vegetales analizadas presentaron el mismo patrón estacional. Hubo un incremento de la concentración hacia fin de otoño e invierno y valores mínimos hacia fin de verano y primavera (Fig. 13). En *L. tenuis* la concentración de P en la raíz fue mayor que la concentración registrada en vástago (Fig. 13 a, c, e y g), pero en las gramíneas acompañantes la relación fue opuesta, mayor en vástago y menor en raíz (Fig. 13 b, d, f y h). Ni el %N o el %P en vástago o raíz mostraron correlaciones significativas ($P > 0.05$) con el N o P disponibles medidos en suelo.



Dinámica estacional de la colonización micorrícica y nodulación radical a lo largo del gradiente topográfico

Cada una de las especies estudiadas, *L. tenuis*, *P. vaginatum* y *S. secundatum*, a lo largo del gradiente hídrico y salino-sódico presentaron en sus raíces estructuras típicas de la colonización establecida por hongos formadores de MA.

En las raíces de *L. tenuis*, la colonización micorrícica presentó un patrón estacional semejante en todos los sitios analizados (Fig. 14 a, c, e y g). Dicho patrón temporal denotó un incremento hacia fin de primavera y verano, y una disminución hacia el otoño e invierno. El índice de colonización micorrícica total (MC) alcanzó un valor medio anual para todos los sitios analizados de 0,89. La colonización por arbusculos (AC) aumentó hacia fin del invierno y durante la primavera en todos los sitios del gradiente topográfico. En oposición al patrón estacional observado en el índice AC, la colonización por vesículas (VC) fue máxima hacia fin del verano en los cuatro sitios estudiados y tendió a mantenerse constante en el resto de las estaciones con excepción del sitio 4, en el cual también se registró un incremento (Fig. 14 a, c, e y g).

Se observó también un efecto estacional en la morfología de colonización en las raíces de las gramíneas acompañantes *P. vaginatum* (Fig. 14 b) y *S. secundatum* (Fig. 14 d, f y h). Las especies co-dominantes presentaron índices de colonización micorrícica total (MC) inferiores a los observados en las raíces de *L. tenuis*, y alcanzaron valores medios anuales de 0,44 y 0,76 respectivamente. El patrón estacional de MC en las raíces de *P. vaginatum* (sitio 1) mostró un incremento hacia fin de la primavera, mientras que en las raíces de *S. secundatum* los períodos de mayor colonización correspondieron al verano, otoño e invierno en los sitios 2, 3 y 4.

La colonización por arbusculos y por vesículas mostraron patrones temporales opuestos en todo el gradiente topográfico. Cuando AC alcanzó un valor máximo en primavera, VC fue mínimo para la misma estación. Además el patrón temporal de ambos índices fue similar en las raíces de *L. tenuis* y de las gramíneas. Por otra parte, la colonización solamente por hifa (HO) fue mayor en las gramíneas co-dominantes en relación con la leguminosa.

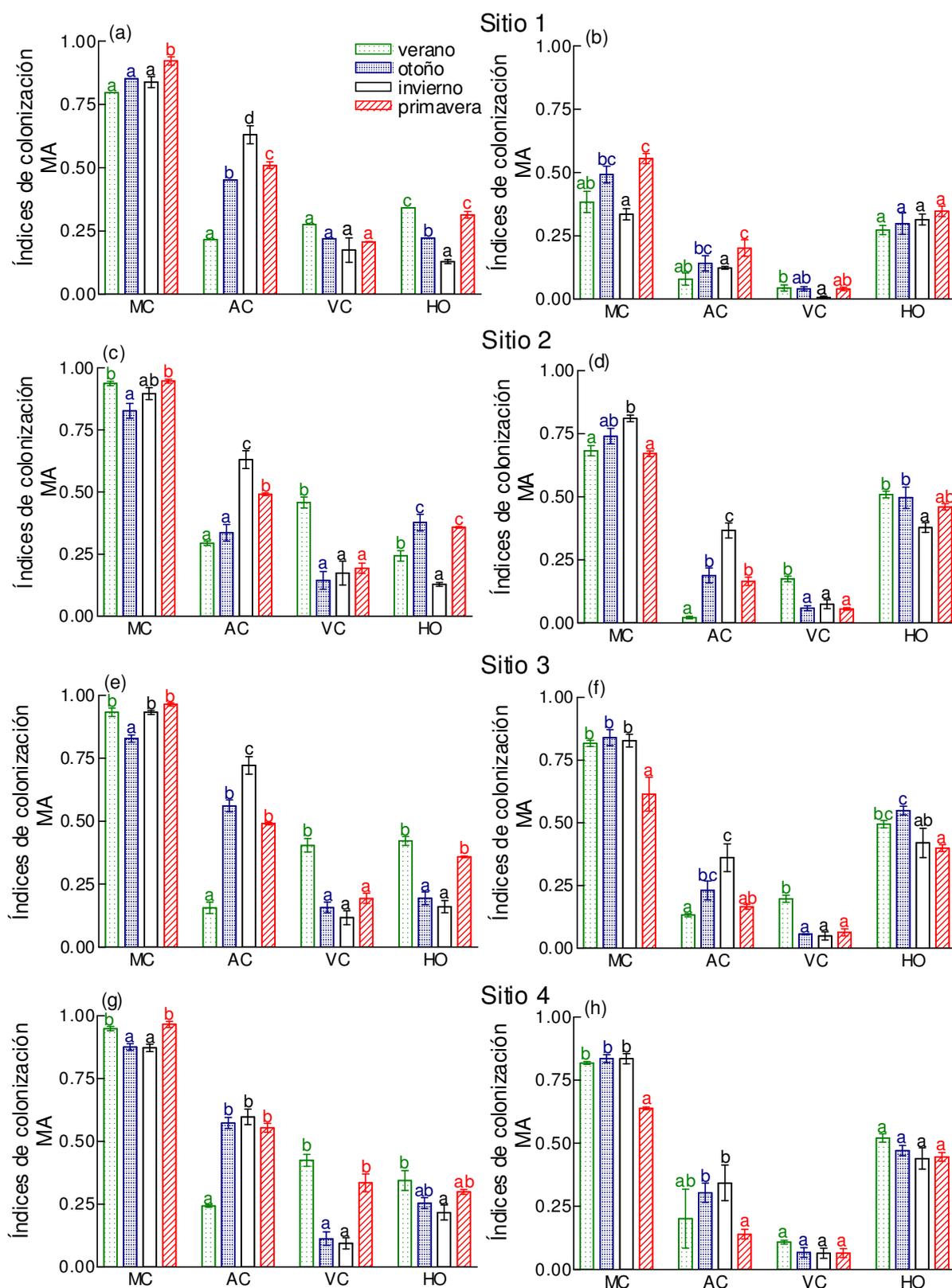


Fig. 14 Variación estacional y espacial de la colonización por hongos MA en raíces de *L. tenuis* (a, c, e y g), *P. vaginatum* (b) y *S. secundatum* (d, f y h). Se muestran los valores medios de cinco réplicas \pm error estándar. MC (fracción total de la raíz colonizada), AC (colonización por arbusculos), VC (colonización por vesículas) y HO (colonización por hifa solamente). Medias seguidas por letras distintas son significativamente diferentes ($P < 0.05$) por el test de Tukey.

En *S. secundatum*: AC en los sitios 3 y 4 fueron analizados como *ln* dato, HO en sitio 3 fue analizado por el test no paramétrico de Kruskal-Wallis.

Las especies vegetales estudiadas presentaron los tipos de colonización *Arum*, *Paris*, y se denominó como tipo Intermedio cuando se observó el desarrollo de hifas intercelulares y coils intracelulares en forma conjunta según los criterios seguidos por Yamato (2004) (Fig. 15 y 16). En las raíces de *L. tenuis*, el tipo morfológico observado espacial y temporalmente fue el *Arum*. En *P. vaginatum*, el tipo *Arum* fue predominante en verano, otoño e invierno, pero en primavera se observó el tipo morfológico *Paris* (Fig. 15 y 16). En las raíces de *S. secundatum* se registraron los tres tipos morfológicos de colonización en forma espacial y temporal, siendo preponderantes el tipo *Arum* y *Paris* (Fig. 15 y 16).

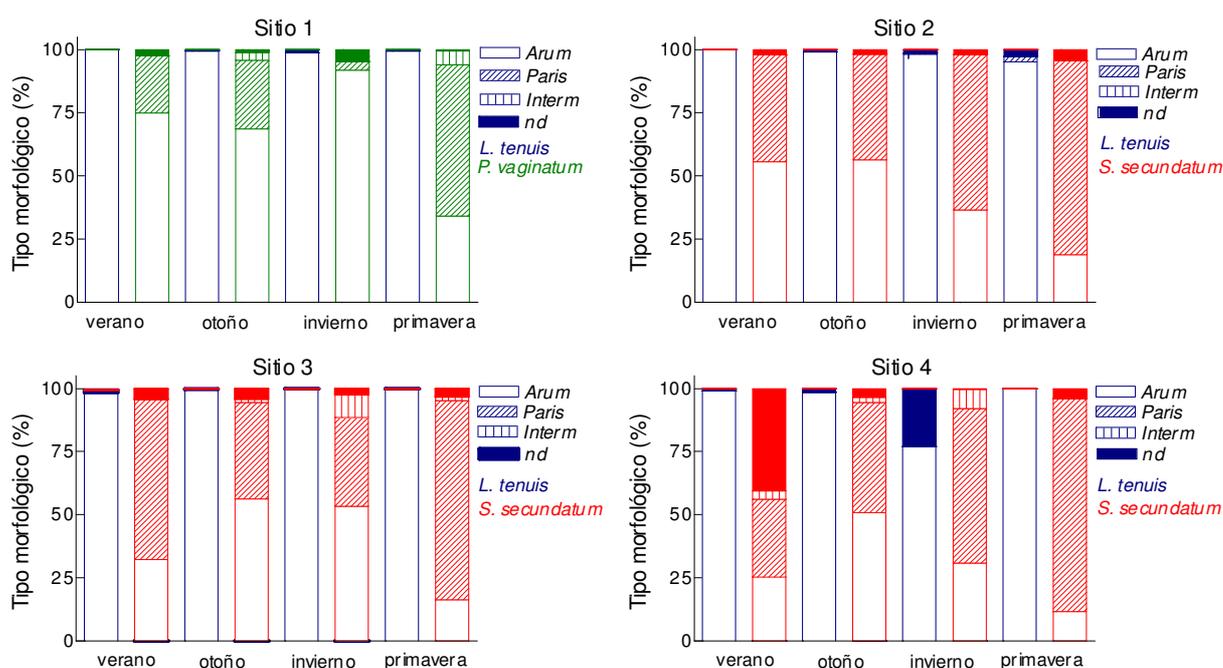


Fig. 15 Descripción estacional y espacial de los tipos morfológicos de colonización micorrízica en raíces de *L. tenuis*, *P. vaginatum* y *S. secundatum*. La frecuencia de cada tipo morfológico se expresa como porcentaje. *Interm*: intermedia, *Nd*: no determinado.

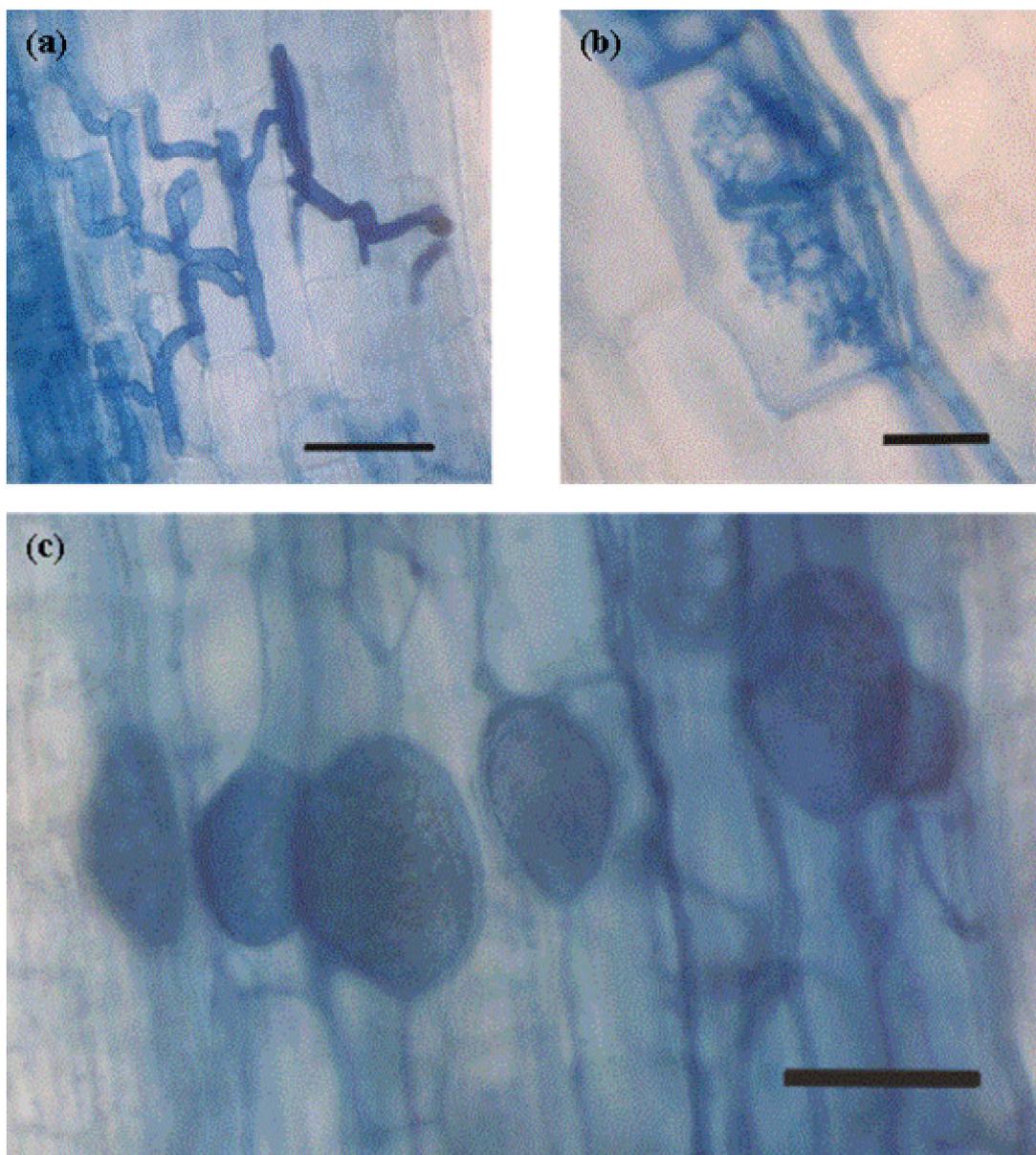


Fig. 16 Caracterización de la morfología de colonización en las raíces de *L. tenuis*. (a) Punto de entrada y desarrollo hifal intra e intercelular (barra: 50 μm), (b) arbúsculo tipo *Arum* (barra: 50 μm), (c) vesículas e hifas intercelulares (barra: 100 μm).

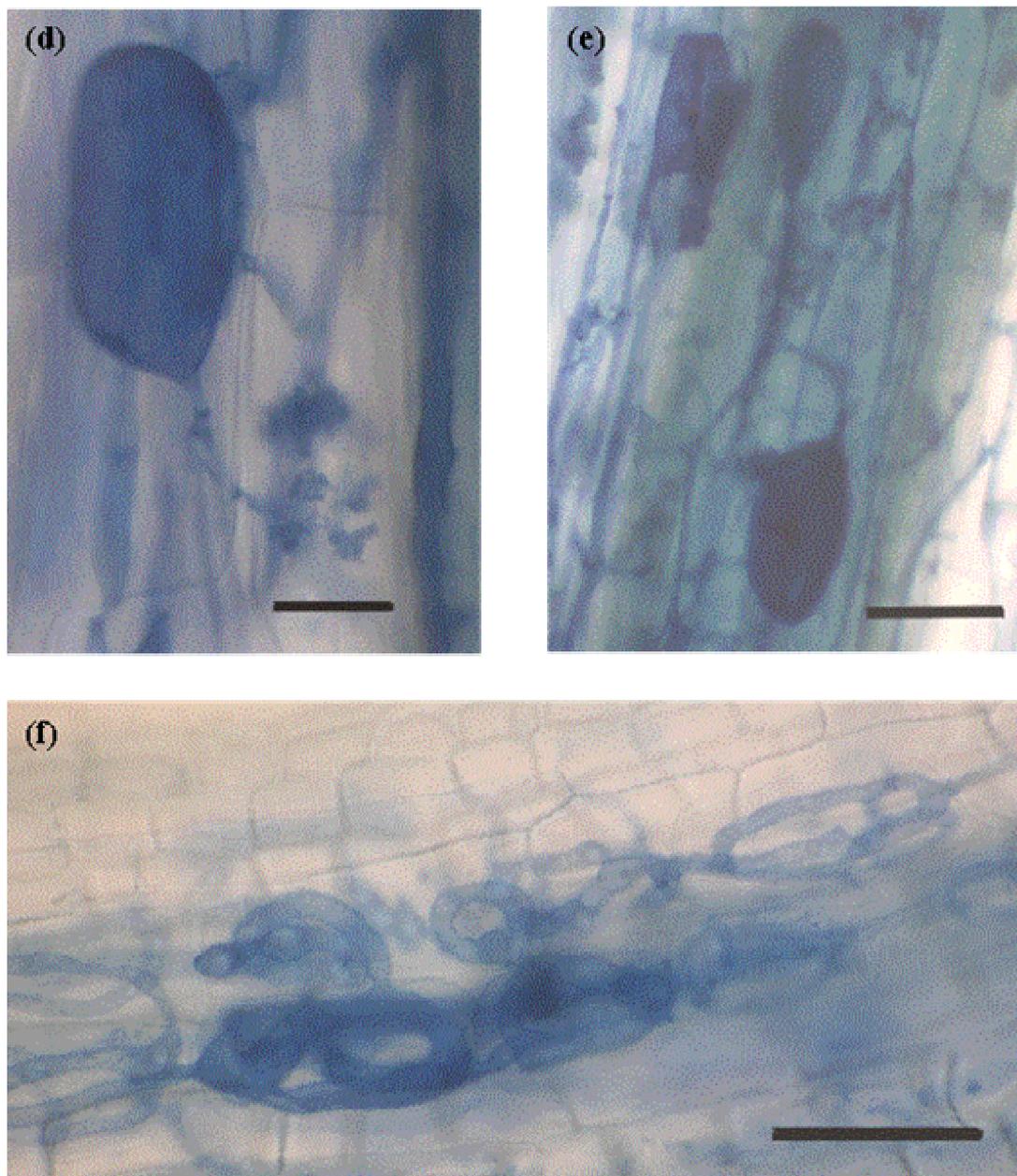


Fig. 16 Caracterización de la morfología de colonización en las raíces de *P. vaginatum*. (d) Vesícula y arbúsculo tipo *Arum* (barra: 20 μm), (e) vesículas, arbúsculos tipo *Arum* e hifas intercelulares (barra: 50 μm), (f) coils característicos del tipo morfológico de colonización *Paris* (barra: 50 μm).

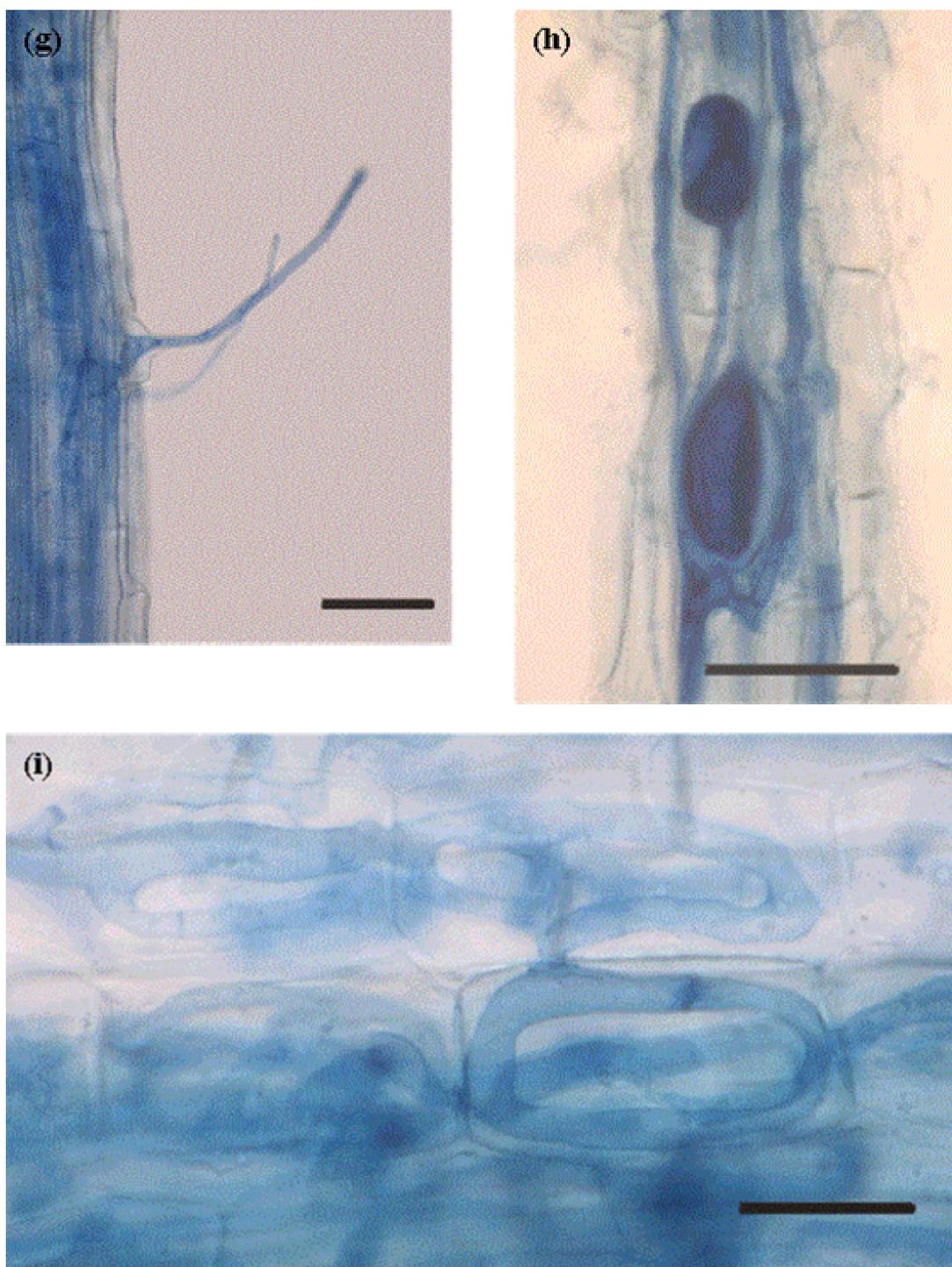


Fig. 16 Caracterización de la morfología de colonización en las raíces de *S. secundatum*. (g) Punto de entrada (barra: 50 μm), (h) vesículas e hifas intercelulares (barra: 50 μm), (i) coils del tipo morfológico *Paris* (barra: 50 μm).

El número de puntos de entrada (PE) por unidad de raíz colonizada en *L. tenuis* fue dos veces mayor al observado en las raíces de las gramíneas co-dominantes, tanto en forma temporal como espacial (Fig. 17 a, b, c y d). Dicho patrón estacional presentó un incremento hacia fin de la primavera en todos los sitios estudiados excepto en el sitio 4, ubicado a mayor altitud sobre el gradiente, donde el aumento no fue significativo. En las raíces de *P. vaginatum* se registró un incremento en el número de PE también hacia fin de primavera (Fig. 17 a), mientras que en las raíces de *S. secundatum* solo se observó este patrón en el sitio 2, en el sitio 3 no se registraron diferencias significativas, y en el sitio 4 los valores de PE fueron máximos en otoño e invierno (Fig. 17 b, c y d).

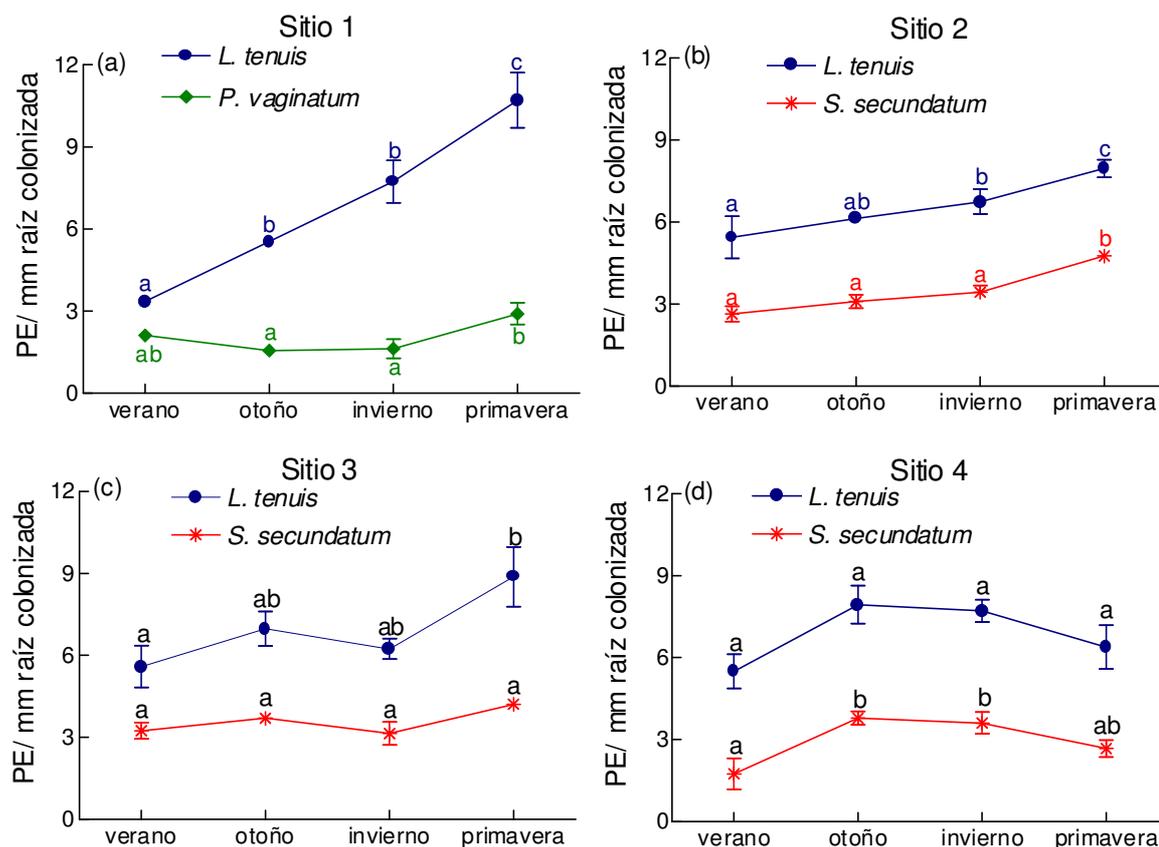


Fig. 17 Patrón estacional del número de puntos de entrada en las raíces de *L. tenuis*, *P. vaginatum* y *S. secundatum* a lo largo del gradiente hídrico y salino-sódico. Se representan los valores medios estacionales (\pm error estándar) en cada sitio. Medias seguidas por letras distintas indican diferencias estacionales significativas ($P < 0.05$) por el test de Tukey (N=5).

Con el objetivo de caracterizar la dinámica de la morfología de colonización micorrícica en el pastizal natural sometido a estrés abiótico se realizó un análisis de las relaciones entre variables micorrícicas tales como: MC, AC, VC, HO y PE.

Los valores asociados con el índice MC así como las relaciones entre éste y cada uno de los índices que describen la colonización micorrícica (AC, VC y HO) versus el número de puntos de entrada ajustaron significativamente a cada una de las ecuaciones propuestas (Fig. 18).

De las relaciones entre MC vs PE (Fig. 18 a) y HO:MC vs PE (Fig. 18 d) surge que en las raíces de *L. tenuis* a medida que aumenta el número de puntos de entrada en forma estacional, el índice MC permanece siempre alto y constante, registrándose el máximo valor de PE hacia el final de la primavera, dicho patrón está asociado en forma inversa con valores de HO:MC. En las raíces de *P. vaginatum* y *D. spicata*, a mayor número de puntos de entrada se observó también mayor colonización, lo cual coincide con altos valores de HO:MC (Fig. 18 a y d). *S. secundatum* alcanza el valor máximo de MC con un menor número de puntos de entrada (Fig. 18 a) y una elevada relación HO:MC (Fig. 18 d) en comparación con las raíces de la leguminosa.

Al analizar la relación AC:MC versus el número de puntos de entrada se establece una correlación positiva en todas las especies evaluadas (Fig. 18 b). La relación VC:MC vs PE es menor en las gramíneas en relación con la leguminosa (Fig. 18 c).

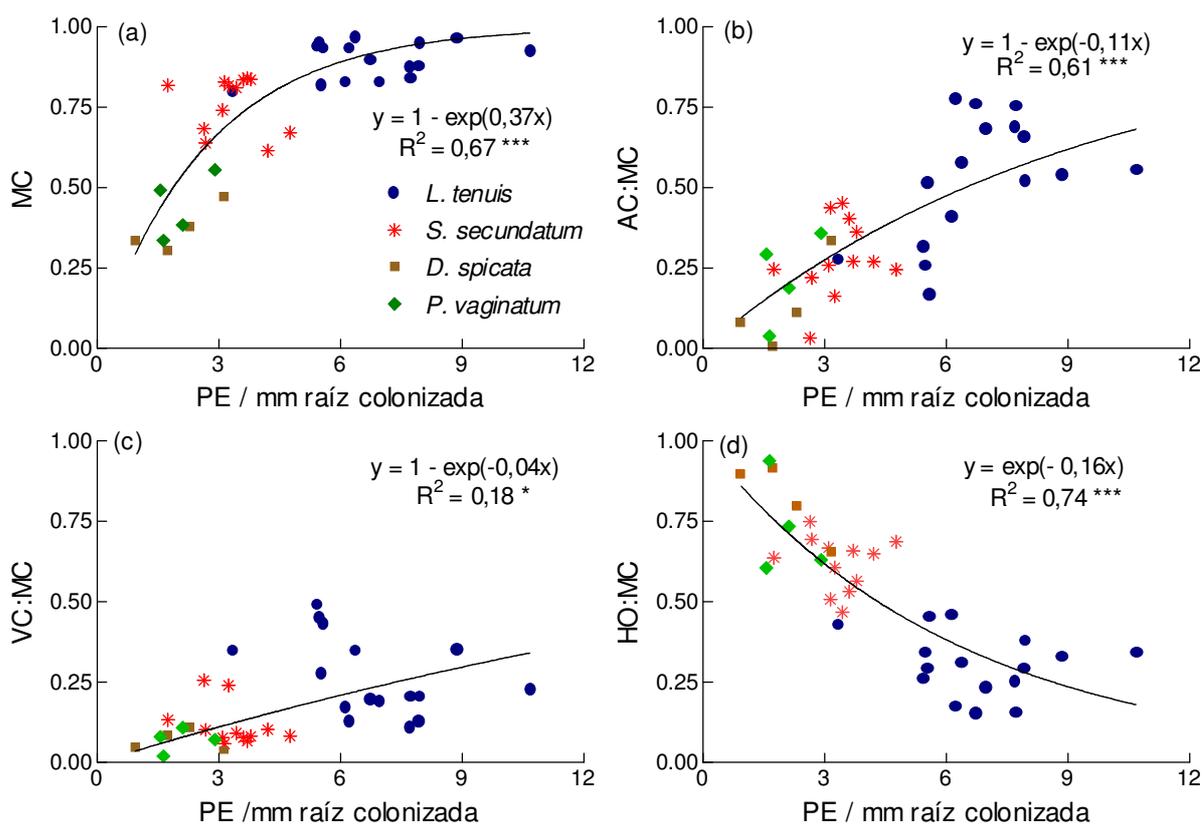


Fig. 18 Relación entre la dinámica de colonización micorrícica y el número de puntos de entrada en las raíces de *L. tenuis*, *P. vaginatum*, *D. spicata* y *S. secundatum*. MC (fracción total de la raíz colonizada), AC (colonización por arbusculos), VC (colonización por vesículas), HO (colonización por hifa solamente) y PE (puntos de entrada).

La densidad de esporas mostró estacionalidad a lo largo del gradiente topográfico, excepto en el sitio 2 donde no se registraron diferencias significativas en el año (Fig. 19 a). El patrón estacional del número de esporas presentó valores máximos en verano y disminuyó desde el otoño hasta la primavera (Fig. 19 a).

La densidad de micelio externo no se diferenció en las dos estaciones analizadas a lo largo del gradiente topográfico, sin embargo los valores más altos se observaron en el sitio 3 y los menores en el sitio 1 (Fig. 19 b).

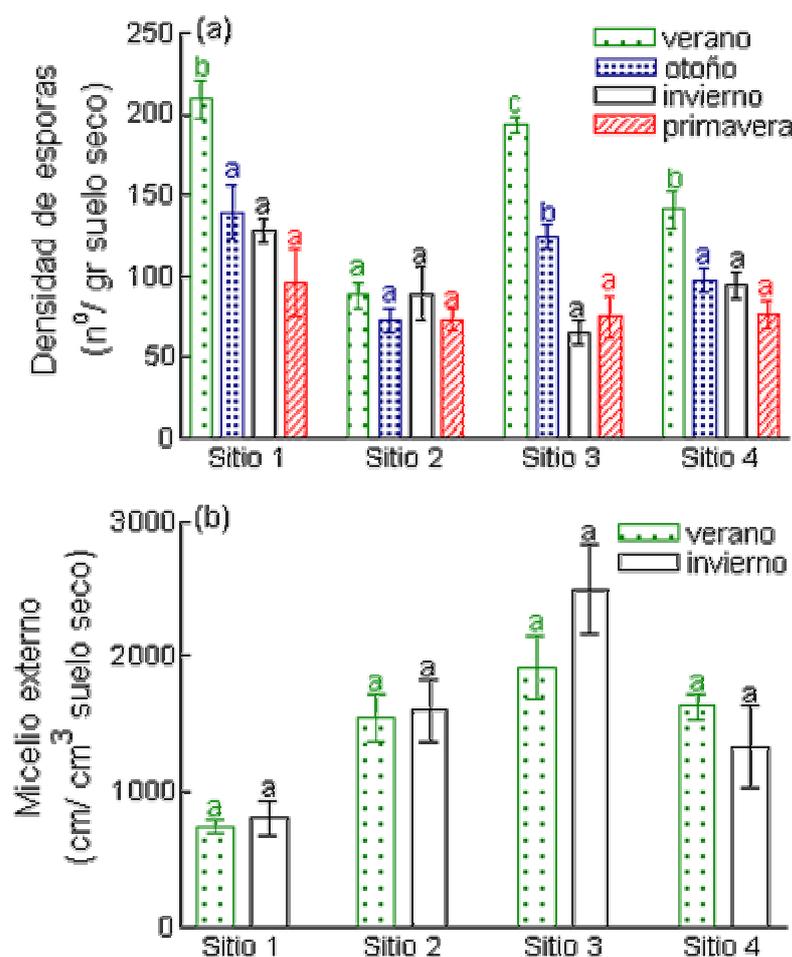


Fig. 19 Cambios estacionales y espaciales en la densidad de esporas (a) y micelio externo (b) de hongos MA. Medias estacionales de cinco repeticiones \pm error estándar. En cada sitio, las medias seguidas por letras distintas son significativamente diferentes ($P < 0.05$) por el test de Tukey.

El número de nódulos de *Rhizobium sp* en las raíces de *L. tenuis* fue mayor en los sitios 3 y 4, pero no se observó estacionalidad. Los sitios 1 y 2 presentaron variación temporal, con valores máximos en verano los que disminuyeron desde el otoño hacia la primavera (Fig. 20).

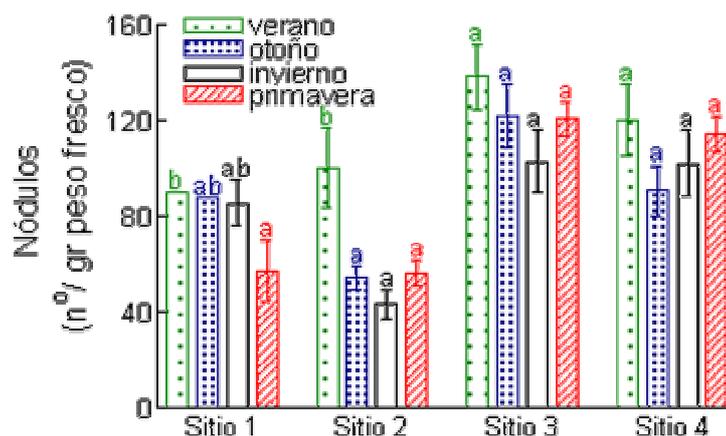


Fig. 20 Variación espacial y temporal del número de nódulos en las raíces de *L. tenuis*. Se muestran los valores medios estaciones (\pm error estándar) (N=5). Las medias seguidas por letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$) por el test de Tukey. En el sitio 2, los datos fueron analizados como *ln* dato.

Gradiente topográfico y variables edáficas

Con el objetivo de observar la distribución, variabilidad y diferencias entre los cuatro sitios del gradiente topográfico en las variables: edáficas, comunidad vegetal y hongos MA se realizaron sendos ACP. La correlación en forma espacial y temporal entre las variables de cada grupo se midió a través del coeficiente de correlación de Pearson.

El diagrama de ACP para las variables edáficas (Fig. 21 a) mostró que los ejes I y II en conjunto explicaron el 85,99% de la varianza acumulada. Este diagrama también muestra que cada sitio se ubicó en un cuadrante distinto y confirma la elección previa de los sitios con diferentes variables edáficas. El eje I absorbió 64,59% de la varianza total y correlacionó negativamente con pH ($r = -0,975$), CE ($r = -0,925$), P ($r = -0,769$), Na^+ intercambiable ($r = -0,869$) y contenido de humedad ($r = -0,774$), y positivamente con Ct ($r = 0,868$) y Nt ($r = 0,812$) ($P=0,01$). Por lo tanto, los sitios 1 y 2 se ubicaron a la izquierda del gráfico (Fig. 21 a), caracterizados por valores elevados de pH, CE, P, Na^+ intercambiable y contenido de humedad, y hacia la derecha del gráfico (escala positiva) los sitios 3 y 4 asociados con una mayor fertilidad (Ct y Nt). En consecuencia, el eje I reflejó una disminución del pH, CE, P,

Na⁺ intercambiable y contenido de humedad, y un incremento en Ct y Nt a medida que aumenta la altitud (hacia la escala positiva del eje). El eje II absorbió el 21,39% de la varianza total y correlacionó inversamente solo con el Ca⁺ intercambiable ($r = -0,976$), que separa a los sitios 1 y 4 con valores mayores de Ca⁺ intercambiable de los sitios 2 y 3 con valores menores.

Gradiente topográfico y comunidad vegetal

Del análisis relacionado con las variables descriptivas de la comunidad vegetal se observó que los dos primeros ejes explicaron 78,69% de la varianza acumulada (Fig. 21 b). En el diagrama se puede distinguir al sitio 1 hacia la escala negativa del eje I y al sitio 4 hacia la escala positiva del mismo eje, mientras que los sitios 2 y 3 no mostraron una clara distribución. El eje I absorbió 52,81% de la varianza total y correlacionó positivamente con H ($r = 0,916$) y R ($r = 0,945$), pero negativamente con FR gramíneas acompañantes ($r = -0,720$). El eje II, que explicó 25,89% de la varianza total, se asoció negativamente con E ($r = -0,623$) y positivamente con FR *L. tenuis* ($r = 0,837$). En la escala positiva del eje I (a la derecha de la Figura 21 b) se ubicaron las combinaciones sitio-estación con mayor diversidad y riqueza florística, y menor FR gramíneas co-dominantes. Valores altos de equitatividad (comunidades con baja diversidad de especies) estuvieron relacionados con valores elevados FR gramíneas co-dominantes en el eje I. La mayor FR de *L. tenuis* se registró en el sitio 2 en invierno y primavera, y la menor en el sitio 1, con valores intermedios en los sitios y estaciones remanentes. Valores elevados de H y R estuvieron asociados con la primavera y verano en todos los sitios excepto en el sitio 1, el cual solamente estuvo asociado a esos parámetros en primavera.

Gradiente topográfico y variables de MA

La Figura 21 c esquematiza los resultados del ACP correspondiente a los datos de variables micorrícicas estimados en las raíces de *L. tenuis* y de gramíneas co-dominantes. Los tres primeros ejes explicaron 84,45% de la varianza acumulada. El eje I absorbió 40,36% de la varianza total y estuvo asociado en forma positiva con la colonización por vesículas en la leguminosa ($r = 0,930$) y gramíneas ($r = 0,837$), y correlacionó inversamente con la colonización por arbuscúlos en las raíces de *L. tenuis* ($r = -0,879$). Los valores máximos de VC en todas las plantas y sitios analizados se registraron en la estación más cálida, y dichos resultados coinciden con los valores mínimos de AC. Entonces, hacia la derecha del gráfico (escala positiva) el eje I permitió discriminar al verano de las estaciones restantes independientemente del sitio. 27,53% de la varianza total fue explicada por el eje II, el cual correlacionó negativamente con la fracción total de la raíz colonizada en *L. tenuis* ($r = -0,762$) y especies acompañantes ($r = -0,772$).

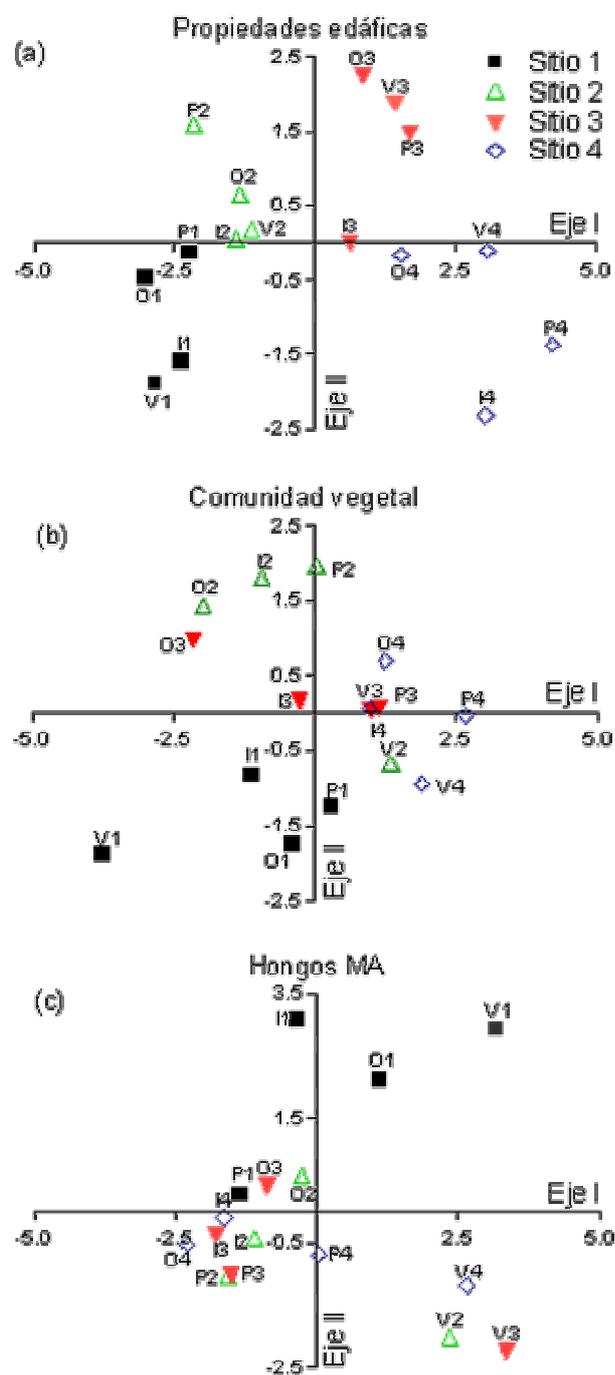


Fig. 21 Diagrama de ordenación correspondiente al Análisis de Componentes Principales (ACP) de las observaciones estacionales y espaciales de las variables asociadas con propiedades edáficas (a), variables descriptivas de la comunidad vegetal (b) y hongos MA (c). V (verano), O (otoño), I (invierno) y P (primavera). El número que sigue a cada estación indica el sitio.

Influencia de las propiedades edáficas sobre las variables micorrícicas

Las coordenadas de los tres primeros ejes de ordenación pertenecientes al ACC se muestran en la Figura 22. Los tres primeros ejes, indicadores del tamaño de la variación de la morfología de colonización y propágulos fúngicos explicó el 67,8% de la varianza total contabilizada (eje I: 40,4%, eje II: 19,9% y eje III: 7,5%). El coeficiente de correlación de Pearson entre los resultados de los tres primeros ejes derivados del conjunto de datos de MA y los resultados de las muestras que estuvieron combinadas linealmente con las propiedades de suelo fue significativo estadísticamente: 0,81; 0,93 y 0,82 para los ejes I, II y III. Además, el test de Monte Carlo indicó que el efecto total de las propiedades del suelo incluidas en la segunda matriz y los tres primeros ejes canónicos fueron estadísticamente significativos a una probabilidad de: eje I, $P = 0,234$, eje II, $P = 0,006$ y eje III, $P = 0,016$. Los valores de P reflejaron la importancia relativa de cada eje para explicar la asociación entre las propiedades de suelo y las variables MA.

El eje I correlacionó positivamente con DE ($P < 0,001$) y VCLt ($P < 0,05$), pero negativamente con ACLt ($P < 0,001$). El eje II correlacionó positivamente con MCLt ($P < 0,05$), MCGs ($P < 0,05$), VCLt ($P < 0,05$) y VCGs ($P < 0,05$). El eje III estuvo asociado positivamente con MCGs ($P < 0,01$) y ACGs ($P < 0,05$).

Con excepción del sitio 1, el cual fue claramente discriminado de los otros sitios en ambos gráficos, la ordenación ubicó a las observaciones desagregadas principalmente por estación más que por sitio (Fig. 22 a). En el gráfico que representa al eje I vs II, las observaciones tomadas en verano fueron ubicadas en la escala positiva del eje I y aquellas tomadas en invierno en la escala negativa (Fig. 22 a). De igual forma cuando se grafica el eje II vs III, las observaciones correspondientes al verano fueron segregadas a la escala positiva del eje II y las pertenecientes al invierno a la escala negativa del mismo eje (Fig. 22 b).

Los puntos que representan al otoño y primavera se encuentran próximos al valor de origen del eje II (Fig. 22 b). El sitio 1 fue situado en el extremo derecho de la Fig. 22 a, y sobre el cuadrante del extremo izquierdo en la Fig. 22 b. Los gráficos muestran la ordenación de las propiedades del suelo (CE, Na⁺ intercambiable y contenido de humedad) de la segunda matriz que estuvieron correlacionados significativamente ($P < 0,05$) con los ejes. Las flechas dibujadas señalan la dirección de máximo cambio de las propiedades del suelo a lo largo del diagrama. El largo de la flecha es proporcional a la magnitud del cambio en esa dirección; y para una mejor interpretación, cada flecha puede también ser extendida hacia atrás a través del origen central. Aquellas propiedades de suelo que tengan flecha larga están correlacionadas más cercanamente en la ordenación que aquellas con flechas cortas y tienen mayor importancia en la variación de propiedades micorrícicas. Cada símbolo asociado con una variable MA puede estar relacionado con cada flecha que representa una propiedad de suelo dibujando una perpendicular desde la línea de la flecha al punto que representa la variable fúngica (Fig. 22 a y b). Las variables micorrícicas con sus correspondientes proyecciones cercanas al extremo de la flecha estarán correlacionadas positivamente en forma muy fuerte e influenciadas por la flecha que representa una propiedad de suelo. Las flechas que representan el contenido de humedad ($P < 0,05$) y Na⁺ intercambiable ($P < 0,05$), las cuales correlacionan positivamente con el eje II, están señalando en la dirección del sitio 1, que indican valores elevados de estas propiedades de suelo en este sitio y positivamente asociados con DE (Fig. 22 a). En el diagrama que esquematiza el eje II vs III, el contenido de humedad, CE y Na⁺ intercambiable señalan también hacia el sitio 1. Además, este diagrama mostró que CE y Na⁺ intercambiable estuvieron asociados positivamente con ACLt y MCLt, y el contenido de humedad estuvo asociado positivamente con DE (Fig. 22 a). Los ángulos entre las flechas reflejan la inter-correlación entre las variables, y el ángulo entre una flecha y un eje es una medida del grado de correlación de la variable con el eje. Entonces, el contenido de humedad, el Na⁺ intercambiable y la CE están inter-correlacionados (Fig. 22 a y b).

Del diagrama de la Figura 22 surgieron además asociaciones claramente diferenciadas. Los valores de ACLt y ACGs estuvieron ubicados en el cuadrante inferior izquierdo asociados con las observaciones realizadas en invierno, y en una posición opuesta las fracciones VCLt y VCGs en el cuadrante superior derecho asociado con las observaciones de verano (Fig. 22 a). Además, el eje III discriminó entre las variables micorrícicas de *L. tenuis* ubicadas en la escala positiva de aquellas pertenecientes a las gramíneas segregadas en la escala negativa (Fig. 22 b). La Figura 22 b también muestra que los valores más altos de MCLt fueron asociados con el muestreo de primavera y MCGs con el de verano.

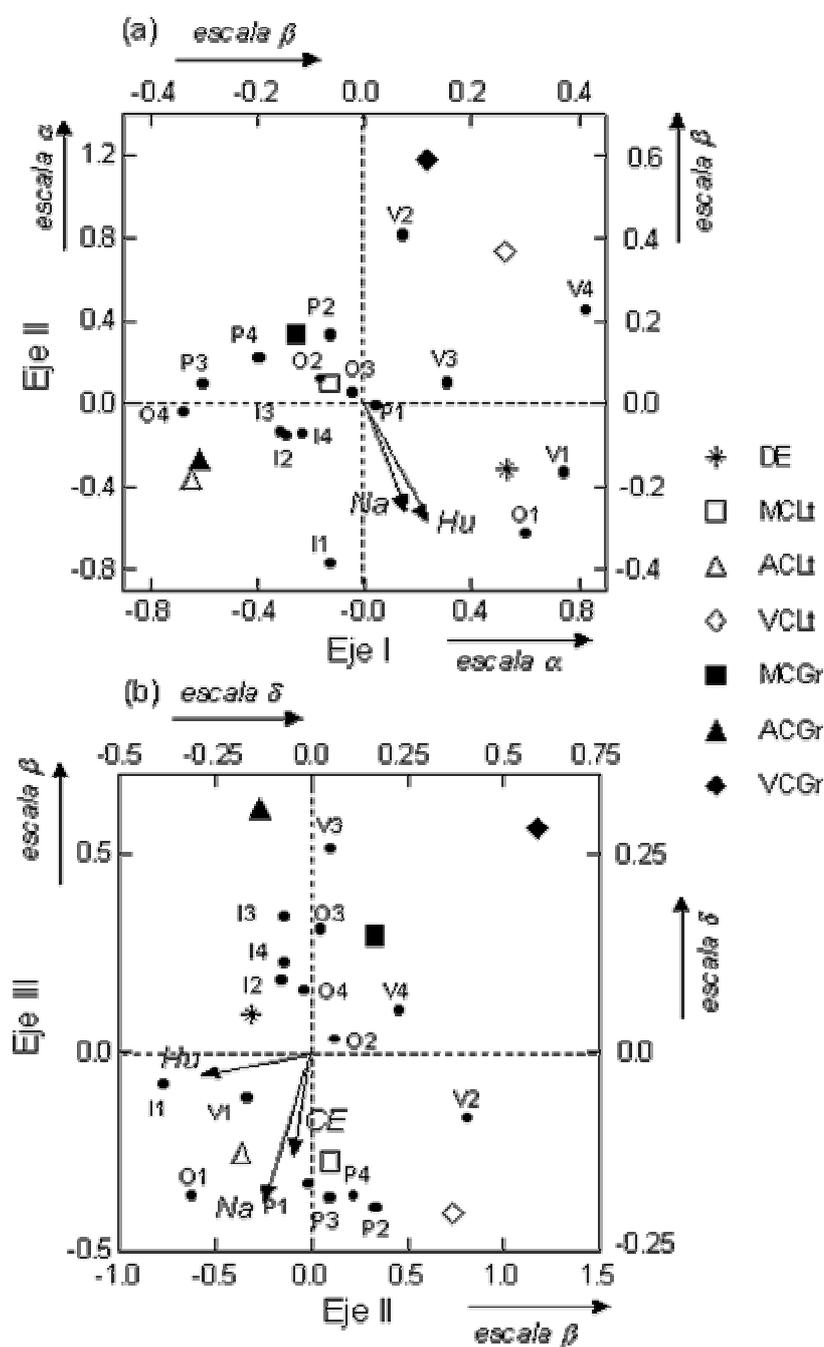


Fig. 22 Diagrama de ordenación del Análisis de Correspondencia Canónica (ACC) de las observaciones estacionales y espaciales de las variables asociadas con hongos MA (matriz principal) y las propiedades del suelo (matriz secundaria). *L. tenuis* (Lt), gramíneas (Gs), MC (fracción total de la raíz colonizada), AC (colonización por arbusculos), VC (colonización por vesículas), DE (densidad de esporas en suelo), Na (sodio intercambiable), Hu (contenido de humedad), CE (conductividad eléctrica). V (verano), O (otoño), I (invierno) y P (primavera). El número que sigue a cada estación indica el sitio.

Influencia de la concentración de nutrientes en tejido vegetal sobre las variables micorrícicas

Las coordenadas de los tres primeros ejes de ordenación del ACC mostraron la distribución de las observaciones estacionales (Fig. 23). Los tres primeros ejes, indicadores del tamaño de la distribución de la morfología de colonización micorrícica y propágulos fúngicos explicó el 82,2% de la varianza total contabilizada (eje I: 55,0%, eje II: 19,65% y eje III: 7,6%). El coeficiente de correlación de Pearson entre los resultados de los tres primeros ejes derivados del conjunto de datos de las variables asociadas con MA y los resultados de las muestras que están combinadas linealmente con el contenido de N y P en tejido vegetal fue significativo estadísticamente: 0,96; 0,65 y 0,74 para el eje I, II y III respectivamente. Además, el test de Monte Carlo indicó que el efecto total de las variables asociadas al contenido de nutrientes en tejido vegetal incluidos en la segunda matriz y los tres primeros ejes canónicos fueron significativos estadísticamente con una probabilidad (P): eje I, $P = 0,008$; eje II, $P = 0,012$ y eje III, $P = 0,090$. Estos resultados indicaron que la importancia relativa de los ejes I y II es mayor que la del eje III para explicar las asociaciones entre los nutrientes en tejido vegetal y las variables micorrícicas.

El eje I correlacionó positivamente con DE ($P < 0,001$), ACLt ($P < 0,001$) y VCLt ($P < 0,001$), pero negativamente con MCGs ($P < 0,05$) y ACGs ($P < 0,001$). El eje II correlacionó positivamente con MCLt ($P < 0,05$), MCGs ($P < 0,01$), VCLt ($P < 0,05$) y VCGs ($P < 0,001$). El eje III no correlacionó con las variables micorrícicas ni con la concentración de nutrientes (N y P) en tejido vegetal.

Con excepción del sitio 1, discriminado de los otros sitios, la ordenación ubicó a las observaciones desagregándolas principalmente por estación más que por sitio (Fig. 23). Las observaciones estacionales del sitio 1 fueron ubicadas en el cuadrante inferior izquierdo (Fig. 23), pero en el caso de los sitios 2-4, la ordenación ubicó a las observaciones desagregándolas principalmente por estación más que por sitio (Fig. 23). Las observaciones

correspondientes al muestreo de verano fueron situadas en la escala positiva del eje I y las del muestreo de invierno en la escala negativa (Fig. 23). Los puntos que corresponden al otoño se distribuyeron a lo largo del eje I discriminados por sitio, pero los puntos asociados con la primavera se aproximaron al origen y no mostraron una distribución especial (Fig. 23). Los gráficos muestran la ordenación de las variables de la segunda matriz caracterizada por la concentración de N y P en tejido vegetal (NVGs, NRGs, PVLt, PVGs) que correlacionaron significativamente ($P < 0,05$) con los dos primeros ejes (Fig. 23).

Las flechas dibujadas señalan la dirección del máximo cambio del contenido de nutrientes en tejido vegetal a lo largo del diagrama. Aquellos nutrientes que posean una flecha más larga están más cercanamente correlacionados en la ordenación que aquellos con flechas cortas y son más importantes en la explicación de la variación en los parámetros de MA. Cada variable micorrícica se encuentra representada por un símbolo, el que a su vez puede ser relacionado con cada una de las flechas (las que representan los contenidos de N y P en tejido vegetal) dibujando una perpendicular desde la línea de la flecha hasta el punto que representa la variable fúngica (Fig. 23). Las variables MA con sus proyecciones perpendiculares cercanas al extremo de la flecha estarían correlacionadas positivamente en forma más fuerte e influenciadas por la flecha que representa un nutriente en particular. Las flechas que representan a NVGs ($P < 0,001$), NRGs ($P < 0,05$), PVLt ($P < 0,05$) y PVGs ($P < 0,05$), las cuales correlacionan negativamente con el eje I, están señalando hacia el invierno y opuestas a las observaciones del sitio 1 y del verano (Fig. 23). Las flechas de NRGs ($P < 0,01$) correlacionaron positivamente con el eje II, y las flechas correspondientes a PVLt ($P < 0,05$) y PVGs ($P < 0,01$) negativamente con ese eje (Fig. 23). Además, las variables relacionadas con el N se ubicaron hacia la escala positiva del eje II y las del P hacia la negativa (Fig. 23).

El gráfico también muestra que el contenido de P en vástago de *L. tenuis* (PVLt) estuvo fuertemente asociado en forma positiva con los índices de colonización total y por arbusculos (MCLt y ACLt), y que el contenido de N en las gramíneas (NVGs y NRGs) estuvo

fuertemente asociado con los índices de colonización total y por arbusculos (MCGs y ACGs) (Fig. 23).

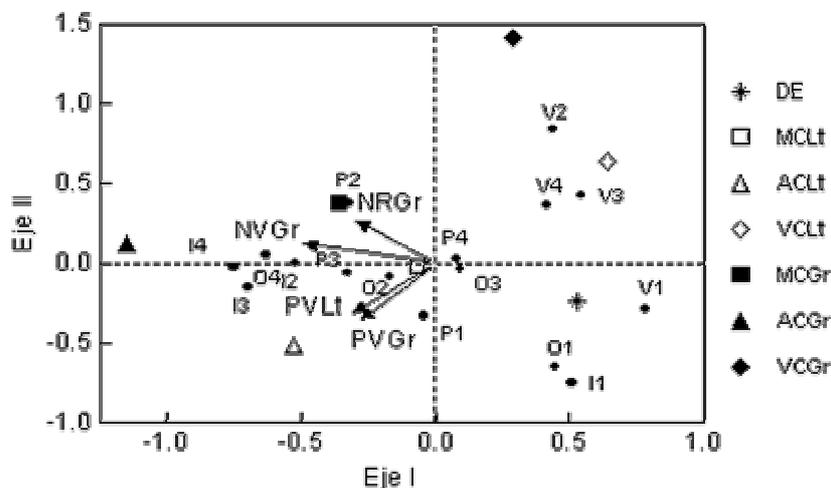


Fig. 23 Diagrama de ordenación correspondiente al Análisis de Correspondencia Canónica (ACC) de las observaciones estacionales y espaciales de las variables asociadas con hongos MA (matriz principal) y con las concentraciones de N y P (matriz secundaria). *L. tenuis* (Lt), gramíneas (Gs), MC (fracción total de la raíz colonizada), AC (colonización por arbusculos), VC (colonización por vesículas), DE (densidad de esporas en suelo), NV (concentración de N en vástago), NR (concentración de N en raíz), PV (concentración de P en vástago), PR (concentración de P en raíz). V (verano), O (otoño), I (invierno) y P (primavera). Los números detrás de cada estación indican el sitio.

Capítulo 2

Evaluación de la infectividad micorrícica del suelo a lo largo del gradiente hídrico, salino y sódico

La Figura 24 muestra la variación del número de plantas colonizadas respecto al número de plantas totales expresada como índice para los cuatro sitios estudiados. El ajuste de los datos experimentales mediante la ecuación (3') compuesta por tres coeficientes por sitio y un total de doce coeficientes para los cuatro sitios, fue significativamente superior respecto a la ecuación (3) donde se utilizó una sola curva de ajuste para describir la respuesta de los cuatro sitios, la cual estuvo compuesta por tres coeficientes (Tabla 3). La Tabla 4 muestra los

coeficientes provenientes del ajuste (ecuación 3') para cada sitio e indica que en el suelo del sitio 3 se necesitaron 2,08 gr de suelo para alcanzar el 50% de las plantas colonizadas, mientras que en el sitio 4 se necesitaron 7,62 gr de suelo para lograr el 50% de las plantas colonizadas. En los sitios restantes los valores fueron 3,79 y 4,87 gr para los sitios 1 y 2 respectivamente (Tabla 4). La Figura 24 también muestra que el patrón obtenido para el sitio 2 fue diferente al patrón de los sitios restantes, e indica además que en el sitio 2 la tasa de incremento del número de plantas colonizadas en función del aumento de la concentración de suelo en diluciones mayores a 1, fue la menor de los cuatro casos.

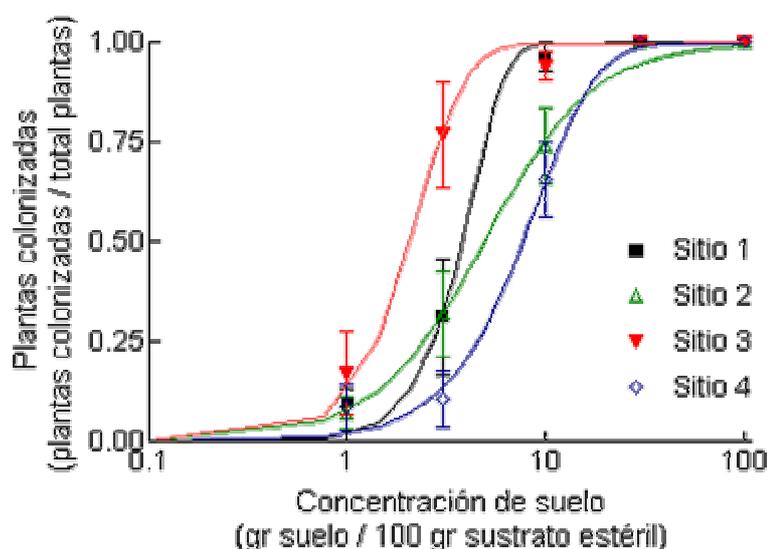


Fig. 24 Relación entre la concentración de suelo y la cantidad de plantas colonizadas después de 55 días de cultivo en los cuatro sitios que conforman el gradiente topográfico. Las medias (\pm error estándar) corresponden a cinco réplicas para cada concentración de suelo por sitio.

Tabla 3 Comparación de dos ecuaciones que describen la infectividad micorrícica de suelos pertenecientes a distintas posiciones a lo largo del gradiente topográfico.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianza	Valor de F
Total	3,2407	1	3,2407	
Ecuación (3)	2,9283	3	0,9761	
Residual Ec. (3)	0,3124	16	0,0195	50,06 ***
Ecuación (3')	2,9283	12	0,2440	
Residual Ec. (3')	0,0177	7	0,0025	97,60 ***
Mejora de ajuste Ec. (3') sobre Ec. (3)	0,2947	4	0,0737	29,48 ***

$$\text{Ec. (3)} \quad y = 1 - (1/(1+m_i c_i x^{n_i}))^{1/m_i}$$

$$\text{Ec. (3')} \quad y = 1 - (1/(1+mcx^n))^{1/m}$$

Tabla 4 Características de la curva de regresión y estimación de la infectividad micorrícica de los suelos estudiados (IMS).

Sitio	Coeficientes de la ecuación de regresión			IMS ₅₀
	m	C	n	
1	0,1402	0,0176	2,7928	3,7915
2	0,9974	0,0808	1,5885	4,8684
3	0,3955	0,1264	2,5187	2,0802
4	0,2765	0,0209	1,7714	7,6160

Capítulo 3

Efecto del déficit y exceso hídrico sobre el crecimiento y morfología vegetal, nutrición de N y P, propiedades del suelo y simbiosis MA-*L. tenuis* en un suelo salino-sódico

Propiedades edáficas

Tanto el déficit como el exceso hídrico en el suelo provocaron cambios significativos en las propiedades químicas del suelo. El pH disminuyó, y el Cs y contenido de Ca⁺⁺ aumentaron ante exceso hídrico respecto al control en capacidad de campo (Tabla 5). La inundación determinó un efecto positivo sobre el P en suelo, incrementando su disponibilidad un 22%, mientras que la sequía tuvo un efecto negativo sobre la disponibilidad de P, provocando una disminución del 32% en relación con el suelo control (Tabla 5).

Tabla 5 Efecto de la inundación y sequía sobre las propiedades edáficas.

Variable	Período inicial (75 días)		Capacidad de campo		Inundación		Sequía		Efecto sequía
	Período final (75 días inicial + 35 días de tratamiento = 110 días)		Inundación		Sequía		Efecto inundación		
pH	8,72 ± 0,04 a	9,39 ± 0,03 c	8,86 ± 0,04 b	0,06	9,50 ± 0,01 c	--	ns		
CE (dS/m)	4,38 ± 0,07 a	5,07 ± 0,17 b	5,18 ± 0,12 b	--	5,32 ± 0,10 b	--	ns		
CIC (cmol _e /kg) <i>ln</i>	17,60 ± 1,35 a	15,62 ± 0,57 a	16,72 ± 0,56 a	--	15,92 ± 0,30 a	--	ns		
PSI (%)	55,70 ± 5,04 a	60,54 ± 2,82 a	49,87 ± 1,66 a	--	59,50 ± 4,44 a	--	ns		
Ca ⁺⁺ (cmol _e /kg)	3,38 ± 0,13 b	2,58 ± 0,18 a	3,44 ± 0,17 b	-0,33	3,62 ± 0,28 b	-0,40	+		
Mg ⁺⁺ (cmol _e /kg)	2,76 ± 0,14 a	2,38 ± 0,04 a	2,66 ± 0,11 a	--	2,66 ± 0,20 a	--	ns		
K ⁺ (cmol _e /kg)	1,86 ± 0,10 a	1,62 ± 0,04 a	1,66 ± 0,06 a	--	1,66 ± 0,09 a	--	ns		
Na ⁺ (cmol _e /kg)	9,62 ± 0,62 a	9,40 ± 0,20 a	8,32 ± 0,28 a	--	9,48 ± 0,73 a	--	ns		
Ct (g/kg)	19,18 ± 0,51 a	19,56 ± 0,51 a	19,92 ± 0,39 a	--	19,43 ± 0,74 a	--	ns		
Cs (g/kg)	4,95 ± 0,18 ab	4,64 ± 0,16 a	5,36 ± 0,20 b	-0,15	5,35 ± 0,09 b	-0,15	+		
Nt (g/kg)	1,49 ± 0,08 a	1,68 ± 0,06 a	1,55 ± 0,05 a	--	1,65 ± 0,03 a	--	ns		
Ndd (mg/kg) <i>ln</i>	211,60 ± 6,21 a	264,46 ± 26,21 a	225,27 ± 11,04 a	--	219,71 ± 5,11 a	--	ns		
C:N	13,02 ± 0,78 a	11,68 ± 0,51 a	12,93 ± 0,44 a	--	11,77 ± 0,35 a	--	ns		
P Bray I (mg/kg)	13,50 ± 0,12 c	11,74 ± 0,29 b	14,34 ± 0,32 c	-0,22	7,92 ± 0,27 a	0,32	-		

Se muestran valores medios (\pm error estándar) de cinco repeticiones. En cada fila, medias seguidas por letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para cada variable según ANOVA ($P < 0,05$).

Índice de susceptibilidad; IS = 1 – (plantas tratadas / plantas control)

ln: transformación logarítmica de los datos, ns: efecto no significativo.

Crecimiento y morfología vegetal

La inundación provocó un incremento de la biomasa del vástago (13%) pero disminuyó la biomasa radical en un 29% en relación con las plantas mantenidas en capacidad de campo (Tabla 6). Ante déficit hídrico, el vástago como las raíces de *L. tenuis* denotaron una reducción significativa en la biomasa luego de 35 días de tratamiento (Tabla 6). La inundación ejerció un efecto positivo sobre la relación vástago:raíz. El largo de la raíz fue significativamente menor cuando las plantas fueron sometidas a condiciones de exceso o déficit hídrico, pero no existieron diferencias en el largo específico de la raíz en ambos tratamientos comparados con las plantas mantenidas en capacidad de campo (Tabla 6).

La morfología de la planta también fue afectada por el exceso o déficit hídrico (Tabla 6). El diámetro de la corona aumentó un 66% y no hubo diferencias en las plantas ante condiciones de sequía (Tabla 6). El largo del 6^{to} entrenudo del vástago principal mostró un incremento significativo en las plantas de suelos inundados, pero no se observaron diferencias significativas en las plantas mantenidas en sequía y capacidad de campo. Variables tales como el número de vástagos por planta, el largo y ancho del 6^{to} folíolo no fueron afectadas significativamente por ninguno de los tratamientos (Tabla 6).

Tabla 6 Efecto de la inundación y sequía sobre el crecimiento y morfología en plantas de *L. tenuis* crecidas por 75 días en capacidad de campo (período inicial), y en plantas mantenidas en capacidad de campo (plantas control), sequía o inundación por 35 días.

Variable	Período inicial (75 días)		Período final (75 días inicial + 35 días de tratamiento = 110 días)				
	Capacidad de campo	Inundación	IS	Efecto inundación	Sequía	IS	Efecto sequía
<i>Crecimiento vegetal</i>							
PS total (g)	2,40 ± 0,16 a	8,86 ± 0,21 c	--	ns	6,15 ± 0,28 b	0,31	-
PS vástago (g)	1,62 ± 0,11 a	5,99 ± 0,20 c	-0,13	+	4,03 ± 0,15 b	0,32	-
PS raíz (g)	0,78 ± 0,081 a	2,86 ± 0,018 c	0,36	-	2,12 ± 0,14 b	0,26	-
PF raíz (g)	7,87 ± 0,44 a	25,71 ± 0,44 d	0,29	-	14,62 ± 0,93 b	0,43	-
Vástago:raíz	2,16 ± 0,24 a	2,09 ± 0,07 a	-0,80	+	1,92 ± 0,07 a	--	ns
Largo raíz (m)	51,85 ± 3,79 a	167,78 ± 3,39 c	0,27	-	105,00 ± 9,31 b	0,37	-
Largo radical específico (m/g)	6,68 ± 0,61 a	6,53 ± 0,15 a	--	ns	7,19 ± 0,45 a	--	ns
<i>Morfología vegetal</i>							
Diámetro corona (mm)	0,31 ± 0,014 a	0,44 ± 0,011 b	-0,66	+	0,41 ± 0,014 b	0,07	-
Largo entrenudos (cm)	1,21 ± 0,04 a	1,12 ± 0,09 a	-0,63	+	1,08 ± 0,06 a	0,03	-
<i>ln</i>							
Vástagos por planta	6,84 ± 0,20 a	9,79 ± 0,60 bc	--	ns	8,44 ± 0,35 ab	--	ns
Largo folíolo (cm)	0,97 ± 0,02 a	0,92 ± 0,04 a	--	ns	0,96 ± 0,04 a	--	ns
Ancho folíolo (cm) <i>ln</i>	0,44 ± 0,006 a	0,38 ± 0,020 a	--	ns	0,44 ± 0,051 a	--	ns

Se muestran los valores medios de cinco repeticiones ± error estándar. En cada fila, letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para una variable según ANOVA ($P < 0,05$).

Índice de susceptibilidad; IS = 1 – (plantas tratadas / plantas control)

ln: transformación logarítmica de los datos, ns: efecto no significativo.

La sequía disminuyó las tasas de crecimiento relativo del vástago, raíz, biomasa total de la planta y largo total de la biomasa radical en relación con las plantas control (Fig. 25). Sin embargo, la inundación disminuyó la RGR de la biomasa y del largo total de la raíz, pero no afectó la RGR de la biomasa total y del vástago comparadas con las plantas control (Fig. 25).

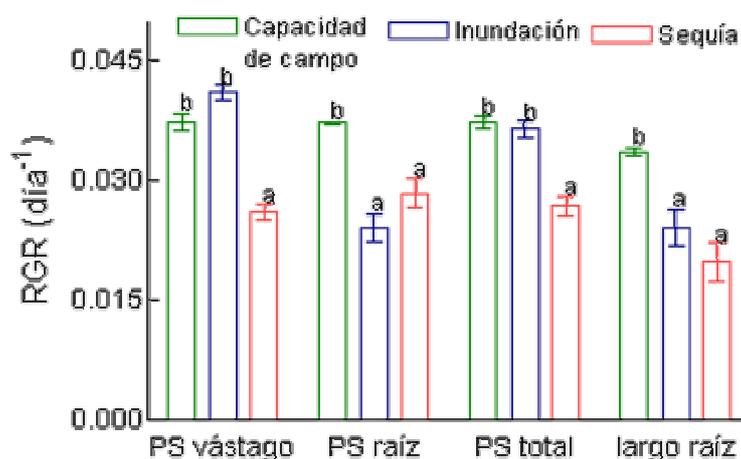


Fig. 25 Efecto del déficit y exceso hídrico (sequía e inundación) sobre la tasa de crecimiento relativo (RGR) de plantas de *L. tenuis* luego de 35 días de tratamiento. Se muestran las medias de cinco repeticiones (\pm error estándar). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA ($P < 0,05$)). PS raíz (transformación \ln de los datos).

La Figura 26 muestra fotografías de cortes histológicos de raíces de plantas de *L. tenuis* luego de 35 días de tratamiento. El tejido aerenquimático desarrollado en la corteza radical fue mayor en proporción en las raíces de las plantas sometidas a inundación que en las plantas control, y en éstas fue mayor que en las plantas mantenidas en condiciones de sequía.

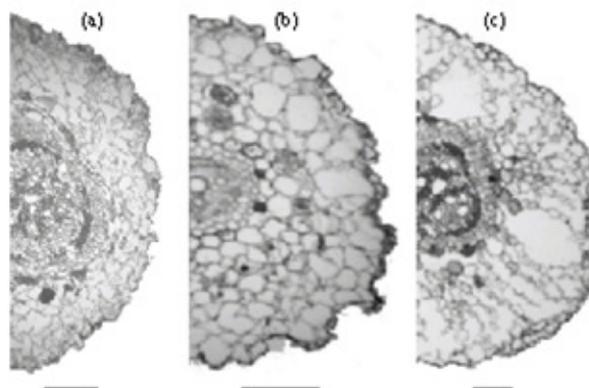


Fig. 26 Corte transversal de raíz de *L. tenuis* ante condiciones de sequía (a), capacidad de campo (b) e inundación (c). La barra representa 100 μm .

N y P en tejido vegetal

La inundación disminuyó la concentración (45%) y el contenido (37%) de N en vástago, pero la sequía provocó un descenso del 27% en el contenido de N y no modificó la concentración de N en vástago con respecto a las plantas control (Tabla 7). La concentración de N en raíz de plantas mantenidas en condiciones de exceso o déficit hídrico no denotó diferencias significativas con los valores obtenidos en las plantas en capacidad de campo (Tabla 7). Con relación al contenido de N en raíces de plantas de *L. tenuis*, tanto en condiciones de sequía como ante inundación se observó una disminución significativa de dichos valores (30% y 48% respectivamente). El contenido de N en la planta disminuyó en ambos tratamientos de estrés. La inundación disminuyó en un 39% el N total absorbido por unidad de biomasa seca total, y la sequía no modificó significativamente dicho parámetro. Las otras eficiencias calculadas y la partición de N al sistema radical no mostraron diferencias significativas entre los dos tratamientos de estrés y las plantas control, con excepción de la relación entre la biomasa seca del vástago y el N total de la planta, la cual aumentó 90% ante

exceso hídrico (Tabla 7). La cantidad total de N absorbido por nódulo de *Rhizobium sp* disminuyó ante exceso hídrico (55%).

Tanto el déficit como el exceso de agua en el suelo provocaron cambios en los niveles de P en planta. La inundación aumentó la concentración de P en vástago (26%) y raíz (46%), a diferencia de la sequía que tan solo incrementó el %P en vástago (15%). El contenido de P en vástago de plantas sometidas a condiciones de inundación alcanzó un incremento del 42% en relación con las plantas control. Ante déficit hídrico, el contenido de P disminuyó en vástago y en raíz, 22% y 29% respectivamente (Tabla 7). El contenido de P total en plantas de *L. tenuis* aumentó en condiciones de inundación (20%) y disminuyó en sequía (25%). Las eficiencias de P mostraron diferencias significativas solamente en plantas sometidas a condiciones de inundación en relación con las plantas control (Tabla 7). La inundación cambió la partición del contenido de P entre vástago y raíz, direccionando un 23% de P menos hacia la biomasa radical en relación con las plantas control.

Tabla 7 Cambios en la absorción de N y P en plantas de *L. tenuis* sometidas a condiciones de exceso o déficit hídrico.

Variable	Período inicial (75 días)			Período final (75 días inicial + 35 días de tratamiento = 110 días)			Efecto sequía
	Capacidad de campo	Inundación	IS	Efecto inundación	Sequía	IS	
N vástago (%) <i>ln</i>	2,93 ± 0,16 c	0,89 ± 0,04 a	0,45	-	1,73 ± 0,10 b	--	ns
N total vástago (mg)	47,15 ± 2,96 a	60,80 ± 4,26 ab	0,37	-	69,80 ± 5,20 b	0,27	-
N raíz (%)	2,37 ± 0,09 b	1,36 ± 0,13 a	--	ns	1,55 ± 0,04 a	--	ns
N total raíz (mg)	18,34 ± 1,74 a	24,40 ± 1,92 a	0,48	-	32,75 ± 1,66 b	0,30	-
N total planta (mg)	65,49 ± 3,90 a	85,20 ± 4,33 b	0,40	-	102,55 ± 6,21 b	0,28	-
N total/PS total (mg/g)	27,39 ± 1,11 c	9,89 ± 0,30 a	0,39	-	16,66 ± 0,60 b	--	ns
N total/PS raíz (mg/g) <i>ln</i>	86,21 ± 6,65 b	47,25 ± 2,78 a	--	ns	48,50 ± 1,72 a	--	ns
PS vástago/N total (g/mg)	0,025 ± 0,001 a	0,080 ± 0,002 c	-0,90	+	0,040 ± 0,002 b	--	ns
Part. N a raíces (%)	27,97 ± 1,96 a	32,66 ± 1,34 a	--	ns	32,17 ± 1,53 a	--	ns
N total/nódulos (mg/nod)	0,74 ± 0,03 c	0,17 ± 0,02 a	0,55	-	0,47 ± 0,04 b	--	ns
P vástago (%)	0,103 ± 0,003 c	0,073 ± 0,002 b	-0,26	+	0,067 ± 0,002 b	-0,15	+
P total vástago (mg)	1,66 ± 0,09 a	4,95 ± 0,22 d	-0,42	+	2,72 ± 0,15 b	0,22	-
P raíz (%) <i>ln</i>	0,142 ± 0,003 b	0,143 ± 0,007 b	-0,46	+	0,093 ± 0,002 a	--	ns
P total raíz (mg)	1,11 ± 0,11 a	2,58 ± 0,10 c	--	ns	1,98 ± 0,12 b	0,29	-
P total planta (mg)	2,77 ± 0,17 a	7,54 ± 0,30 d	-0,20	+	4,70 ± 0,26 b	0,25	-
P total/PS total (mg/g)	1,16 ± 0,03 c	0,88 ± 0,02 b	-0,24	+	0,76 ± 0,02 a	--	ns
P total/PS raíz (mg/g) <i>ln</i>	3,63 ± 0,21 b	4,19 ± 0,24 b	-0,90	+	2,23 ± 0,08 a	--	ns
PS vástago/P total (g/mg)	0,87 ± 0,02 a	1,14 ± 0,03 b	0,18	-	1,31 ± 0,03 c	--	ns
Part. P a raíces (%)	39,72 ± 2,20 ab	34,30 ± 0,70 a	0,23	-	42,08 ± 0,97 b	--	ns

Medias (± error estándar) seguidas por letras distintas señalan diferencias significativas entre tratamientos para una variable (ANOVA ($P < 0,05$)) (N=5). Índice de susceptibilidad; IS = 1 - (plantas tratadas / plantas control)

ln: transformación logarítmica de los datos, ns: efecto no significativo.

Colonización por hongos MA y nodulación radical

El exceso o déficit hídrico no afectaron la fracción total de la raíz colonizada por hongos MA, pero modificaron significativamente la morfología de colonización representada por las diferentes fracciones (AC, VC y HO) (Tabla 8). AC y ac disminuyeron tanto en sequía como en inundación con un efecto más marcado ante inundación. El exceso hídrico provocó además, un incremento en la fracción colonizada por vesículas (VC), pero el largo de la raíz colonizada por vesículas (vc) aumentó un 63% ante inundación y disminuyó un 44% en condiciones de déficit hídrico en comparación con las plantas mantenidas en capacidad de campo. El índice HO mostró un aumento significativo en sequía y no cambió ante inundación, pero el largo de raíz colonizado solamente por hifa (ho) disminuyó en inundación (30%) y aumentó en sequía (21%) (Tabla 8).

La tasa de formación o desaparición de las diferentes estructuras que caracterizan a la colonización micorrícica fue afectada tanto en condiciones de sequía como inundación (Fig. 27). La RCR correspondiente a los largos colonizados por mc y ac disminuyeron significativamente ante exceso o déficit hídrico en relación con las tasas obtenidas en plantas mantenidas en capacidad de campo. La inundación ocasionó un aumento cercano al 67% de la RCRvc, y la sequía una disminución del 55% en comparación con las plantas control (Fig. 27). La RCRho no mostró diferencias significativas entre los tratamientos.

El número de PE por mm de raíz colonizada disminuyó ante exceso hídrico (32%), pero no mostró diferencias significativas cuando las plantas fueron sometidas ante condiciones de sequía en relación con las plantas control (Tabla 8). La tasa de formación de PE (RCRpe) mostró valores negativos en las raíces de las plantas mantenidas bajo condiciones de estrés (Fig. 27). La cantidad de nódulos de *Rhizobium sp* fue mayor en las raíces de plantas sometidas a condiciones de exceso hídrico (97%) en relación con aquellas en

capacidad de campo. La tasa de formación diaria de nódulos (RCRnódulos) también aumentó ante inundación en relación con las plantas control (Tabla 8).

La densidad de esporas de hongos MA disminuyó significativamente en suelos inundados (40%), pero en suelos mantenidos en condiciones de sequía las diferencias no fueron significativas (Tabla 8). La tasa de formación relativa de esporas (RCResp) en suelo fue negativa ante déficit hídrico (Fig. 27). La viabilidad de esporas en suelo ante condiciones de inundación fue 4,95 veces mayor a la obtenida en suelos mantenidos en capacidad de campo. La sequía no afectó la viabilidad de las esporas de hongos MA (Tabla 8). La densidad de micelio externo en suelo disminuyó en ambas condiciones de estrés (29% y 45% en inundación y sequía respectivamente) comparada con el suelo control (Tabla 8). La tasa de formación relativa de micelio externo fue negativa ante condiciones de inundación y sequía (Fig. 27). La Figura 28 muestra las diferencias observadas en la morfología de colonización en las raíces de *L. tenuis* ante condiciones de capacidad de campo y estrés hídrico.

Tabla 8 Efecto del exceso o déficit hídrico sobre las variables asociadas con hongos MA y nódulos en raíces de *L. tenuis*, y densidad de esporas y micelio externo en suelo en plantas crecidas por 75 días en capacidad de campo (período inicial), y en plantas mantenidas en capacidad de campo (plantas control), sequía o inundación por 35 días.

Variable	Período inicial (75 días)			Período final (75 días inicial + 35 días de tratamiento = 110 días)			Efecto sequía
	Capacidad de campo	Inundación	IS	IS	Sequía	IS	
MC	0,972 ± 0,012 b	0,949 ± 0,017 b	--	--	0,925 ± 0,020 b	--	ns
AC	0,766 ± 0,013 c	0,349 ± 0,011 a	0,55	0,55	0,657 ± 0,034 b	0,14	-
VC	0,156 ± 0,008 a	0,567 ± 0,018 b	-2,56	-2,56	0,111 ± 0,014 a	--	ns
HO	0,140 ± 0,016 a	0,137 ± 0,015 a	--	--	0,209 ± 0,013 b	-0,50	+
mc (m)	163,14 ± 4,34 c	116,22 ± 10,91 b	0,29	0,29	99,61 ± 8,98 b	0,39	-
ac (m)	128,47 ± 2,40 c	42,74 ± 4,07 a	0,67	0,67	63,71 ± 1,28 b	0,50	-
vc (m) <i>ln</i>	26,31 ± 1,60 c	69,28 ± 6,37 d	-1,63	-1,63	14,62 ± 3,35 b	0,44	-
ho (m) <i>ln</i>	23,66 ± 2,94 b	16,57 ± 1,80 b	0,30	0,30	28,60 ± 7,17 b	-0,21	+
PE (por mm raíz)	7,76 ± 0,81 b	5,30 ± 0,31 a	0,32	0,32	5,83 ± 0,46 ab	--	ns
Nódulos (por gr raíz)	15,93 ± 1,99 ab	31,32 ± 5,56 c	-0,97	-0,97	18,38 ± 1,47 b	--	ns
RCRnódulos (día ⁻¹)	0,009 ± 0,003 a	0,027 ± 0,004 b			0,013 ± 0,002 a		
Densidad esporas (por gr suelo)	128,68 ± 22,70 c	77,56 ± 2,09 a	0,40	0,40	112,69 ± 7,62 bc	--	ns
Viabilidad de esporas (%)	1,26 ± 0,38 a	7,50 ± 0,57 c	-4,95	-4,95	1,25 ± 0,12 a	--	ns
Micelio externo (cm/ gr suelo)	1042,27 ± 113,05 bc	1111,40 ± 99,15 c	782,48	782,48	606,89 ± 88,78 a	0,45	-

Valores medios de cinco repeticiones ± error estándar.

Índice de susceptibilidad; IS = 1 – (plantas tratadas / plantas control)

En cada fila, medias seguidas por letras distintas son significativamente diferentes según ANOVA ($P < 0,05$). *ln*: transformación logarítmica de los datos, ns: efecto no significativo.

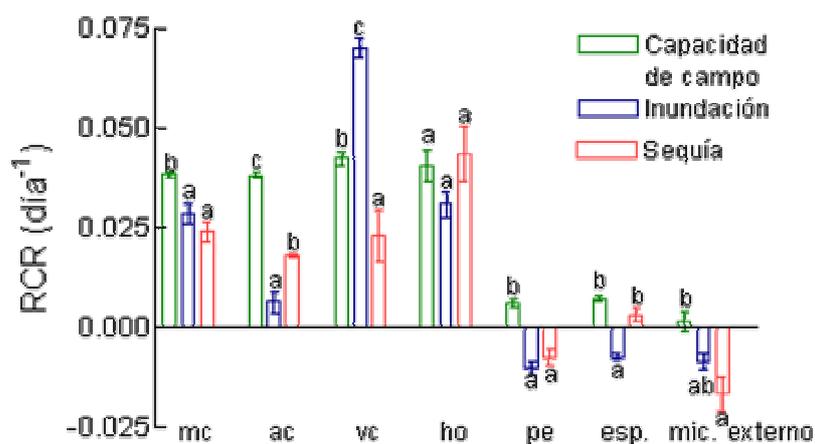


Fig. 27 Tasas de colonización relativa (RCR) de hongos MA en plantas de *L. tenuis* ante condiciones de capacidad de campo, sequía e inundación. Medias (\pm error estándar) de cinco repeticiones seguidas con letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para cada variable (ANOVA ($P < 0,05$)). vc: (transformación \ln de los datos), ac (test no paramétrico de Kruskal-Wallis).

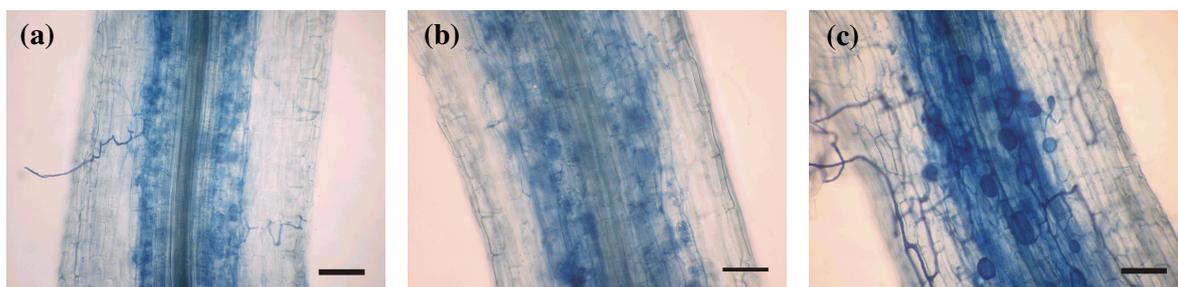


Fig. 28 Morfología de colonización en raíces de *L. tenuis* ante condiciones de déficit hídrico (a), capacidad de campo (b) y exceso hídrico (c). La barra representa 50 μm .

Discusión

Variabilidad espacial y estacional en la asociación micorrizas arbusculares-planta y su relación con variables edáficas y niveles de N y P en tejido vegetal

Dinámica de la colonización micorrícica y propágulos en suelo

Este trabajo mostró que los hongos formadores de MA se encuentran presentes a lo largo de un gradiente hídrico, salino y sódico en un pastizal natural típico de la Cuenca del Río Salado, y además que la colonización radical de plantas forrajeras y la densidad de propágulos fúngicos en suelo ocurren en niveles considerables y denotan cambios estacionales asociados con las condiciones edafoclimáticas del lugar. La dinámica temporal observada en la colonización micorrícica, particularmente la colonización por arbusculos en las raíces de *L. tenuis*, *P. vaginatum* y *S. secundatum* sugiere que estas plantas son funcionalmente micorrícicas a lo largo de una variedad de condiciones edáficas, desde sitios bajos con alto contenido de humedad, salinidad y sodicidad hasta sitios no salinos con menor humedad y mayor fertilidad, ubicados a mayor altitud. Estos resultados son consistentes con trabajos previos los cuales han reportado que la humedad edáfica y la salinidad no deprimen totalmente o bien el efecto es relativamente bajo sobre la supervivencia y la colonización radical ante condiciones de estrés (Brown y Bledsoe 1996; Miller y Bever 1999; Carvalho et al. 2001; 2004; Mendoza et al. 2005 a).

La colonización micorrícica total (índice MC) fue mayor y estacionalmente diferente en las raíces de *L. tenuis* en comparación con las raíces de las gramíneas co-dominantes en todos los sitios y estaciones analizados. Los principales factores que directa o indirectamente influyen la extensión de la colonización micorrícica incluyen a las propiedades edafoclimáticas y a las características de la planta (Abbott y Robson 1991; Johnson et al. 1992; Entry et al. 2002). van der Heijden y colaboradores (1998) reportaron la existencia de respuestas diferenciales de las plantas a especies fúngicas MA específicas, y este hecho

sugiere que no necesariamente se debería esperar un patrón estacional de colonización micorrícica (índice MC) similar entre las plantas estudiadas a lo largo del gradiente topográfico, especialmente cuando las plantas difieren en las características morfológicas de su sistema radical, período de crecimiento y afinidad por hongos MA. En el caso de *L. tenuis*, que es una leguminosa de crecimiento invierno-primavero-estival, comienza a crecer antes que las gramíneas estudiadas (primavero-estivales). En consecuencia, las diferencias en el largo y en el patrón estacional de colonización radical entre *L. tenuis*, *P. vaginatum* y *S. secundatum* serían atribuidas a la interacción entre las tasas de crecimiento del hongo dentro de la raíz, de las raíces dentro del suelo y del desarrollo de nuevas unidades de colonización micorrícica en la raíz.

Se encuentra ampliamente documentado que la morfología y arquitectura de las raíces son factores importantes en determinar la respuesta de los hongos MA (Pate 1994). Las gramíneas estudiadas son especies con raíces relativamente finas y altamente ramificadas. Estas características constituyen estrategias alternativas para la adquisición de recursos edáficos, las cuales contribuirían a disminuir la respuesta de la colonización de hongos MA en relación con *L. tenuis*. De acuerdo con los resultados encontrados en este trabajo, *L. tenuis* sería una planta más micotrófica que las especies co-dominantes *S. secundatum* y *P. vaginatum*, ambas de menor dependencia por la colonización micorrícica.

El patrón estacional del índice AC fue similar en las raíces de *L. tenuis* y especies acompañantes. Valores elevados de la fracción AC se encontraron al inicio de la estación de crecimiento (hacia el final del invierno) en todos los sitios y plantas, y este hecho estaría relacionado con un período de absorción activa de nutrientes por la planta hospedante (Allen 1983; Sanders y Fitter 1992 a; Mullen y Schmidt 1993; Gai et al. 2006).

El patrón temporal de la colonización por vesículas (VC) también fue similar en las raíces de *L. tenuis* y de las gramíneas co-dominantes. En verano se observaron las fracciones de VC más altas en todos los sitios y especies vegetales asociados con una disminución de la tasa de

crecimiento de la planta, una disminución en el contenido de humedad en el suelo y un incremento de la temperatura ambiente. Este hecho sugiere la presencia de un efecto estacional sobre la formación de vesículas en todos los sitios y plantas estudiadas. Las estructuras micorrícicas como las vesículas son consideradas órganos temporales de reserva (Barker et al. 1998; Hirsch y Kapulnik 1998). Ha sido reportado también que los carbohidratos y lípidos almacenados en las vesículas son movilizados para formar estructuras como las esporas que permiten sobrellevar condiciones adversas (Bentivenga y Hetrick 1992), y que el desarrollo de vesículas es un signo de que los hongos aceleran su ciclo de vida en plantas anuales hacia el final de la estación de crecimiento (Gavito y Varela 1993). Los arbusculos y vesículas se forman continuamente a lo largo del tiempo en las raíces de las plantas micorrizadas pero a tasas de formación y/o desaparición diferentes para cada una de las estructuras morfológicas (Douds y Chaney 1982). En el presente trabajo se observó claramente que la máxima formación de arbusculos y vesículas tienen lugar en estaciones diferentes (hacia el final del invierno y hacia el final del verano respectivamente). Estos efectos estacionales sugieren el desarrollo preferencial de un tipo de estructura fúngica durante una estación específica. Los diagramas correspondientes al ACC reflejaron ambos efectos. A lo largo del eje II en la Figura 22 b es posible visualizar el patrón estacional opuesto entre los índices AC (escala negativa) y VC (escala positiva); y a lo largo del eje III es posible observar las diferencias en la magnitud de los índices MC, AC y VC entre *L. tenuis* (escala positiva del eje III) y las gramíneas (escala negativa eje III). Las variaciones observadas en los índices AC, VC y HO en las raíces de *L. tenuis* y gramíneas corroboran en parte la primer hipótesis planteada, en el sentido que existe un patrón estacional en la morfología de colonización, sin embargo la segunda parte de la primer hipótesis no resulta consistente con los resultados obtenidos ya que la dinámica temporal de los índices AC y VC no difiere entre las especies estudiadas.

El tipo morfológico de colonización *Arum* fue el predominante en las raíces de *L. tenuis* espacial y temporalmente (Fig. 15), resultado que concuerda con el trabajo de Sannazzaro y colaboradores (2004) en un suelo salino de la Cuenca del Río Salado. En las raíces de *P. vaginatum* también el patrón preponderante fue el tipo *Arum*, a diferencia de lo observado en las raíces de *S. secundatum*, en las cuales ambos tipos, *Arum* y *Paris* fueron predominantes a lo largo del gradiente topográfico. Estos resultados evidencian la respuesta diferencial de cada especie vegetal (leguminosa vs. gramínea) con relación al tipo morfológico de colonización ante la comunidad fúngica de cada sitio analizado.

El número de puntos de entrada por milímetro de raíz colonizada fue mayor en las raíces de la leguminosa que en las raíces de las gramíneas co-dominantes, evidenciando diferencias en la afinidad por hongos MA entre ambas especies. En los tres primeros sitios del gradiente topográfico la tendencia estacional fue similar en la leguminosa y gramíneas, con incrementos hacia la primavera, sin embargo en el sitio 4 ambas especies vegetales mostraron incrementos a partir del otoño. A lo largo del gradiente topográfico existen propiedades edáficas y comunidades vegetales características de cada lugar, por lo tanto si ambas especies vegetales presentan una dinámica estacional similar en el número de puntos de entrada en todos los sitios analizados, sugiere que cada comunidad de hongos MA se encuentra adaptada a las condiciones edáficas particulares de cada sitio y responde entonces de manera estacional en relación con los estados de crecimiento y necesidades nutricionales del hospedante.

L. tenuis es una planta altamente dependiente de la colonización por hongos MA (Mendoza y Pagani 1997), y desde los primeros estadios de crecimiento sus raíces presentan elevados índices de colonización. Los cambios observados en la dinámica de la morfología de colonización en plantas de *L. tenuis*, a partir de la relación entre los índices de colonización (MC, AC, VC y HO) y el número de PE, se deberían principalmente a las variaciones estacionales de los índices AC y VC (Fig. 14 y Fig. 18). Estas evidencias sugieren que los cambios en la colonización micorrícica de esta especie se producen principalmente a partir de

la alternancia de estructuras fúngicas intraradicales tales como los arbuscúlos y las vesículas, debido que ante incrementos en el número de PE, el índice MC no cambia (Fig. 18 a). En las raíces de *P. vaginatum*, *D. spicata* y *S. secundatum* cuando aumenta el número de PE también se observa un incremento del índice MC (Fig. 18 a). En consecuencia, en estas especies la colonización micorrícica total dependería en mayor medida de la formación de nuevas unidades de colonización y del posterior desarrollo del micelio intraradical a partir de un incremento del índice HO (Fig. 18 d).

En verano se registraron los valores más elevados de densidad de esporas en suelo, sugiriendo que esta estructura fúngica se formó principalmente ante temperaturas y tasas de evapotranspiración elevadas, y cuando la tasa de crecimiento vegetal disminuye. Este proceso fue independiente de las características del suelo o de la especie vegetal analizada debido a que fue observado en todos los sitios estudiados. La primer hipótesis de este trabajo propone la existencia de un patrón estacional en la densidad de propágulos MA, la cual pudo ser confirmada a lo largo del gradiente topográfico (excepto en el sitio 2 que no hubo cambios). En diversos ecosistemas se han reportado patrones estacionales en la densidad de esporas semejantes a los informados en este trabajo, y han concluido que la variabilidad en el número de esporas pudo estar influenciada principalmente por alguno de los siguientes factores: la planta hospedante, las propiedades del suelo y/o la estacionalidad (Carvalho et al. 2001; Lugo y Cabello 2002; Escudero y Mendoza 2005). La esporulación micorrícica depende de la estación, y esa formación estacional de esporas es una expresión de los hongos MA para sobrevivir ante condiciones edafo-climáticas desfavorables. Esto concuerda con Rickerl y colaboradores (1994), quienes encontraron el doble de esporas en un suelo húmedo en relación con los propágulos registrados en un suelo seco y sugirieron que el incremento en la esporulación en suelos húmedos fue una respuesta de los hongos ante estrés por exceso hídrico. La planta hospedante y el suelo son factores interrelacionados, por lo tanto el efecto

de alguno de estos factores sobre la densidad o distribución de esporas MA no siempre puede ser claramente separado uno del otro en la naturaleza.

En distintos ecosistemas se ha establecido que el largo total del micelio fúngico en suelo también presenta una dinámica estacional, y esas variaciones estarían atribuidas a factores abióticos como la temperatura y el contenido de humedad edáfico (Osono et al. 2003; Allen et al. 2005; Querejeta et al. 2007), y a la composición textural del suelo especialmente el contenido de arcilla, que aumenta la compactación y resistencia a la penetración de las raíces (Unger y Kaspar 1994). Por lo tanto, se esperaría observar variaciones estacionales en la densidad del micelio fúngico en suelo a lo largo del gradiente topográfico. Sin embargo, no se registraron diferencias temporales en dicho parámetro, rechazando en parte la primer hipótesis planteada. La ausencia de un efecto estacional en el largo del micelio extraradical en todos los sitios analizados podría atribuirse a la equidad entre la tasa de crecimiento y la tasa de descomposición del micelio edáfico, contrariamente a lo observado por Steinber y Rilling (2003), y Querejeta y colaboradores (2007). En los mencionados trabajos la tasa de formación y descomposición del micelio MA en suelos de pastizales naturales difieren entre sí ante disminuciones en el contenido de agua edáfica.

Patrón estacional de las propiedades edáficas a lo largo del gradiente topográfico

La fertilidad del suelo estaría asociada con el nivel de C, N y/o P, mientras que condiciones edáficas adversas para el crecimiento vegetal se encontrarían asociadas con altos valores de pH, CE y Na intercambiable. En el sitio 1 y en el sitio 4, las propiedades edáficas mostraron variaciones mínimas en el tiempo, pero en los sitios de altitud intermedia, especialmente en el sitio 2, CE y Na intercambiable aumentaron en primavera como parte del proceso de salinización del suelo. Este proceso tiene su origen en el ascenso y descenso de la napa de agua, que da lugar a pulsos de salinidad los que se manifiestan hacia el final de la primavera y

verano debido a las sales contenidas en el agua subsuperficial (Lavado et al. 1992). No obstante los valores elevados de salinidad, reflejados por el incremento de CE y Na intercambiable en primavera en los sitios 1 y 2, el ACC sugiere la existencia de una asociación positiva entre estas variables edáficas y los índices MC y AC en las raíces de *L. tenuis*, pero una asociación negativa con los índices MC y AC en las raíces de las gramíneas (Fig. 22). Por lo tanto, podría ser que la CE y el Na intercambiable afecten en mayor medida la simbiosis en las gramíneas que en la leguminosa, aún cuando la simbiosis es funcional para cualquier combinación entre planta y sitio. En oposición a la primer hipótesis, la fertilidad del suelo (C-N-P) no mostró asociación con las variables micorrícicas, presumiblemente porque los nutrientes presentaron cambios en un rango de baja disponibilidad, que fue deficiente para el crecimiento vegetal. Sin embargo, en un gradiente de mayor fertilidad el efecto sobre las variables micorrícicas podría ser diferente.

Variabilidad temporal en la concentración de N y P en tejido vegetal

Las concentraciones de N y P en tejido vegetal fueron siempre mayores en *L. tenuis* que en las especies co-dominantes, y reflejan las diferencias relativas en los requerimientos nutricionales entre las especies vegetales estudiadas. Los cambios estacionales en la concentración de P en tejido vegetal fueron más marcados que los cambios en la concentración de N. Además, los cambios en ambos nutrientes en vástago fueron a su vez más marcados que los cambios registrados en las raíces. Estos resultados serían consecuencia de dos efectos que tienen lugar de manera simultánea. En primer lugar, los cambios en la concentración de N y P en tejido vegetal ocurren en parte porque el crecimiento vegetal puede diluir o concentrar a los nutrientes en la planta, y también porque el N y P en suelo no se encuentran disponibles en forma suficiente como para sostener las demandas generadas por el crecimiento, entonces la concentración de nutrientes en tejido vegetal puede disminuir. El otro

efecto estaría relacionado con mecanismos fisiológicos de la planta que se producen ante condiciones de deficiencia nutricional. En dicho estado, la planta satisface primero los requerimientos de la raíz para crecer y luego las demandas del vástago (Loneragan y Asher 1967). De esta manera, si un nutriente es deficiente, esa deficiencia se observará primero en vástago y luego en la raíz. En el caso del P, el crecimiento de primavera diluye el P en el vástago y raíz de ambas plantas, y la disponibilidad de P en suelo no fue suficiente para satisfacer las demandas del tallo, en consecuencia la concentración de P en vástago disminuyó. Sin embargo para el N, aún cuando el N edáfico podría encontrarse en deficiencia para el crecimiento vegetal, existe una fracción de N adicional la cual es contribuida a través de la fijación biológica del N₂ atmosférico en las raíces de *L. tenuis* que podría ser tomada también por las gramíneas y contribuir a disminuir la deficiencia de N. Los resultados de este trabajo sugieren que la deficiencia nutricional fue relativamente mayor para el P que para el N, de manera tal que el N fue más estable con relación a los cambios estacionales de la concentración en tejido vegetal, mostrando una menor variación que el P.

El ACC mostró que las flechas que representan a las concentraciones de N y P en tejido vegetal señalaron hacia los índices AC, y se opusieron a VC en las raíces de las plantas estudiadas (Fig. 23). Diversos estudios de especies vegetales con fenologías diferentes han indicado que la actividad de los hongos MA estaría más asociada al metabolismo que a la fenología del hospedante (Allen et al. 1984; Bentivenga y Hetrick 1992). En este sentido, Allen (1983) encontró más arbusculos durante los períodos de absorción activa de nutrientes, y Mullen y Schmidt (1993) reportaron que la colonización micorrícica siguió de manera directa la demanda de nutrientes generada por los diferentes estados de desarrollo de la planta hospedante. Sanders y Fitter (1992 a) reportaron también un beneficio nutricional al hospedante durante el período de crecimiento. En este estudio, los valores de AC más altos se registraron al inicio de la estación de crecimiento (hacia el final del invierno), cuando la tasa de crecimiento y la absorción de nutrientes aumentan. Los valores más altos de AC estuvieron

asociados positivamente con las concentraciones de N y P en tejido vegetal, y sugieren que existe una correspondencia con los incrementos en la tasa de transferencia de nutrientes entre los partners de la simbiosis, coincidiendo con la segunda hipótesis propuesta. Los resultados muestran que dentro de ciertos límites donde existe estado de deficiencia para el crecimiento vegetal, aumentos en la concentración de nutrientes en tejido, especialmente P, no necesariamente deprimen la colonización por arbusculos. Ante un estado de deficiencia de P, incrementos en el P disponible aumentarían o podrían no afectar al índice AC, pero ante niveles de P cercanos o bien suficientes para alcanzar el máximo crecimiento vegetal, un incremento del P disponible disminuiría al índice AC, tal como se ha reportado anteriormente (Braunberger et al. 1991). En este estudio, el P disponible fue siempre deficiente para el crecimiento vegetal a lo largo del gradiente topográfico e incrementos del P en tejido vegetal no fueron suficientes para mejorar el estado de deficiencia nutricional y el índice AC aumentó. Esta interpretación ha sido propuesta por Bolan y colaboradores (1984), Mendoza y Gigli (1995), Mendoza y Pagani (1997) y Escudero y Mendoza (2005). Sin embargo, definir un nivel crítico de P disponible para determinar la dirección del proceso resulta una tarea difícil porque las condiciones experimentales son específicas para combinaciones múltiples entre la planta, el suelo y la estación. Se concluye que cambios en la concentración de P en tejido vegetal estarían asociados con cambios del índice AC, y además la magnitud y dirección de este proceso depende del nivel P disponible en suelo para el crecimiento vegetal.

Las características del suelo, las especies vegetales y el clima influyen las comunidades de hongos MA en pastizales (Johnson et al. 1992; Allen 1996; Muthukumar y Udaiyan 2002; Escudero y Mendoza 2005). Es difícil concluir cual de esos factores controla los cambios de las variables micorrícicas. Un motivo se basa en la dificultad de establecer una relación causal a partir de una correlación simple entre el suelo, las especies vegetales y el clima con las variables MA. Otra razón es que los hongos MA pueden asociarse con un amplio rango de plantas hospedantes presentes en el pastizal, y cambios en el medio ambiente

edáfico promoverían el desarrollo de hongos MA en un período de tiempo ante un hospedante dado y podrían inhibir el desarrollo fúngico en otro período y ante otra especie vegetal. Sin embargo, en este estudio el efecto estacional sobre las variables micorrícicas fue independiente de una combinación particular entre las especies vegetales y variables edáficas de cada sitio, y sugiere que la estacionalidad fue el factor principal que regula la densidad de esporas en suelo y los cambios en la morfología de colonización micorrícica en las diferentes plantas.

Infectividad del inóculo micorrícico

La infectividad del inóculo MA mostró diferencias entre los sitios estudiados. La densidad del inóculo MA depende de la cantidad de esporas y de micelio extraradical. Si bien no fue posible conocer la proporción relativa de unidades de colonización derivadas de la germinación de esporas con aquellas provenientes del desarrollo del micelio extraradical, se podría sugerir que componente del inóculo contribuiría en mayor o menor medida a la infectividad micorrícica. De esta manera se podrían relacionar las densidades de inóculo medidas estacionalmente en la naturaleza con la infectividad del inóculo medida en el ensayo en invernadero. En este sentido, en el sitio 3 donde hubo una densidad de esporas similar a los otros sitios, se observó correspondencia entre una mayor densidad de micelio extraradical registrado estacionalmente con una mayor infectividad del inóculo MA. Esta correspondencia podría sugerir que en este sitio el micelio extraradical tendría una significativa importancia respecto a la infectividad. Contrariamente, en el sitio 1 se registró la menor densidad de micelio extraradical pero la mayor densidad de esporas en comparación con los sitios restantes, sugiriendo que en este sitio la densidad de esporas podría ser preponderante en la infectividad del inóculo respecto a la densidad del micelio en suelo. Esta observación resulta consistente con trabajos previos donde se reportó una significativa disminución del micelio

extraradical ante salinidad (Estaun 1989; Juniper y Abbott 1993). Por su parte en el sitio 4, se encontró la menor infectividad del inóculo, que podría estar asociada con las propiedades edáficas del lugar que se caracterizaron por mejores condiciones de fertilidad, comparado con los sitios restantes, y en consecuencia una menor necesidad de las plantas por hongos MA para absorber nutrientes del suelo. Finalmente, en el sitio 2 no se registraron cambios estacionales en la densidad de esporas y micelio extraradical, y también una infectividad media en concentraciones de suelo menores al 10% respecto de los otros sitios (Fig. 24). Sin embargo, a concentraciones de suelo mayores al 10%, la tasa de infectividad disminuye y fue menor que en los sitios restantes. Esto podría indicar que existe algún factor edáfico que deprime la infectividad, y que en concentraciones de suelo bajas ese factor se diluye y el efecto depresivo sobre la infectividad del inóculo es menor que a concentraciones altas. Sin embargo en este sitio, ambos componentes del inóculo sostienen una infectividad suficiente como para mantener valores elevados de colonización en las raíces de las plantas estudiadas.

Efecto del déficit y exceso hídrico sobre el crecimiento y morfología vegetal, nutrición de N y P, propiedades del suelo y simbiosis MA-*L. tenuis* en un suelo salino-sódico

Crecimiento vegetal

El exceso y déficit hídrico tienen un efecto diferente sobre el crecimiento vegetal. La biomasa radical disminuyó 36% y 26% ante inundación y sequía respectivamente en relación con los valores obtenidos ante capacidad de campo. Diferentes estudios reportaron que la inundación puede tener un impacto sustancial sobre el crecimiento vegetal, especialmente sobre el crecimiento de la raíz y su morfología (Jackson y Drew 1984; Kleiman et al. 1992; Vignolio et al. 1999; Mendoza et al. 2005 a). Sin embargo, en algunas plantas tolerantes el vástago puede disminuir (Roger y West 1993; Teakle et al. 2006), aumentar (Pugh et al. 1995;

Rubio et al. 1995) o no mostrar cambios en su crecimiento (Vignolio et al. 1996; Teakle et al. 2007). La duración e intensidad de la inundación establecen la dirección de su efecto sobre un proceso particular, es decir el efecto puede ser más débil o más fuerte en relación con el tratamiento control. En este estudio, el vástago de *L. tenuis* incrementó su biomasa ante exceso hídrico comparado con las plantas mantenidas en capacidad de campo, pero en un trabajo previo en el cual plantas de *L. tenuis* fueron crecidas en suelo del sitio 1 (PSI es 52% mayor que en el sitio 2) se observó una disminución del crecimiento del vástago (Mendoza et al. 2005 a). Los resultados previos y los presentados en esta tesis sugieren que más de un factor estarían involucrados en la respuesta de *L. tenuis* ante inundación. Teakle y colaboradores (2006; 2007) mostraron que el crecimiento del vástago y raíz de *L. tenuis* disminuyó por una interacción negativa entre la inundación y salinidad. Incrementos en la biomasa y elongación del vástago, y la disminución en el crecimiento de la raíz son estrategias de las plantas tolerantes a la inundación, las cuales facilitan la pérdida de agua por transpiración (Blom y Voeselek 1996; Vartapetian y Jackson 1997), y el acceso al oxígeno de la superficie (Blom y Voeselek 1996). El efecto de la inundación y salinidad sobre el crecimiento del vástago depende de la habilidad de la planta para tolerar concentraciones bajas de oxígeno en el suelo, pero también dependerá de la disponibilidad de nutrientes necesarios para satisfacer las demandas de crecimiento del vástago. *L. tenuis* desarrolló tejido aerenquimático en vástago y raíz tanto en las plantas control como en las sometidas a estrés, pero ante inundación la proporción de tejido desarrollado fue mayor en relación con las plantas mantenidas a capacidad de campo o déficit hídrico. El aerénquima desarrolla una red continua desde el vástago hacia la raíz, que facilita el movimiento de oxígeno hacia las raíces ante hipoxia. En este trabajo, la inundación disminuyó el crecimiento de la raíz pero aumentó significativamente el crecimiento del vástago comparado con las plantas control, sugiriendo que el nivel de oxígeno y la disponibilidad de nutrientes en suelo fueron suficientes para sostener e inclusive aumentar el crecimiento de las plantas sometidas a exceso hídrico.

El déficit hídrico también afectó el crecimiento de la planta, pero el efecto más importante del tratamiento residió sobre el vástago, el cual disminuyó un 32% en relación con las plantas control y 41% con las plantas ante inundación. Aunque las especies vegetales pueden variar en su sensibilidad al déficit hídrico, una de las principales respuestas es la disminución de la relación vástago:raíz debido a una marcada reducción de la biomasa del vástago y una disminución moderada de la biomasa de la raíz (Pereira y Chaves 1995). A través de esta estrategia, la cual es opuesta a la presentada ante exceso hídrico, la planta reduce la tasa de transpiración y mantiene el suplemento hídrico necesario para el crecimiento de la planta (Chaves 1991; Jones 1992). Las estrategias manifestadas en el crecimiento de *L. tenuis* ante ambas condiciones de estrés fueron consistentes con la hipótesis planteada.

Propiedades edáficas

La inundación provocó una disminución del pH edáfico, y un incremento del C lábil. El incremento del C lábil y los nutrientes minerales en un suelo inundado podrían ser asociados con la descomposición microbiana de la materia orgánica (Ponnamperuma 1972; Alvarez y Guerrero 2000), y la disminución del oxígeno disuelto con la disminución del pH edáfico (Ponnamperuma 1972). Otra de las variables edáficas afectadas por el exceso hídrico es el P extraíble. Trabajos previos han establecido que la inundación aumentaba el P extraíble en suelo (Rubio et al. 1997; Mendoza et al. 2005 a), y que el proceso podría ser explicado por diferentes mecanismos. La conversión de compuestos fosfatados a formas más solubles (Sah y Mikkelsen 1989), el incremento del coeficiente de difusión del P (Teo et al. 1994) y el incremento de la fracción inorgánica soluble hacia P orgánico (Mendoza y Barrow 1987; Willet 1989) constituyen los mecanismos frecuentemente citados capaces de incrementar la disponibilidad del P edáfico. A partir del presente trabajo surge otra explicación basada en la reversibilidad del proceso de adsorción – desorción del fosfato edáfico propuesto por el

modelo mecanístico de Barrow (1983). En el medio ambiente edáfico, los iones fosfato difunden desde sitios con alta concentración hacia sitios de menor concentración. Ante exceso hídrico, el P edáfico es diluido y se promueve la desorción de P desde la matriz hacia la solución del suelo, en consecuencia aumenta la disponibilidad y oferta de P para la absorción radical y utilización en el crecimiento vegetal. *L. tenuis* es una planta adaptada a crecer en distintos ambientes característicos de la Cuenca del Río Salado (Vignolio et al. 1999; Escudero y Mendoza 2005). La tolerancia ante períodos prolongados de anegamiento y el incremento en la disponibilidad de nutrientes ante inundación explicarían el incremento del crecimiento del vástago observado en este trabajo.

El déficit hídrico también modificó la disponibilidad de nutrientes en suelo. El P extraíble disminuyó 32% y el C lábil 15% en relación con las plantas control. Las variables edáficas remanentes no fueron afectadas ante condiciones de sequía. Una reducción en el contenido de humedad edáfico resulta en una disminución de la tasa de difusión de nutrientes desde la matriz hacia la solución del suelo, particularmente aquellos nutrientes de baja movilidad como el P. Además, la permeabilidad y el largo de la raíz disminuyen (Kramer y Boyer 1995) reduciendo también la habilidad de las raíces para acceder a los nutrientes. En los suelos secos la concentración de fosfatos en la fase líquida aumenta debido a que disminuye el agua disponible. En consecuencia, los iones fosfato difunden desde la fase líquida hacia la matriz debido a un gradiente de concentración entre ellas (Barrow 1983), provocando que la concentración de fosfato en el suelo disminuya y por ende el P disponible para el crecimiento vegetal también sea menor. En este trabajo, la disminución del crecimiento vegetal ante sequía podría ser atribuida a la reducción del P disponible debido al incremento en la retención del P en la solución del suelo.

La sequía tiende a disminuir la actividad microbiana e incrementar la muerte de microorganismos. Estos fenómenos podrían ser fuente de mineralización de la forma más lábil de materia orgánica y aumentar el C lábil (Appel 1998; Van Gestel et al. 1993). El método

empleado en la medición de C lábil tiene como objetivo determinar precisamente la fracción de C orgánico fácilmente mineralizable en el suelo (Richter y Wistinghausen 1981), y resulta consistente con el efecto observado ante condiciones de sequía sobre la materia orgánica del suelo.

La salinidad en suelo, reflejada por la CE, fue de moderada intensidad y similar para ambos tipos de estrés. Sin embargo, los valores de conductividad eléctrica no representan la concentración real de sal a la cual las plantas han crecido durante el periodo de estrés. La relación suelo:solución fue 1:0,4; 1:0,3 y 1:0,2 en los suelos inundados, en capacidad de campo y ante sequía respectivamente. El valor medio de CE fue 5,1 dS/m a saturación de humedad, la cual es aproximadamente equivalente a 3,5 mg de sal por ml de solución de suelo según el método de Richards (1974) para evaluar la calidad del agua. Las concentraciones de sal durante los 35 días de tratamiento fueron 3,5; 4,7 y 7,0 mg de sal por ml de solución de suelo, para las plantas crecidas en inundación, capacidad de campo y déficit hídrico respectivamente. La concentración de sal fue mayor ante déficit hídrico en relación con los suelos control e inundado, y contribuirían a disminuir el crecimiento vegetal (Munns 2002). Teakle y colaboradores (2006; 2007) mostraron que, en *L. tenuis*, una interacción negativa entre inundación y salinidad disminuiría el crecimiento del vástago y raíz. En consecuencia, en este trabajo es posible también que la interacción negativa entre la salinidad y los dos tratamientos hídricos ensayados podrían provocar una disminución en el crecimiento de la raíz.

N y P en tejido vegetal y nodulación radical

El exceso o déficit hídrico tuvieron consecuencias diferentes sobre la absorción de N y P de la planta. Ante sequía la biomasa vegetal disminuyó, en consecuencia el contenido de N en vástago y raíz fue afectado negativamente. La inundación disminuyó la absorción de N por

unidad de biomasa total y no cambió la proporción de N transportado hacia las raíces. Esto sugiere que la disponibilidad de N en el suelo y/o el N₂ atmosférico fijado por *Rhizobium* sp fueron insuficientes para satisfacer las demandas de crecimiento de la planta, especialmente aquellas creadas por el vástago de plantas ante inundación. El valor comparativamente pequeño del N total absorbido por nódulo radical junto con la proporción sustancial de nódulos agrupados en la base de la raíz principal cerca de la superficie sugiere que muchos de los nódulos fueron ineficientes para fijar N₂ atmosférico, y la disponibilidad de N no fue suficiente para sostener el crecimiento vegetal, particularmente del vástago. Neto y colaboradores (2006) propusieron que la absorción restringida de N (75% menos que las plantas control) observada en *Aster tripolium* ante exceso hídrico fue resultado de un estatus energético bajo de las raíces inundadas y del costo energético de la absorción y asimilación de N. Contrariamente, ante déficit hídrico la distribución de nódulos fue homogénea a lo largo del sistema radical pero con nódulos de menor tamaño respecto al tratamiento control. Sin embargo la cantidad de N absorbido en relación con el número de nódulos y con la biomasa total no fueron afectadas por la severidad del déficit hídrico.

El déficit hídrico disminuyó la disponibilidad de P en el suelo y junto con el efecto sobre el crecimiento vegetal resultó en una disminución en el P total absorbido. Por el contrario, el exceso hídrico incrementó la disponibilidad de P y junto con el efecto sobre el crecimiento vegetal resultaron en un incremento en el P total absorbido por las plantas y en una disminución de la proporción de P transportado hacia las raíces.

Colonización micorrícica

Se encuentra ampliamente aceptado que ambas condiciones de estrés: exceso o déficit hídrico afectan a la colonización micorrícica en las raíces, y la infectividad y supervivencia de los propágulos MA en suelo (Miller y Sharitz 2000; Augé 2001). Además, la colonización

MA declina con la profundidad o la duración del anegamiento debido al desarrollo de condiciones anaeróbicas (Stevens y Peterson 1996; Miller 2000, Escudero y Mendoza 2005). Sin embargo, la bibliografía también sugiere que la disminución sobre la colonización micorrícica ante inundación podría ser debido al incremento en la disponibilidad de P en suelo (Mendoza et al. 2005 a), el cual deprime la colonización MA (Stevens et al. 2002). En el presente estudio, incrementos en la disponibilidad de P edáfico ante inundación provocaron un aumento en el contenido de P en vástago y en consecuencia la necesidad por parte de la planta de establecer simbiosis micorrícica podría ser menor, y justificaría una disminución en la colonización MA. El incremento del C lábil y la disminución del pH ante inundación constituyen modificaciones del medio ambiente edáfico que evidencian también una disminución en la necesidad de la planta por hongos MA para crecer. En el presente trabajo, el exceso o déficit hídrico no afectaron el índice del largo de raíz colonizada por hongos MA, pero afectó el largo de raíz colonizada por arbusculos o vesículas. La disminución de los arbusculos fue mayor en las raíces de las plantas inundadas en relación con las plantas ante déficit hídrico, y las vesículas incrementaron ante inundación pero no se modificaron ante sequía. Debido a que los arbusculos constituyen el sitio de intercambio de nutrientes entre el hongo y la planta (Ayling et al. 1997), la funcionalidad de la simbiosis podría encontrarse más afectada ante exceso que ante déficit hídrico, o probablemente menos necesaria para el crecimiento vegetal debido a la mayor disponibilidad de P en un suelo inundado. Los resultados presentados en este trabajo mostraron que se formaron más vesículas ante exceso hídrico en relación con las desarrolladas ante déficit sugiriendo que la inundación ejercería un efecto más marcado que la sequía en relación con la funcionalidad de la simbiosis y la tendencia de los hongos MA a invertir más energía en el desarrollo de estructuras de reserva necesarias para la supervivencia.

La inundación disminuye la densidad de esporas en suelo. Sin embargo, el porcentaje de esporas viables aumenta ante inundación. Este hecho brindaría evidencias sobre la posible

desaparición de esporas por ruptura mecánica, depredación, degradación, etc. El exceso hídrico también disminuye el largo del micelio extraradical, sin embargo una cantidad considerable de micelio permanece en el suelo y podría contribuir al mantenimiento de la colonización radical. Miller y Bever (1999) propusieron que los hongos MA podrían sobrevivir en condiciones de anoxia, concentrándose cerca de las raíces y obtener así oxígeno directamente desde la raíz o bien el oxígeno que difunde desde la raíz hacia la rizósfera. Por lo tanto basándonos en el mecanismo de Miller y Bever (1999), *L. tenuis* favorecería la supervivencia de la comunidad fúngica en la cercanía de su sistema radical ante exceso hídrico debido a que desarrolla aerénquima tanto en vástago como en raíces y este tejido permite la difusión de oxígeno hacia el medio ambiente edáfico.

La esporulación es promovida por la intensidad del déficit hídrico o por la secuencia de incrementos y disminuciones en el contenido hídrico del suelo (Braunberger et al. 1996; Staddon et al. 2003). En general, las condiciones edáficas necesarias en el proceso de esporulación de los hongos MA son difíciles de definir porque tanto el suelo como la planta hospedante controlan la tasa de esporulación y el período de la fase “lag” necesario para esporular (Johnson et al. 1992). A través de un ensayo bajo condiciones controladas se estableció que son necesarias no menos de cinco semanas para iniciar el proceso de esporulación en tres especies de *Glomus* (Declerck et al. 2001). En el presente estudio, ante déficit hídrico la densidad de esporas no denotó cambios en relación con los valores registrados en suelos control. Estos resultados serían consecuencia de un período insuficiente tanto para el crecimiento vegetal como para el desarrollo del hongo dentro de la raíz necesarios en el proceso de esporulación.

Las investigaciones realizadas por Schellenbaum y col. (1999) y Querejeta y col. (2007) evidenciaron que el déficit hídrico disminuye el crecimiento del micelio extraradical, que concuerda con los resultados obtenidos en esta tesis. Además, Staddon y colaboradores (2003) sugirieron que la sequía promueve la senescencia del micelio externo en suelo. En este

caso, la longitud del micelio externo disminuyó un 45% ante déficit hídrico en relación con el suelo control. Sin embargo, otras características de la simbiosis micorrícica como el largo total de raíz colonizada, colonización por vesículas, número de puntos de entrada, densidad de esporas y la viabilidad de esporas no denotaron diferencias significativas entre los tratamientos sequía y control. Estos hechos sugerirían el desarrollo preferencial de otras estructuras fúngicas en lugar del crecimiento miceliano en suelo. Aún cuando el monto de micelio externo en suelo declina ante sequía, es generalmente aceptado que la capacidad de retención de humedad en suelo incrementa porque el micelio estabiliza los agregados del suelo (Augé et al. 2001) y la absorción de agua y P son mejoradas (Augé et al. 2003; Marulanda et al. 2003; Khalvati et al. 2005). A pesar de la habilidad de los hongos MA de persistir ante condiciones de déficit y exceso hídrico, la formación de nuevas unidades de colonización (medidas como puntos de entrada) disminuye. Esto sugiere que ambas condiciones de estrés inhibirían el crecimiento fúngico afectando la viabilidad de las esporas, la germinación de las esporas y/o el crecimiento del micelio externo en suelo hasta la superficie radical y el posterior desarrollo de apresorios.

El efecto de una condición de estrés específica sobre el crecimiento vegetal, la absorción de nutrientes, las propiedades químicas del suelo, la nodulación radical o la simbiosis micorrícica depende de la severidad de cada condición y de la habilidad de la planta para sobrellevar esa condición de estrés. Consecuentemente, la asociación simbiótica con hongos MA podría tener distinto grado de importancia en el costo energético para la planta; relacionado con la interacción entre la duración y la severidad del estrés y la dependencia de la planta por hongos MA para crecer ante un estrés específico.

Conclusiones

Los resultados de este trabajo permiten concluir que:

- Los hongos formadores de MA colonizan las raíces de *L. tenuis*, *P. vaginatum* y *S. secundatum* a lo largo de un gradiente hídrico, salino y sódico en un pastizal natural de la Cuenca del Río Salado. La colonización radical y la densidad de propágulos fúngicos en suelo varían de manera estacional y ocurren en niveles considerables para sostener la funcionalidad y persistencia de la simbiosis hongos MA-planta en el tiempo.
- *L. tenuis* es una planta micotrófica, y supone una mayor dependencia por la colonización micorrícica respecto a las especies de gramíneas co-dominantes: *S. secundatum* y *P. vaginatum*.
- El efecto estacional sobre la colonización por arbuscúlos y vesículas sugiere el desarrollo preferencial de un tipo de estructura fúngica durante una estación específica.
- En estados nutricionales de deficiencia para el crecimiento vegetal, valores altos de AC se registran al inicio de la estación de crecimiento, cuando la tasa de crecimiento vegetal y de absorción de nutrientes aumentan, y sugieren que existe una correspondencia con los incrementos en la tasa de transferencia de nutrientes y carbohidratos entre los partners de la simbiosis.
- En verano se observaron las fracciones de VC más altas, cuando la tasa de crecimiento vegetal disminuye, la humedad del suelo es menor y la temperatura ambiente aumenta, como respuesta de los hongos MA ante condiciones de estrés.

- La mayor densidad de esporas se registra a fin del verano, y sugiere que esta estructura fúngica se forma principalmente ante temperaturas y tasas de evapotranspiración elevadas, y cuando la tasa de crecimiento vegetal disminuye, como respuesta de los hongos MA ante condiciones de estrés.
- El efecto estacional sobre las variables micorrícicas es independiente de una combinación particular entre la especie vegetal y las variables edáficas a lo largo del gradiente topográfico, y sugiere que la estacionalidad es el factor más importante en la regulación de la densidad de esporas en suelo y en los cambios de la morfología de colonización en las diferentes plantas.
- En estados de deficiencia nutricional para el crecimiento vegetal, la fertilidad del suelo (C-N-P) no muestra asociación con las variables micorrícicas, e indica que los cambios en la disponibilidad de nutrientes en suelo tienen poca influencia sobre los cambios en las variables MA. De manera tal que no necesariamente aumentos en la fertilidad, especialmente P, indican una disminución en la colonización micorrícica. Sin embargo, en estados de suficiencia o aún mayores para el crecimiento vegetal, una mayor fertilidad podría estar asociada con una disminución en la colonización.
- Las concentraciones de N y P en tejido vegetal son siempre mayores en *L. tenuis* que en las gramíneas; y refleja las diferencias relativas en los requerimientos nutricionales entre las especies vegetales estudiadas.

- Ante exceso hídrico, se promueve el pasaje del P edáfico hacia la solución del suelo, en consecuencia aumenta la disponibilidad de P para la absorción radical. En condiciones de sequía, se promueve la retención del P edáfico por el suelo y disminuye el P disponible para el crecimiento vegetal.
- Ante exceso hídrico, *L. tenuis* desarrolla aerénquima tanto en vástago como en raíz y permite la difusión de oxígeno hacia el medio ambiente edáfico que favorecería la supervivencia de los hongos MA ante inundación.
- Las plantas de *L. tenuis* pueden crecer y mantener relaciones simbióticas con bacterias fijadoras de N₂ y hongos MA ante exceso o déficit hídrico, condiciones a las que comúnmente son sometidas en la naturaleza, y podrían justificar la presencia de *L. tenuis* a lo largo de un amplio gradiente hídrico, salino y sódico. Sin embargo, las estrategias de las plantas en ambas condiciones de estrés hídrico son diferentes. Ante inundación, las plantas disminuyen el crecimiento radical e incrementan el crecimiento del vástago facilitando así la eliminación de agua por transpiración. Ante sequía, las plantas disminuyen el crecimiento del vástago y en menor medida el crecimiento radical, con el resultado neto de una reducción en la tasa de transpiración, y mantener así un estado hídrico suficiente para el crecimiento de la planta.
- La estrategia fúngica difiere ante exceso y déficit hídrico. El exceso hídrico provoca una disminución significativa en la colonización por arbusculos, puntos de entrada y la densidad de esporas y micelio extraradical, pero por otro lado la colonización por vesículas se incrementa significativamente. Ante déficit hídrico, sin embargo, los hongos MA reducen el crecimiento del micelio externo pero moderadamente la colonización por arbusculos e invierten más energía en mantener una proporción

similar de vesículas intraradicales y esporas en suelo en relación con el tratamiento control.

Bibliografía

Abbott L, Robson A (1991) Factors influencing the occurrence of vesicular arbuscular mycorrhizas. *Agric Ecosyst Environ.* 35: 121-150.

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

Al-Agely AK, Reeves FB (1995) Inland sand dune mycorrhizae : effects of soil depth, moisture, and pH on colonization of *Oryzopsis hymenoides*. *Mycologia.* 87: 54-60.

Alexander T, Meier R, Toth R, Weber HC (1988) Dynamics of arbuscule development and degeneration in mycorrhizas of *Triticum aestivum* L. and *Avena sativa* L. with reference to *Zea mays* L. *New Phytol.* 110: 363-370.

Al-Karaki GN, Clark RB (1998) Growth, mineral acquisition, and water use by mycorrhizal wheat grown under water stress. *J Plant Nutr.* 21:263-276.

Allen MF (1983) Formation of vesicular-arbuscular mycorrhizae in *Atriplex gardneri* (Chenopodiaceae): seasonal response in a cold desert. *Mycologia.* 75: 773-776.

Allen MF (1996) The ecology of arbuscular mycorrhizas: a look back into the 20th century and peek into the 21st. *Mycol Res.* 100: 769-782.

Allen MF, Allen EB, Stahl PD (1984) Differential niche response of *Bouteloua gracilis* and *Pascopyrum smithii* to VA mycorrhizae. *Bull Torrey Bot Club.* 11: 361-365.

Allen MF, Klironomos JN, Treseder KK, Oechel WC (2005) Responses of soil biota to elevated CO₂ in a chaparral ecosystem. *Ecol Appl.* 15: 1710-1711.

Alvarez S, Guerrero MC (2000) Enzymatic activities associated with decomposition of particulate organic matter in two shallow ponds. *Soil Biol Biochem.* 32: 1941-1951.

Amijee F, Tinker PB, Stribley DP (1989) The development of endomycorrhizal systems. VII. A detailed study of the effects of soil phosphorus on colonization. *New Phytol.* 111: 435-446.

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

Anderson G (1980) Assessing organic phosphorus in soil. En *The Role of Phosphorus in Agriculture*. Khasaqneh FE, Sample EC, Kamprath EJ (Eds.). Am. Soc. Agron., Madison, WI. pp 411-432.

Appel T (1998) Non-biomass soil organic N – the substrate for N mineralization flushes following soil drying-rewetting and for organic N rendered CaCl₂-extractable upon soil drying. *Soil Biol Biochem.* 30: 1445-1456.

Apple ME, Thee CI, Smith-Longozo VL, Cogar CR, Wells CE, Nowad RS (2005) Arbuscular mycorrhizal colonization of *Larrea tridentata* and *Ambrosia dumosa* roots varies with precipitation and season in the Mojave Desert. *Symbiosis.* 39: 131-135.

Augé RM (2001) Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*. 11: 3-42.

Augé RM (2004) Arbuscular mycorrhizae and soil/plant water relations. *Can J Soil Sci*. 84: 373-381.

Augé RM, Moore JL, Cho K, Stutz JC, Sylvia DM, Al-Agely AK, Saxton AM (2003) Relating foliar dehydration tolerance of mycorrhizal *Phaseolus vulgaris* to soil and root colonization by hyphae. *J Plant Physiol*. 160: 1147-1156.

Augé RM, Stodola AJW, Tims JE, Saxton AM (2001) Moisture retention properties of a mycorrhizal soil. *Plant Soil*. 230: 87-97.

Ayling SM, Smith SE, Smith FA, Kolesik P (1997) Transport processes at the plant-fungus interface in mycorrhizal associations: physiological studies. *Plant Soil*. 196: 305-310.

Azcón R, Ambrosano E, Charest C (2003) Nutrient acquisition in mycorrhizal lettuce plants under different phosphorus and nitrogen concentration. *Plant Sci*. 165: 1137-1145.

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

Azcón R, Ruiz-Lozano JM, Rodríguez R (2001) differential contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to plant nitrate uptake (N-15) under increasing N supply to the soil. *Can J Botany*. 79: 1175-1180.

Azcón-Aguilar C, Barea JM (1992) Interactions between mycorrhizal fungi and other rhizosphere microorganisms. En: Mycorrhizal functioning: An integral plant fungal process. Allen M (Ed.). Chapman y Hall.

Barber SA (1984) Soil Nutrient Bioavailability: A Mechanistic Approach. Wiley, New York.

Barker SJ, Tagu D, Delp G (1998) Regulation of root and fungal morphogenesis in mycorrhizal symbioses. Plant Physiol. 116: 1201-1207.

Barrow NJ (1978) Problems of efficient fertilizer use. En: Plant Nutrition. Proc. 8th Int. Coll. Plant Analysis and Fertilizer Problems. Ferguson AR, Bielecki RL, Ferguson IN (Eds.). Wellington Govt. Press. pp 37-52.

Barrow NJ (1983) A mechanistic model for describing the sorption and desorption of phosphate by soil. J Soil Sci. 34: 733-750.

Barrow NJ, Mendoza RE (1990) Equations for describing sigmoid yield responses and their application to some phosphate responses by lupins and y subterranean clover. Fertil Res. 22: 181-188.

Bearden BN (2001) Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on soil structure and soil water characteristics of vertisols. Plant Soil. 229: 245-258.

Bentivenga SP, Hetrick BAD (1992) Seasonal and temperature effects on mycorrhizal activity and dependence of cool- and warm-season tallgrass prairie grasses. Can J Bot. 70: 1596-1602.

Beuselinck PR (1999) Trefoil: The Science and Technology of the *Lotus*. CSSA Special Publication Number 28. Madison, Wisconsin, USA.

Bever JD, Morton JB, Antonovics J, Schultz PA (1996) Host-dependent sporulation and species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a mown grassland. *J Ecol.* 84: 71-82.

Biermann B, Lindermann RG (1983) Use of vesicular-arbuscular mycorrhizal roots, intraradical vesicles and extraradical vesicles as inoculum. *New Phytol.* 95: 97-105.

Blaszkowski J, Madej T, Tadych M (1998) *Entrophospora baltica* sp. nov. and *Glomus fuegianum*, two species in the Glomales from Poland. *Mycotaxon.* 68: 165-184.

Blom CWPM, Voesenek LACJ (1996) Flooding: the survival strategies of plants. *Tree.* 11: 290-295.

Bohrer KE, Friese CF, Amon JP (2004) Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi in differing wetland habitats. *Mycorrhiza.* 14: 329-337.

Bolan NS (1991) A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant Soil.* 134: 189-207.

Bolan NS, Hedley MJ, White RE (1991) Processes of soil acidification during nitrogen cycling with emphasis on legume based pastures. *Plant Soil.* 134: 53-63.

Bolan NS, Robson AD, Barrow NJ (1984) Increasing phosphorus supply can increase the infection of plant roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biol Biochem.* 16: 419-420.

Braunberger PG, Miller MH, Peterson RL (1991) Effect of phosphorus nutrition on morphological characteristics of vesicular-arbuscular mycorrhizal colonization of maize. *New Phytol.* 119: 107-113.

Bray RH, Kurtz LT (1945) Determination of total organic and available forms of phosphorus in soils. *Soil Sci.* 59: 39-45.

Bremner JM, Mulvaney CS (1982) Nitrogen Total. En: *Methods in Soil Analysis: Agronomy*. Black CA (ed.). American Society of Agronomy. Inc. Madison, Wisconsin, USA, pp. 595-624.

Brown AM, Bledsoe C (1996) Spatial and temporal dynamics of mycorrhizas in *Jaumea carnosa*, a tidal saltmarsh halophyte. *J Ecol.* 84: 703-715.

Brundrett MC, Piché Y, Peterson RL (1985) A development study of the early stages in vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. *Can J Bot.* 63: 184-194.

Cabrera AL (1970) *Flora de la Provincia de Buenos Aires. Parte II Gramíneas. Tomo IV. Colección Científica del INTA.*

Camargo-Ricalde SL, Dhillion SS, Jiménez-Gonzalez C (2003) Mycorrhizal perennials of the “matorral xerófilo” and the “selva baja caducifolia” communities in the semiarid Tehuacán-Cuicatlán Valley, México. *Mycorrhiza*. 13: 77-83.

Caravaca F, Alguacil MM, Hernández JA, Rodán A (2005) Involvement of antioxidant enzyme and nitrate reductase activities during water stress and recovery of mycorrhizal *Myrtus communis* and *Phillyrea angustifolia* plants. *Plant Sci*. 169: 191-197.

Cardoso IM, Kuyper TW (2006) Mycorrhizas and tropical soil fertility. *Agric Ecosyst Environ*. 116: 72-84.

Carling DE, Riehle WG, Brown MF, Johnson DR (1978) Effects of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus on nitrate and nitrogenase activities in nodulating and non-nodulating soybeans. *Phytopathology*. 68: 1590-1596.

Carvalho LM, Caçador I, Martins-Loução MA (2001) Temporal and spatial variation of arbuscular mycorrhizas in salt marsh plants of the Tagus estuary (Portugal). *Mycorrhiza*. 11: 303-309.

Carvalho LM, Correia PM, Martins-Loução MA (2004) Arbuscular mycorrhizal fungal propagules in a salt marsh. *Mycorrhiza*. 14: 165-170.

Chalk PM, de F Souza R, Urquiaga S, Alves BJR, Boddey RM (2006) The role of arbuscular mycorrhiza in legume symbiotic performance. *Soil Biol Biochem*. 38: 2944-2951.

Chapman HD (1965) Cation exchange capacity. En: Methods of soil analysis, part 2, 2nd edn. Black CA (ed.). American Society of Agronomy, Madison, Wis., pp 891-901.

Chaves MM (1991) Effects of water deficits on carbon assimilation. *J Exp Bot.* 42: 1-16.

Consejo Federal de Inversiones (1962) Recursos Hidráulicos Superficiales, Serie Evaluación de los Recursos Naturales de la Argentina (1^{ra} etapa), tomo IV, volumen 1, Buenos Aires.

Cornwell WK, Bedford BL, Chapin CT (2001) Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi in a phosphorus-poor wetland and mycorrhizal response to phosphorus fertilization. *Am J Bot.* 88: 1824-1829.

Cosgrove DJ (1977) Microbial transformations in the phosphorus cycle. *Adv Microbial Ecol.* 1: 95-134.

Crawford RMM (1992) Oxygen availability as an ecological limit to plant distribution. *Adv Ecol Research.* 23: 93-185.

Daget P, Poissonet J (1971) Une méthode d'analyse phytologique des prairies. Critères d'application. *Ann Agron.* 22: 5-41.

Daniels N, Skipper H (1982) Methods for the recovery and quantitative estimation of propagules from soil. En: *Methods and Principles of Mycorrhizal Research.* Schenck NC (ed.). American Phytopathology Society. St. Paul, MI, USA, pp. 29-35.

Day LD, Sylvia DM, Collings ME (1987) Interactions among vesicular-arbuscular mycorrhizae, soil and landscape position. *Soil Sci Soc Am J.* 51: 635-639.

Declerck S, D'or D, Cranenbrouck S, le Boulengé E (2001) Modelling the sporulation dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi in monoxenic culture. *Mycorrhiza.* 11: 225-230.

DeMars BG, Boerner REJ (1995) Mycorrhizal dynamics of three woodland herbs of contrasting phenology along topographic gradients. *Am J Bot.* 82: 1426-1431.

Dickson S, Smith SE (2001) Cross walls in arbuscular trunk hyphae form after loss of metabolic activity. *New Phytol.* 151: 735-742.

Douds DD Jr, Chaney WR (1982) Correlation of fungal morphology and development to host growth in a green ash mycorrhiza. *New Phytol.* 92: 519-526.

Drew MC (1992) Soil aeration and plant root metabolism. *Soil Sci.* 154: 259-268.

Entry JA, Rygiewicz PT, Watrud LS, Donnelly PK (2002) Influence of adverse soil conditions on the formation and function of arbuscular mycorrhizas. *Ad Environ Res.* 7: 123-138.

Ernst WHO (1990) Ecophysiology of plants in waterlogged and flooded environments. *Aquat Bot.* 38: 73-90.

Escudero VG, Mendoza RE (2005) Seasonal variation of arbuscular mycorrhizal fungi in temperate grasslands along a wide hydrologic gradient. *Mycorrhiza.* 15: 291-299.

Estaun MV (1989) Effect of NaCl and mannitol on germination and hyphal growth of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Agric Ecosyst Environ.* 29: 123-129.

Faver KL, Gerik TJ, Thaxton PM, El-Zik KM (1996) Late season water stress in cotton. II. Leaf gas exchange and assimilation capacity. *Crop Sci.* 36: 922-928.

Fontenla S, Puntieri J, Ocampo JA (2001) Mycorrhizal associations in the Patagonian steppe, Argentina. *Plant Soil.* 233: 13-29.

Fougnyes L, Renciot S, Muller F, Planchette C, Prin Y, de Faria SM, Bouvet JM, Sylla SNd, Dreyfus B, Bâ AM (2007) Arbuscular mycorrhizal colonization and nodulation improve flooding tolerance in *Pterocarpus officinalis* Jacq. seedlings. *Mycorrhiza.* 17: 159-166.

Frank AB (1885) Ueber die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze. *Ber Dtsch Bot Ges.* 3: 128-145.

Gai JP, Feng G, Cai XB, Christie P, Li XL (2006) A preliminary survey of the arbuscular mycorrhizal status of grassland plants in southern Tibet. *Mycorrhiza.* 16: 191-196.

Gallaud J (1905) Étude sur les mcorrhizes endotrophes. *Rev Gén Bot.* 17 : 5-48, 66-83, 123-136, 223-249, 313-325, 425-433, 479-500.

García I, Mendoza R (2007) Arbuscular mycorrhizal fungi and plant symbiosis in a saline-sodic soil. *Mycorrhiza.* 17: 167-174.

García R (2004) Inferencia estadística y diseño de experimentos. Eudeba, Buenos Aires.

Gavito ME, Varela L (1993) Seasonal dynamic of mycorrhizal associations in maize fields under low input agriculture. *Agric Ecosyst Environ.* 45: 275-282.

Gee GW, Bauder JW (1986) Particle-size analysis. *Methods of soil analysis*. En A. Klute (ed.). Part 1. 2nd ed. Agron. Monogr. 9. ASA and SSSA, Madison, WI, pp. 383–411.

Gibson DJ, Hetrick BAD (1988) Topographic and fire effects on the composition and abundance of VA-mycorrhizal fungi in tallgrass prairie. *Mycologia.* 80: 433-441.

Ginzo HD, Collantes MB, Caso OH (1986) Fertilization of a halophytic grassland in Argentina: Herbage dry matter, botanical composition, and mineral content. *Turrialba.* 36: 453-459.

Giovannetti M, Mosse B (1980) An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.* 84: 489-500.

Goicoechea N, Antolín MC, Sánchez-Díaz M (1997) Influence of arbuscular mycorrhizae and *Rhizobium* on nutrient content and water relations in drought stressed alfalfa. *Plant Soil.* 192: 261-268.

Hawkins HJ, Johansen A, George E (2000) Uptake and transport organic and inorganic nitrogen by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil.* 226: 275-285.

He XL, Mouratov S, Steinberger Y (2002) Temporal and spatial dynamics of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi under the canopy of *Zygophyllum dumosum* Boiss. in the Negev Desert. J. Arid Environ. 52: 379-387.

Hedley MJ, Stewart JWB, Chauhan BS (1982) Changes in inorganic and organic soil phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations. Soil Sci Soc Am J. 46: 970-976.

Herpich WB, Peckmann BK (1997) Responses of gas exchange, photosynthesis, nocturnal acid accumulation and water relations of *Aptenia cordifolia* to short-term drought and rewatering. J Plant Physiol 150: 467-474.

Hidalgo L, Cauhépé MA (1991) Effects of seasonal rest in a above-ground biomass for a native grassland of the Flooding Pampa, Argentina. J Range Management. 44: 471-475.

Hidalgo LG, Rimoldi PO (1992) *Lotus tenuis* en pastizales templado sub húmedos: su efecto en el valor nutritivo de la vegetación. Congreso Latinoamericano de Ecología. 2. (Resúmenes), Carambú, Mina Gerais, Brasil, disc 6-11. SEB. pp. 540-542.

Hiler E A, van Bavel C H M, Hossain M M, Jordan W R (1972) Sensitivity of southern peas to plant water deficit at three growth stages. Agron J. 64: 60-64.

Hirsch AM, Kapulnik Y (1998) Signal transduction pathways in mycorrhizal associations: comparisons with the *Rhizobium*-legume symbiosis. Fungal Genet Biol. 23: 205-212.

Hoagland DR, Arnon DL (1938) The water culture method for growing plants without soil. California Agr. Expt. Sta. Circ. 347.

INTA-CIRN (1990) Atlas de suelos de la República Argentina. Tomo I. SAGyP-PNUD, Argentina, 085/19.

Ipsilantis I, Sylvia DM (2007) Interactions of assemblages of mycorrhizal fungi with two Florida Wetland plants. *Applied Soil Ecol.* 35: 261-271.

Jackson ML (1958) Soil chemical analysis. Method of soil analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties. En: Black CA, Evans DD, White JR, Ensminger GE, Clarck FE (eds.) Prentice Hall, Inc Englewood Cliffs, pp. 801.

Jackson MB, Drew MC (1984) Effect of flooding on growth and metabolism of herbaceous plant. En: *Flooding and Plant Growth*. T T Kozłowski (Ed.). Academic Press, Orlando, pp. 47-128.

Johnson NC, Tilman D, Wedin D (1992) Plant and soil controls on mycorrhizal fungi. *Ecology.* 73: 2034-2042

Johnson NC, Zak DR, Tilman D, Pflieger FL (1991) Dynamics of vesicular-arbuscular mycorrhizae during old field succession. *Oecologia.* 86: 349-358.

Jones HG (1992) *Plants and Microclimat. A Quantitative Approach to Environmental Plant Physiology*, 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge.

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

Juniper S, Abbott L (2006) Soil salinity delays germination and limits growth of hyphae from propagules of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*. 16: 371-379.

Khalvati M A, Hu Y, Mozafar A and Schmidhalter U (2005) Quantification of water uptake by arbuscular mycorrhizal hyphae and its significance for leaf growth, water relations, and gas exchange of barley subjected to drought stress. *Plant Biol* 7:706-712

Kleiman ID, Cogliatti DH, Santa María GE (1992) Efecto de la hipoxia sobre el crecimiento y adquisición de nutrientes en *Lolium multiflorum*. *Turrialba* 42: 210-219.

Koske RE (1987) Distribution of VAM fungi along a latitudinal temperature gradient. *Mycologia*. 79: 55-68.

Kramer PJ, Boyer JS (1995) *Water Relations of Plants and Soils*. Academic, New York.

Landwehr M, Hildebrandt U, Wilde P, Nawrath K, Tóth T, Biró B, Bothe H (2002) The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus geosporum* in European saline, sodic and gypsum soils. *Mycorrhiza*. 12: 199-211.

Lavado RS, Rubio G, Alconada M (1992) Grazing management and soil salinization in two Pampean Natraqualls. *Turrialba*. 42: 500-508.

Lavado RS, Rubio G, Casasola G, Alvarez CR (1993) Nitrogen and phosphorus nutrition of two species of a natural grassland under waterlogging and fertilization. *Developments in Plant and Soil Sciences*. Vol 45 Barrow J. (Ed.), Kluwer, Dordrecht, pp. 341-344.

León RJC (1975) Las comunidades herbáceas de la región Castelli-Pila. En: *Productividad Primaria Neta de Sistemas Herbáceos*. Monografías 5: 75-107. C.I.C. La Plata.

Li XL, George E, Marschner H (1991) Extention of the phosphorus depletion zone in VA-mycorrhizal white clover in a calcareous soil. *Plant Soil*. 136: 41-48.

Loneragan JF, Asher CJ (1967) Response of plants to phosphate concentration in solution culture: II. Rate of phosphate absorption and its relation to growth. *Soil Sci*. 103: 311-318.

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

Lugo MA, Maza ME, Cabello MN (2003) Arbuscular mycorrhizal fungi in a mountain grassland II: Seasonal variation of colonization studied, along with its relation to grazing and metabolic host type. *Mycologia*. 95: 407-415.

Mäder P, Vierheilig H, Streitwof-Engel R, Boller T, Frey B, Christie P, Wiemken A (2000) Transport of N¹⁵ from a soil compartment separated by a polytetrafluoroethylene membrane to plant roots via the hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol*. 146: 155-161.

Marschner H (1995) Mineral nutrition of higher plants. Second edition. Academic Press, London, UK. 889p.

Marschner H, Dell B (1994) Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant Soil*. 159: 89-102.

Marulanda A, Azcón R, Ruiz-Lozano JM (2003) Contribution of six arbuscular mycorrhizal fungal isolates to water uptake by *Lactuca sativa* plants under drought stress. *Physiol Plant*. 119: 526-533.

Mc Gonigle TP, Miller MH, Evans DG, Fairchild GL, Swan JA (1990) A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol*. 115: 495-501.

McCune B (1991) Multivariate analysis on the PC-ORD system. Oregon State University, Corvallis.

McMillen BG, Juniper S, Abbott LK (1998) Inhibition of hyphal growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus in soil containing sodium chloride limits the spread of infection from spores. *Soil Biol Biochem*. 30: 1639-1646.

Mendoza R (1980) Adsorción de fósforo en el suelo y su relación con la producción de dos especies forrajeras. *Rev Fac Agron Bs As*. 1: 19-30.

Mendoza R, Barrow NJ (1987) Characterizing the rate of reaction of some Argentinian soils with phosphate. *Soil Sci*. 143: 105-112.

Mendoza R, Cogliatti D, Collantes M, Kade M (1983) Efecto de la fertilización nitrógeno-fosfatada sobre el crecimiento otoño-invernal y la absorción de fósforo en tepes de un pastizal natural. Turrialba. 33: 311-320.

Mendoza R, Escudero V, García I (2005 a) Plant growth, nutrient acquisition and mycorrhizal symbioses of a waterlogging tolerant legume (*Lotus glaber* Mill.) in a saline-sodic soil. Plant Soil. 275: 305-315.

Mendoza R, García I, Escudero V (2005 b) Can the symbiosis between arbuscular mycorrhiza and *Lotus glaber* tolerate waterlogging in a saline-sodic soil?. *Lotus* Newsletter. 35: 115-119.

Mendoza R, Gigli S (1995) Relative effectiveness of phosphate for *Lotus glaber* and *Lotus corniculatus* growth and the effect of added P on vesicular arbuscular mycorrhizal infection. J Plant Nut. 18: 1483-1494.

Mendoza R, Pagani E (1997) Influence of phosphorus nutrition on mycorrhizal growth response and morphology of mycorrhizae in *Lotus tenuis*. J Plant Nut. 20: 625-639.

Mendoza R, Pagani E, Pomar MC (2000) Variabilidad poblacional de *Lotus glaber* en relación con la absorción de fósforo en suelo. Ecología Austral. 10: 3-14.

Miller SP, Bever J (1999) Distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in stands of the wetland grass *Panicum hemitomon* along a wide hydrologic gradient. Oecologia. 119: 586-592.

Miller SP, Sharitz RR (2000) Manipulation of flooding and arbuscular mycorrhiza formation influences growth and nutrition of two semiaquatic grass species. *Funct Ecol.* 14: 738-748.

Miller SP (2000) Arbuscular mycorrhizal colonization of semi-aquatic grasses along a wide hydrologic gradient. *New Phytol.* 145: 145-155.

Moog PR, Janiesch P (1990) Root growth and morphology of *Carex* species as influenced by oxygen deficiency. *Funct Ecol.* 4: 201-208.

Morton JB, Redecker D (2001) Two new families of Glomales, Archaeosporaceae and Paraglomaceae, with two new genera Archaeospora and Paraglomus, based on concordant molecular and morphological characters. *Mycologia.* 93: 181-195.

Mosse B, Stribley D, Le Tacon F (1981) Ecology of mycorrhizas and mycorrhizal fungi. En: *Advances in microbial ecology.* Alexander M (Ed.). Plenum Press, New York, pp 137-210.

Mullen RB, Schmidt SK (1993) Mycorrhizal infection, phosphorus uptake and phenology in *Ranunculus adoneus*: implications for the functioning of mycorrhizae in alpine systems. *Oecologia.* 94: 229-234.

Munns R (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ.* 25: 239-250.

Muthukumar T, Udaiyan K (2002) Seasonality of vesicular-arbuscular mycorrhizae in sedges in a semi-arid tropical grassland. *Acta Oecologica.* 23: 337-347.

Muthukumar T, Udaiyan K, Karthikeyan A, Manian S (1997) Influence of native endomycorrhiza, soil flooding and nurse plant on mycorrhizal status and growth of puple nutsedge (*Cyperus rotundus* L.). *Agric Ecosyst Environ.* 61: 51-58.

Mwanamwenge J, Loss SP, Siddique KHM, Cocks PS (1999) Effect of water stress during floral initiation, flowering and podding on the growth and yield of faba bean (*Vicia faba* L.). *Eur J Agron.* 11: 1-11.

Nelder JA, Mead R (1965) A simplex method for function minimisation. *Comput J.* 7: 308-313.

Neto D, Carvalho LM, Cruz C, Martins-Loução MA (2006) How do mycorrhizas affect C and N relationships in flooded *Aster tripolium* plants?. *Plant Soil.* 279: 51-63.

Newsham KK, Fitter AH, Watkinson AR (1995) Multifunctionality and biodiversity in arbuscular mycorrhizas. *Trends Ecol Evol.* 10: 407-411.

Ortas I, Harris PJ, Rowell DL (1996) Enhance uptake of phosphorus by mycorrhizal sorghum plants as influenced by forms of nitrogen. *Plant Soil.* 184: 255-264.

Osono T, Ono Y, Takeda H (2003) Fungal ingrowth on forest floor and decomposing needle litter of *Chamaecyparis obtusa* in relation to resource availability and moisture condition. *Soil Biol Biochem.* 35: 1423-1431.

Pate JS (1994) The mycorrhizal association: just one of many nutrient acquiring specializations in natural ecosystems. En: *Management of Mycorrhizas in Agriculture,*

Horticulture and Forestry. Robson AD, Abbott LK, Malajczuk N (Eds.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 1-10.

Pereira JS, Chaves MM (1995) Plant responses to drought under climate change in Mediterranean-type ecosystems. En: Global Change and Mediterranean-type Ecosystems, Ecology Studies. Moreno JM, Oechel WC (Eds.). vol. 117. Springer-Verlag, Berlin, pp. 140-160.

Pezzani F, Montaña C, Guevara R (2006) Associations between arbuscular mycorrhizal fungi and grasses in the successional context of a two-phase mosaic in the Chihuahuan Desert. *Mycorrhiza*. 16: 285-295.

Phillips JM, Hayman DS (1970) Improved procedure for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans Br Mycol Soc*. 55: 158-161.

Pinkerton A, Simpson JR (1986) Interactions of surface drying and subsurface nutrients affecting plant-growth on acidic soil profiles from an old pasture. *Aust J Exp Agric*. 26: 681-689.

Plenchette C, Perrin R, Duvert P (1989) The concept of soil infectivity and a method for its determination as applied to Endomycorrhizas. *Can J Bot*. 67: 112-115.

Plenchette C, Strullu DG (2003) Long-term viability and infectivity of intraradical forms of *Glomus intraradices* vesicles encapsulated in alginate beads. *Mycol Res*. 107: 614-616.

Ponnamperuma FN (1984) Effects of flooding on soils. En: Flooding and plant growth. Kozlowski TT (Ed.). Academic Press, London. pp. 9-45.

Porcel R, Ruiz-Lozano JM (2004) Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. *J Exp Bot.* 55: 1740-1750.

Pugh R, Witty J F, Mytton LR, Minchin FR (1995) The effect of waterlogging on nitrogen fixation and nodule morphology in soil grown white clover (*Trifolium repens* L.). *J Exp Bot.* 46: 285-290.

Querejeta JE, Egerton-Warburton LM, Allen MF (2007) Hydraulic lift may buffer rhizosphere hyphae against the negative effects of severe soil drying in a California Oak savanna. *Soil Biol Biochem.* 39: 409-417.

Richards L (1974) Diagnóstico y Rehabilitación de Suelos Salinos y Sódicos. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América. Editorial Limusa. México.

Richter M, Von Wistinghausen E (1981) Unterscheidbarkeit von humusfraktionen in boden bei unterschiedlicher bewirtschaftung. *Z Pflanzenernaehr Bodenk.* 144: 395-406.

Rickerl DH, Sancho FO, Ananth S (1994) Vesicular-arbuscular endomycorrhizal colonization of wetland plants. *J Environ Qual.* 23: 913-916.

Rilling MC (2004) Arbuscular mycorrhizae and terrestrial ecosystem processes. *Ecol Letters.* 7: 740-754.

Robson AD, Abbott LK (1989) The effect of soil acidity on microbial activity in soils. En: Soil acidity and plant growth. Robson AD (Ed). Academic press, Sydney, 99: 139-165.

Rogers ME, Noble CL, Pederick RJ (1997) Identifying suitable forage legume species for saline areas. Aust J Exp Agric. 37: 639-645.

Rogers ME, West DW (1993) The effects of rootzone salinity and hypoxia on shoot and root growth in *Trifolium* species. An Bot. 72: 503-509.

Rosso OR, Gómez PO (1995) Selectividad de novillos en una pastura de agropiro y *Lotus tenuis*. Revista Argentina de Producción Animal. 15: 364-366.

Rowell JG, Walters DE (1976) Analysing data with repeated observations on each experimental unit. J Agric Sci. 87: 423-432.

Rubio G, Casasola G, Lavado RS (1995) Adaptations and biomass production of two grasses in response to waterlogging and soil nutrient enrichment. Oecologia. 102: 102-105.

Rubio G, Oosterheld M, Alvarez CR, Lavado RS (1997) Mechanisms for the increase in phosphorus uptake of waterlogged plants: Soil phosphorus availability, root morphology and uptake kinetics. Oecologia. 112: 150-155.

Ruiz-Lozano JM (2003) Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. New perspectives for molecular studies. Mycorrhiza. 13: 309-317.

Ruiz-Lozano JM, Azcón R (1995) Hyphal contribution to water uptake in mycorrhizal plants as affected by the fungal species and water status. *Physiol Plantarum*. 95: 472-478.

Ruiz-Lozano JM, Azcón R (1996) Mycorrhizal colonization and drought stress as factors affecting nitrate reductase activity in lettuce plants. *Agric Ecosyst Environ*. 60: 175-181.

Ruiz-Lozano JM, Azcón R, Gomez M (1996) Alleviation of salt stress by arbuscular-mycorrhizal *Glomus* species in *Lactuca sativa* plants. *Physiol Plantarum*. 98: 767-772.

Ruiz-Lozano JM, Collados C, Barea JM, Azcón R (2001) Arbuscular mycorrhizal symbiosis can alleviate drought-induced nodule senescence in soybean plants. *New Phytol*. 151: 493-502.

Sah RN, Mikkelsen DS (1989) Phosphorus behavior in flooded, drained soils. I. Effects on phosphorus sorption. *Soil Sci Soc Am J*. 53: 1718-1722.

Sánchez-Blanco MJ, Ferrández T, Morales MA, Morte A, Alarcón JJ (2004) Variations in water status, gas exchange, and growth in *Rosmarinus officinalis* plants infected with *Glomus deserticola* under drought conditions. *J Plant Physiol*. 161: 675-682.

Sanders IR, Fitter AH (1992 a) The ecology and functioning of vesicular-arbuscular mycorrhizas in co-existing grassland species I. Seasonal patterns of mycorrhizal occurrence and morphology. *New Phytol*. 120: 517-524.

Sanders IR, Fitter AH (1992 b) The ecology and functioning of vesicular-arbuscular mycorrhizas in co-existing grassland species II. Nutrient uptake and growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal plants in a semi-natural grassland. *New Phytol.* 120: 525-533.

Sannazzaro AI, Ruiz OA, Albertó E, Menéndez AB (2004) Presence of different arbuscular mycorrhizal infection patterns in roots of *Lotus glaber* plants growing in the Salado River Basin. *Mycorrhiza.* 14: 139-142.

Schachtman DP, Kelman WM (1991) Potential for *Lotus* germplasm for the development of salt, aluminium and manganese tolerant pasture plants. *Aust J Agric Res.* 42: 139-149.

Schellenbaum L, Sprenger N, Schüepp H, Wiemken A, Boller T (1999) Effects of drought, transgenic expression of a fructan synthesising enzyme and of a mycorrhizal symbiosis on growth and soluble carbohydrate pools in tobacco plants. *New Phytol.* 142: 67-77.

Schübler A, Schwarzott D, Walker C (2001) A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycol Res.* 105: 1413-1421.

Sigüenza C, Espejel I, Allen EB (1996) Seasonality of mycorrhizae in coastal sand dunes of Baja California. *Mycorrhiza.* 6: 151-157.

Siqueira JO, Hubbell DH, Mamad AW (1984) Effect of liming on spore germination, germ tube growth and root colonization by vesicular-arbuscular fungi. *Plant Soil.* 76: 115-124.

Smith FA, Smith SE (1997) *Mycorrhizal symbiosis*. London, UK, Academic Press.

Smith MD, Hartnett DC, Wilson GWT (1999) Interacting influence of mycorrhizal symbiosis and competition on plant diversity in tallgrass prairie. *Oecologia*. 121: 574-582.

Smith SE, John BL St, Smith FA, Nicholas DJD (1985) Activity of glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase in *Trifolium subterraneum* L. and *Allium cepa* L., effects of mycorrhizal infection and phosphorus nutrition. *New Phytol.* 99 : 211-227.

Smith SE, Read DJ (1997) *Mycorrhizal Symbiosis*. 2nd edn. Academic Press Inc., Cambridge, MA. 605pp.

Smith SE, Smith FA (1990) Structure and function of interface in biotrophic symbiosis as they relate to nutrient transfer. *New Phytol.* 114: 1-38.

Soriano A (1992) Río de la Plata grasslands. *Natural Grasslands: Introduction and Western Hemisphere. Ecosystems of the World 8A*. Coupland RT (Ed.). Elsevier, Amsterdam, pp. 367-407.

Staddon PL, Ostle N, Fitter AH (2003) Earthworm extraction by electroshocking does not affect canopy CO₂ exchange, root respiration, mycorrhizal fungal abundance or vitality. *Soil Biol Biochem.* 35: 421-426.

Steinberg PD, Rilling MC (2003) Differential decomposition of arbuscular mycorrhizal fungal hyphae and glomalin. *Soil Biol Biochem.* 35: 191-194.

Stenlund DL, Charvat ID (1994) Vesicular arbuscular mycorrhizae in floating wetland mat communities dominated by *Typha*. *Mycorrhiza.* 4: 131-137.

Stevens KJ, Peterson RL (1996) The effect of a water gradient on the vesicular-arbuscular mycorrhizal status of *Lythrum salicaria* L. (purple loosestrife). *Mycorrhiza*. 6: 99-104.

Stevens KJ, Spender SW, Peterson RL (2002) Phosphorus, arbuscular mycorrhizal fungi and performance of the wetland plant *Lythrum salicaria* L. under inundated conditions. *Mycorrhiza*. 12: 277-283.

Stevenson FJ (Ed.) (1982) "Nitrogen in Agricultural Soils". *Agronomy*. Vol. 22. Am. Soc. Agron. Madison, Wisconsin.

Striker GG, Insausti P, Grimoldi AA, Ploschuk EL, Vasellati V (2005) Physiological and anatomical basis of differential tolerance to soil flooding of *Lotus corniculatus* L. and *Lotus glaber* Mill. *Plant Soil*. 276: 301-311.

Subramanian K S, Santhanakrishnan P and Balasubramanian P (2006) Responses of field grown tomato plants to arbuscular mycorrhizal fungal colonization under varying intensities of drought stress. *Scientia Horticulturae*. 107: 245-253.

Subsecretaría de Recursos Hídricos de la Nación e Instituto Nacional del Agua (2002) Atlas Digital de los Recursos Hídricos Superficiales de la República Argentina. CD-Rom, Buenos Aires, Argentina.

Sylvia DM, Williams SE (1992) Vesicular-arbuscular mycorrhizae and environmental stresses. En: *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. Bethlenfalvay GJ, Linderman RG (eds). ASA Spec. Publ. No. 54. ASA, Madison, pp 101-124.

Teakle NL, Flowers TJ, Real D, Colmer TD (2007) *Lotus tenuis* tolerates the interactive effects of salinity and waterlogging by 'excluding' Na⁺ and Cl⁻ from the xylem. *J Exp Bot.* 58: 2169-2180.

Teakle NL, Real D, Colmer TD (2006) Growth and ion relations in response to combined salinity and waterlogging in the perennial forage legumes *Lotus corniculatus* and *Lotus tenuis*. *Plant Soil.* 289: 369-383.

Teo YH, Beyrouthy CA, Norman BJ, Norman RJ, Gbur EE (1994) Nutrient supplying capacity of a paddy rice soil. *J Plant Nutr.* 17: 1983-2000.

Ter Braak CJF (1987-1992) CANOCO-a FORTRAN program for canonical community ordination. Microcomputer Power, Ithaca, NY.

Titus JH, Titus PJ, Nowak RS, Smith SD (2002) Arbuscular mycorrhizae of Mojave Desert plants. *West N Am Naturalist.* 62: 327-334.

Troeh Z.I., Loynachan T.E. (2003) Endomycorrhizal fungal survival in continuous corn, soybean, and fallow. *Agron J.* 95: 224–230.

Unger PW, Kaspar TC (1994) Soil compaction and root growth: a review. *Agron J.* 86: 759-766.

Valentine AJ, Osborne BA, Mitchell DT (2002) Form of inorganic nitrogen influences mycorrhizal colonisation and photosynthesis of cucumber. *Scientia Horticulturae.* 92: 229-239.

Van der Heijden MGA, Klironomos JN, Ursic M, Moutoglis P, Streitwolf-Engel R, Boller T, Wiemken A, Sanders IR (1998) Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*. 396: 69-72.

van Duin WE, Rozema J, Ernst WHO (1989) Seasonal and spatial variation in the occurrence of vesicular-arbuscular (va) mycorrhiza in salt marsh plants. *Agric Ecosyst Environ*. 29: 107-110.

Van Gestel MV, Merckx R, Vlassak K (1993) Microbial biomass responses to soil drying and rewetting: the fate of fast- and slow- growing microorganisms in soils of different climates. *Soil Biol Biochem*. 25: 109-123.

Vartapetian BB, Jackson MB (1997) Plant adaptations to anaerobic stress. *Ann Botany*. 79: 3-20.

Vignolio OR, Fernández ON, Maceira NO (1996) Responses of different age of *Lotus tenuis* and *Lotus corniculatus* (Leguminosae) plants to flooding. *Rev Fac Agronomía, La Plata*. 101: 57-66.

Vignolio OR, Fernandez ON, Maceira NO (1999) Flooding tolerance in five populations of *Lotus glaber* Mill (Syn. *Lotus tenuis* Waldst. et. Kit.). *Aust J Agric Res*. 50: 555-559.

Vignolio OR, Maceira NO, Fernandez ON (1994) Efectos del anegamiento en invierno y verano sobre el crecimiento y la supervivencia de *Lotus tenuis* y *Lotus corniculatus*. *Ecologia Austral*. 4: 19-28.

Visser EJW, Bogermann GM, Blom CWPM, Voeselek LACJ (1996) Ethylene accumulation in waterlogged *Rumex* plants promotes formation of adventitious roots. *J Exp Bot.* 47: 403-410.

Visser EJW, Colmer TD, Blom CWPM, Voeselek LACJ (2000) Changes in growth, porosity, and radial oxygen loss from adventitious roots of selected mono- and dicotyledonous wetland species with contrasting types of aerenchyma. *Plant Cell Environ.* 23: 1237-1245.

Visser EJW, Nabben RHM, Blom CWPM, Voeselek LACJ (1997) Elongation by primary lateral roots and adventitious roots during conditions of hypoxia and high ethylene concentrations. *Plant Cell Environ.* 20: 647-653.

Walker C, Schüßler A (2004) Nomenclatural clarifications and new taxa in the Glomeromycota. *Mycol Res.* 108: 981–982.

Wang F-Y, Liu R-J, Lin X-G, Zhou J-M (2004) Arbuscular mycorrhizal status of wild plants in saline-alkaline soils of the Yellow River Delta. *Mycorrhiza.* 14: 133-137.

Wang GM, Stribley DP, Tinker PB, Walker C (1993) Effects of pH on arbuscular mycorrhiza I. Field observations on the long-term liming experiments at Rothamstead and Woburn. *New Phytol.* 124: 465-472.

Wetzel PR, van der Valk AG (1996) Vesicular-arbuscular mycorrhizae in prairie pothole wetland vegetation in Iowa and North Dakota. *Can J Bot.* 74: 883-890.

Willet IR (1989) Causes and prediction of changes in extractable phosphorus during flooding. Aust J Soil Res. 27: 45-54.

Wu Q-S, Xia R-X (2006) Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. J Plant Physiol. 163: 417-425.

Wu QS, Zou YN, Xia RX, Wang MY (2007) Five *Glomus* species affect water relations of *Citrus tangerine* during drought stress. Botanical Studies. 48: 147-158.

Yamato M (2004) Morphological types of arbuscular mycorrhizal fungi in roots of weeds on vacant land. Mycorrhiza. 14: 127-131.