

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y FORESTALES

PROYECTO DE TRABAJO FINAL  
**EFFECTO DE LA INTERACCIÓN ENTRE HONGOS MICORRIZICOS  
ARBUSCULARES Y ESPECIES FORRAJERAS NATIVAS.**

Milagros Cuello

Legajo n°: 26806/3

DNI: 36571307

[milicuello@hotmail.com](mailto:milicuello@hotmail.com)

Tel: 2214802159

Director: Ing. Agr. Víctor R. A. Bolaños

Co-director: Ing. Agr. Mg. Sc. Sebastián Garita

## INTRODUCCION

La Pampa Deprimida comprende una superficie de 60.000km<sup>2</sup> en el centro-sur de la Provincia de Buenos Aires, Argentina (Soriano et al, 1991; SENASA, 2005). El clima es templado sub-húmedo y el pastizal mesotérmico es el bioma predominante (Cabrerá, 1978). Los suelos en general son pobres en fósforo, con fuertes limitantes por salinidad y/o alcalinidad y de drenaje deficiente, lo que restringe su uso para la agricultura. La cría del ganado vacuno es la actividad productiva predominante, siendo el pastizal natural el principal sustento forrajero. A pesar de su relieve casi plano –con pendientes menores al 1%- hay leves diferencias topográficas que, conjuntamente con ciertos rasgos de alcalinidad e hidromorfismo, determinan en el pastizal al menos 4 grandes tipos de comunidades vegetales como la pradera de mesófitas (en la actualidad totalmente reemplazada por especies cultivadas), la pradera húmeda de mesófitas, la pradera de hidrófitas y la estepa de halófitas. La estepa de halófitas, se encuentra fuertemente asociada a los suelos Natracualfes, caracterizados por presentar problemas de hidromorfismo y/o alcalinidad (Batista et al. 2005). Las especies vegetales que integran esta comunidad se encuentran adaptadas a tales limitaciones, pero la productividad resultante es, respecto a las comunidades circundantes (con una mayor fertilidad), menor y de un relativo menor valor nutricional.

Como estrategia de recuperación forrajera el remplazo de dicha comunidad del pastizal por especies cultivadas ha mostrado tener poca eficiencia, con el agravante de representar un alto riesgo ecológico. Las especies forrajeras nativas, perfectamente adaptadas a la condición edafoclimática, representan una excelente posibilidad para mejorar dicho ambiente. Pese a ello, han sido poco estudiadas en relación a las especies exóticas cultivadas. En este sentido, la alta heterogeneidad del pastizal supone un alto

potencial de estudios que hasta la actualidad no ha sido muy considerado. *Chloris berroi* (Arechav) y *Paspalum dilatatum* (Poir) son gramíneas estivales perennes, nativas del pastizal natural del Norte de la Depresión del Salado. *Chloris berroi* se ubica casi exclusivamente en los bajos alcalinos – estepa de halófitas- (León et al., 1979, Perelman et al., 2001 y Burkart, 2005). En dicha comunidad es considerada una especie de suma importancia, tanto por su contribución a la cobertura y al volumen de forraje que ofrece, como por su calidad nutricional (Vecchio et al 2016). Consecuentemente, se la ha clasificado como una especie de buen valor forrajero (Bolaños et al 2016a, Bolaños et al 2016b). En cuanto a sus requerimientos ecológicos, no se ha encontrado bibliografía al respecto. No obstante, siendo que naturalmente cumple su ciclo en un ambiente con fuerte restricciones puede ser considerada como una especie rustica en cuanto a sus requerimientos agroecológicos. *Paspalum dilatatum* por su parte coloniza los ambientes más fértiles asociados a suelos Argiudol (USDA, 2010), propios de las lomas o medias lomas altas (León 1975, Sala et al. 1986), aunque suele ingresar a la comunidad de bajo alcalino tras exclusiones al pastoreo mayores a 10 años (Vecchio et al 2016, Bolaños et al 2016). Esta última es considerada una valiosa especie de la comunidad porque presenta muy buen valor forrajero (Cauhépé et al, 1985), que ha sido domesticada y en la actualidad se encuentra disponible en el mercado una variedad comercial (Var: Relincho).

Las plantas que viven en hábitat con exceso de sales y/o sodio presentan situaciones de estrés que resultan en una disminución de los rendimientos y calidad de lo producido. Entre la sintomatología general se puede distinguir un retardo en la germinación, menor área foliar y tamaño, un crecimiento lento e incompleto consecuente a una menor tasa fotosintética, una menor producción de materia seca por disminución en la producción de macollos y en situaciones extremas muerte de la planta

(Teaken et al., 2006, Striker., et al., 2015). La acumulación de prolina en la planta puede ser considerado como un indicador de estrés ya que se produce como una adaptación general al estrés hídrico (Hare *et al.*, 1998), con la finalidad de reducir las pérdidas de agua por ajuste osmótico (Prado, 1997). Otra consecuencia del estrés, tanto biótico como abiótico, es la peroxidación de los lípidos de las membranas celulares en las plantas, que acelera la senescencia y puede conducir a la muerte celular (Göbel *et al.*, 2003). Como subproducto de esta peroxidación se encuentra el malondialdehído (MDA), y su concentración varía dependiendo del tipo de estrés al que se sometan las células, pudiendo considerarse también como un indicador de estrés (Arbona *et al.*, 2003). Las consecuencias del estrés se manifiestan a diferentes niveles según la especie vegetal (Hayward y Bernstein, 1958; Lavado, 1988; Porta et al., 1994).

Las micorrizas son asociaciones simbióticas entre las raíces de las plantas y hongos del Phylum Glomeromycota (Ruiz Sánchez et al., 2011). Las hifas de este hongo crecen intracelularmente y se extienden también afuera del tejido vegetal sobrepasando la región de la rizósfera permitiendo una mayor exploración del sustrato. Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) se caracterizan por presentar un crecimiento intra e intercelular en la corteza de la raíz y por formar dos tipos de estructuras, arbusculos y vesículas. Los arbusculos son hifas que presentan periodos de vida cortos y son los responsables del intercambio de sustancias entre la planta y el hongo, mientras que las vesículas son estructuras de almacenamiento que se forman en la parte terminal de las hifas (Pérez & Vertel 2010; García 2012). Esta simbiosis concede a las plantas micorrizadas una serie de beneficios que les permite tener un mejor desempeño en situaciones de estreses bióticos y abióticos. Entre los beneficios de estas asociaciones se pueden mencionar los incrementos en la resistencia a parásitos de raíces (Borowicz 2001), los aumentos en la tolerancia a la sequía (Augé 2001), mayor tolerancia a la salinidad (Ruiz-Lozano et al. 1996) y una mayor absorción de nutrientes, en especial de

aquellos poco móviles como el fósforo (Smith & Read 1997). En el caso del fósforo, el ión fosfato es absorbido de la solución del suelo por la hifa extrarradical, luego es convertido a polifosfato de cadena corta, traslocado a las estructuras intrarradicales a través de vacuolas móviles del hongo y por último ocurre la hidrólisis en las hifas intrarradicales (Ferrol et al., 2002). Enseguida, el P es transferido del hongo al apoplasto interfacial por flujo, del cual es tomado por transportadores de membrana de la planta, de tal manera que generan aumento del crecimiento, sanidad y resistencia al estrés, particularmente para plantas micorrizadas en condiciones limitantes de nutrientes (Guzmán-González & Farías-Larios 2005). Numerosos estudios evidencian que la respuesta micorrícica varía entre especies y cultivares de plantas, con la arquitectura del sistema radical y la fertilidad actual del suelo (Johnson et al. 1997; Hartnett & Wilson 2002; Klironomos 2003).

Existen estudios que muestran una influencia significativa de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) en la estructuración de comunidades vegetales en los ecosistemas terrestres (Grime et al., 1987; van der Heijden, 2002; Landis et al., 2005). Particularmente en pastizales se ha encontrado que gramíneas características de estos sistemas presentan un grado importante de colonización por HMA y responden favorablemente a dicha asociación (Hetrick et al., 1990; Hartnett y Wilson, 2002). En general las especies C4 muestran mayor presencia micorrícica que las C3 (Parodi & Pezzani 2011). Las gramíneas tropicales (C4) son dominantes en las comunidades vegetales de dicho pastizal y por ello sería importante conocer y cuantificar el efecto de la simbiosis micorrícica, como una estrategia económica y de bajo impacto ambiental para aumentar el rendimiento y calidad forrajera de estas comunidades.

Objetivo: evaluar los efectos de la asociación con hongos micorrícicos arbusculares en dos gramíneas nativas del pastizal de la Pampa Deprimida.

Hipótesis1: Las micorrizas generan un efecto positivo en el crecimiento y desarrollo de las plantas de *Chloris berroi* y *Paspalum dilatatum* creciendo en suelos alcalinos.

Hipótesis 2: La magnitud del efecto positivo varía según la especie y su grado de adaptación ante la condición de estrés.

Hipotesis 3: El crecimiento del hongo micorrícico en la raíz varía según la especie hospedante y según las características del suelo.

Predicción: En sentido a las hipótesis planteadas, los individuos de menor rusticidad y más exigentes en sus requerimientos agroecológicos, ante una misma condición limitante, serán los más estresados respecto a otros más rústicos y menos exigentes en sus requerimientos. Consecuentemente, en una situación limitante de suelo alcalino por presencia de ( $\text{Na}^+$ ), los individuos de *Paspalum dilatatum* variedad comercial serán en proporción los más beneficiados por la micorrización respecto a la condición sin ( $\text{Na}^+$ ). *Chloris berroi* por ser una especie adaptada a la alcalinidad será la menos estresada y por tal la menos beneficiada y *Paspalum dilatatum* población local sería una situación intermedia a las anteriores.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Las plantas de *Chloris berroi* y *Paspalum dilatatum* (población local) se generaron a partir de semilla cosechadas de un pastizal de la localidad de Vieytes, Partido de Magdalena y las plantas de *Paspalum dilatatum*, variedad comercial, fueron traídas del instituto de mejoramiento genético de semillas forrajeras UBA. Las semillas fueron lavadas durante 20 minutos en NaCl (6% cloro activo) para la esterilización de la superficie y germinadas en cajas de plástico, con papel absorbente saturado con agua destilada, en incubadora (20-35°C). Luego de expandir su primer hoja verdadera las plántulas se trasplantaron a bandejas speedling de 72 celdas con sustrato inerte y estéril (perlita-vermiculita-arena 1:1:1).

A la mitad de las bandejas se les agregó 5 gr. por celda de inóculo de *Funeliformis mosseae*, y a la mitad restante 5 gr. inóculo autoclavado (inviabile) para igualar las condiciones de cultivo. Las plántulas se cultivaron en invernáculo, en el Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE), Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (UNLP), siendo semanalmente regadas con solución nutritiva de Hoagland (Hoagland y Arnold, 1950). Pasados 30 días de la inoculación y luego de confirmar que la micorrización fue efectiva, las plántulas se traspararon a maceta con sustrato edáfico.

Se utilizaron dos sustratos edáficos, uno alcalino por sodio (Ver detalle en anexo), recolectado del pastizal –comunidad estepas de halófitas-. Para ello se extrajeron microcosmos cilíndricos de suelo (10 cm diámetro x 15 cm profundidad y aproximadamente 1-1,5 kg de peso) cuidando de no afectar su estructura. El otro sustrato edáfico fue suelo sin problemas de salinidad y/o sodicidad, “tierra negra” el cual ha sido considerado como tratamiento testigo. Ambos fueron colocados en macetas plásticas (1 Lt de volumen) donde se trasplantaron las plántulas (micorrizadas y no micorrizadas) de cada individuo ensayado (*Chloris berroi*, *Paspalum dilatatum* población local y *Paspalum dilatatum* variedad comercial).

De esta manera quedaron definidos los 12 tratamientos: (3 individuos x 2 tipos de inóculo x 2 tipos de sustrato). Cada tratamiento estuvo formado por 12 plantas, siendo 1 planta = 1 repetición.

### **Parámetros evaluados.**

Las plantas crecieron en invernáculo bajo condiciones semicontroladas y fueron regadas con un volumen de agua tal que permita dotar a la planta de humedad pero cuidando de que no haya drenaje que pueda generar lavado de los nutrientes y/o el Na<sup>+</sup>.

Se hicieron determinaciones de parámetros

-*Micorrizicos:*

- Porcentaje de estructuras fúngicas. Se estimó por observaciones con microscopio óptico luego de clarificar las raíces en KOH al 10% y teñirlas con azul de tripan al 5% (Phillips and Hayman, 1970). El porcentaje de hifas, arbusculos y vesículas en las raíces micorrizadas se realizó por observación microscópica, utilizando el método de cuadrícula de Giovanetti and Mosse (1980). Se calculó en base a la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de estructura fúngica} = \frac{\text{No de segmentos con estructura fúngica}}{\text{N}^\circ \text{ de segmentos totales}} \times 100$$

- Dependencia micorrícica según Ruscitti 2011. Este índice permite evaluar la eficiencia de la micorrización en la producción de biomasa, al relacionar al peso seco total de las plantas micorrizadas y no micorrizadas de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\text{DM \%} = \frac{\text{PS de plantas micorrizadas} - \text{PS de plantas no micorrizadas}}{\text{PS de plantas micorrizadas}} \times 100$$

*-De crecimiento:*

- Filocrono. En el vástago principal de la planta se cuantificó la tasa de aparición foliar en dos estadios de la planta, uno inicial desde que las plántulas tenían su 4<sup>a</sup> ±1 hoja expandida y hasta alcanzar una suma de tiempo térmico menor a 260° D y uno posterior considerando una suma de 300° D posteriores al primer periodo. Se calculó el filocrono como la inversa de la tasa de aparición foliar (Wilhem y Mc Master, 1995).

- Tasa de macollaje. Se calculó como la suma de macollos logrados por planta durante el periodo experimental (hasta momento de la cosecha) dividido por el tiempo térmico registrado en dicho periodo

- Contenido de clorofila. El mismo se determinó a partir de un disco de hoja de 1 cm de diámetro. Se utilizó N, N-Dimetilformamida como solvente de extracción, determinando la



absorbancia de la solución a las longitudes de onda 647, 664 y 480 nm, en un espectrofotómetro Shimadzu UV 160 A. El cálculo del contenido de pigmentos se realizó de acuerdo a [Wellburn \(1994\)](#) en las siguientes ecuaciones:

$$\text{Clorofila a } (\mu\text{g cm}^{-2}) = 12 \times \text{Ab } 663.8 - 3.11 \times \text{Ab } 646.8$$

$$\text{Clorofila b } (\mu\text{g cm}^{-2}) = 20.78 \times \text{Ab } 646, - 4.88 \times \text{Ab } 663.8$$

$$\text{C total a+b } (\mu\text{g cm}^{-2}) = 17.67 \times \text{Ab } 646.8 + 7.12 \times \text{Ab } 663.8$$

- Contenido de proteínas solubles a partir de 200 mg de hoja o de raíz mediante el método de Bradford (1976).

El contenido de proteínas solubles se determinó a partir de 200 mg de tejido fresco. Los tejidos se homogeneizaron en un mortero con 1 ml del buffer de extracción (TRIS 0,605 gr, EDTA 0,029 gr, PVPP 1 gr, MeSH 100 microlitros a pH 7,5) a 4°C. El homogeneizado resultante se centrifugó a 10.000 g durante 10 minutos a 4°C. Se tomaron 100 µl del sobrenadante y se le agregó 5 ml del reactivo Azul Brillante de Coomassie, se agitó en vortex y se leyó la absorbancia a 595 nm. El cálculo de la concentración de proteínas se efectuó empleando una curva patrón preparada con distintas concentraciones de albúmina de suero bovino (BSA, SiFMa Chemical Co).

*-De estrés:*

- Contenido de prolina (Osmoregulador, indicador de estrés) a partir de 100 mg de hoja o de raíz, según el método de Bates et al. (1973)

Se homogeneizaron 100 mg de material fresco de hoja y de raíz con 2 ml de una solución al 3 % de ácido sulfosalicílico. El homogeneizado se centrifugó a 12000 g durante 15 minutos.

Se tomó 1 ml del sobrenadante y se lo hizo reaccionar con 1 ml del reactivo Ninhydrina y 1 ml de ácido acético glacial dejándose incubar en baño maría a 100°C durante una hora. Luego se interrumpió enfriando el tubo rápidamente.

A la mezcla se le agregó 2 ml de tolueno y se agitó 20 segundos en vórtex. Se dejaron separar las fases y se tomó 1 ml de la fase superior, para leer la absorbancia a 520 nm usando tolueno como blanco.

Se calculó el contenido de prolina por unidad de peso fresco según:

$$\mu\text{mols prolina.g}^{-1}\text{PF} = [(\mu\text{g prolina/ml} \times \text{ml tolueno})/115.5 \mu\text{g}/\mu\text{moles}]/[(\text{g PF})/5]$$

- Contenido de malonildialdehído (MDA) se evaluó según el método de Heath and Packer (1968), como un indicador de la peroxidación de los lípidos de las membranas celulares.

Se tomaron 200 mg de tejido fresco de hoja y raíz, y se maceraron con 1,5 mL de ácido tricloroacético (TCA) al 0,1%, luego se centrifugaron a 10000g por 10 minutos. A 0,5 mL de sobrenadante se le agregó 1mL de TCA-BHT-TBA (TCA 20%, ácido tiobarbitúrico (TBA) 5% y butilhidroxitolueno (BHT) 0,1%). Luego los tubos se calentaron durante 30 minutos a baño maría a 95°C. Finalizado se enfriaron rápidamente para detener la reacción y luego se centrifugaron a 3000 g durante 10 minutos. Finalmente, se separó el sobrenadante y se leyó la absorbancia a 532 y 600 nm en espectrofotómetro.

$$\text{Equivalentes de MDA (n.mol.ml}^{-1}\text{)} = [(A_{532} - A_{600}) / 155000] 10^6$$

*-De biomasa:*

Al finalizar el experimento, cada planta se cosechó y se separó la fracción aérea de la subterránea. Las raíces se lavaron y se determinó:

- Biomasa fresca y seca de macollos vegetativos, biomasa de macollos reproductivos y biomasa aérea total. Se separaron los macollos vegetativos de los

reproductivos y se determino el peso fresco de cada uno, luego se secaron a estufa y se determinó el peso seco, mostrándose el promedio para cada especie de la biomasa aérea acumulada durante el periodo del ensayo.

- Biomasa fresca y seca radicular. Se determinó el peso fresco, y luego de secado a estufa se determino el peso seco, determinándose el promedio para cada especie de la biomasa aérea acumulada durante el periodo del ensayo.

### Análisis estadístico

Los datos se analizaron por ANOVA, se empleo análisis de varianza de dos vías con interacción (suelo, micorrización) y las medias se compararon usando LSD ( $P < 0,05$ ).

## RESULTADOS

### - Porcentaje de micorrización

En el caso de *Chloris berroi* no hubo diferencias en la proporción de hifas, arbusculos y vesículas, entre las plantas cultivadas en el suelo alcalino versus el testigo. Por el contrario en las plántulas de *Paspalum dilatatum*, tanto de población local como de la variedad comercial, se determinó menor porcentaje de arbusculos en relación a las otras estructuras al ser cultivadas en el suelo testigo, y no hubo grandes diferencias cuando fueron cultivadas en el suelo de la estepa. En el caso de *Paspalum dilatatum* variedad comercial cuando fue cultivado en suelo alcalino las vesículas se encontraron en menor cantidad. (Tabla 1).

**Tabla 1.** Porcentaje de las distintas estructuras fúngicas en las 3 especies, cultivadas en suelo testigo y suelo alcalino proveniente de una estepa de halófitas.

	Suelo Testigo			Suelo Estepa		
	Hifas	Arbusculos	Vesículas	Hifas	Arbusculos	Vesículas
<b>Ch</b>	48	48	47	16	9	16

<b>Pn</b>	90	49,5	76	41,5	53	45
<b>Pc</b>	69	47	78	90	83	33

Ch (*Chloris berroi*), Pn (*Paspalum dilatatum* población local), Pc (*Paspalum dilatatum* variedad comercial)

#### - Dependencia micorrícica

Hubo diferencia interespecifica en la variable dependencia micorrícica, en ambos suelos. En condiciones de suelo testigo las plantas de *Chloris berroi* y *Paspalum dilatatum* población local se vieron favorecidas en su peso seco por la asociación micorrícica mientras que las plantas de *Paspalum dilatatum* variedad comercial se vieron perjudicadas por dicha asociación. En suelo de estepa las plantas de *Paspalum dilatatum* variedad comercial se vieron favorecidas por las micorrizas, mientras que las plantas de *C. berroi* y *P. dilatatum* población local tuvieron valores cercanos a la neutralidad (Tabla 2).

**Tabla 2.** Dependencia micorrícica para los tres individuos ensayados, con plantas cultivadas en dos tipos de suelo: uno testigo si limitantes y otro alcalino proveniente de una estepa de halófitas

<b>DM%</b>	<b>TESTIGO</b>	<b>ESTEPA</b>
<i>C. berroi</i>	19,37	0
<i>P. dilatatum</i> local	20,72	-2,70
<i>P. dilatatum</i> "Relincho"	-20,68	70

DM% (porcentaje de dependencia micorrícica), Ch (*Chloris berroi*), Pn (*Paspalum dilatatum* población local), Pc (*Paspalum dilatatum* variedad comercial)

#### - Parámetros de crecimiento

En *Chloris berroi* el filocrono en el estadio inicial fue menor en suelo testigo. Tanto el filocrono como la tasa de aparición de macollos no tuvieron diferencias entre los distintos tratamientos tanto de suelo como de micorrización. La concentración de proteína, tanto en hoja como en raíz, fue significativamente mayor en el suelo de estepa que en el testigo, mientras que no hubo diferencia significativa entre los tratamientos micorrizados y no micorrizados. Los valores de proteína se expresan en miligramos de proteína por

gramo de peso fresco; al relacionar este valor con el peso fresco total de las plantas se observa, que en términos totales, la cantidad de proteína por planta es similar en los 4 tratamientos (datos no mostrados). La micorrización aumentó significativamente el contenido de clorofila en las plantas cultivadas en el suelo proveniente de la estepa en relación a las no micorrizadas,. (Tabla 3).

**Tabla 3.** Parámetros de crecimiento de *Chloris berroi* micorrizado y no micorrizado cultivado en dos tipos de suelo

	Clorofila	Proteína hoja	Proteína raíz	Filocrono establecim.	Filocrono	Tasa Ap.Macollos
T NM	16,15 B	0,22 A	0,17 A	65,81 A	161,06 A	0,01 A
T M	16,83 B	0,31 A	0,19 A	74,96 A	200,2 A	0,01 A
E NM	5,22 A	0,58 B	0,33 B	140,66 B	197,04 A	0,01 A
E M	14,86 B	0,62 B	0,39 B	137,49 B	249,68 A	0,01 A

T NM (Testigo No micorrizado), TM (Testigo Micorrizado), E NM (Estepa No micorrizado), EM (Estepa Micorrizado). Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95% de confianza para la prueba de LSD.

En las plántulas de *Paspalum dilatatum* población local cultivadas en suelo proveniente de la etapa el filocrono durante el estadio inicial fue significativamente mayor respecto al de las plantas cultivadas en suelo testigo, no se hallaron diferencias en el tratamiento de micorrización. En las etapas siguientes ya no hubo diferencias entre los distintos suelos, pero si en cuanto al tratamiento de micorrización, donde las plantas micorrizadas tuvieron un filocrono menor. En las plantas cultivadas en suelo de la estepa el contenido de clorofila fue significativamente menor que en las plantas cultivadas en suelo testigo. A su vez dentro del suelo testigo, la micorrización tuvo un efecto positivo para la acumulación de clorofila. La tasa de aparición de macollos, fue mayor en las plántulas cultivadas en suelo testigo sin tratamiento de micorrización. En las cultivadas en suelo de estepa, la tasa de aparición de macollos fue significativamente menor sin diferenciarse las micorrizadas versus las no micorrizadas. (Tabla 4)

**Tabla 4.** Parámetros de crecimiento de *Paspalum dilatatum* población local micorrizado y no micorrizado cultivado en dos tipos de suelo

	Clorofila	Filocrono establecim.	Filocrono	Tasa Ap.Macollos
<b>T NM</b>	6,83 B	54,52 A	78,17 B	0,02 C
<b>T M</b>	9,22 C	47,60 A	57,74 A	0,01 B
<b>E NM</b>	1,48 A	66,77 B	87,06 B	0,004 A
<b>E M</b>	1,46 A	68,53 B	71,07 AB	0,0049 A

T NM (Testigo No micorrizado), TM (Testigo Micorrizado), E NM (Estepa No micorrizado), EM (Estepa Micorrizado). Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95% de confianza para la prueba de LSD.

En *Paspalum dilatatum* variedad comercial, las plántulas cultivadas en suelo de la estepa tuvieron un filocrono significativamente mayor respecto a las cultivadas en suelo testigo. La micorrización tuvo efecto solamente en las plantas cultivadas en suelo de la estepa, las cuales mostraron un filocrono significativamente menor respecto a las no micorrizadas. La concentración de proteínas en raíz fue significativamente menor en las plantas cultivadas en suelo testigo, mientras que en hoja fue significativamente menor en las plantas cultivadas en suelo testigo y sin tratamiento de micorrización. El contenido de clorofila fue significativamente mayor en las plantas cultivadas en suelo testigo y no hubo diferencias entre tratamientos de micorrizado. La tasa de aparición de macollos fue superior en suelo testigo, sin mostrar diferencias en cuanto al tratamiento de micorrización. (Tabla 5).

**Tabla 5.** Parámetros de crecimiento de *Paspalum dilatatum* variedad comercial micorrizado y no micorrizado cultivado en dos tipos de suelo

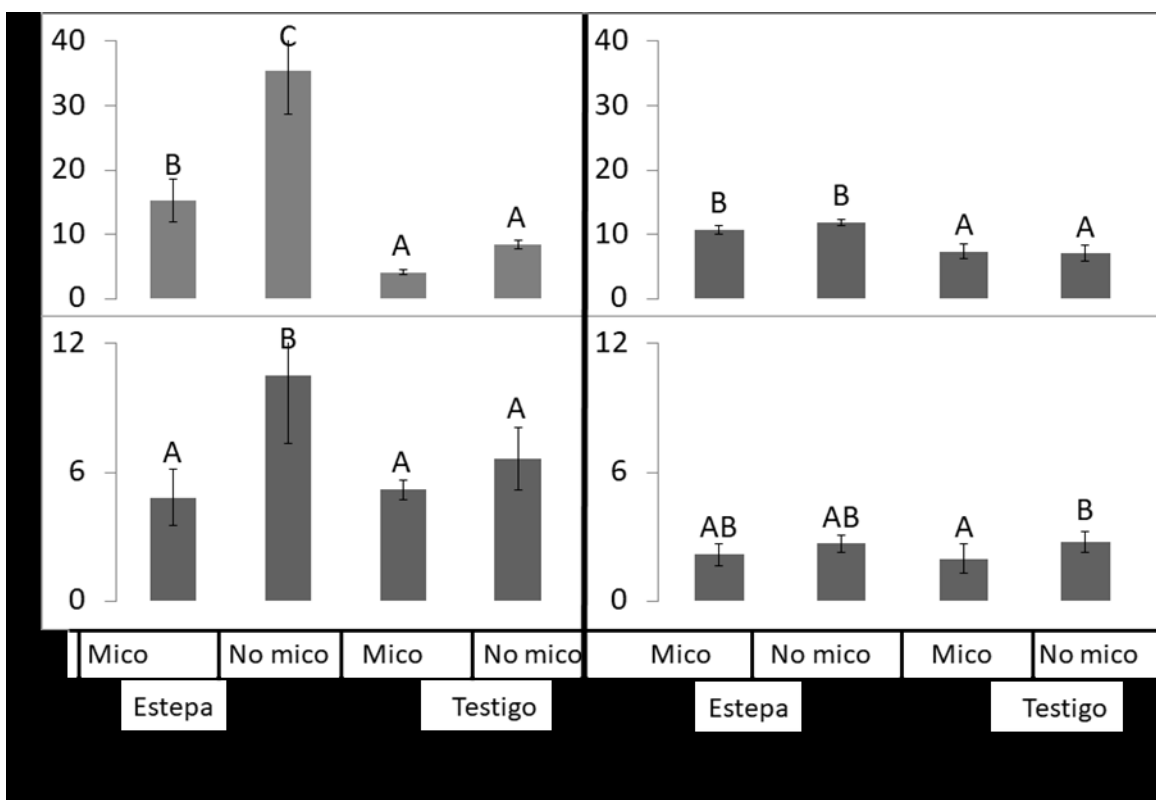
	Clorofila	Proteína hoja	Proteína raíz	Filocrono establecim.	Filocrono	Tasa Ap. Macollos
<b>T NM</b>	6,66 B	0,15 A	0,32 A	71,38 A	67,34 A	0,01 B
<b>T M</b>	6,99 B	0,41 B	0,33 A	65,42 A	66,10 A	0,01 B
<b>E NM</b>	2,77 A	0,34 B	0,37 B	183,96 B	94,17 B	0,003 A
<b>E M</b>	1,97 A	0,42 B	0,37 B	80,57 A	72,76 A	0,0029 A

T NM (Testigo No micorrizado), TM (Testigo Micorrizado), E NM (Estepa No micorrizado), EM (Estepa Micorrizado). Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95% de confianza para la prueba de LSD.

#### - Parámetros de estrés

Las plantas de *Chloris berroi* que crecieron en suelo testigo tuvieron significativamente menor acumulación de prolina respecto a las que crecieron en suelo de la estepa, esto se dio tanto en parte aérea como radical. Hubo una diferencia entre las plantas micorrizadas versus las no micorrizadas que se manifestó solo creciendo en el suelo de la estepa, donde aquellas que estuvieron micorrizadas tuvieron en la parte aérea una acumulación de prolina menor respecto a las no micorrizadas (Figura 2)

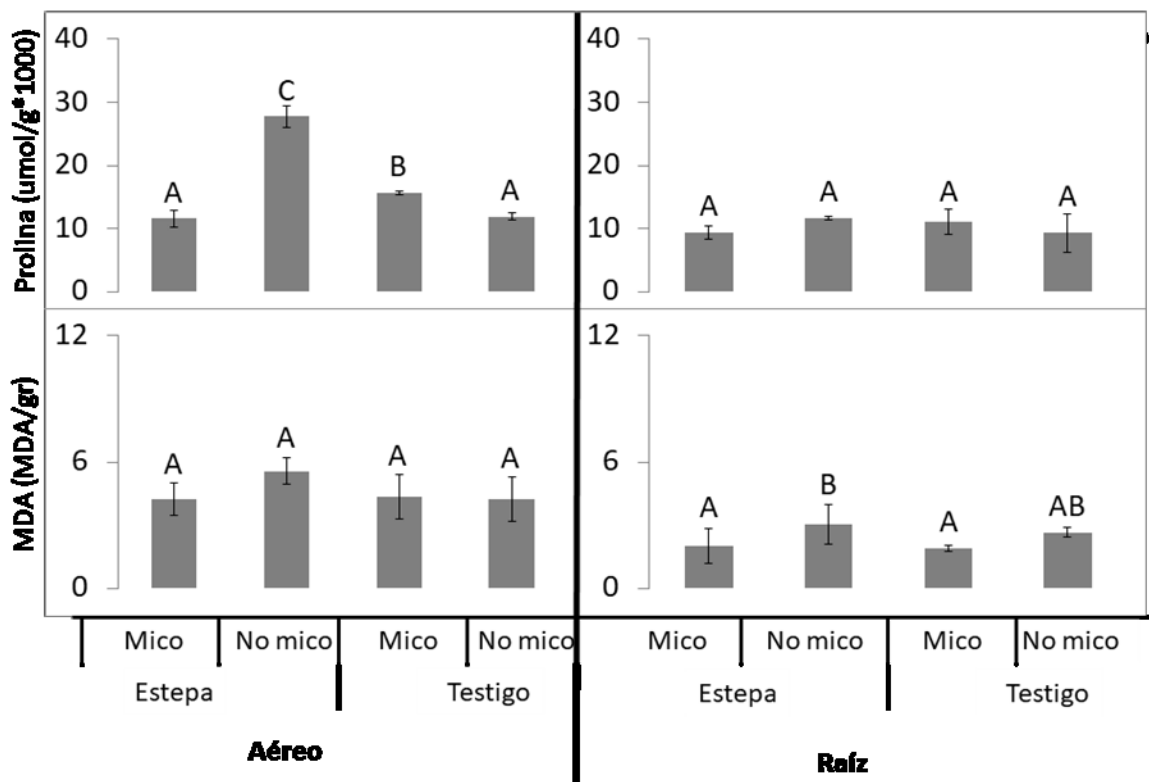
En cuanto al contenido de MDA en la parte aérea, las plantas que crecieron en el suelo de la estepa y sin tratamiento de micorrización tuvieron una acumulación significativamente superior al resto de los tratamientos. En cuanto a la parte radical, se acumulo mayor cantidad de MDA en los tratamientos no micorrizados en ambos tipos de suelo. (Figura 1)



**Figura 1.** Acumulación de prolina y MDA en *Chloris berroi*, micorrizado y no micorrizado cultivado en dos tipos de suelo. Líneas verticales representan el D.E . Letras distintas indican diferencias significativas por el test LSD ( $\alpha=0,05$ )

Las plantas de *Paspalum dilatatum* población local no micorrizadas, creciendo en el suelo alcalino de la estepa presentaron la mayor acumulación de prolina en las hojas, seguidas de las plantas crecidas en suelo testigo y con tratamiento de micorrización. En las raíces no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. (Figura 4)

En cuanto al contenido de MDA, las hojas no presentaron diferencias significativas entre tratamientos, mientras que al evaluar el tejido radicular, se encontró una mayor acumulación de malonildialdehído en los tratamientos no micorrizados. (Figura 2)

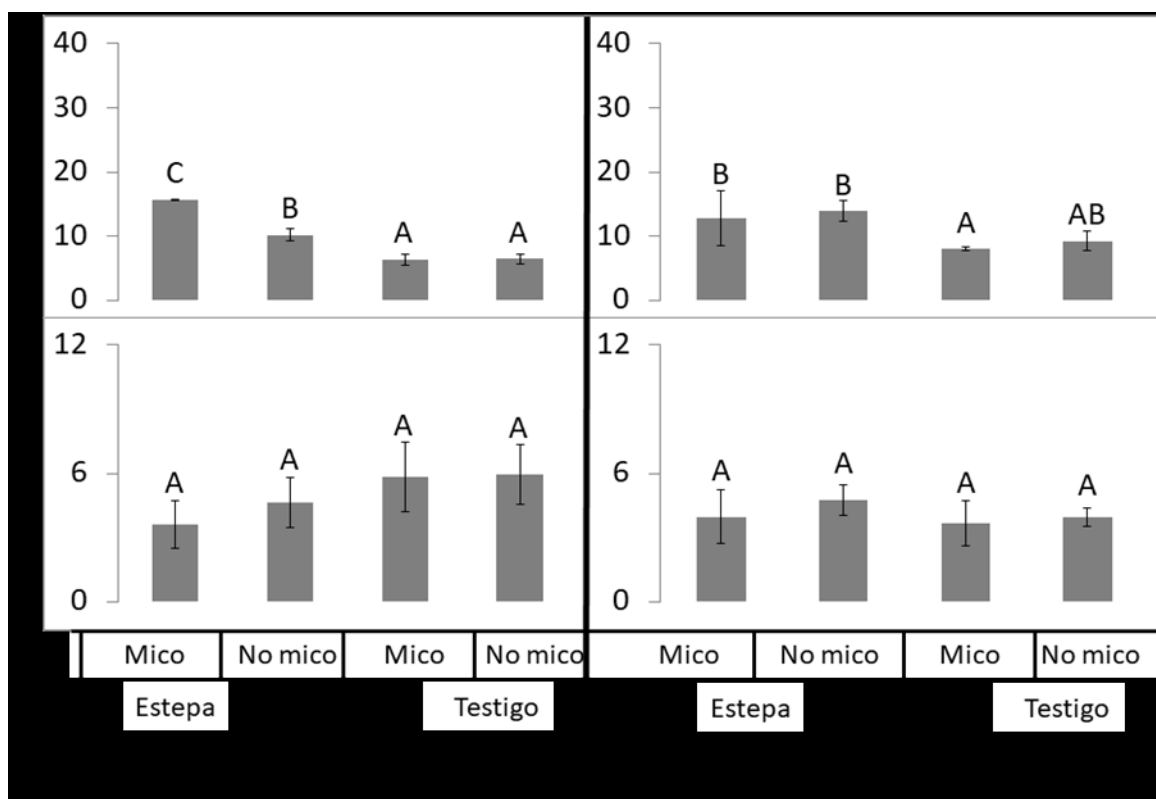


**Figura 2.** Acumulación de prolina y MDA en *Paspalum dilatatum* población local, micorrizado y no micorrizado cultivado en dos tipos de suelo. Líneas verticales representan el D.E. Letras distintas indican diferencias significativas por el test LSD ( $\alpha=0,05$ )



Al evaluar el contenido de prolina en hojas y raíz de plantas *Paspalum dilatatum* variedad comercial, se encontró una mayor acumulación de prolina, en aquellas cultivadas en suelo de la estepa respecto a las cultivadas en suelo testigo. Curiosamente las plantas micorrizadas creciendo en dicho suelo presentaron una mayor concentración de prolina versus las no micorrizadas, aunque dicho resultado solo se manifestó en la parte aérea. En el suelo testigo, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos de micorrización. (Figura 6)

Al analizar el contenido de MDA en hojas y raíces no se encontraron diferencias significativas en los distintos tratamientos. (Figura 3)



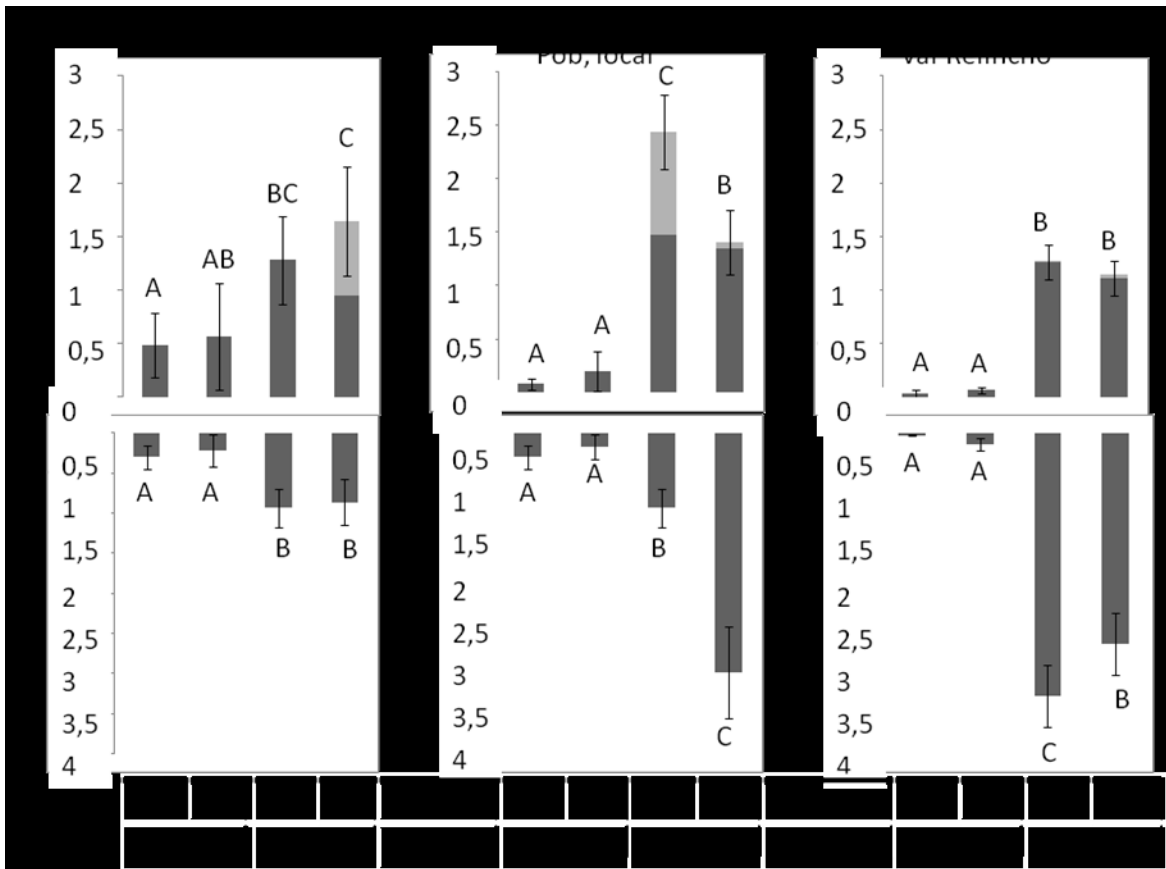
**Figura 3.** Acumulación de prolina y MDA en *Paspalum dilatatum* variedad comercial, micorrizado y no micorrizado cultivado en dos tipos de suelo. Líneas verticales representan el D.E. Letras distintas indican diferencias significativas por el test LSD ( $\alpha=0,05$ )

- **Peso de la biomasa acumulada**

Las plantas de *Chloris berroi* crecidas en suelo testigo tuvieron una acumulación de biomasa seca total (raíz y cormo) significativamente mayor respecto a las plantas que crecieron en suelo de la estepa. No hubo diferencias de biomasa área ni radical entre plantas micorrizadas versus no micorrizadas, creciendo en ambos suelos. No obstante se observó que las plantas micorrizadas creciendo en suelo testigo tuvieron una mayor proporción de biomasa de vástagos reproductivos versus las no micorrizadas.

En *Paspalum dilatatum* población local las plantas creciendo en suelo testigo tuvieron una biomasa total (raíz mas parte aérea) significativamente superior a las del suelo de la estepa. El tratamiento micorrizado no mostró diferencias significativas en la biomasa total, no obstante, en suelo testigo hubo diferencias significativas en la proporción de biomasa aérea biomasa radical. En dicho suelo las plantas micorrizadas tuvieron significativamente mayor proporción de raíz y las no micorrizadas una mayor proporción de parte aérea y con mayor proporción de vástagos reproductivos.

En *Paspalum dilatatum* var. comercial las plantas cultivadas en suelo testigo mostraron una significativa mayor biomasa total respecto a las cultivadas en suelo de la estepa. No se observaron diferencias con el tratamiento micorrizado para la biomasa total en ningún suelo, como tampoco diferencias significativos en la proporción de las distintas secciones de la planta (Figura 4).



**Figura 4** peso seco de la biomasa acumulada aérea (vástagos vegetativos en gris oscuro más vástagos reproductivos en gris claro) y radical de plántulas micorrizadas (si) y no micorrizadas (no) de *Chloris berroi*, *Paspalum dilatatum*, una población local y una variedad comercial, cultivadas en suelo testigo y otro alcalino. Promedio de 6 plántulas, líneas verticales representan el D.E. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para una misma especie, test de LSD ( $\alpha=0,05$ )

## DISCUSIÓN

Al analizar el porcentaje de colonización, en ambos *Paspalum dilatatum*, las plantas creciendo en suelo testigo presentaron mayor cantidad de vesículas que de arbuscúlos. Ello indicaría que el intercambio de sustancias entre la planta y el hongo no fue tan marcado, y por el contrario, en dicha situación predominaron las estructuras de almacenamiento de la micorriza. Para el caso de las plantas creciendo en suelo de estepa, *P. dilatatum* variedad comercial presentó un 83% de arbuscúlos y 33% de

vesículas, notándose la importancia del intercambio de sustancias al presentarse un ambiente alcalino. Dicha diferencia no fue tal ni en *Paspalum* población local, ni en *Chloris berroi*. Aunque en todos los casos de plantas cultivadas en el suelo de estepa, la cantidad de vesículas disminuyó. Dicho resultado se condice con lo reportado por García (2012), donde estudió las respuestas de la colonización micorrícica a los distintos componentes del pastoreo en *Paspalum dilatatum*, y donde se observó que condiciones de estrés, como el pisoteo de los animales, tuvieron un efecto negativo sobre las vesículas. En general los valores absolutos de colonización micorrícica encontrados en este trabajo coinciden con los valores mostrados por Cavagnaro (2008), quien reportó valores entre 63 y 80% para especies tropicales, y más precisamente  $80,4 \pm 2,7$  en el caso de *Paspalum dilatatum*. El estudio de la interacción micorrícica con la especie *Chloris berroi* no ha sido reportada en la bibliografía, por lo que no se dispone de valores comparativos con los cuales contrastar. En este ensayo se observó que *C berroi* en condiciones de suelo de la estepa, mostró un significativo menor porcentaje de estructuras fúngicas respecto a la situación testigo. Así mismo, mientras que en las plantas cultivadas en suelo testigo tuvieron similar proporción de vesículas y arbusculos, las cultivadas en suelo de la estepa tuvieron en proporción casi el doble de vesículas que de arbusculos; lo que indicaría que en dicha situación el intercambio entre micorriza/planta no sería importante.

Los resultados de los parámetros de crecimiento evaluados evidencian que las condiciones del suelo de la estepa limitan drásticamente el crecimiento de las plantas de *Paspalum dilatatum*, tanto comercial como nativo. La concentración de clorofila puede ser interpretada como la capacidad potencial de fotosíntesis que posee la planta. Ambos *P. dilatatum* redujeron significativamente su concentración de clorofila al crecer en suelo de la estepa y la tasa de macollaje se vio reducida drásticamente. Esto coincide con lo reportado por Munns & Tester (2008), quienes indicaron una menor tasa fotosintética, de

elongación foliar y de macollaje como respuestas inmediatas, en plantas creciendo bajo estrés salino. Así mismo, el filocrono también se vio afectado, lo cual supone que cada hoja requiere para emerger una mayor cantidad de grados días, o analizado inversamente, cada hoja nueva de las plántulas creciendo en suelo de la estepa tarda más en emerger respecto a las plantas creciendo en suelo del testigo. Esto podría estar relacionado a una menor tasa de elongación foliar, respuesta indicada por Munns & Tester (2008), que conlleva a una menor tasa de aparición de hoja y por tanto, un filocrono mayor. Consecuente con lo dicho anteriormente, las plantas de *P. dilatatum* creciendo en suelo de estepa, tienen una menor capacidad fotosintética y menor velocidad de emerger hojas y producir macollos. No se encontró una diferencia significativa en los parámetros de contenido de clorofila y tasa de macollaje en las plantas con el tratamiento de micorrízico creciendo en suelo de la estepa, aunque en *Paspalum dilatatum* var comercial, si se encontró una mayor tasa de aparición de hoja, mientras que en el de la población local, se observó una similar tendencia, pero estadísticamente no alcanzó a ser significativa. Ésta especie autóctona de América del Sur, nativa del pastizal de la depresión del salado, tiene un mejor desempeño agronómico en situaciones de ambientes fértiles asociados a suelos Argiudol (USDA, 2010), propios de las lomas o medias lomas altas de dicho pastizal (León 1975, Sala et al. 1986); suelos con pH neutro a levemente ácido (pH 6-7), bien dotados de MO (4-6%) y sin problemas de salinidad y/o alcalinidad. Puede inferirse que las condiciones edáficas imperantes en el suelo de la estepa no le permitan a *P dilatatum* crecer favorablemente, no solo por razones de fertilidad, sino también de toxicidad por  $\text{Na}^+$ . En circunstancia en donde las plantas ven reducida su capacidad de fijar carbono, los destinos secundarios como macollos chicos, organismos simbiotes, etc.; son restringidos, estratégicamente por la planta, como destino de fotoasimilados. Esto podría explicar, al menos en parte, porque en suelo de estepa *P. dilatatum* no se vio exitosamente favorecido por la micorriza como se esperaba

y porque además, en dicha condición, la micorriza priorizo las estructuras reproductivas (vesículas) a las de intercambio (arbusculos). En el caso de *Chloris berroi*, no hubo diferencia en los parámetros de crecimiento entre plantas creciendo en uno u otro suelo. Esto demuestra la adaptabilidad de la especie a la condición de suelos con pH elevado por presencia de  $\text{Na}^+$ , pero a su vez, evidencia que su potencial de crecimiento en condiciones de mayor fertilidad está determinado genéticamente y es menor al de *P dilatatum*. El tratamiento micorrízico en las plantas de *C berroi* creciendo en suelo de la estepa mostró un significativo aumento en la concentración de clorofila, resultado que no se manifestó en las otras variables de crecimiento evaluadas. No obstante, si bien las plantas micorrizadas no crecieron más respecto a las no micorrizadas, si tuvieron mayor contenido clorofílico y un mayor valor de proteína, lo que daría cuenta de una planta mejor “armada” ante al ataque de patógenos, plagas y mejor preparada para la competencia con otros individuos vegetales. En el suelo testigo, la micorrización no tuvo un efecto favorable en el crecimiento, debido a que las plantas se encontraban en condiciones edáficas favorables y por lo tanto los beneficios que el hongo micorrízico puede aportar no fueron visualizados; por el contrario éstos se convirtieron en un destino de fotoasimilados y el crecimiento de las plantas puede hasta verse perjudicado, aunque varios autores reportan que dicha relación en términos de costos/beneficios, no debiera ser interpretada solo por las tasas de crecimiento, ya que el hongo provee otra serie de beneficios de suma importancia para las plantas..

En cuanto a los indicadores de estrés, los valores de prolina fueron mayores en el suelo de la estepa respecto a los del testigo, confirmando que las características físico-químicas de dicho suelo provocan respuestas en la planta para poder absorber agua y crecer. Tanto las plantas de *P. dilatatum* población local, como las de *C. berroi* cultivadas en suelo de la estepa se vieron beneficiadas por el tratamiento micorrízico, ya que

presentaron menor cantidad de prolina en su parte aérea, en comparación con las no micorrizadas. Se puede interpretar que en situaciones de estrés, la simbiosis micorrícica genera en dichas planta una serie de beneficios que superan “los costos” que le generan la manutención del hongo. Al evaluar el contenido de MDA, tanto las plantas de *Chloris berroi* como las de *Paspalum dilatatum* población local, mostraron tener mayor estrés oxidativo en sus raíces en los tratamientos no micorrizados de ambos suelos. En el caso de *Chloris berroi* también su parte aérea mostró ser beneficiada por la micorrización al haber crecido en suelo de la estepa. En general y tras los resultados mencionados, la variable Prolina resultó más sensible que MDA, y a nivel planta, las determinaciones en parte aérea resultaron más sensibles respecto a la radical. En el caso de las plantas creciendo en suelo testigo, ambos individuos de *P. dilatatum* (comercial y nativo), presentaron una tendencia de mayor de peso seco con el tratamiento de no micorrizados. Esto puede deberse al costo extra de carbono que implican las micorrizas cuando no se presentan limitantes nutricionales e hídricas para las plantas. Lo cual también fue comprobado cuando se evaluó la dependencia micorrícica, donde *P. dilatatum* variedad comercial presento un valor negativo en el suelo testigo.

El peso seco de la biomasa total acumulada en las plantas creciendo en suelo de la estepa, no se vio favorecido por el tratamiento micorrícico, contrariamente a lo reportado por Cavagnaro (2008), quien encontró que el peso seco (tanto aéreo como radical) de *Paspalum dilatatum* era un 70% superior al ser inoculado con micorrizas, respecto a la misma especie sin tratamiento de inoculación, cuando era cultivada en un suelo con déficit nutricional. Aunque hay que tener en cuenta que las condiciones de pH y alta concentración de  $\text{Na}^+$  propias del suelo de la estepa, podrían estar limitando el crecimiento de *Paspalum dilatatum*, por cuestiones de toxicidad y no tanto por falta de nutrientes. Otros estudios con especies de comunidades de pastizal demuestran que el costo relativo generado por los hongos podría afectar negativamente el crecimiento si las

plantas sin las mismas son defoliadas intensamente o puestas en condiciones de intensidad lumínica y/o temperatura bajas, situaciones que limitan la producción de carbono (Harnett & Wilson 2002), tal como puede estarce dando en la situación de suelo alcalino. .El efecto favorable de esta simbiosis sobre el crecimiento de las plantas, es consecuencia de la mayor absorción de nutrientes, en especial de aquellos poco móviles como el fósforo (Smith & Read 1997), y un aumento de la tolerancia al déficit hídrico. Pero también las micorrizas interaccionan con diversos grupos de macro y microorganismos de la rizósfera, tales como aquellos implicados en el ciclaje de nutrientes (bacterias fijadoras de nitrógeno y los microorganismos solubilizadores de fosfato) (Guzmán-González & Farías-Larios 2005). Por lo que, son una parte biológica importante de la regulación del sistema suelo al mejorar las condiciones físico-químicas y biológicas (Pérez & Vertel 2010) y consecuentemente, una “pata” fundamental en la ecología del pastizal.

## CONCLUSIONES

- La primer hipótesis plantea un efecto positivo en el crecimiento y desarrollo de las plantas de *Chloris berroi* y *Paspalum dilatatum* creciendo en suelos alcalinos. Si bien no se encontró un efecto sustancial en las variables de crecimiento de las plantas micorrizadas, si hubo respuestas en la variables de estrés y en el caso de *Chloris berroi*, en el contenido de clorofila. El tratamiento micorrícico generó que las plantas cultivadas en suelo de la estepa estén menos estresadas y en el caso de *C. berroi*, con mayor potencial fotosintético.
- Tras los resultados obtenidos la predicción de la segunda hipótesis es rechazada. La condición de estrés generada por el suelo de la estepa a las plantas de *Paspalum dilatatum* afectó su capacidad de generar fotoasimilados y consecuentemente la asociación con el hongo se vio desfavorecida.



- La tercer hipótesis de este trabajo plantea que el crecimiento del hongo micorrícico en la raíz varía según la especie hospedante y según las características del suelo. Efectivamente esto fue validado con los resultados ya que, al evaluar la micorrización se encontraron diferentes porcentajes de las distintas estructuras fúngicas entre las tres especies cultivadas y a su vez distintos porcentajes dentro de una misma especie comparando el suelo testigo y el suelo de la estepa.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- Arbona, V., V. Flors, J. Jacas, P. García-Agustín & A. Gómez-Cadenas.** 2003. Enzymatic and non-enzymatic antioxidant responses of Carrizo citrange, a salt-sensitive citrus rootstock to different levels of salinity. *Plant and Cell Physiology* 44: 388-394.
- Auge, R.M.** 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11: 3–42.
- Baon, J.B., S.E. Smith & A.M. Alston.** 1993. Mycorrhizal responses of barley cultivars differing in P efficiency. *Plant and Soil* 157: 97–105.
- Bates, L.S., R.P. Waldren & I.D. Tease.** 1973. Rapid determination of the proline for stress studies. *Plant Soil.* 85: 107-129.
- Batista, W.B., M.A. Taboada, R.S. Lavado, S.B. Perelman & R.J.C. León.** 2005 Asociación entre comunidades vegetales y suelos en el pastizal de la Pampa Deprimida En: La heterogeneidad de la vegetación de los agroecosistemas. Un homenaje a Rolando J.C. León. Editorial de la Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.
- Bolaños, V.R.A., M.C. Vecchio, R. Refi & R.A. Golluscio.** 2016. Sucesión vegetal luego de excluir al pastoreo en la comunidad de halófitas del pastizal de la Pampa Deprimida, Buenos Aires, Argentina. Congreso binacional de Ecología. Misiones, Argentina.

- Bolaños, V.R.A., M.C. Vecchio, R. Refi, & R.A. Golluscio.** 2016. Zootechnical value of the community of halophytes after exclusion from grazing in Flooding Pampa, Argentina. International Rangeland Congress. Saskatoon, Canada.
- Borowicz, V.A.** 2001. Do arbuscular mycorrhizal fungi alter plant–pathogen relations? *Ecology*, 82: 3057–3068.
- Bradford, M.** 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, pp. 248–254.
- Burkart, S.E., M.F. Garbulsky, C.M. Ghera, J.P. Guerschman, J.C.R. León, M. Oesterheld, J.M. Paruelo & S.B. Pérelman.** 2005. Las comunidades potenciales del pastizal pampeano bonaerense. En: *La Heterogeneidad de la Vegetación de los Agroecosistemas. Un Homenaje a Rolando León*. Eds: M. Oesterheld, M. Aguiar, C. Ghera y J. Paruelo. Editorial de la Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.
- Cabrera, A & E. Zardini.** 1978. Manual de la Flora de los Alrededores de Buenos Aires p: 409-412
- Cahuépe, M.A. & L.G. Hidalgo.** 1985. La Pampa inundable: el uso ganadero como base de la sustentabilidad social, económica y ambiental. En: M Oesterheld, MR Aguiar, CM Ghera y JM Paruelo (eds.). *La heterogeneidad de la vegetación de los agroecosistemas. Un homenaje a Rolando León*. Editorial Facultad de Agronomía. UBA.
- Cavagnaro T.R., F.A. Smith, S.M. Ayling & S.E. Smith.** 2003. Growth and phosphorous nutrition of a Paris-type arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist* 157: 127-134.
- Cavagnaro, R. A.** 2008. Efecto de la relación entre hongos micorrícicos arbusculares y gramíneas forrajeras bajo defoliación y distinto suministro de fósforo.
- Davies** (1974) Leaf tissue remaining after cutting and regrowth in perennial ryegrass. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 82, 175- 172.

- Douds, J.C., C.R. Johnson & K.E. Koch.** 1988. Carbon cost of the fungal symbiont relative to net leaf P accumulation in a split root VA mycorrhizal symbiosis. *Plant Physiology* 80: 491–496.
- Ferrol, N., J.M. Barea & C. Azcon-Aguilar.** 2002. Mechanisms of nutrient transport across interfaces in arbuscular mycorrhizas. *Plant Soil* 244:231-237.
- García S.** 2012. Respuesta de la colonización micorrícica a los componentes del pastoreo en *Paspalum dilatatum* (Poir)
- Giovanetti, M. & B. Mosse.** 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular infection in roots. *New Phytol.* 84:489-500.
- Göbel, C., I. Feussner & S. Rosahl.** 2003. Lipid peroxidation during the hypersensitive response in potato in the absence of 9-lipoxygenases. *The Journal of Biological Chemistry* 278:52834-52840.
- Grime, J.P., J.M.L. Mackey, S.H. Hillier & D.J. Read.** 1987. Floristic diversity in a model system using experimental microcosms. *Nature*, 328: 420–422.
- Grimoldi, A.A., M. Kavanová, F.A. Lattanzi, R. Schäufele & H. Schnyder.** 2006. Effects of arbuscular mycorrhiza on carbon economy in perennial ryegrass: quantification by <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>/<sup>12</sup>CO<sub>2</sub> steady-state labelling and gas exchange. *New Phytologist* 172: 533–544.
- Guzmán-González, S. & J. Farías-Larios.** 2005. Biología y regulación molecular de la micorriza arbuscular. *Biology and Molecular Regulation of Arbuscular-Mycorrhizae*. *Rev. AIA*. 9(2): 17-31
- Hanson, W.C.** 1950. The photometric determination of phosphorus in fertilizers using the phosphovanado-molybdate complex. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 1: 172–173.
- Hare P.D., W.A. Cress & J. Van Staden.** 1998. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant Cell Environ.* 21:535–53.

- Hartnett, D.C. & G.W.T. Wilson.** 2002. The role of mycorrhizas in plant community structure and dynamics: lessons from grasslands. *Plant and Soil* 244: 319–331.
- Hayward, H.E. & L. Bernstein.** 1958. Plant-growth relationships on salt-affected soils. *Bot. Rev.* 24:584-635.
- Heath R.L. & Packer L.**1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives in Biochemistry and Biophysics*125,189–198.
- Hetrick, B.A., W.T. Wilson & T.C. Todd.** 1990. Differential responses of C3 and C4 grasses to mycorrhizal symbiosis, phosphorus fertilization, and soil microorganisms. *Canadian Journal of Botany*, 68: 461467.
- Hoagland, D.R. & D.I. Arnon.** 1950. The water culture method for growing plants without soil. *California Agriculture Experiment Station Circular* 347.
- Jakobsen, I. & L. Rosendahl.** 1990. Carbon flow into soil and external hyphae from roots of mycorrhizal cucumber plants. *New Phytologist* 115: 77–83.
- Johnson, D., J.R. Leake, N. Ostle, P. Ineson & D.J. Read.** 2002. In situ CO<sub>2</sub>-13C pulse-labelling of upland grassland demonstrates a rapid pathway of carbon flux from arbuscular mycorrhizal mycelia to the soil. *New Phytologist* 153: 327– 334.
- Johnson, N.C., J.H. Graham & F.A. Smith.** 1997. Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytologist* 135: 575–585.
- Klironomos, J.N.** 2003. Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecology* 84: 2292–2301.
- Landis, F.C., A. Gargas & T.J. Givnish.** 2005. The influence of arbuscular mycorrhizae and light on Wisconsin (USA) sand savanna understories: 1. Plant community composition. *Mycorrhiza*, 15:547– 553.

- Lavado, R.** 1988. Origin, Characteristics and Management of Solonetz Soils in Argentina. Proceedings of the International Symposium on Solonetz Soils. Problems Properties Utilization. Yugoslavia:128- 134.
- León R.J.C., S. Burkart & C.P. Movia.** 1979 Relevamiento fitosociológico del pastizal del Norte de la Depresión del Salado. Serie Fitogeográfica 17: 90 pp. I.N.T.A Buenos Aires.
- León, R.J.C.** 1975. Las comunidades herbáceas de la región Castelli-Pila. Monogr. Com. de Invest. Cient. de la Provincia de Buenos Aires. La Plata 5:75-107
- Munns, Rana & Mark Tester.** 2008. Mechanisms of Salinity Tolerance. *The Annual Review of Plant Biology*. 59: pp 651-681
- Parodi, G & F. Pezzani.** 2011. Micorrizas arbusculares en dos gramíneas nativas de Uruguay en áreas con y sin pastoreo. Agrociencia Uruguay
- Perelman, S.B., R.J.C. Leon & M. Oesterheld.** 2001 Cross-scale vegetation patterns of Flooding Pampa grasslands. *Journal of Ecology*. 89, 562–577
- Pérez, A. & M. Vertel.** 2010. Evaluación de la colonización de micorrizas arbusculares en pasto *Bothriochloa pertusa* (L) A. Camus Colonization of arbuscular mycorrhizae in *Bothriochloa pertusa* (L) A. Camus pasture. *Rev.MVZ Córdoba* 15(3):2165-2174
- Phillips, J.M. & D.S. Hayman.** 1970. Improved procedure of clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55:159-161.
- Porta, J., M. López-Acevedo & C. Roquero.** 1994. Edafología para la agricultura y el medio ambiente. Ed.Mundi-Prensa. 807pág.
- Prado, F.E.** 1997. Fisiología del estrés: Respuestas de las plantas al ambiente. Curso sobre fisiología de la quinua. EPG. UNA. Puno, Perú.
- Ruiz Sánchez, M., J.M. Ruiz-Lozano & Y. Muñoz Hernández.** 2011. Aquaporins, their relationship with arbuscular mycorrhizal fungi and water transport in plants. *Cultivos Tropicales*, vol. 32, no. 3, pp. 18-26.

**Ruiz-Lozano, J.M., R. Azcón & M. Gómez.** 1996. Alleviation of salt stress by arbuscular-mycorrhizal *Glomus* species in *Lactuca sativa* plants. *Physiologia Plantarum* Volume 98, no 4. pp 677–921

**Ruscitti, M., C. Arango, M. Ronco & J. Beltrano.** 2011. Inoculation with mycorrhizal fungi modifies proline metabolism and increases chromium tolerance in pepper plants (*Capsicum annuum* L.). *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 23 (1): 15-25.

**Sala, O.E., M. Oestaterheld, R.J.C. León & A. Soriano.** 1986. Grazing effect upon plant community structure in subhumid grasland of Argentina. *Vegetation* 67 pp 27-32

**Schaffer, G. F. & R.L. Peterson.** 1993. Modifications to clearing methods used in combination with vital staining of roots colonized with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 4, 29-35.

**Smith S.E. & F.A. Smith.** 1990. Structure and function of the interfaces in biotrophic symbioses as they relate to nutrient transport. *New Phytol.* 114, 1–38

**Smith, S.E. & D.J. Read.** 1997. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, San Diego. 605 pp

**Smith, S.E. & D.J. Read.** 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*, 3rd edn. Academic Press. London, 1–787.

**Soriano, A.** 1991. Río de la Plata Grasslands. Cap. 19 Pp 367-407 en: RT, Coupland (ed). *Ecosystems of the World 8A. Natural Grasslands. Introduction and Western Hemisphere*. Elsevier, New York

**USDA.** 2010. Claves para la Taxonomía de Suelos. Onceava Edición. pp. 374.

**Van der Heijden MG.** 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi as a determinant of plant diversity: in search of underlying mechanisms and general principles. In: van der Heijden MGA, Sanders IR (Ed.). *Mycorrhizal Ecology*. Heidelberg: Springer Verlag. pp. 243–265.

**Vecchio, M.C.** 2016. Modificaciones en la vegetación y el suelo inducidos por el manejo del pastoreo en la estepa de halófitas de la Pampa Deprimida. Tesis Mjs. FAUBA, Arg

**Wellburn, AR.** 1994. The spectral determination of chlorophylls A and B, as well as Total caroteinds, using various solvents with Spectrophotometers of different resolution. J. Plant. Phys. Vol. 144:307-313

**Wilhelm, W.W. & G.S. McMaster.** 1995. Importance of the phyllochron in studying development and growth in grasses. Crop Science, 35, 1-3.

## ANEXO

Propiedades químicas del suelo alcalino extraído de una estepa de halofitas del pastizal de la Pampa Dermida en la localidad de vieytes, Magdalena, Buenos Aires, Argentina. Determinaciones realizadas a dos profundidades 0-5cm y 5-10cm, en el laboratorio de la cátedra de Edafología, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP.

pH actual: relación suelo:agua 1:2,5, mediante vía potenciométrica

0-5cm= 8,7

5-10=9,4

Carbono oxidable (CO) determinado por Walkley & Black modificado, por vía húmeda, micrométodo

0-5cm=15,29 g.kg<sup>-1</sup>

5-10cm=9,7 g/kg<sup>1</sup>

Nitrógeno total (Nt) mediante digestión húmeda, evaluación por Microkjeldahl, (PROMAR, 1991)

0-5cm=0,15% Nt

5-10cm= 0,09%Nt

Conductividad eléctrica (CE) en extracto de la pasta saturada, determinación por conductimetría

0-5cm=2,44 dS.m<sup>-1</sup>.

5-10cm=3,37 dS.m<sup>-1</sup>

Relación de adsorción de sodio (RAS), Ca<sup>++</sup> y Mg<sup>++</sup> por quelatometría con EDTA y Na<sup>+</sup> por fotometría de llama (SAMLA, 1996).

0-5cm=29,73

5-10cm=41,50