

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

EFFECTOS DE LOS MEJORAMIENTOS EXTENSIVOS DE CAMPO NATURAL
SOBRE COMUNIDADES DE HONGOS ENDÓFITOS RADICULARES

por

Letiana Nadir CLAVERO FUMERO

TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo

MONTEVIDEO
URUGUAY
2022

Tesis aprobada por:

Director:

Dra. Ing. Agr. Fabiana Pezzani

Lic. MSc. Silvina García

Lic. Dr. Felipe Lezama

Ing. Agr. PhD. Amabelia del Pino

Fecha: 25 de febrero de 2022

Autora:

Letiana Clavero Fumero

AGRADECIMIENTOS

A mis tutoras Dra. Fabiana Pezzani y Lic. MSc. Silvina García por darme la oportunidad de participar en este proyecto, además de su apoyo y permanente disposición en el transcurso del trabajo.

A la Facultad de Agronomía y sus docentes por permitirme formarme en esta carrera, por las vivencias, amigos y compañeros que han surgido durante este tiempo.

Muy especialmente a mi familia, Lucas y amigos, pilares fundamentales durante todo este proceso, siempre acompañándome, motivándome e impulsándome a seguir adelante para poder cumplir mi objetivo.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	VI
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
1.1. OBJETIVOS.....	2
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	3
2.1. PASTIZALES NATURALES: LOCALIZACIÓN Y RELEVANCIA EN URUGUAY.....	3
2.1.1. <u>Generalidades y limitantes del campo natural para la producción ganadera</u>	3
2.1.2. <u>Mejoramientos extensivos de campo natural en Uruguay</u>	4
2.2. HONGOS ENDÓFITOS RADICULARES EN COMUNIDADES DE PASTIZALES.....	6
2.2.1 <u>Micorrizas arbusculares: generalidades</u>	7
2.2.1.1. Colonización micorrícica y variaciones en su morfología.....	8
2.2.1.2. Funciones y beneficios de las micorrizas a nivel de planta y ecosistema.....	9
2.2.1.3. Estudios de micorrizas en pastizales de Uruguay.....	11
2.2.2. <u>Endófitos septados oscuros: generalidades</u>	11
2.2.2.1. Colonización y estructuras características.....	12
2.2.2.2. Funciones de los endófitos septados oscuros y beneficios a nivel de planta.....	13
2.3. INTERACCIÓN EN COMUNIDADES DE PASTIZALES ENTRE MICORRIZAS... ..	15
2.4. HIPÓTESIS.....	16
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	18
3.1. SITIO DE ESTUDIO.....	18
3.2. DESCRIPCIÓN DE LOS PARES CAMPO NATURAL – CAMPO NATURAL MEJORADO.....	20
3.3. TRABAJO DE CAMPO.....	23
3.4. TRABAJO DE LABORATORIO.....	23
3.4.1. <u>Instalación del ensayo con plantas trampa</u>	23
3.4.2. <u>Procesamiento y observación de las raíces</u>	24
3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	25

4. <u>RESULTADOS</u>	27
4.1. MICORRIZAS EN RAÍCES DE <i>Allium cepa</i>	28
4.2. HONGOS SEPTADOS OSCUROS EN PLANTAS DE <i>Allium cepa</i>	30
4.3. ANÁLISIS CONJUNTO DE VARIABLES EDÁFICAS Y BIOLÓGICAS.....	31
5. <u>DISCUSIÓN</u>	33
6. <u>CONCLUSIONES</u>	40
7. <u>RESUMEN</u>	41
8. <u>SUMMARY</u>	42
9. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	43

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Ubicación de los pares CN-CNMJ seleccionados para este trabajo con su correspondiente unidad de suelo y fecha de instalación de los mejoramientos.....	20
2. Manejo de la fertilización en los potreros de CNMJ.....	20
3. Características químicas y contenido de nutrientes de suelo de los pares pertenecientes a la región de Basalto.....	21
4. Características químicas y contenido de nutrientes de suelo de los pares pertenecientes a la región de Cristalino.....	21
5. Se presenta contenido de P disponible promedio para la región de Basalto y de Cristalino	22
6. Colonización total (%) de hongos micorrizógenos arbusculares y hongos septados oscuros en <i>Lotus subbiflorus</i> ,.....	28
Figura No.	
1. Ubicación de los 29 sitios donde se encuentra la red de pares que componen la red de sitios pareados CN–CNMJ mejorado.....	19
2. Esquema simplificado del procesamiento de las raíces para la observación de las estructuras fúngicas.....	25
3. Vista con microscopio óptico (40x) de raíces de plantas trampa de <i>Allium cepa</i> con presencia de estructuras fúngicas.....	27
4. Colonización micorrícica total (%) en plantas trampa de <i>Allium cepa</i>	29
5. Colonización total (%) de hongos micorrizógenos arbusculares en plantas trampa de <i>Allium cepa</i> que crecieron en suelo proveniente de la región de Basalto y Cristalino.....	29
6. Colonización total (%) de hongos septados oscuros en plantas trampa	

de <i>Allium cepa</i> en suelo proveniente de CN y de CNMJ.....	30
7. Colonización total (%) de hongos septados oscuros en plantas trampa de <i>Allium cepa</i> que crecieron en suelo proveniente de la región de Basalto y Cristalino.....	31
8. Análisis de componentes principales de las variables biológicas y de las variables edáficas para dos profundidades diferentes: 0 a 5cm y 5 a 10cm.....	32

1. INTRODUCCIÓN

Uruguay forma parte de la región de los Pastizales del Río de la Plata, comprendida dentro de los pastizales naturales más extensos de Sudamérica y de los más significativos en el mundo. Consecuentemente, los pastizales o el campo natural (CN) como se denomina en Uruguay, constituyen la base forrajera más importante sobre la cual se desarrolla la ganadería extensiva. En general presenta bajas concentraciones de fósforo (P) y nitrógeno (N) y las especies que lo componen son en su mayoría gramíneas C₄ (especies altamente micorrizables). Actualmente como consecuencia de manejos inadecuados de estos ecosistemas, se aprecian síntomas de degradación genética y presencia de especies invasoras exóticas lo que limita la capacidad productiva del sistema.

A partir de la década del 50 del siglo XX, con la intensificación de los sistemas ganaderos surge como herramienta sencilla y económica el uso de mejoramientos extensivos de campo natural (CNMJ). Los mejoramientos consisten en la incorporación de alguna especie de mayor calidad, generalmente leguminosa, y aplicaciones de P para el mantenimiento de la misma. Si bien estudios a corto plazo demuestran mejoras en la productividad del sistema, se desconoce aún el impacto sobre variables estructurales y funcionales del ecosistema pastizal a largo plazo.

Existen reportes que afirman que la incorporación de P en el suelo puede afectar a los microorganismos que viven en él, entre ellos las comunidades de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA). Este grupo fúngico al igual que los endófitos septados oscuros (DSE por su sigla en inglés) se asocian naturalmente con la mayoría de las especies vegetales herbáceas de los pastizales. Los HMA establecen una interacción simbiótica con las plantas que favorece la captación de nutrientes (principalmente los poco móviles como el P), aumentando lo que el sistema radicular puede acceder por sí solo. En presencia de alta disponibilidad de P la planta es menos dependiente de esta asociación para poder adquirir nutrientes, lo cual podría afectar el potencial micorrícico del suelo. Este potencial es un indicador de la densidad de inóculo del suelo y por lo tanto determinante de la actividad micorrícica. En el caso de los DSE aún no se conoce claramente cómo funciona la relación planta-hongo, ni el efecto que podría tener la presencia de P sobre esta interacción. Sin embargo, es importante resaltar que al igual que en micorrizas, la presencia de inóculo a nivel del suelo también forma parte del potencial de colonización de este grupo.

1.1 OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo fue estudiar el efecto que pueden tener los mejoramientos extensivos de campo natural sobre comunidades de hongos endófitos radiculares, en particular hongos micorrizógenos arbusculares y hongos septados oscuros, en dos regiones geomorfológicas de Uruguay (la Cuesta Basáltica y la región Centro Sur).

Se plantearon como objetivos específicos: a) determinar el impacto del aumento en la disponibilidad de P en suelo sobre el potencial micorrícico; b) evaluar el efecto del aumento en la disponibilidad de P en suelo sobre el potencial de colonización por hongos septados oscuros.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. PASTIZALES NATURALES: LOCALIZACIÓN Y RELEVANCIA EN URUGUAY

Los pastizales templados forman parte del bioma pastizal, que ocupa el 36% de la superficie terrestre. Se distribuyen en todos los continentes exceptuando la Antártida, en regiones con rangos de precipitaciones anuales acumuladas entre 150 y 1200 mm y temperaturas medias anuales que oscilan entre 0 y 25° C (Sala, 2001). Dentro de este bioma Uruguay forma parte de los Pastizales del Rio de la Plata, que ocupan un área de 70 millones de ha, en conjunto con la zona Este de Argentina y el Sur de Brasil (Soriano, 1991). De acuerdo a esta clasificación, el territorio uruguayo se subdivide en Campos del Norte y Campos del Sur, estas subzonas quedan determinadas por la elevada importancia relativa de gramíneas C₄ y especies leñosas (León, 1992). Campo natural (CN) es el nombre vernáculo utilizado en Uruguay en referencia a los pastizales naturales (Rosengurt, 1979) y el cual se utilizará en este trabajo.

El campo natural es de gran importancia económica para los sistemas de producción pecuaria del país. Del área destinada a la actividad agropecuaria (16.4 millones de ha), la ganadería ocupa el 82% (13.4 millones de ha), lo que convierte a esta actividad en el rubro principal. Durante las últimas décadas la superficie ocupada por campo natural muestra una sostenida disminución, sin embargo, sigue siendo el componente de mayor importancia por su extensión, ocupando el 64% de la superficie nacional (MGAP. DIEA, 2015).

Los pastizales naturales proveen otros servicios ecosistémicos de difícil cuantificación monetaria, pero de gran relevancia. Mantienen la biodiversidad, albergan gran parte de la riqueza de especies vegetales del país y son el lugar de residencia de muchas especies de fauna nativa. Controlan la erosión evitando las pérdidas de suelo y fertilidad, reducen la contaminación de ríos y arroyos por partículas en suspensión y disminuyen el escurrimiento superficial favoreciendo la percolación del agua de lluvia. Además, la biomasa producida participa en el secuestro de carbono y en el ciclado de nutrientes resultante de la actividad de organismos descomponedores (Boggiano 2003, Altesor 2011).

2.1.1. Generalidades y limitantes del campo natural para la producción ganadera

Las diferentes condiciones geológicas, edáficas y topográficas del territorio uruguayo, en interacción con el clima y el manejo, dan como resultado una cobertura vegetal en los pastizales que varía en su composición florística y densidad (Berretta 1996, Lezama et al. 2011). De la íntima asociación suelo-planta surge un complejo mosaico desarrollado ininterrumpidamente sobre el suelo, con un gran número de especies que cambian sus frecuencias y sus hábitos bajo el efecto de la relación planta-animal (Millot et al., 1987). Bajo la aparente homogeneidad del tapiz natural,

observaciones detalladas exponen una riqueza con decenas de especies en pequeñas superficies (Rosengurtt et al. 1939, Texeira y Altesor 2009).

Según Berretta (1996), la cobertura vegetal del pastizal está constituida por especies de gramíneas, plantas herbáceas y subarborescentes, con escasa presencia de árboles. Las gramíneas son el componente principal compuestas por especies estivales con metabolismo fotosintético C₄ y especies invernales de tipo C₃ entremezcladas en proporciones variables dependiendo del suelo, potrero o pequeñas parcelas (m²), lo que expone la complejidad del tapiz natural y su manejo (Rosengurtt, 1943).

La mayoría de los suelos del territorio uruguayo son ligeramente ácidos, de media a baja fertilidad y están expuestos a déficit y excesos de humedad. En consecuencia, las especies estivales son predominantes en la mayoría de los suelos del país (Carámbula 1996, Altesor et al. 2006), por su mayor eficiencia fotosintética y mejor aprovechamiento del agua y el nitrógeno; sin embargo, tienen menor valor nutritivo (Millot et al., 1987).

En este sentido, la relación gramínea invernal/estival acentúa la estacionalidad de las pasturas, siendo la época invernal la más limitante para la producción animal. Las bajas temperaturas durante esta época reducen el crecimiento de las pasturas y las altas cargas promueven el sobrepastoreo de las especies invernales más productivas, por ende, además de las características de crecimiento propias de cada especie, también el manejo ha llevado al predominio de especies de ciclo estival (Carámbula, 1996); aunque pueden verse perjudicadas en suelos superficiales bajo condiciones de estrés hídrico (Millot et al., 1987).

Acompañando a las gramíneas existe un reducido grupo de leguminosas nativas y un elevado número de otras hierbas (Carámbula, 1996). Generalmente las leguminosas presentan mayor valor nutritivo que las gramíneas, por lo que su escasa presencia afecta el rendimiento en cantidad y calidad de la pastura. Esta ausencia parcial de leguminosas se ha asociado fundamentalmente al bajo contenido de fósforo disponible de los suelos, que varía desde 2.5 a 6 mg/kg en las áreas ganaderas (Millot et al., 1987).

La ganadería extensiva en la zona Norte y centro del país se basa en la producción de carne vacuna, ovina y lana. Como resultado del manejo de las pasturas naturales, su variabilidad y baja oferta invernal y/o estival y la baja calidad de su forraje, la producción media anual de carne no supera los 80 kg/ha, independientemente de la región, el tipo de explotación y el manejo vacuno/lanar empleado (Rebuffo et al., 2006).

2.1.2. Mejoramientos extensivos de campo natural en Uruguay

A partir de la década del 1950 se buscó la incorporación de nuevas tecnologías que aumentarían la producción ganadera, atenuando las limitantes en el comportamiento animal generadas por las pasturas naturales. En este sentido, los mejoramientos de campo natural (CNMJ) mediante fertilizaciones fosfatadas e inclusión de leguminosas,

permiten obtener mayor volumen de forraje y de mejor calidad (Millot et al. 1987, Rebuffo et al. 2006) y además corregir la estacionalidad en la producción del tapiz nativo (Carámbula, 1996). A partir del año 2015 la superficie dedicada a la siembra en cobertura de campo natural (mejoramientos extensivos), ha aumentado sensiblemente desde 480 a 519 mil ha, ocupando en la actualidad alrededor de un 4 % de la superficie total explotada (MGAP. DIEA, 2019).

Los mejoramientos son una herramienta sencilla y económica que no sustituyen el tapiz del campo natural y con un menor costo por unidad de materia seca producida, permiten además alcanzar rendimientos comparables a las pasturas sembradas (Carámbula, 1991). Es importante mantener una buena persistencia productiva de la especie introducida mediante manejos adecuados de resiembra natural, refertilización y defoliación. Pueden realizarse mediante la inclusión de gramíneas o leguminosas, sin embargo, dada las características de los suelos del país (marcada deficiencia de N) estas últimas son la mejor opción (Carámbula, 1996).

Las leguminosas introducidas participan en la activación del ciclo del N, transfiriendo a través de exudados de raíces y restos en descomposición el N fijado simbióticamente. En forma directa mejoran el rendimiento y calidad del tapiz a partir del forraje producido y en forma indirecta aumentan la disponibilidad de N en el suelo promoviendo el crecimiento de las gramíneas nativas. Sin embargo, en algunas zonas ocurren suelos que, por su reducida profundidad y potencial de producción, o por el tipo de pastura que soportan, no han permitido alcanzar resultados promisorios con esta tecnología. Tal es el caso de los suelos muy superficiales y superficiales de Basalto - Unidades Cuchilla de Haedo y Queguay Chico (Millot et al., 1987). Por otro lado, en un estudio de cuatro años de duración realizado sobre suelos típicos de la región de Cristalino, se evaluó el efecto de la inclusión de leguminosas en campo natural (otoño), con las consecuentes fertilización y refertilización durante los años de estudio. Se realizó un pastoreo diferido exclusivamente con vacunos durante el primer año de instalación, comenzando a fines de verano con un pastoreo mixto de lanares y vacunos, con una relación L/V 3:1 y una carga básica de 1.5 UG/ha. Los resultados obtenidos indican que el mayor nivel de P en suelo derivado de las fertilizaciones y los cambios en el manejo del pastoreo, promueven el aumento en la frecuencia de especies invernales de interés y el período de crecimiento de algunas estivales productivas (Risso y Carámbula, 1998). Más recientemente, estudios de largo plazo a nivel nacional, han evidenciado que la incorporación de mejoramientos tendría un efecto negativo sobre la comunidad vegetal. Según Jaurena et al. (2015), Cáceres (2019), esta práctica podría alterar la composición del pastizal reduciendo la riqueza de especies y favoreciendo a las especies anuales y exóticas.

Entre las especies de leguminosas más utilizadas, *Lotus subbiflorus* se ha convertido en la especie principal en los mejoramientos extensivos de campos en todo el país y en especial en las regiones Este y centro del territorio nacional. Es una especie anual e invernal, marcadamente estacional (concentrando su producción desde agosto a

diciembre), muy agresiva y con gran capacidad de resiembra y persistencia (Risso y Carámbula, 1998). A pesar de su estacionalidad permite disminuir las fluctuaciones estacionales y estabilizar la capacidad de carga (Risso et al., citados por Rebuffo et al., 2006).

Según Carámbula (1996), si se compara con pasturas convencionales (pasturas sembradas) los mejoramientos permiten duplicar y hasta triplicar la producción de forraje del campo natural sin afectar el entorno natural, a la vez que provocan una distorsión menor sobre la composición de las especies. Estudios a corto plazo mostraron que una inclusión de leguminosas del 10% del área en zonas de Cristalino, aumentaron la productividad en un 20% y permitieron un incremento del resultado económico de los establecimientos ganaderos (Ferreira y Pitaluga, 2001). Sin embargo, poco se conoce sobre el impacto que estos mejoramientos pueden tener en el largo plazo sobre las comunidades vegetales nativas y sobre los microorganismos que habitan el suelo.

Como se mencionó anteriormente el resultado de la incorporación de una leguminosa puede aumentar el contenido de P del suelo (mediante fertilización) y del N aportado por fijación biológica. Incrementos en el contenido de N pueden aumentar la productividad primaria neta (Hanisch et al., 2008). Por otra parte, en un estudio de 11 años de duración, los aumentos experimentales de la productividad mediante la adición de N condujeron a la disminución de la riqueza de especies presentes en el pastizal (Tilman, 1993).

Además de los efectos de los mejoramientos sobre la vegetación, estudios recientes han evaluado los efectos sobre algunos grupos de hongos del suelo. En este sentido, se ha observado un impacto negativo sobre la comunidad de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA), registrándose una reducción de la micorrización en gramíneas, aunque no hubo efecto sobre la diversidad de esta comunidad fúngica. Esto podría indicar una mayor resiliencia de las comunidades fúngicas en relación a la comunidad vegetal (García et al., 2016).

2.2. HONGOS ENDÓFITOS RADICULARES EN COMUNIDADES DE PASTIZALES

El término endófito hace referencia a microorganismos que habitan los tejidos internos de las plantas y que además no causan síntomas aparentes de enfermedad (Wilson, 1995). Según Rodríguez et al. (2008) los hongos endófitos pueden dividirse en dos grandes grupos: los clavicipetaceos representados por un bajo número de especies que típicamente se encuentran dentro de los tallos de plantas gramíneas (Clase 1) y los no clavicipetaceos asociados a plantas no vasculares, helechos, coníferas y angiospermas. Dentro de este último grupo se encuentran tres clases diferentes de grupos funcionales: clase 2 comprendida por especies de hongos incluidos en las divisiones Ascomycota y Basidiomycota, capaces de colonizar tallos, raíces y hojas; clase 3 integrada exclusivamente por especies que aparecen en tejidos aéreos; clase 4 constituida por hongos ascomicetos conidiales o estériles que se caracterizan por la

presencia de septos melanizados oscuros y que son encontrados únicamente en las raíces de las plantas. Este grupo de hongos en conjunto con las micorrizas arbusculares son de los más abundantes especialmente en plantas herbáceas.

2.2.1. Micorrizas arbusculares: generalidades

Frank (1885), utilizó el término micorriza por primera vez y en base a su morfología las agrupó en dos tipos principales que actualmente son conocidas como ectomicorrizas y endomicorrizas. Las ectomicorrizas, forman una estructura llamada Red de Hartig, con hifas que pueden extenderse intercelularmente y desarrollarse hacia el suelo circundante, mientras que las endomicorrizas tienen la capacidad de crecer inter e intracelularmente en las células corticales, no presentan la estructura en forma de red y se extienden hacia el suelo en menor medida. Dentro de este último grupo se encuentran ubicadas las micorrizas arbusculares que presentan hifas aseptadas y deben su nombre a las estructuras que son capaces de formar: arbuscúlos y vesículas (Currah, citado por Rivas et al., 1998).

Los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) pueden separarse de todos los demás grupos fúngicos en un clado monofilético identificado como Glomeromycota (Schüssler et al., 2001). Si bien se describen relativamente pocas especies (Rosendahl, 2008), aproximadamente 230, distribuidas en 29 géneros (Oehl et al., 2011), son capaces de establecer relaciones de simbiosis mutualista con más del 80% de las plantas vasculares que comprenden a los grupos angiospermas, gimnospermas y pteridofitas y con algunas especies de plantas no vasculares como las hepáticas (Smith y Read 2008, Brundrett 2009).

Es el tipo de simbiosis conocida más antigua (Nicolson 1975, Lewis 1987) y más extendida en la naturaleza (Aguilera et al., 2007) encontrándose en un amplio rango de ambientes, desde áridos y semiáridos (Trappe 1981, Allen 1989), desiertos fríos (Allen, 1983) e incluso bajo condiciones extremas como presenta el continente Antártico (Barbosa et al., 2017).

Además de encontrarse en ecosistemas naturales, los HMA también están presentes y son de gran importancia en agroecosistemas asociados a diferentes especies de interés productivo (Brundrett, 1991). Algunos ejemplos de estas especies son: gramíneas como el trigo (Schweiger y Jakobsen, 1999) y el arroz (Ruiz et al., 2016), leguminosas como la alfalfa (Pivato et al., 2007) y árboles frutales como el nogal (Muñoz et al., 2009).

Son simbiosiontes obligados (Morton, 1990) que se asocian principalmente a especies con sistemas radiculares gruesos, longevos y de lento crecimiento (Brundrett, 2002), características que se corresponden con ciclos de vida perenne (Collier et al. 2003, Pezzani et al. 2006). El mecanismo fotosintético también puede afectar su dependencia micorrícica principalmente por diferencias en la morfología radicular. Las gramíneas C_3 presentan sistemas radiculares fibrosos y altamente ramificados, por lo

tanto, su extensa área de superficie para la absorción de nutrientes puede reducir la necesidad de micorrizas y generalmente dependen débilmente de esta simbiosis; en contraste, los tipos C₄ tienen sistemas radiculares gruesos y una mayor dependencia de las micorrizas para crecer (Hetrick et al. 1988, 1990).

La interacción planta-hongo es inespecífica, por lo que un mismo propágulo perteneciente a HMA puede colonizar un amplio rango de especies vegetales, por ejemplo, herbáceas y leñosas simultáneamente (Molina et al., 1992). Por otro parte Clark et al. (1999), Pivato et al. (2007), indicaron que, si bien no existe una especificidad entre los simbioses, puede existir un grado de preferencia entre las plantas y algunos genotipos de HMA.

2.2.1.1. Colonización micorrícica y variaciones en su morfología

Existe una primera etapa asimbiótica en el proceso de crecimiento de las micorrizas arbusculares (aproximadamente dos semanas), hasta que alcanzan una raíz capaz de ser colonizada (Bago et al., 2000). Las tres fuentes de inóculo principales en el suelo son: las esporas (propágulo más resistente), fragmentos de raíces infectadas y redes de micelio. Cuando se dan las condiciones óptimas de humedad, temperatura o señales químicas favorables (exudados solubles o volátiles de raíces jóvenes o flavonoides), pueden iniciar el proceso de crecimiento de una hifa de penetración (Friese y Allen 1991, Bonfante y Perotto 1995, Giovannetti y Sbrana 1998, Merryweather y Fitter 1998).

Las esporas promueven el crecimiento del tubo germinal hifal (mediante sus reservas de lípidos y carbohidratos) con el fin de encontrar una raíz huésped (Bago et al., 2000). En ausencia de una raíz hospedera la espora detiene su crecimiento y evita el agotamiento de reservas, posibilitando la posterior germinación al encontrar un nuevo simbionte (Koske, 1981). Por otra parte, las redes de micelio son de gran importancia para iniciar la rápida colonización de las raíces y movilización de nutrientes (Olsson et al., 2002), además de actuar como puentes permitiendo la conexión entre plántulas en sistemas de vegetación perenne (Friese y Allen, 1991).

Al establecerse el contacto entre los simbioses, se forma un apresorio (estructura fúngica) en la superficie de la raíz, que facilitará la penetración de las hifas del hongo, al interior de las células corticales (Brundrett et al. 1985, Bago et al. 2000). Luego de ingresar al interior celular, se pueden formar arbusculos, vesículas y ovillos, estructuras características de los HMA (Hernández et al. 2003, Smith y Read 2008).

En los arbusculos las hifas intracelulares se ensanchan y se ramifican dicotómicamente (Ocampo, 1980). Esto da lugar a una interface simbiótica limitada por la membrana plasmática de la planta y del hongo, donde tiene lugar la transferencia bidireccional de nutrientes (Smith y Smith 1990, Smith y Read 1997, 2008). La persistencia aproximada de estos órganos es de 14 días y funcionalmente son semejantes a los ovillos por su intercambio metabólico de nutrientes (Hernández et al. 2003, van

Aarle et al. 2005). Por el contrario, las vesículas son estructuras con paredes gruesas generalmente de forma ovoide; la mayoría de las especies de HMA forman estas estructuras que contienen lípidos y cumplen la función de almacenamiento (Hernández et al. 2003, van Aarle et al. 2005, Smith y Read 2008).

La morfología de la colonización dependerá de la especie vegetal involucrada, presentándose micorrizas tipo Arum o tipo Paris. Estas llevan el nombre de las plantas en las que se observaron originalmente, *Arum maculatum* y *Paris quadrifolia* (Gallaud, citado por Cavagnaro et al., 2001). La morfología tipo Arum es común en plantas cultivadas y se caracteriza por el rápido crecimiento intercelular de hifas y la formación de arbusculos intracelulares en la corteza radicular, no es común la presencia de ovillos. Por el contrario, la morfología tipo Paris se ha observado en varias plantas en ecosistemas naturales, el desarrollo es intracelular, pero en este caso se forman enrollamientos de la hifa (ovillos) y los arbusculos podrían generarse a partir de estos; la velocidad de crecimiento de hifas es más lenta que en el anterior (Gallaud, citado por Smith y Smith, 1997).

Smith y Read (1997) en un extenso estudio de la literatura, encontraron reportes que revelarían la existencia de un control de la planta huésped sobre el tipo morfológico micorrícico, mientras que Matekwor et al. (2007) obtuvieron resultados experimentales semejantes. Sin embargo, Cavagnaro et al. (2001), Kubota et al. (2005) indicaron que no solo la identidad de la planta define la morfología micorrícica, sino que también el hongo ejercería control sobre esta.

En simultaneo con el desarrollo intraradical, las micorrizas desarrollan un micelio externo en el suelo que las circunda, encargado de la exploración y captura de nutrientes y agua. Las hifas se ramifican progresivamente extendiéndose en forma radial alrededor de la raíz. Sobre este micelio se forman esporas de resistencia y vesículas aisladas o agrupadas cuya función aún se desconoce (Roldán 1985, Friese y Allen 1991).

2.2.1.2. Funciones y beneficios de las micorrizas a nivel de planta y ecosistema

Las hifas de HMA son capaces de explorar los microhábitats del suelo aumentando la adquisición de nutrientes poco móviles como el P, como principal beneficio para el crecimiento de las plantas. A cambio, el hongo recibe carbohidratos que son esenciales para la formación y el funcionamiento de las micorrizas lo que favorecerá indirectamente la absorción de P del suelo. Esta transferencia bidireccional de nutrientes entre los simbioses es clave en la interacción micorrícica (Ferrol et al. 2002, Smith y Read 2008).

El ion fosfato es altamente inmóvil en el suelo, por ende, cuando la planta absorbe este nutriente se genera una zona de agotamiento que rodea la epidermis y los pelos radiculares (Shapiro et al., citados por Javot, 2007). Por tal motivo, una de las estrategias que presentan las plantas para la adquisición de P y otros nutrientes más allá de la zona de agotamiento de la rizófora es la asociación micorrícica (Rouphael et al.,

2015). En plantas no micorrícicas la zona de agotamiento se extiende menos de 1 cm mientras que el agotamiento causado por hifas puede extenderse hasta los 12 cm desde la superficie radicular y la capacidad de absorción por unidad de longitud de hifa dependerá del genotipo fúngico (Jakobsen et al., 1992).

Los micelios extraradicales de HMA intervienen en la mineralización y absorción de P orgánico a través de enzimas fosfatasas ubicadas en la superficie de sus hifas (Tarafdar y Marschner 1994, Joner y Johansen 2000, Koide y Kabir 2000, Wang et al. 2017). Se ha encontrado que las raíces también presentan enzimas con la misma función, sin embargo, ecológicamente la capacidad de los hongos sería más importante porque el área superficial de los sistemas radiculares es reducida y la actividad fosfatasa se da en la superficie (Dinkelaker y Marschner, 1992).

El P inorgánico resultante de la actividad enzimática es absorbido y transportado a las raíces del huésped (Koide y Kabir, 2000). Una vez ingresado en el citoplasma fúngico, se acumula en la vacuola donde puede producirse la síntesis de polifosfatos (Ezawa et al., 2001) y a partir de estos, el P se transloca desde las hifas extraradicales a las intraradicales por transmisión citoplasmática (Cox et al., 1980). Posteriormente en las vacuolas de hifas intraradicales el P inorgánico es liberado a la interfaz planta-hongo luego de la hidrólisis del polifosfato (Ezawa et al., 2001).

La relación de intercambio carbohidratos-fósforo puede variar considerablemente porque los diferentes HMA difieren en su capacidad de transporte (Pearson y Jakobsen, 1993) y además por el nivel de P del suelo, puesto que ante la deficiencia de este nutriente el hospedero designara más carbohidratos para su obtención (Graham et al., 1997). Se estima que las micorrizas pueden recibir entre el 10 y el 60% de los fotosintatos producidos por la planta (Gehring et al., 1994) y que el rango de concentración de P en suelo capaz de producir beneficios para el huésped es limitado (4 a 12 mg kg⁻¹) (Bethlenfalvay et al. 1983, Bethlenfalvay y Dakessian 1984). Cuando el P no es limitante la simbiosis puede verse inhibida ya que la planta puede absorberlo por sí misma, existiendo una correlación negativa entre el contenido de P del suelo y la colonización micorrícica (Hetrick et al. 1990, Blancof y Salas 1997).

Ocasionalmente las relaciones de costo-beneficio entre los simbiosiontes pueden hacer variar las interacciones a lo largo del continuo mutualismo-parasitismo dependiendo de la especie y de la etapa de desarrollo del huésped, el genotipo fúngico y las condiciones ambientales (Johnson et al. 1997, Klironomos 2003, Pezzani et al. 2006). En el mismo sentido Jiang et al. (2018) indican que en ecosistemas que no están limitados por P y son enriquecidos con N no solo cambia el tipo de interacción micorrícica sino también la estructura de la comunidad fúngica de HMA.

Del total de la biomasa microbiana del suelo, el micelio extraradical de HMA constituye entre un 20 y 30% (Leake et al., 2004), según Miller y Kling (2000) las hifas extraradicales, esporas y exudados (glomalina) en conjunto constituyen hasta un 15% de la reserva de carbono orgánico del suelo en sistemas de pastizales.

En experimentos de largo plazo, en ecosistemas de pastizales naturales, se observó que existe una correlación positiva entre la abundancia de HMA y la formación y estabilidad de los agregados del suelo (Rillig y Mummey, 2006), así como también para el almacenamiento subterráneo de C y N orgánico, lo que demuestra la importancia de estos microorganismos para el ecosistema (Wilson et al., 2009).

Entre otros beneficios que las micorrizas arbusculares pueden aportar a las plantas esta la absorción de varios otros elementos como N, Cu, Fe, K y Zn (Smith y Read, 1997), la resistencia a patógenos (Fitter y Garbaye 1994, Newsham et al. 1995) y a condiciones extremas como la sequía (Allen et al. 1981, Augé 2001, Smith et al. 2010, Harris-Valle et al. 2011, Sangeeta et al. 2019). Además, son de gran importancia en la estructuración de las comunidades vegetales al aumentar la diversidad y productividad de las plantas en los ecosistemas terrestres (Allen 1983, Grime et al. 1987, van der Heijden et al. 2008).

2.2.1.3. Estudios de micorrizas en pastizales de Uruguay

En Uruguay se ha encontrado que tanto las especies que componen el pastizal, así como el manejo del pastoreo, producen una respuesta diferencial en la colonización de hongos micorrizógenos. Las gramíneas con metabolismo fotosintético C₄ en relación al tipo C₃ presentaron mayores niveles de colonización (Parodi y Pezzani, 2011) mientras que la presencia de estructuras características de HMA (arbúsculos, ovillos y vesículas) indicaría respuestas diferenciales en relación a los diferentes componentes del pastoreo (defoliación selectiva, deyecciones y pisoteo). La colonización micorrícica total y por arbúsculos no se vio afectada por ningún componente antes mencionado; la colonización por ovillos se vio afectada positivamente por la selectividad y negativamente por las deyecciones, en tanto que el pisoteo afectó negativamente la presencia de vesículas. Esto podría indicar que la importancia relativa de cada componente del pastoreo sobre las micorrizas, podría afectar el resultado global del pastoreo sobre esta interacción (García et al., 2019).

2.2.2. Endófitos septados oscuros: generalidades

Melin (1922), observó un grupo de hongos endófitos de pigmentación marrón oscura asociados a las raíces de las plantas, los llamo *Micelium Radicus Atrovirens* y los denominó "pseudomicorrizas". Este grupo incluye todos los hongos colonizadores de raíz que no se consideran micorrícicos en función de las estructuras que producen y que generalmente son indicativas de endófitos septados oscuros (DSE del inglés) como se les llama actualmente (Kageyama et al., 2008).

Los endófitos de raíz son un grupo parafilético que se ha identificado en general como hongos Ascomicetos conidiales o estériles (Kageyama et al., 2008). Son capaces de establecer relaciones simbióticas con las raíces de las plantas, que al igual que en las asociaciones micorrícicas pueden variar desde el mutualismo al parasitismo (Jumpponen y Trappe 1998, Jumpponen 2001). Esta variación puede ser función tanto

de las condiciones ambientales y edáficas en la que se establece la relación hongo/hospedero, como de la identidad de cada uno de los asociados (Smith y Smith 1990, Mandyam et al. 2012, Mayerhofer et al. 2013). En este sentido, las plantas hospederas difieren en sus respuestas a una misma cepa DSE, así como a diferentes taxones y cepas fúngicas (Jumpponen, 2001).

Los DSE se encuentran presentes en un amplio rango de hospederos (600 especies que representan alrededor de 320 géneros) pertenecientes tanto a gimnospermas como a angiospermas (Jumpponen y Trappe, 1998). Dentro de estas últimas las monocotiledóneas presentarían mayores niveles de colonización (Weishampel y Bedford 2006, Newsham 2011). Sin embargo, resultados recientes exponen que los niveles de colonización en dicotiledóneas y monocotiledóneas serían similares (Bueno de Mesquita et al., 2018).

Su distribución global revela una baja especificidad de hábitats, estando presentes en llanuras costeras y tierras bajas sudafricanas, hasta en zonas tropicales, templadas, subalpinas, alpinas, antárticas y árticas. Esto sugiere que tienen un papel de gran importancia en los ecosistemas naturales (Jumpponen y Trappe, 1998) y que son posiblemente tan abundantes como las micorrizas (Mandyam y Jumpponen, 2005).

2.2.2.1. Colonización y estructuras características

Las estructuras reproductivas asexuales se obtienen mediante el aislamiento y el cultivo de hongos DSE. Esto posibilita la descripción e identificación de algunos de los hongos endófitos de raíz y la realización de inoculaciones experimentales para comparar la morfología de la colonización radicular de cada cepa (Wang y Wilcox 1985, Fernando y Currah 1996). Las asociaciones con las raíces son distintivas y su morfología se asemeja a la de las ectomicorrizas (Wilcox y Wang 1987, O'Dell et al. 1993, Fernando y Currah 1996), ectendomicorrizas (Wang y Wilcox 1985, Wilcox y Wang 1987) y pseudomicorrizas (Wang y Wilcox, 1985), siendo controladas en gran medida por el hospedero (Wilcox y Wang, 1987).

El comportamiento saprófito de los endófitos septados les permite persistir y generar propágulos (esclerocios y conidios) en ausencia de raíces hospederas, por lo cual pueden preceder a sus anfitriones (Day y Currah, 2011). Así pues, la presencia de DSE en suelo y además en raíces constituye una fuente importante de propágulo cuya dispersión puede darse por fragmentos hifales, conidios (Jumpponen y Trappe, 1998) y esclerocios. Estos cuerpos escleróticos intracelulares pueden dispersarse con el movimiento del suelo en células epidérmicas desprendidas de la raíz (Currah et al., 1993).

El patrón de colonización para DSE utilizado como referencia por varios autores es el de *Phialocephala fortinii*. Comienza con hifas superficiales que crecen paralelas al eje principal de la raíz, generalmente siguiendo el surco entre las células epidérmicas adyacentes (Currah et al., 1993). Presentan septos, son hialinas en su

desarrollo temprano y oscuras cuando maduran por la presencia de melanina (Heredia et al., 2014). Conjuntamente estas hifas pueden desarrollar una "red" o "tramas" sueltas que crecen a lo largo de la superficie con algunas ramificaciones y eventualmente colonizar inter e intracelularmente las células epidérmicas y corticales (O'dell et al. 1993, Jumpponen 2001, Yu et al. 2001).

La penetración puede ocurrir en las puntas de las raíces, en las bases de las raíces laterales emergentes y en puntos aparentemente aleatorios a lo largo de la epidermis (Cameron 1998, Yu et al. 2001). Los pelos radiculares también pueden ser colonizados, O'dell et al. (1993) indican que sería una forma de entrar a las células corticales. En cambio, Cameron (1998) expresa que la infección se produce desde la célula epidérmica hacia afuera y no sería un modo de entrada para el hongo.

La penetración de la pared externa de las células epidérmicas puede ocurrir mediante estructuras similares a un apresorio (Yu et al., 2001) o enzimáticamente mediante la formación de tubos de penetración; estos además permiten el pasaje de las hifas a través de las paredes celulares contiguas (Currah et al., 1993). Una vez dentro de la célula forman estructuras poco diferenciadas de pigmentación oscura denominadas microesclerocios (Wang y Wilcox 1985, Currah et al. 1993, O'dell et al. 1993, Cameron 1998, Jumpponen y Trappe 1998, Yu et al. 2001, Heredia et al. 2014).

Los microesclerocios son considerados estructuras de almacenamiento que contienen glucógeno, proteínas y gránulos de polifosfato (Yu et al., 2001) y son resistentes a condiciones extremas. Podrían ser estructuras de intercambio nutrimental entre el hongo y la planta; sin embargo, su reducida superficie de contacto en comparación a las estructuras características de HMA, su contenido de melanina y su pared dura y gruesa son factores que limitarían este intercambio (Heredia et al., 2014).

En ocasiones las estructuras presentes en la raíz colonizada podrían indicar una posible asociación patogénica (Wang y Wilcox 1985, Wilcox y Wang 1987). En este sentido, Cameron (1998) señala que las membranas plasmáticas de las células vegetales colonizadas por *Phialocephala fortinii*, no se invaginaron para rodear a las hifas fúngicas (como ocurre en la colonización por HMA). Las hifas penetraron en el citoplasma y las células vegetales generaron compuestos fenólicos. Estas son respuestas comunes de la planta a los patógenos; pese a esto, la salud general del hospedero no se vio perjudicada, por lo tanto, la asociación planta-hongo no fue considerada patógena.

2.2.2.2. Funciones de los endófitos septados oscuros y beneficios a nivel de planta

Los endófitos septados oscuros son más frecuentes en hábitats que presentan algún tipo de estrés (Mandyam y Jumpponen 2005, Uma et al. 2010, Newsham 2011) y sus funciones ecológicas son poco conocidas (Jumpponen y Trappe, 1998). Pueden actuar como descomponedores de residuos (He et al., 2019) ya que tienen la capacidad de producir enzimas extracelulares encargadas de degradar los principales polímeros detríticos de C, N y P en la rizósfera (Fernando y Currah 1996, Caldwell et al. 2000, Day

y Currah 2011, Newsham 2011, Surono y Narisawa 2017) y de mineralizar el P insoluble del suelo dejándolo disponible (Barrow y Osuna 2002, Della Monica et al. 2015).

Knapp y Kovács (2016) en un estudio realizado con un amplio rango de sustratos y 15 especies diferentes de DSE, señalan que este grupo fúngico presenta diferencias interespecíficas en su actividad metabólica, lo que podría revelar una diversidad funcional complementaria de estas comunidades fúngicas.

La colonización parece ser más común en las zonas más antiguas del sistema radicular (Cameron, 1998), esto puede sugerir un reciclaje de nutrientes de las células muertas o senescentes de la raíz a las raíces activas (Jumpponen y Trappe, 1998). Esta actividad saprófita del hongo en el sustrato, podría tener un impacto positivo en el rendimiento de las plántulas, aunque el hongo no se encuentre colonizando las raíces (Ruotsalainen, 2003).

La asociación de los DSE con las plantas puede generar efectos positivos sobre la morfología del sistema radicular (mayor longitud, área de superficie y ramificaciones He et al., 2019), sobre la producción de biomasa vegetal (Haselwandter y Read 1982, Barrow y Osuna 2002, Kivlin et al. 2013, He et al. 2019, Xu 2020), y sobre el contenido de N y P en planta al dejar disponible los nutrientes para su absorción. Esto sucede principalmente cuando el N en el suelo está presente en forma orgánica, dado que la planta no se beneficiaría del hongo cuando puede acceder fácilmente al N inorgánico (Newsham 2011, Vergara et al. 2017, He et al. 2019) y cuando la fuente de P es insoluble (Barrow y Osuna 2002, Xu 2020). Mayerhofer et al. (2013) en un metanálisis realizado indican que la respuesta en biomasa vegetal a la inoculación por endófitos fue negativa, en tanto que la concentración de N en planta fue neutral; sin embargo, concluye que la identidad del hospedero y del endófito, así como las condiciones experimentales de estos estudios podrían haber confundido los resultados.

Entre los efectos positivos que pueden tener sobre las plantas también se encuentra la protección contra patógenos (Mandyam y Jumpponen, 2005). La presencia de este grupo de endófitos puede generar una reacción de defensa en la planta caracterizado por el engrosamiento irregular de las paredes de las células exodérmicas adyacentes a las hifas (Yu et al., 2001). Además, es probable que la competencia por los carbohidratos disponibles en la rizósfera se vea favorecida por la gran abundancia de septados oscuros, limitando el consumo de los patógenos y su establecimiento (Mandyam y Jumpponen, 2005). Por otra parte, pueden afectar la composición de las comunidades de plantas (Mandyam y Jumpponen, 2005) debido a que las respuestas de éstas a la colonización son específicas de la identidad del hospedero y del hongo asociado (Fernando y Currah, 1996).

La gran incertidumbre en las cepas de DSE utilizadas y la variabilidad funcional que estas pueden presentar no permite hacer generalizaciones sobre las funciones ecológicas que este grupo fúngico puede presentar (Jumpponen y Trappe,

1998). Por otra parte, serían necesarios experimentos en entornos naturales que respalden el cumplimiento de las funciones propuestas en estudios de laboratorio con ambientes simulados (Mandyam y Jumpponen, 2005).

En Uruguay no se conocen estudios previos sobre este grupo de hongos. En los trabajos anteriormente citados sobre estudios de micorrizas en pastizales se ha comenzado a observar y cuantificar la presencia de estos hongos ya que son muy conspicuos en las raíces de todas las especies analizadas. Este es el primer trabajo en el que se incluye explícitamente su estudio.

2.3. INTERACCIÓN EN COMUNIDADES DE PASTIZALES ENTRE MICORRIZAS – ENDÓFITOS SEPTADOS OSCUROS

Generalmente se cree que los DSE remplazan a los HMA en ambientes extremos como son los ecosistemas árticos y alpinos (Gardes y Dahlberg, 1996), sin embargo, ambos grupos se han encontrado en abundancia en plantas de estos sistemas. La colonización por HMA aumenta en elevaciones más bajas (Read y Haselwandter 1981, Schmidt et al. 2008, Kotlínek et al. 2017, Bueno de Mesquita et al. 2018), niveles bajos de humedad (Augé 2004, Smith y Read 2008, Kivlin et al. 2013) y de P y N (Schmidt et al. 2008, Camenzind et al. 2014, Kotlínek et al. 2017, Bueno de Mesquita et al. 2018).

Para la colonización por DSE no existe un consenso en cuanto al factor elevación: según Read y Haselwandter (1981), Schmidt et al. (2008), Newsham (2011) elevaciones más altas incrementan la colonización, en cambio Ruotsalainen (2003), Ranelli et al. (2015), Bueno de Mesquita et al. (2018) no encontraron relación entre ambos. En relación al contenido de nutrientes se desconoce si el nivel de P en suelo afecta la colonización (Ranelli et al., 2015), mientras que el N en altas concentraciones tiene efectos positivos (Newsham 2011, Kivlin et al. 2013, Bueno de Mesquita et al. 2018).

La identidad del huésped explicaría mejor la variación en el grado de colonización de HMA que las variables ambientales, esto puede atribuirse a que son simbioses obligados y dependen más de su hospedero que del ambiente (Ranelli et al. 2015, Bueno de Mesquita et al. 2018).

Sin embargo, para la variación en el nivel de colonización por DSE la identidad del huésped no fue un predictor importante, esto se puede atribuir a que son simbioses facultativos y pueden estar más influenciados por las variables ambientales (Bueno de Mesquita et al., 2018). Los resultados obtenidos por Ranelli et al. (2015) indican lo contrario y sugiere que este grupo de hongos es el menos propenso a tener patrones de colonización predecibles, dejando abierta la interrogante de qué factores influyen en sus distribuciones.

Se ha constatado la presencia de ambos grupos fúngicos en la misma especie hospedera (Horton et al. 1998, Medina et al. 2008, Hodson et al. 2009, Ranelli et al.

2015, Kotlínek et al. 2017, Bueno de Mesquita et al. 2018, Menoyo et al. 2020), sin embargo, son pocos los estudios que analizan la correlación entre los niveles de colonización por HMA y por DSE.

Ranelli et al. (2015), Lugo et al. (2018) indican correlaciones positivas y sugieren una posible sinergia entre ambos grupos fúngicos, lo que proporcionaría beneficios complementarios a los hospederos. En este sentido Della Monica et al. (2015) señala que los DSE pueden aumentar el P disponible en la rizófora y las micorrizas transferirlo a la planta. Además, Menoyo et al. (2020) señalan que estas asociaciones endófito-hospedero pueden determinar la estructura de la comunidad vegetal, con un mayor nivel de colonización radicular y densidad de hifas rizosféricas presente en las especies dominantes.

Por el contrario, Kotlínek et al. (2017), Bueno de Mesquita et al. (2018) encontraron una relación negativa entre la colonización de ambos grupos fúngicos lo que podría deberse a diferentes respuestas a los gradientes ambientales y vegetales o a la competencia por el tejido radicular de la planta hospedera.

Medina et al. (2008) evaluaron el efecto de la intensidad de pastoreo sobre el nivel de colonización de ambos grupos fúngicos para una especie de gramínea en pastizales semiáridos. Sus resultados indican que no hubo un efecto del tratamiento y que los dos simbiontes fúngicos coexisten en la raíz con una colonización cuatro veces mayor por DSE que por HMA. Esto sugiere que la competencia por los recursos (fotosintatos) puede controlar la abundancia de ambos simbiontes. Al no evidenciar una correlación negativa en la abundancia de HMA y DSE se refuerza la idea de complementariedad funcional.

Saravesi et al. (2014) también estudiaron el efecto de la defoliación sobre la colonización de HMA y DSE en una especie de leguminosa. Sus resultados exponen que la defoliación reduce la colonización de HMA y aumenta ligeramente la de DSE, sin embargo, la presencia de una especie fúngica no tuvo efecto sobre la colonización de la otra. Esto sugiere que la colonización por micorrizas arbusculares se ve limitada por la disponibilidad de carbono del hospedero, mientras que los septados oscuros se pueden ver beneficiados de la muerte y los exudados de la raíz asociados a la defoliación.

En Uruguay no se conocen antecedentes que hayan estudiado la presencia de septados oscuros en pastizales ni tampoco que se hayan evaluado los efectos de algún factor ambiental sobre micorrizas y septados oscuros al mismo tiempo. En este sentido este trabajo aporta información novedosa sobre el efecto de una práctica agronómica como los mejoramientos extensivos sobre estos hongos tan frecuentes en comunidades herbáceas.

2.4. HIPÓTESIS

Las hipótesis que se plantean son:

a) de acuerdo a los antecedentes, una mayor disponibilidad de P en suelo podría afectar negativamente las interacciones micorrícicas.

b) a mayor disponibilidad de P las plantas tendrán un mejor desempeño lo que podría beneficiar la presencia de endófitos septados oscuros.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. SITIOS DE ESTUDIO

Los sitios de estudio están comprendidos dentro de dos regiones geomorfológicas predominantemente ganaderas de Uruguay, la Cuesta Basáltica y la región Centro Sur (Panario, 1988), indicadas en el presente trabajo como región de Basalto (B) y Cristalino (C) respectivamente.

La Cuesta Basáltica se extiende por los departamentos de Artigas, Salto, Paysandú, Este de Río Negro, Suroeste de Tacuarembó y Norte de Durazno. Abarca 4.39 millones de ha que representan el 21% del territorio nacional (Baeza et al., 2011). Se caracteriza por presentar suelos superficiales asociados a suelos profundos (Millot et al., 1987), formados principalmente a partir de materiales de la Formación Arapey (Bossi y Navarro, 1988). El relieve es muy variable, si bien domina un paisaje plano, en él se disponen colinas, lomadas y sierras sin parte superior aplanada con pendientes que pueden estar en el rango de 6 al 12% (Millot et al. 1987, Panario 1988).

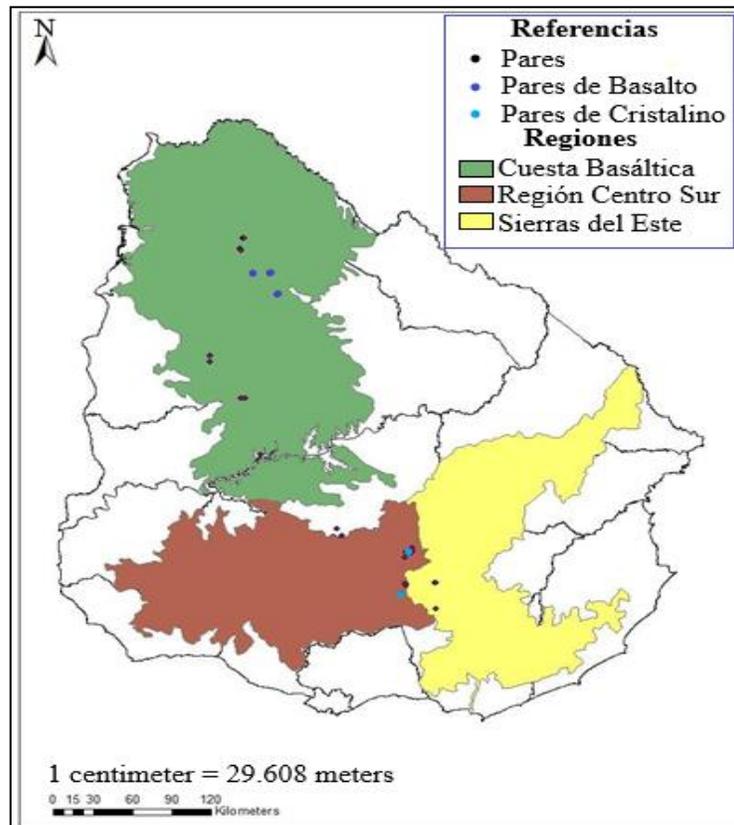
La cobertura de pastizales naturales representa el 74.7% del área (Baeza et al., 2019), siendo la región con menores niveles de degradación (Boggiano, 2003). En un estudio fitosociológico realizado en las zonas de Basalto Superficial y Profundo que abarcó las unidades cartográficas de suelo Cuchilla de Haedo – Paso de los Toros, Queguay Chico, Itapebí – Tres Árboles y Curtina (descriptas en Altamirano et al., 1976), las especies más frecuentes encontradas fueron: *Dichondra sericea*, *Plantago myosurus*, *Vulpia australis*, *Briza subaristata* y *Sisyrinchium sp.* (Lezama et al., 2011).

La región Centro Sur se extiende por gran parte de los departamentos de Florida y Flores, Sur de Durazno, Noreste de Colonia y algunas áreas de Soriano, San José y Cerro Largo. Ocupa aproximadamente 2.25 millones de ha correspondientes al 12.8% de la superficie del país (Baeza et al., 2011). El relieve es ondulado con predominancia de lomadas irregulares de formas redondeadas, con suelos superficiales y profundos desarrollados sobre basamento cristalino y sedimentos cuaternarios (Millot et al., 1987).

La cobertura de pastizales naturales ocupa el 38.8% del área (Baeza et al., 2019), siendo la región con mayor grado de degradación (Boggiano, 2003). En un estudio fitosociológico realizado en las unidades de suelo San Gabriel – Guaycurú, La Carolina y Sierra de Mahoma (Altamirano et al., 1976) las especies predominantes fueron: *Paspalum notatum*, *Alophia lahue*, *Bothriochloa laguroides*, *Dichondra sericea* y *Briza minor* (Lezama et al., 2011).

Los datos de temperatura media registrados para Uruguay en el período 1980-2009 y la precipitación media anual, oscilan desde los 16.6° C y 1200 mm para la región de Cristalino hasta los 19.8° C y 1600 mm en la región de Basalto (Castaño et al., 2011).

Desde 2013 del Pino y Lezama identificaron una red de pares Campo Natural – Campo Natural Mejorado (CN-CNMJ) en las dos regiones geomorfológicas descritas.¹ Esta red está integrada por potreros que representan situaciones pareadas de pastizales naturales y mejorados, con situaciones de clima y suelo muy similares en los potreros que componen cada par (Figura 1). Esto representa una gran ventaja a la hora de analizar los efectos de los mejoramientos. Otra característica que comparten los potreros con mejoramiento que integran esta red es la inclusión de *Lotus subbiflorus* como la especie de leguminosa utilizada en la siembra en cobertura.



Basalto (verde) presenta 13 sitios de estudio y las regiones Centro Sur y Sierras del Este (identificadas en marrón y amarillo respectivamente) 16 sitios. Los pares marcados con color azul y celeste fueron incluidos en esta tesis.

Figura 1. Ubicación de 29 de los sitios donde se encuentra la red de pares que componen la red de sitios pareados CN – CNMJ

Fuente: modificado de Cáceres (2019).

¹ del Pino, A. 2019. Com. personal.

3.2. DESCRIPCIÓN DE LOS PARES CAMPO NATURAL – CAMPO NATURAL MEJORADO (CN-CNMJ)

Para el presente trabajo, de los 31 pares que conforman la red de pares CN-CNMJ, se seleccionaron tres para la región de Basalto (B1, B2 y B3) y tres para la región de Cristalino (C1, C2 y C3). Uno de los criterios para la selección fue considerar diferentes edades de instalación del mejoramiento (Cuadro 1). En el Cuadro 2 se presenta información sobre el manejo de la fertilización en los potreros con CNMJ.²

Cuadro 1. Ubicación de los pares CN-CNMJ seleccionados para este trabajo con su correspondiente unidad de suelo y fecha de instalación de los mejoramientos

Región	Sitio	Latitud	Longitud	Inicio de mejoramiento (año)	Unidad de suelo
Basalto	B1	-31,305891	-56,371277	2005*	CH-PT
	B2	-31,81212	-56,55642	2003	I-TA
	B3	-31,31911	-56,531261	2006	CH-PT
Cristalino	C1	-33,868972	-55,585684	2000	SG-G
	C2	-33,868972	-55,585684	2000	SG-G
	C3	-33,0607231	-55,585684	2001	Mc

*resiembra en 2012.

B1, B2, B3= pares de Basalto; C1, C2, C3= pares de Cristalino; CH-PT= unidad de suelo Cuchilla Haedo-Paso de los Toros; I-TA= unidad de suelo Itapebí - Tres Árboles; SG-G= unidad de suelo San Gabriel Guaicurú; Mc= unidad de suelo Montecoral.

Cuadro 2. Manejo de la fertilización en los potreros de CNMJ

Sitio	Fertilización inicial		Refertilización		
	Fuente	P ₂ O ₅ as. (kg)	Fuente	P ₂ O ₅ as. (kg)	Frecuencia
B1	(7-40-40-0)	28	(7-40-40-0)	28	Anual
B2	Superfosfato (0-21-23-0)	21	Superfosfato (0-21-23-0)	42	Anual
B3	P	40	P	20 a 40	Anual
C1	Fosfato de amonio (18-46-46-0)	46	Hiperfosfato (0-10-28-0)	2,8	Hasta 2011
			Hiperfosfato (0-10-28-0)	20	Hasta 2015
C2	sd.	sd.	sd.	sd.	sd.
C3	Hiperfosfato (0-10-28-0)	15	sd.	sd.	Anual hasta 2010

² Lezama, F. 2019. Com. personal.

B1, B2, B3= pares de Basalto; C1, C2, C3= pares de Cristalino; D= dosis; P₂O₅ as.= contenido de P asimilable del fertilizante; sd= sin dato.

Para el presente trabajo, la elección de los pares se realizó considerando el contenido de P del suelo, seleccionando aquellos sitios donde la diferencia era mayor entre el componente CN y CNMJ. En los Cuadros 3 y 4 se muestran los resultados de los análisis químicos de los suelos de los pares seleccionados.³ En el Cuadro 5 se presentan los valores promedio de contenido de P disponible en CN y CNMJ para ambas regiones de estudio.

Cuadro 3. Características químicas y contenido de nutrientes de suelo de los pares pertenecientes a la región de Basalto

Sitio	Manejo	Prof. (cm)	P	Ca	Mg	K	BT	C	MO	pH
			ppm	Cmol. Kg ⁻¹				(%)		(H ₂ O)
B1	CN	0-5	3,8	28,2	11,3	1,47	41,0	7,1	12,2	5,4
		5-10	2,4	22,3	8,3	0,78	31,4	5,6	9,7	5,2
	CN-MJ	0-5	8,0	20,7	7,9	1,80	30,4	7,3	12,6	5,2
		5-10	5,3	20,2	7,9	0,91	29,0	5,3	9,2	5,1
B2	CN	0-5	3,3	17,7	6,8	0,61	25,2	5,6	9,7	5,3
		5-10	2,8	15,0	5,6	0,30	20,8	4,0	6,9	5,3
	CN-MJ	0-5	19,2	18,1	6,2	0,51	24,8	5,9	10,2	5,4
		5-10	6,7	18,6	6,8	0,34	25,7	3,9	6,7	5,3
B3	CN	0-5	1,4	22,2	10,2	0,71	33,1	7,1	12,2	5,5
		5-10	1,1	24,6	11,4	0,43	36,5	4,4	7,7	5,8
	CN-MJ	0-5	2,8	21,7	9,5	0,71	32,0	6,4	11,0	5,5
		5-10	2	20,9	8,9	0,33	30,2	4,0	6,8	5,8

CN= campo natural, CNMJ= campo natural mejorado.

Cuadro 4. Características químicas y contenido de nutrientes de suelo de los pares pertenecientes a la región de Cristalino

Sitio	Manejo	Prof. (cm)	P	Ca	Mg	K	BT	C	MO	pH
			ppm	Cmol. Kg ⁻¹				(%)		(H ₂ O)
C1	CN	0 - 5	3,6	3,9	1,6	0,61	6,1	3,5	6,0	5,2
		5 - 10	2,8	3,2	1,2	0,25	4,6	2,2	3,9	5,2
	CN-MJ	0 - 5	9,4	4,3	1,3	0,50	6,1	3,8	6,5	5,0
		5 - 10	3,4	3,1	0,9	0,28	4,3	1,9	3,2	4,9
C2	CN	0 - 5	3,6	3,6	1,6	0,43	5,6	2,8	4,8	5,2

³ del Pino, A. 2019. Com. personal.

		5 - 10	2,9	7,9	2,2	0,38	10,6	1,6	2,8	4,9
	CN-MJ	0 - 5	6,7	9,2	2,7	0,29	12,2	3,0	5,1	5,2
		5 - 10	3,6	4,6	1,7	0,31	6,6	2,2	3,8	5,0
C3	CN	0 - 5	3,2	sd	Sd	sd	sd	3,3	5,7	5,1
		5 - 10	1,3	sd	Sd	sd	sd	2,6	4,4	5,1
	CN-MJ	0 - 5	2,7	sd	Sd	sd	sd	3,3	5,6	5,1
		5 - 10	2,6	sd	Sd	sd	sd	2,8	4,8	5,0

CN= campo natural, CNMJ= campo natural mejorado, sd= sin dato.

Cuadro 5. Se presenta contenido de P disponible promedio para la región de Basalto y de Cristalino

Tratamiento	Contenido de P (ppm; promedio \pm desv. est.)			
	CN		CNMJ	
	0 - 5	5 -10	0 - 5	5 -10
B	2.80 \pm 1.3	2.10 \pm 0.9	10.0 \pm 8.4	4.7 \pm 3.2
C	3.46 \pm 0.2	2.33 \pm 0.9	6.26 \pm 3.4	3.22 \pm 0.6

B= Basalto, C= Cristalino, CN= campo natural, CNMJ= campo natural mejorado.

En relación a la presencia de la leguminosa introducida en los pares, según Cáceres (2019), la cobertura promedio de *Lotus subbiflorus* en los potreros de CNMJ de los pares de la región de Basalto fue mayor a los del Cristalino. Dentro de los sitios de Basalto, la cobertura al momento del muestreo (2013) fue de 1%, 13% y 2% para B1, B2 y B3 respectivamente, alcanzando una cobertura máxima durante toda la historia de la parcela mayor al 50% del área en los tres pares. Para los sitios de Cristalino la cobertura de *L. subbiflorus* fue de 8% para C1, 4% para C2 y 0% para C3. La cobertura máxima alcanzada en esta región fue mayor al 50% del área en C2 y menor al 50% para C1 y C3. Además, en el trabajo de Cáceres (2019) se encontró que la introducción de la leguminosa afectó significativamente la composición florística del pastizal o campo natural siendo mayor la magnitud del cambio en la región de Cristalino. También identificó un incremento significativo de la especie invasora *Cynodon dactylon* (gramilla) que presentó mayor cobertura en CNMJ (casi 5 veces mayor que en CN). Sin embargo, la presencia de gramilla fue muy diferente en ambas regiones: en Basalto no se encontraron diferencias significativas en la cobertura de esta invasora frente a la aplicación del mejoramiento (estando ausente en CN y presente solo en 5 sitios de CNMJ). Por el contrario, en la región de Cristalino la gramilla fue muy abundante especialmente en los potreros de CNMJ (se encontró la presencia en 6 sitios pertenecientes a CN y 10 sitios de CNMJ de un total de 16 sitios pareados).

3.3. TRABAJO DE CAMPO

Para el presente trabajo se colectó suelo para instalar un ensayo en condiciones controladas. Esta colecta se efectuó entre mayo y junio de 2018 en los pares seleccionados de Basalto y Cristalino respectivamente. Se tomaron muestras compuestas en cada potrero de CN y CNMJ de cada par, de los primeros 10 cm de suelo, donde se concentran la mayor cantidad de raíces. Una vez colectada la cantidad de suelo necesaria, se almacenó en heladera para su conservación, de forma de evitar el deterioro o pérdida de características originales, hasta el momento de la instalación del ensayo, un mes después.

3.4. TRABAJO DE LABORATORIO

3.4.1. Instalación del ensayo con plantas trampa

Se instaló un ensayo macetero usando cebolla (*Allium cepa*) como planta trampa modelo para estudiar el potencial de colonización por micorrizas arbusculares y por septados oscuros de los suelos de los pares CN–CNMJ. El ensayo se instaló el día 2 de julio del 2018 en el laboratorio del Departamento de Sistemas Ambientales de Facultad de Agronomía. El diseño experimental consistió en 5 macetas con suelo proveniente de cada tratamiento (CN y CNMJ) de cada uno de los pares de las dos regiones estudiadas, resultando en un total de 60 macetas. Se utilizaron macetas de 200 cm³ de capacidad, en los que se mezcló el suelo colectado en el potrero con vermiculita estéril en una proporción 3-1 para mantener una mayor aireación y evitar la compactación del suelo en la maceta.

Se sembraron 5 semillas de cebolla y luego de 10 días de la germinación se ralearon a 3 plántulas por macetas. Durante todo el período en el que permaneció el cultivo instalado se realizó seguimiento, tanto para control de malezas como de humedad (riego a demanda).

Además de los tratamientos antes mencionados, se instaló un tratamiento control utilizando en este caso únicamente vermiculita con el mismo criterio que los anteriores en un total de 10 macetas. Dado que este material no presenta aporte de nutrientes, fue necesario realizar fertilización diferida cada 15 días con una solución comercial a base de nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), magnesio (Mg), manganeso (Mn), cinc (Zn), boro (B), molibdeno (Mo), cobre (Cu) y hierro (Fe).

Paralelamente se sembraron unas macetas con semillas de *Lotus subbiflorus* cv El Rincón utilizando suelo proveniente de un solo par CN-CNMJ de cada una de las regiones. Esta es la especie de leguminosa que se utilizó en los mejoramientos de campo natural estudiados. El objetivo fue conocer su capacidad de micorrización ya que podría ser utilizada como alternativa al uso de *A. cepa* (especie ajena al sistema). El procedimiento para la instalación y cuidado de estas macetas fue el mismo que para las de cebolla exceptuando la cantidad de semillas, en este caso se sembraron varias semillas por maceta.

Transcurridos 46 días post emergencia, el día 30 de agosto de 2018, se cosecharon las plantas de cebolla y de lotus con el objetivo de obtener únicamente la raíz, las cuales se conservaron en vinagre hasta su procesamiento. El rápido crecimiento en longitud de la parte aérea de las plantas de cebolla resultó en el vuelco de gran parte de estas, lo que implicó la finalización del ensayo para evitar la pérdida de plantas. En consecuencia, la duración del ensayo fue menor al definido inicialmente (60 días) y que según la literatura sería adecuado para efectuarse la colonización de las raíces en plantas de cebolla (Nelsen y Safir, 1982).

3.4.2. Procesamiento y observación de las raíces

Para el procesamiento de las raíces de las plantas de *Allium cepa* y *Lotus subbiflorus*, se realizó el aclarado y posterior tinción mediante el método de Philips y Hayman, modificado por Koske y Gemma (1989). Al tratarse de raíces jóvenes, los tiempos establecidos por el método fueron ajustados para evitar posibles daños. Mientras que el método establece que las raíces deben permanecer en KOH al 10 %, durante 24 horas para su decoloración, en este caso permanecieron solo 6 horas. Otra modificación al procedimiento fue el tiempo de coloración con azul de tripano al 0.05 %, que en lugar de permanecer por un lapso de 48 horas, estuvieron 15 horas. Las raíces fueron luego conservadas en lactoglicerol hasta realizar el montaje de las mismas en portaobjetos para la observación con el microscopio óptico.

Considerando como unidad experimental la maceta, de todas las raíces colectadas de cada una de estas, se cortaron 30 segmentos de raíz de 1 cm de largo, siguiendo el procedimiento estandarizado para el estudio de colonización micorrízica. Para las observaciones al microscopio, siguiendo este mismo procedimiento, para cada segmento se determinaron 3 campos de observación, con el objetivo de tener 90 observaciones por unidad (Figura 2). Además, se identificaron las estructuras características de los hongos micorrizógenicos arbusculares (HMA): arbusculos, hifas, ovillos y vesículas, así como la presencia de hifas de hongos septados oscuros (DSE). Para cada unidad experimental se cuantificó el porcentaje de colonización micorrízica total y el porcentaje de colonización por DSE así como el porcentaje de las diferentes estructuras de los HMA a través del cociente de campos con presencia de alguna estructura fúngica y el número de campos observados. El porcentaje de colonización para cada una de las variables mencionadas se calculó utilizando la fórmula:

$$\% \text{ de colonización} = \text{número de segmentos} \times \frac{100}{\text{número de segmentos totales}}$$

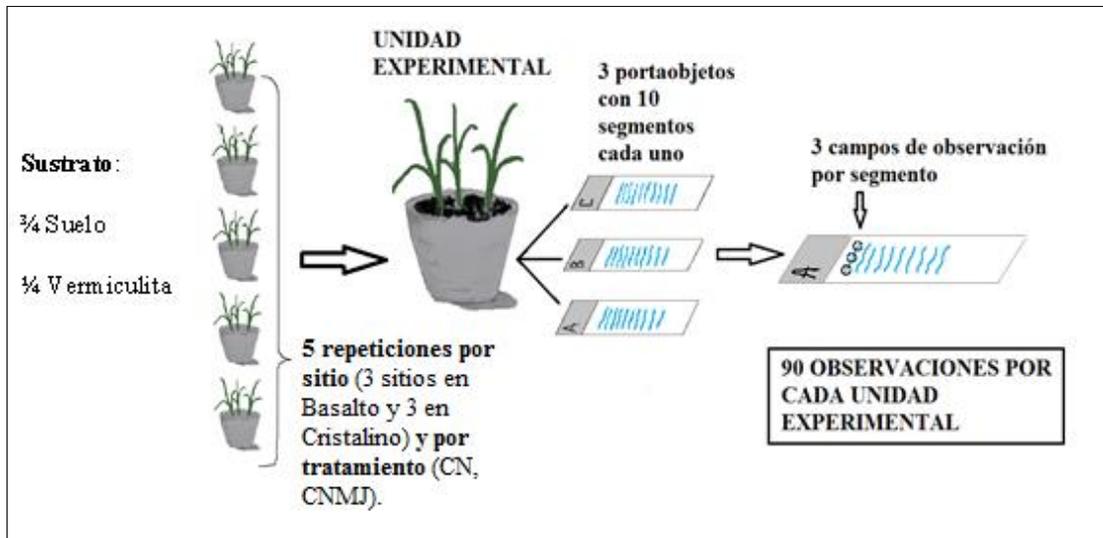


Figura 2. Esquema simplificado del procesamiento de las raíces para la observación de las estructuras fúngicas

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó para el análisis estadístico un Modelo Lineal Generalizado Mixto (MLGM), familia quasi binomial, mediante el programa estadístico Info Stat (Di Rienzo et al., 2018). Se analizó la varianza de la media de los factores sitio (par), tratamiento y la interacción entre éstos para las variables de respuestas: colonización micorrícica total, colonización por las diferentes estructuras de HMA y colonización por DSE. La prueba de comparación de medias se realizó mediante el test LSD (least significant difference) de Fisher con una significancia de 0.05.

$$Y = \mu + S_i + T_j + (S \times T)_{ij} \quad i= 1,2,3,4,5,6 \quad j=1,2$$

Y = variable de respuesta

μ = media general

S_i = efecto del sitio

T_j = efecto del tratamiento

$(S \times T)_{ij}$ = efecto de la interacción Sitio x Tratamiento

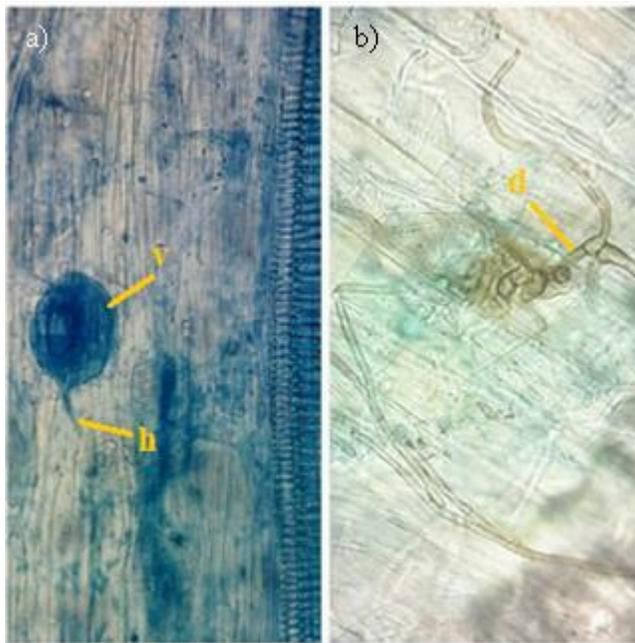
Con la totalidad de los sitios pareados utilizados en este estudio, se realizó un Análisis de Componentes Principales (PCA), partiendo de una matriz que se generó junto con variables edáficas a partir de datos de análisis de suelo. El objetivo fue agrupar estas variables para determinar cuáles explicarían mejor los resultados obtenidos.

4. RESULTADOS

Se comprobó la presencia de hongos micorrizógenos y septados oscuros tanto en el tratamiento con suelo proveniente de campo natural como del mejoramiento. La presencia de micorrizas en ambos tratamientos (CN y CNMJ) fue menor en relación a la presencia de septados oscuros. Para micorrizas no se observó un efecto significativo del tratamiento, sin embargo, los resultados presentaron una tendencia hacia una mayor micorrización en campo natural en relación al mejoramiento. La presencia de septados oscuros manifestó un comportamiento opuesto, con un efecto significativo del tratamiento sobre este grupo de hongos. La presencia de los tipos de endófitos analizados fue diferente según la región, en Basalto hubo mayor presencia de micorrizas en tanto que los septados oscuros fueron más abundantes en Cristalino.

Las hifas de ambos grupos fúngicos fueron las estructuras más abundantes en todos los casos observados (Figura 3a y 3b).

El tratamiento control utilizado (solo vermiculita) mostró que tanto la presencia de micorrizas como de septados oscuros fue casi nula (0.11% y 2.3% respectivamente), por lo cual los valores de colonización observados efectivamente reflejan la capacidad de los suelos de colonizar la especie trampa seleccionada.



a) Vesícula (v) con su correspondiente hifa (h) perteneciente a hongo micorrizógeno arbuscular (HMA) teñida con azul de tripano; b) hifa septada de hongo septado oscuro (DSE).

Figura 3. Vista con microscopio óptico (40x) de raíces de plantas trampa *Allium cepa* con presencia de estructuras fúngicas

Además de haberse encontrado micorrizas y septados oscuros en la especie trampa utilizada, también pudo constatarse la presencia de estas estructuras en *L. subbiflorus*, leguminosa empleada en los mejoramientos extensivos de las regiones en estudio (Cuadro 6). El tamaño de las plantas de *Allium cepa* superó ampliamente el tamaño de las plantas de *Lotus subb.* (aproximadamente más del doble de tamaño), con un sistema radicular poco ramificado, pero con raíces más gruesas y largas.

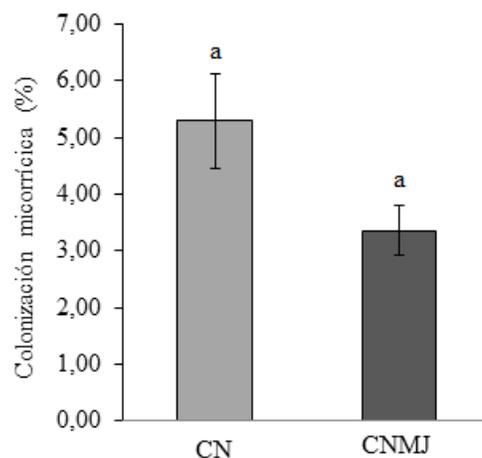
Cuadro 6. Colonización total (%) de hongos micorrizógenos arbusculares y hongos septados oscuros en *Lotus subbiflorus*

Tratamiento	Colonización HMA (%)		Colonización DSE (%)	
	C1	B3	C1	B3
CN	4.5	1.1	55.7	49
CNMJ	6.8	0	65.9	26.7

HMA= hongos micorrizógenos arbusculares; DSE= hongos septados oscuros; CN= campo natural; CNMJ= campo natural mejorado; C= Cristalino; B= Basalto.

4.1. MICORRIZAS EN RAÍCES DE *Allium cepa*

En general la presencia de micorrizas que presentaron todas las plantas fue poco abundante, en Basalto se observaron los menores valores en el par B1, y en Cristalino en el par C3. Al considerar la totalidad de los sitios analizados (sin diferenciar por región), se observó una tendencia que indicó que la presencia de micorrizas fue 56% mayor en las raíces de las plantas que crecieron en suelo proveniente de campo natural (promedio $5.3\% \pm 0.8$) en relación a las que crecieron en suelo de los mejoramientos (promedio $3.4\% \pm 0.5$), sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p=0.1128$), como se observa en la Figura 4.



CN= campo natural, CNMJ= campo natural mejorado.

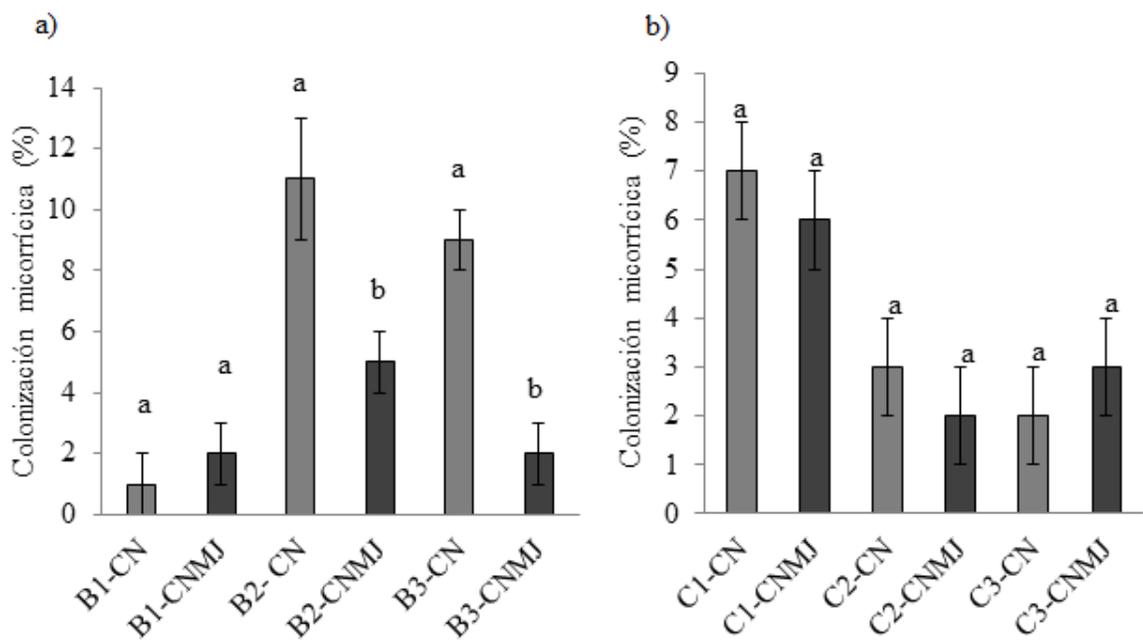
Los valores se corresponden a % promedio \pm e.e; n = 30.

Letras diferentes corresponden a diferencias significativas entre tratamientos.

Figura 4. Colonización micorrícica total (%) en plantas trampa de *Allium cepa*

Se realizó el análisis estadístico para cada región, evaluando el efecto del tratamiento en cada par, puesto que el modelo utilizado no permitió comparar entre regiones.

Las plantas que crecieron en suelo proveniente de la región del Basalto presentaron diferencias significativas a favor del tratamiento de campo natural, en los pares correspondientes a B2 y B3 ($p= 0.0086$). El porcentaje de colonización en B2 para campo natural fue $11\% \pm 2$ y para el mejoramiento $5\% \pm 1$. En el sitio pareado B3, los porcentajes de colonización fueron menores, $9\% \pm 1$ en campo natural y $2\% \pm 1$ (Figura 5a). Por el contrario, en la región de Cristalino, no hubo diferencias significativas en ninguno de los sitios en estudio al comparar los tratamientos (Figura 5b).



a) Colonización micorrícica para región de Basalto; b) Colonización micorrícica para región de Cristalino B1, B2, B3= sitios de Basalto; C1, C2, C3= sitios de Cristalino; CN= campo natural; CNMJ= campo natural mejorado.

Los valores se corresponden a % promedio \pm e.e; n = 5.

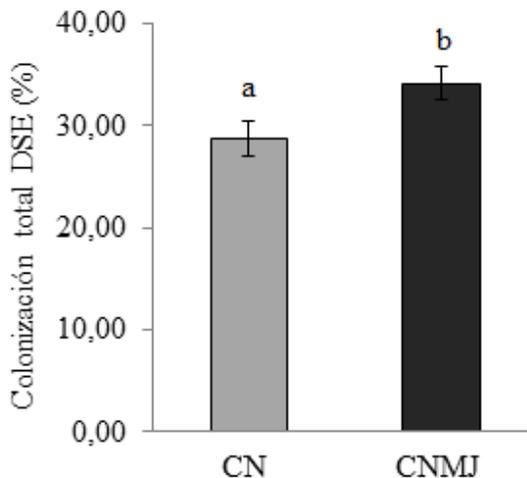
Letras diferentes corresponden a diferencias significativas entre tratamientos de un mismo par.

Figura 5. Colonización total (%) de hongos micorrizógenos arbusculares en plantas trampa de *Allium cepa* que crecieron en suelo proveniente de la región de Basalto y Cristalino

Analizando las estructuras correspondientes a micorrizas, las vesículas estuvieron presentes en plantas que crecieron en suelo proveniente de tres sitios, dos de estos en el tratamiento de campo natural sobre Basalto con un valor promedio de colonización de $0.35\% \pm 0.16$ y el otro sitio en la región de Cristalino sobre el mejoramiento con un porcentaje promedio menor correspondiente a $0.08\% \pm 0.05$. Considerando estos bajos valores no se realizó análisis estadístico para esta variable. No se encontraron ovidos, mientras que los arbuscúlos se evidenciaron en un solo sitio (C1), perteneciente a la región de Cristalino por lo cual tampoco se realizó el análisis estadístico de esta variable.

4.2. HONGOS SEPTADOS OSCUROS EN PLANTAS DE *Allium cepa*

Este grupo de hongos fue más abundante que los que forman micorrizas en las raíces de la especie trampa utilizada. Al considerar todos los sitios sin diferenciar por región, a diferencia de las micorrizas, la presencia de DSE en las raíces de la planta trampa presentó diferencias significativas entre tratamientos ($p=0.0173$). La colonización por DSE mostró una mayor presencia en las plantas que crecieron en suelo proveniente de campo natural mejorado ($34\% \pm 1.66$) en relación a las del tratamiento con suelo de campo natural ($29\% \pm 1.76$), lo que representa una diferencia del 17%. (Figura 6).

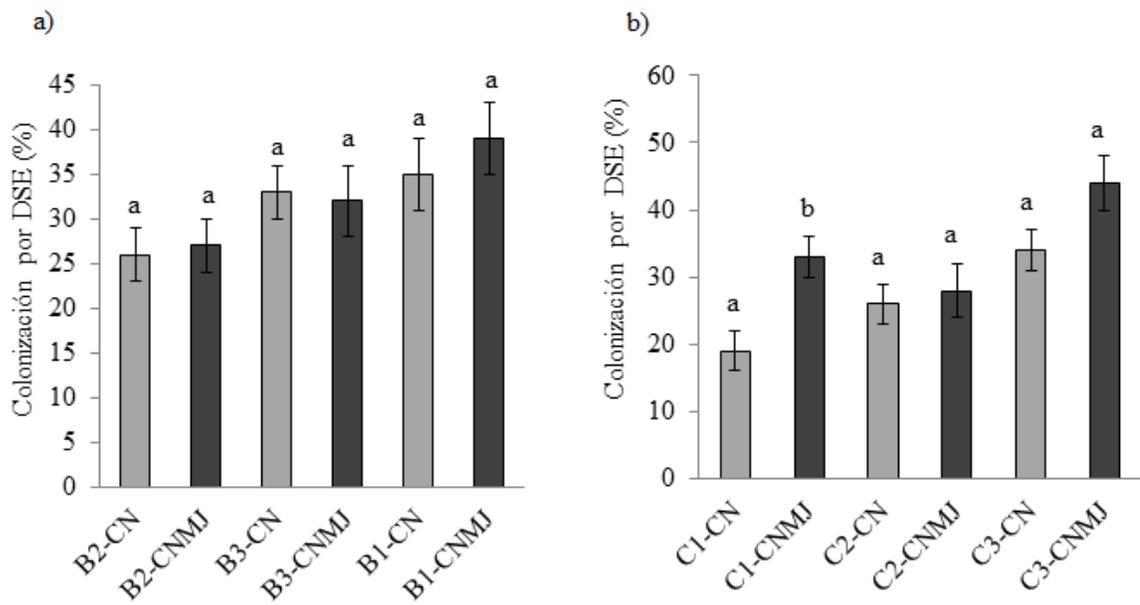


CN= campo natural; CNMJ= campo natural mejorado.
 Los valores se corresponden a % promedio \pm e.e; n = 30.
 Letras diferentes corresponden a diferencias significativas entre tratamientos.

Figura 6. Colonización total (%) de hongos septados oscuros en plantas trampa de *Allium cepa* en suelo proveniente de CN y CNMJ

Las plantas que crecieron en suelo proveniente de la región de Cristalino presentaron valores absolutos mayores que aquellas que crecieron en suelo del Basalto.

El análisis entre sitios dentro de cada región mostró que en Basalto no hubo diferencias significativas en ninguno de los pares en estudio, indicando que no existió un efecto del tratamiento ($p= 0.1922$) como muestra la Figura 7a. Para la región de Cristalino solo el par C1 presentó efecto del tratamiento, a favor del mejoramiento, con valores de colonización de $33\% \pm 3$ en relación a $19\% \pm 3$ en campo natural, representando una superioridad de 73% (Figura 7b).



a) Colonización total (%) de DSE para la región de Basalto; b) Colonización total (%) de DSE para la región de Cristalino; B1, B2, B3= sitios de Basalto; C1, C2, C3= sitios de Cristalino; CN= campo natural; CNMJ= campo natural mejorado.

Los valores se corresponden a % promedio \pm e.e; n = 5.

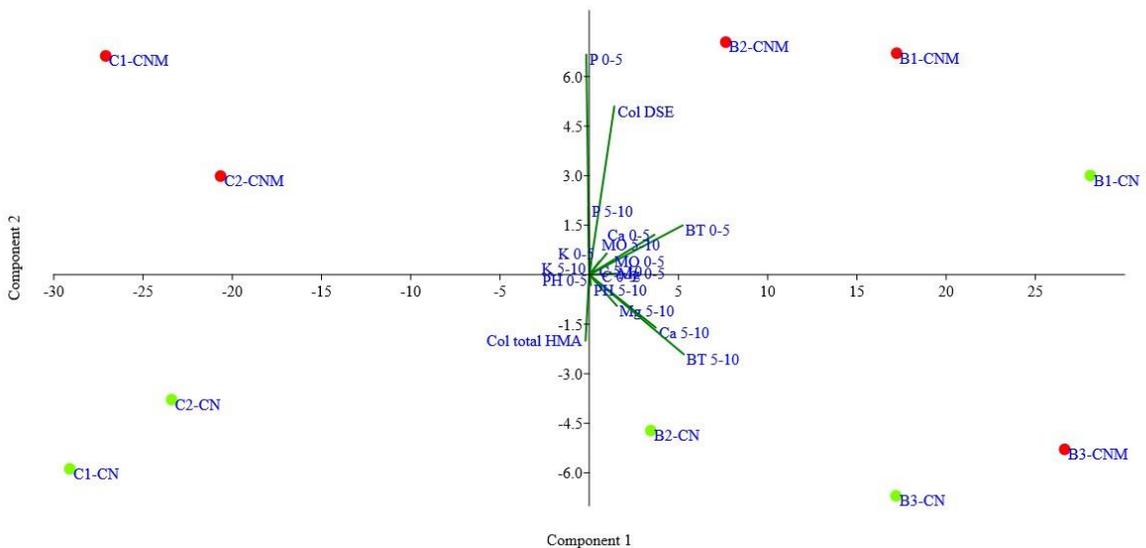
Letras diferentes corresponden a diferencias significativas entre tratamientos de un mismo par.

Figura 7. Colonización total (%) de hongos septados oscuros en plantas trampa de *Allium cepa* que crecieron en suelo proveniente de la región de Basalto y Cristalino

4.3. ANÁLISIS CONJUNTO DE VARIABLES EDÁFICAS Y BIOLÓGICAS

En el análisis de componentes principales los dos primeros componentes representaron el 90 % de la variabilidad observada (principalmente por la contribución del primer componente que explicó el 85%). El componente 1 dividió las muestras en dos grupos: uno con valores positivos generado por las muestras de suelo perteneciente a la región de Basalto y el otro grupo con valores negativos correspondientes a las muestras de suelo de la región de Cristalino. Las variables edáficas que mejor se asociaron a este componente fueron el contenido de bases totales (BT) correspondiente a las dos profundidades de suelo (0-5 y 5-10 cm) y dentro de estas el contenido de Ca,

seguido por el contenido de Mg de las muestras en los 5-10 cm de profundidad. Si bien el segundo componente representa un bajo porcentaje de la variabilidad, es importante destacar que separa las muestras en dos grupos, uno que toma valores positivos correspondientes a los valores de colonización por micorrizas y septados oscuros de plantas que crecieron en suelo provenientes de los mejoramientos y otro grupo con valores negativos correspondientes al tratamiento campo natural. Las variables edáficas y biológicas que mejor se asociaron a este componente fue el contenido de P en los primeros 5 cm de suelo y la colonización micorrícica y por endófitos septados oscuros, respectivamente. Como era de esperarse, los puntos que se corresponden con campo natural quedan más asociados a la colonización micorrícica y son contrapuestos a los puntos pertenecientes al contenido de P y a los DSE, que se asocian mejor al campo natural mejorado (Figura 8).



VARIABLES BIOLÓGICAS: colonización por HMA (verde) y DSE (rojo).

VARIABLES EDÁFICAS: BT= bases totales, Ca= calcio, Mg= magnesio, K= potasio, %C= porcentaje de carbono, %MO= porcentaje de materia orgánica, Ph.

B1, B2, B3= sitios de Basalto; C1, C2= sitios de Cristalino (se excluye C3 por falta de datos).

CN= Campo natural, CNMJ= Campo natural mejorado.

Figura 8. Análisis de componentes principales de variables biológicas y edáficas para dos profundidades diferentes: 0 a 5cm y 5 a 10cm

5. DISCUSIÓN

El modelo de planta trampa utilizado en el presente estudio, permitió identificar diferencias en el potencial de colonización por hongos endófitos del suelo entre los tratamientos.

De acuerdo al objetivo planteado en esta tesis, se evaluó el efecto de una práctica agronómica como son los mejoramientos extensivos sobre comunidades de hongos endófitos radiculares, específicamente las micorrizas y los septados oscuros. Para ello el ensayo instalado en laboratorio mediante el uso de plantas trampa creciendo en suelos provenientes de potreros pareados campo natural – campo natural mejorado permitió que ambos grupos de hongos colonizaran las raíces de la especie utilizada (*Allium cepa*). Este es el primer trabajo a nivel nacional que intenta cuantificar el efecto de los mejoramientos sobre estos hongos abarcando además dos regiones geomorfológicas que son de gran importancia por la abundancia de pastizales naturales que las componen. Estos pastizales no solo son de relevancia por ser la matriz forrajera de los sistemas de producción pecuaria del país (MGAP. DIEA, 2015), sino también por el gran número de servicios ecosistémicos que pueden brindar (Boggiano 2003, Altesor 2011).

Los resultados obtenidos en este trabajo permitieron rechazar la hipótesis planteada para micorrizas dado que su presencia no fue negativamente afectada frente a situaciones de mayor contenido de P en suelo (CNMJ). En este sentido, al considerar la totalidad de los sitios estudiados lo que se observó fue una tendencia hacia una mayor micorrización cuando el contenido de P en suelo fue bajo (CN). Contrariamente, los resultados alcanzados permitieron apoyar la hipótesis planteada para endófitos septados oscuros, puesto que su presencia en las raíces presentó diferencias significativas entre tratamientos, encontrándose mayormente en suelos correspondientes a CNMJ. El análisis considerando los sitios dentro de cada región, mostró que en la Cuesta Basáltica la presencia de micorrizas fue significativamente mayor en CN, no así en la región de Cristalino. Para el caso de los hongos septados oscuros, se registró una mayor presencia de este grupo en situaciones de CNMJ en un sitio del Cristalino en comparación con el CN, no existiendo diferencias significativas entre tratamientos para ningún sitio en la región de Basalto

A diferencia de lo encontrado por otros autores, estos resultados muestran que a pesar de existir un mayor contenido de fósforo disponible en los mejoramientos en relación al campo natural, esto se ve levemente reflejado en el potencial micorrícico del suelo. Una posible explicación puede estar relacionada a que los incrementos del P disponible en los sitios de CNMJ hayan sido insuficientes para causar una respuesta en la presencia de micorrizas. Esto se hace evidente en Cristalino, donde ningún sitio mostró diferencias en la presencia de hongos micorrícicos entre tratamientos y el incremento máximo del P disponible en suelo fue de 2,5 veces, menor que lo reportado en otros antecedentes sobre micorrizas en campo natural (García et al., 2016).

Otra posible explicación a la falta de respuestas en la presencia de micorrizas arbusculares al tratamiento, puede estar vinculada a los niveles de P disponible alcanzados en suelo en los sitios evaluados. Según la bibliografía, las plantas se verían beneficiadas por las micorrizas arbusculares dentro de un rango de P disponible entre 4 y 12 mg.kg⁻¹ (Bethlenfalvay et al. 1983, Bethlenfalvay y Dakessian 1984) por encima del cual existiría un control por parte de la planta en dicha interacción (Smith y Read, 2008). En esta se establece una transferencia bidireccional de nutrientes donde el hospedero se beneficia de la absorción de P principalmente a partir de las micorrizas y a cambio, estas reciben carbohidratos para su nutrición (Ferrol et al. 2002, Smith y Read 2008). Esto significa que esta interacción tiene un costo para la planta hospedera (Gehring et al., 1994) y puede verse inhibida cuando la disponibilidad de P en suelo es alta debido a que la planta se independiza del hongo y es capaz de absorber los nutrientes por si misma (Hetrick et al. 1990, Blancof y Salas 1997, Chen et al. 2014). Dado que la mayoría de los mejoramientos seleccionados para este trabajo se encuentran dentro de este rango, considerando el control fitocéntrico de esta simbiosis, sería esperable que las plantas no estén limitando la presencia de estos hongos, no viéndose reducidos los porcentajes de colonización. Precisamente en el Basalto, existió un solo sitio (B1) cuyo contenido de P disponible se encontró dentro de este rango, siendo el único par en el que no se registró una respuesta de las micorrizas al incremento de P.

Otro de los motivos por el cual no se observó un efecto negativo del tratamiento sobre la presencia de estos endófitos, tal cual lo esperado, podría deberse al bajo número de pares utilizados, el cual pudo resultar insuficiente para estudiar los efectos de los mejoramientos sobre el potencial micorrícico. La selección de un número mayor de estos podría haber revelado mayores diferencias que expresen en vez de una tendencia un efecto real. Es importante destacar que además del bajo número de pares seleccionados, estos presentan diferencias importantes en características edáficas, principalmente en el contenido de P al cual las comunidades de endófitos son sensibles. El manejo de la fertilización en los potreros con campo natural mejorado difiere entre pares, lo que puede generar grandes diferencias en el contenido de P del suelo, principalmente en la capa más superficial del perfil.

Como se mencionó en secciones anteriores, los mejoramientos de campo natural son una práctica agronómica utilizada en pastizales naturales con inclusión de especies de leguminosas exóticas y sucesivas fertilizaciones fosfatadas. Esto puede determinar importantes alteraciones en el ciclo del fósforo en el suelo (Morón, 1992). Como consecuencia, las comunidades vegetales pueden sufrir alteraciones, principalmente al disminuir la biodiversidad de especies y además por el incremento de especies exóticas anuales que sustituyen la matriz perenne del campo natural (Jaurena et al. 2015, Cáceres 2019). Este cambio en el tapiz vegetal puede tener efectos sobre los hongos micorrizógenos al ser simbioses obligados (Morton, 1990) con una gran dependencia de su especie hospedera para persistir (Morton 1990, Ranelli et al. 2015, Bueno de Mesquita et al. 2018). Si bien la composición florística de los pares no fue

analizada en este trabajo, existen antecedentes que permiten hacer un análisis comparativo entre regiones. En este sentido, los resultados obtenidos por Cáceres (2019) que comprendió los mismos sitios de estudio que el presente trabajo, muestran que existe un efecto global de los mejoramientos sobre diferentes variables asociadas a la comunidad vegetal con cambios sobre la riqueza, la cobertura de especies exóticas invasoras, las especies anuales y las especies dominantes. Sin embargo, la respuesta de los pastizales difiere cuando se comparan ambas regiones. El Basalto parece presentar una comunidad de campo natural más resistente a los cambios en términos florísticos que la región de Cristalino. Según Cáceres (2019) la región de Basalto tiene una mayor presencia de especies C₄. El primer estudio a nivel nacional realizado por Parodi et al. (2011) utilizando dos gramíneas nativas de tipo C₃ y C₄, indica que esto puede favorecer la presencia de micorrizas debido a que estas especies presentan un sistema radicular más grueso y menos ramificado que las especies C₃, lo que las hace más dependientes de esta asociación; estos resultados concuerdan con estudios previos (Hetrick et al. 1988, 1990, Lugo et al. 2003). La menor cobertura por especies invasoras en la región de Basalto es otra variable que diferencia ambas regiones. La propagación de especies exóticas puede afectar negativamente la abundancia y la diversidad de los microorganismos del suelo de los cuales forman parte las micorrizas (Rillig y Mummey 2006, Vogelsang et al. 2009, Pezzani et al. 2012, Zubeck et al. 2016) y los cambios son dependientes del grado de micorrización que presentan estas especies (Zubeck et al., 2016). Por otra parte, aumentó la cobertura de especies anuales en los mejoramientos de Cristalino en comparación a Basalto. Las especies que presentan este ciclo de vida difieren en las características de sus sistemas radiculares en comparación a especies perennes cuyas raíces son gruesas, de lento crecimiento y longevas y a las cuales se asocian generalmente más las micorrizas (Collier et al. 2003, Pezzani et al. 2006). Por otro lado, las diferencias en la presencia de micorrizas arbusculares entre regiones pueden estar dadas por las distintas características de los suelos. Un trabajo de suelos y P indicó que los suelos pertenecientes a la región de Basalto tienen una mayor capacidad de retención de fósforo (Hernández et al., 1995), por lo tanto, esto podría disminuir la disponibilidad de este elemento para las plantas y así favorecerse la colonización micorrícica resultando en un mayor nivel de colonización para esta región como se constató.

Los resultados indican que existe una tendencia de un mayor potencial micorrícico en campo natural en relación a los mejoramientos de Basalto. Esto coincide con los resultados de del Pino et al. (2021) donde se evaluó la inclusión de una leguminosa y la fertilización fosfatada en un suelo perteneciente a la región de Basalto, en este no se vio afectada la composición y diversidad florística, pero si se afectó negativamente la micorrización. Dado los cambios en la composición florística en la región del Cristalino debido a los mejoramientos, principalmente vinculados al aumento de la cobertura de especies invasoras (Cáceres, 2019), resulta sorprendente que no se encontraran respuestas en el potencial micorrícico. De acuerdo a antecedentes, algunas especies invasoras, principalmente las no micorrícicas podrían tener efectos negativos

sobre la presencia de hongos micorrizógenos nativos, como uno de los mecanismos para proliferar en los nuevos ambientes (Endresz et al. 2013, Zubeck et al. 2016). *Cynodon dactylon*, la especie invasora de mayor cobertura en los sitios estudiados, particularmente en Cristalino, mostró ser colonizada por micorrizas tanto en situaciones de CN como en CNM.⁴ Esto abre nuevas interrogantes en el rol de las especies invasoras con las interacciones micorrícicas y con las especies nativas y el posible papel de esta interacción con el potencial micorrícico.

En lo que respecta al potencial de colonización por hongos septados oscuros en los suelos evaluados, como se mencionó previamente, fue mayor en los suelos de los mejoramientos. Si bien no se conoce el efecto que el P puede tener sobre la colonización de estos hongos (Ranelli et al., 2015), estos resultados estarían indicando un efecto positivo contrario a lo observado en micorrizas. Dentro de las explicaciones posibles, la fuente de P utilizada parece ser de importancia. Según Barrow y Osuna (2002), Della Monica et al. (2015), Xu (2020) este grupo de hongos participa en la solubilización del P insoluble del suelo de modo que las plantas que por sí sola no pueden acceder a esa forma de P se verían beneficiadas. Dentro de los datos disponibles sobre el manejo de la fertilización, la región de Cristalino (C2 sin datos) estaría siendo refertilizada con una fuente natural de lenta liberación e insoluble en agua como es la fosforita (Marco, 2007), esto podría estar favoreciendo la presencia de septados oscuros necesarios para su solubilización. El contenido de nitrógeno orgánico que presentan los mejoramientos, también podría estar explicando la mayor presencia de estos endófitos en estos potreros. Las leguminosas fijan el nitrógeno atmosférico que posteriormente mediante la mineralización de sus nódulos es liberado al suelo (Millot et al., 1987). Los septados oscuros tienen un comportamiento saprófito (Day y Currah, 2011) por lo que son descomponedores de residuos orgánicos (He et al., 2019) de los cuales forman parte los nódulos de leguminosas. En base a esto sería posible pensar que los mejoramientos tienen una mayor colonización de septados oscuros por el mayor contenido de nitrógeno orgánico como sustrato a mineralizar y disponibilizar para su absorción por la planta. Según Cáceres (2019) no se encontraron variaciones en el contenido de N mineralizable entre campo natural y mejoramiento, sin embargo, atribuye esto a la metodología de análisis de suelo utilizada, así como también a una compensación entre las entradas (fijación biológica) y salidas del sistema (absorción por plantas, volatilización, lixiviación o desnitrificación), por lo que no se descartaría del todo esta hipótesis. Para el resto de los sitios de la región de Cristalino si bien no se observan diferencias significativas entre tratamientos existe una tendencia a una mayor colonización en los mejoramientos que puede estar asociado a lo antes mencionado. La región de Basalto no presentó diferencias significativas en el potencial de hongos endófitos oscuros de suelos de CN y CNMJ; siguiendo el mismo razonamiento podría estar explicado por la fuente de fertilización de los pares correspondientes a fertilizantes solubles.

⁴ García, S. 2020. Com. personal.

Al comparar entre regiones, la abundancia de los endófitos septados oscuros fue significativamente mayor en el Cristalino que en el Basalto. Según la bibliografía, contrario a los que puede ocurrir con las micorrizas arbusculares, las especies invasoras, parecen no tener un efecto negativo sobre este grupo de hongos, por el contrario, estos son hongos generalistas que colonizan tanto especies nativas como invasoras y podrían favorecer la supervivencia de estas en entornos estresantes (Knapp et al., 2012). Esto podría indicar que, en el Cristalino, donde se constató mayor cobertura de invasoras, dichas plantas podrían estar favoreciendo este grupo fúngico para establecerse. A diferencia de las micorrizas el ciclo de vida de los hospederos (anual y perenne) parece no influir sobre la colonización por septados oscuros lo que puede atribuirse a la heterogeneidad de este grupo de hongos con diferentes formas de nutrición que van desde saprófitos a biótrofos facultativos (Lugo et al., 2018). Por lo tanto, estas variables asociadas a la vegetación de cada región parecen no afectar el potencial de colonización por septados oscuros a diferencia del potencial micorrícico.

Finalmente, hay otros factores que podrían estar explicando los resultados pero que no fueron estudiados. Entre estos se encuentra el tipo de suelo, la textura, el manejo de la fertilización (fuente, frecuencia y dosis) para el caso de micorrizas, factores no controlados como el pastoreo y del cual se sabe que existe un efecto de los diferentes componentes (defoliación selectiva, deyecciones y pisoteo) sobre la micorrización (García et al., 2019), y de la defoliación sobre la colonización de septados (Saravesi et al., 2014).

De acuerdo al análisis de componentes principales la región de origen de los suelos es el factor que más explicó la variación observada (componente 1) mientras que el efecto del tratamiento, indicado por el componente dos, explicó apenas el 5% de la variación. El contenido de P (más asociado a CNMJ) en los primeros 5 cm del suelo, es la variable edáfica que estaría dividiendo el campo natural del mejoramiento y la variable biológica fue la colonización micorrícica (más asociado a CN), lo cual, a pesar de la falta de diferencias estadísticas, tiene sentido en términos biológicos debido al control fitocéntrico de la simbiosis como se explicó previamente.

El análisis de componentes principales indicó que las diferencias entre regiones fueron más importantes que el efecto del tratamiento para explicar los resultados (debido a que el primer componente explicó el 85% de la variación), principalmente asociado a la variable edáfica BT y dentro de estas el Ca y el Mg. Existió una gran variabilidad entre regiones cuando se evaluaron las variables edáficas de los pares. El contenido de BT de 0-10 cm está fuertemente correlacionado con la región de Basalto lo cual tiene mucho sentido relacionado a los altos niveles que presentó esta variable en los datos de análisis de suelo. Son escasos los antecedentes relacionados a la colonización micorrícica y el contenido de Mg y Ca del suelo. Para el caso del potencial micorrícico, aunque no fue estadísticamente significativo, se observó una tendencia hacia un mayor potencial en el Basalto en comparación con Cristalino.

Cabe mencionar algunas consideraciones sobre la especie utilizada como planta trampa, *Allium cepa*, esta especie tuvo la ventaja de contar con un alto porcentaje de germinación y un rápido crecimiento que le permitió ser colonizada por ambos grupos de endófitos en los 46 días de duración del ensayo. Sin embargo, este período pudo ser una limitante para que se exprese el potencial de colonización, particularmente el micorrícico, dado que los porcentajes de colonización registrados en general fueron bajos (no así para septados oscuros). Por sus características particulares con un sistema radicular escaso y de lento crecimiento, es considerada una especie altamente dependiente de la simbiosis micorrícica para adquirir nutrientes y agua, principalmente en condiciones de suelo con limitaciones (Stribley 1990, De Melo 2003, Augé y More, citados por Mollavali et al. 2018). Por esta razón, se considera un modelo excelente para ser utilizada en la investigación de micorrizas (Galván et al., 2009), sin embargo, no es una especie nativa del país y mucho menos se encuentra presente en los pastizales. Si bien es ampliamente conocida la falta de especificidad entre el hongo y el huésped en su interacción simbiótica (Molina et al. 1992, Clapp et al. 1995), puede existir un grado de preferencia entre ambos simbioses (Clark et al. 1999, Pivato et al. 2007) y algunos estudios en pastizales demuestran que la composición de las comunidades de HMA son dependientes de la planta hospedadora (Eom et al 2000, Lugo 2002). Estudios previos sobre gramíneas nativas (*Coelorhachis selloana* y *Paspalum dilatatum*) de las comunidades de pastizales del país, mostraron que el potencial de estas para ser colonizadas por micorrizas es alto (Parodi y Pezzani 2011, García et al. 2016), por lo tanto, las comunidades de hongos nativos de estos suelos pueden no ser las más adecuadas para asociarse con especies exógenas al sistema como lo es *Allium cepa*. Es por esto que resulta importante conocer la capacidad de *Lotus subbiflorus* para ser micorrizado, puesto que, si bien tampoco es una especie nativa, está presente en los sistemas forrajeros, incorporada como leguminosa en los mejoramientos extensivos de campo natural. En este caso los porcentajes de colonización micorrícica también fueron bajos (con un mínimo de 1.1% y un máximo de 4.5% en CN), similares a los encontrados en *Allium cepa*. Sin embargo, este ensayo demuestra que tiene la capacidad de ser colonizada y que podría ser utilizada como planta trampa en futuros trabajos de investigación. En cuanto a la colonización por endófitos septados, ambas especies pueden funcionar como planta trampa porque los porcentajes de colonización en ambos casos fueron elevados.

Este trabajo sugiere que las comunidades de hongos endófitos radiculares pueden presentar comportamientos opuestos frente a situaciones de aumento del nivel de P en suelo. De acuerdo a los antecedentes, las micorrizas se ven afectadas negativamente por altos contenidos de este nutriente, mientras que los septados oscuros mostraron un comportamiento opuesto al de las micorrizas, en estos primeros resultados obtenidos a nivel nacional. La red de pares CN-CNM utilizada permitió comparar a largo plazo el efecto de una práctica agronómica tan extendida como son los mejoramientos de campo natural en dos regiones geomorfológicas diferentes del país y en sistemas de producción

reales. Sería interesante estudiar a futuro el comportamiento de estas comunidades de hongos en otros tipos de suelo y otras regiones.

6. CONCLUSIONES

Se evaluó el efecto de los mejoramientos de campo natural sobre el potencial de colonización de hongos endófitos radiculares a través de un ensayo macetero en condiciones controladas con cebolla (*Allium cepa*) como planta trampa modelo. Los grupos de hongos estudiados fueron los que forman micorrizas y los septados oscuros.

Al analizar todos los datos obtenidos sin considerar la región de origen de los suelos, se observó una tendencia de un mayor potencial micorrícico en plantas que crecieron en suelo de campo natural (menor contenido de P) en relación a las que crecieron en suelo de los mejoramientos (mayor contenido de P). El potencial de colonización por septados oscuros presentó diferencias entre tratamientos, con una mayor presencia en plantas instaladas en suelo proveniente de los mejoramientos. Considerando las regiones, en Basalto la presencia de micorrizas fue significativamente mayor, mientras que los septados oscuros fueron significativamente mayores en Cristalino. Podría existir un comportamiento contrapuesto entre ambos grupos de hongos, con mayor potencial micorrícico en suelos de campo natural y de septados oscuros en suelos con mayor contenido de fósforo como son los mejoramientos.

7. RESUMEN

El pastizal o campo natural (CN), ecosistema dominante en Uruguay, es la base forrajera de la producción ganadera. Para levantar limitantes nutricionales del CN se realizan mejoramientos extensivos (CNMJ) que incorporan leguminosas y fósforo (P). Este aumento en la disponibilidad de P podría afectar las interacciones con hongos del suelo. El objetivo fue estudiar el efecto de los mejoramientos sobre comunidades de hongos endófitos radiculares: hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) y hongos septados oscuros (DSE por sus siglas en inglés). Específicamente se analizó el efecto de esa práctica agronómica sobre el potencial micorrícico y el potencial de colonización por septados oscuros. En otoño de 2018 se muestreó suelo en seis sitios pareados CN-CNMJ en dos regiones geomorfológicas de Uruguay: Basalto y Cristalino. Con ese suelo se instaló un ensayo macetero usando cebolla como planta trampa modelo para estudiar el potencial de colonización por micorrizas y por septados oscuros. Además, se sembró aparte *Lotus subbiflorus* cv El Rincón en suelo proveniente de uno de los sitios de cada una de las regiones, con el objetivo de evaluar su capacidad de micorrización para ser utilizada en estudios posteriores. A los 46 días de germinadas se cosecharon y procesaron las raíces de las plantas de cebolla y de lotus para observar colonización por HMA y DSE. Al analizar todos los pares se observó una tendencia hacia una mayor micorrización total y presencia de vesículas de HMA en CN en relación al CNMJ. La colonización por DSE presentó diferencias entre tratamientos, con una mayor presencia en CNMJ. Considerando las regiones, en Basalto la presencia de HMA fue significativamente mayor, mientras que los DSE fueron significativamente mayores en Cristalino. No se observaron ovillos de HMA y la presencia de arbusculos solo se constató en un sitio. Para el caso de lotus, se demostró su capacidad de ser colonizado por ambos tipos de hongos. De acuerdo al análisis de componentes principales, en este caso las diferencias entre regiones (asociadas principalmente a la variable edáfica BT y dentro de estas el Ca y el Mg) serían más importantes que el efecto del tratamiento para explicar los resultados. Los resultados de este estudio mostraron un comportamiento contrapuesto entre ambos grupos de hongos, con mayor potencial micorrícico en campo natural y mayor potencial de septados oscuros en los mejoramientos. Para apoyar estos resultados podrían explorarse otras regiones y tipos de suelo.

Palabras clave: Micorrizas arbusculares; Hongos septados oscuros; Pastizales; Fósforo.

8. SUMMARY

Natural grasslands or “campo natural” (CN), the dominant ecosystem in Uruguay, is the forage base of livestock production. To lift the nutritional limitations of the CN, extensive improvements (CNMJ) which incorporate legumes and phosphorus (P) are carried out. This increase in P availability could affect interactions with soil fungi. The aim was to study the effect of the improvements on root endophytic fungi communities: arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and dark septate endophytic fungi (DSE). Specifically, the effect of this agronomic practice on mycorrhizal potential and the potential for colonization by dark septates was analyzed. In autumn 2018, soil was sampled at six paired CN-CNMJ sites in two geomorphological regions of Uruguay: Basalto and Cristalino. With this soil, a pot test was installed using onion as a model trap plant to study the potential for colonization by mycorrhizae and dark septates. Additionally, *Lotus subbiflorus* cv El Rincón was sown separately in soil from one of the sites in each of the regions, in order to evaluate its mycorrhization capacity to be used in subsequent studies. On day 46 after germination, the roots of the onion and lotus plants were harvested and processed to observe colonization by AMF and DSE. When all pairs were analyzed, a trend was observed towards greater mycorrhization and high presence of AMF vesicles in CN in comparison to CNMJ. Colonization by DSE showed differences between treatments, with a higher colonization in CNMJ. Regarding the regions, colonization by AMF in Basalto was significantly higher, while colonization by DSE was significantly higher in Cristalino. No coils of AMF were observed and the presence of arbuscules was only found in one site. In the case of lotus, its ability to be colonized by both types of fungi was demonstrated. According to the principal component analysis, in this case the differences between regions (mainly associated with the edaphic variable Total Bases and within these Ca and Mg) were be more important than the treatment effect to explain our results. The results of this study supported an opposite behavior between both groups of fungi, with greater mycorrhizal potential in CN and greater potential for dark septates in CNMJ. Further evidence to support this results could be acquired by exploring other regions and soil types.

Key words: Arbuscular mycorrhizae; Dark septate endophytic fungi; Grasslands; Phosphorus.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Aguilera, L. I.; Olalde, V.; Arriaga, M. R.; Contreras, R. 2007. Micorrizas arbusculares. (en línea). *Ciencia Ergo-Sum*. 14(3):300-306. Consultado mar. 2020. Disponible en <https://cienciaergosum.uaemex.mx/article/view/7149>
2. Allen, E. B. 1989. The restoration of disturbed arid landscapes with special reference to mycorrhizal fungi. (en línea). *Journal of Arid Environments*. 17:279-286. Consultado ene. 2020. Disponible en [https://doi.org/10.1016/S0140-1963\(18\)30916-9](https://doi.org/10.1016/S0140-1963(18)30916-9)
3. Allen, M. F.; Smith, W.; Moore, T.; Christensen, M. 1981. Comparative water relations and photosynthesis of mycorrhizal and non-mycorrhizal *Bouteloua gracilis* H.B.K. Lag Ex Steud. (en línea). *New Phytologist*. 88(4):683-693. Consultado feb. 2020. Disponible en <https://www.jstor.org/stable/2434026>
4. _____. 1983. Formation of vesicular-arbuscular mycorrhizae in *Atriplex Gardneri* (Chenopodiaceae): seasonal response in a cold desert. (en línea). *Mycologia*. 75(5):773-776. Consultado may. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1080/00275514.1983.12023753>
5. Altamirano, A.; Da Silva, H.; Durán, A.; Echevarría, A.; Panario, D.; Puentes R. 1976. Carta de reconocimiento de suelos del Uruguay: clasificación de suelos. Montevideo, MAP. DSF. t.1, 96 p.
6. Altesor, A.; Piñeiro, G.; Lezama, F.; Jackson, R. B.; Sarasola, M.; Paruelo, J. M. 2006. Ecosystem changes associated with grazing in subhumid South American grasslands. *Journal of Vegetation Science*. 17(3):323-332.
7. _____. 2011. Servicios ecosistémicos de los pastizales naturales. In: Altesor, A.; Ayala, W.; Paruelo, J. M. eds. Bases ecológicas y tecnológicas para el manejo de pastizales. Montevideo, INIA. pp. 221-231.
8. Augé, R. M. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. (en línea). *Mycorrhiza*. 11:3-42. Consultado feb. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s005720100097>
9. _____. 2004. Arbuscular mycorrhizae and soil/plant water relations. (en línea). *Canadian Journal of Soil Science*. 84(4):373-381. Consultado may. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.4141/S04-002>

10. Baeza, S.; Gallego, F.; Lezama, F.; Altesor, A.; Paruelo, J. M. 2011. Cartografía de los pastizales naturales en las regiones geomorfológicas de Uruguay predominantemente ganaderas. *In*: Altesor, A.; Ayala, W.; Paruelo, J. M. eds. Bases ecológicas y tecnológicas para el manejo de pastizales. Montevideo, INIA. pp. 33-54.
11. _____.; Rama, G.; Lezama, F. 2019. Cartografía de los pastizales naturales en las regiones geomorfológicas de Uruguay predominantemente ganaderas. Ampliación y actualización. *In*: Altesor, A.; López-Mársico, L.; Paruelo, J. M. eds. Bases ecológicas y tecnológicas para el manejo de pastizales II. Montevideo, INIA. pp. 27-47.
12. Bago, B.; Pfeffer, P.; Shachar-Hill, Y. 2000. Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas. (en línea). *Plant Physiology*. 124:949-957. Consultado feb. 2020. Disponible en <http://www.plantphysiol.org/content/124/3/949>
13. Barbosa, M.; Pereira, E.; Cury, J.; Carneiro, M. 2017. Ocurrence of arbuscular mycorrhizal fungi on King George Island, South Shetland Islands, Antarctica. (en línea). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 89(3):1737-1743. Consultado ene. 2020. Disponible en https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-37652017000401737
14. Barrow, J. R.; Osuna, P. 2002. Phosphorus solubilization and uptake by dark septate fungi in fourwing saltbush, *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. (en línea). *Journal of Arid Environments*. 51(3):449-459. Consultado may. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/248568645_Phosphorus_solubilization_and_uptake_by_dark_septate_fungi_in_fourwing_saltbush_Atriplex_canescens_Pursh_Nutt
15. Berretta, E. 1996. Campo natural: valor nutritivo y manejo. *In*: Risso, D.; Berretta, E.; Morón, A. eds. Producción y manejo de pasturas. Montevideo, INIA. pp. 113-128 (Serie Técnica no. 80).
16. Bethlenfalvay, G. J.; Bayne, H. G.; Pacovsky, R. S. 1983. Parasitic and mutualistic associations between mycorrhizal fungus and soybean: the effect of phosphorous on host plant-endophyte interactions. (en línea). *Physiological Plantarum*. 57(4):543-548. Consultado abr. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1983.tb02783.x>

17. _____.; Dakessian, S. 1984. Grazing effects on mycorrhizal colonization and floristic composition of the vegetation on a semiarid range in northern Nevada. (en línea). *Journal of Range Management*. 37(4):312-316. Consultado may. 2020. Disponible en <https://journals.uair.arizona.edu/index.php/jrm/article/view/7731/7343>
18. Blancof, F.; Salas, E. 1997. Micorrizas en la agricultura: contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. (en línea). *Agronomía Costarricense*. 21(1):55-67. Consultado feb. 2020. Disponible en https://www.mag.go.cr/rev_agr/v21n01_055.pdf
19. Boggiano, P. 2003. Informe de consultoría: subcomponente manejo integrado de pradera. Proyecto combinado GEF/IBRD. Manejo integrado de ecosistemas y recursos naturales en Uruguay. Componente Manejo y conservación de la diversidad biológica. Montevideo, MGAP. 72 p.
20. Bonfante, P.; Perotto, S. 1995. Strategies of arbuscular mycorrhizal fungi when infecting host plants. (en línea). *New Phytologist*. 130(1):3-21. Consultado mar. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1995.tb01810.x>
21. Bossi, J.; Navarro, R. 1988. Geología del Uruguay. Montevideo, Universidad de la República. 453 p.
22. Brundrett, M.; Piché, Y.; Peterson, R. L. 1985. A developmental study of the early stages in vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. (en línea). *Canadian Journal of Botany*. 63(2):184-194. Consultado feb. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1139/b85-021>
23. _____. 1991. Mycorrhizas in natural ecosystems. (en línea). *Advances in Ecological Research*. 21:171-313. Consultado ene. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/233739553_Mycorrhizas_in_Natural_Ecosystems
24. _____. 2002. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. (en línea). *New Phytologist*. 154(2):275-304. Consultado ene. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00397.x>
25. _____. 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. (en línea). *Plant and Soil*. 320:37-77. Consultado feb. 2020. Disponible en

<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11104-008-9877-9>

26. Bueno de Mesquita, C. P.; Sartwell, S. A.; Ordemann, E. V.; Porazinska, D. L.; Farrer, A. C.; King, A. J.; Spasojevic, M. J.; Smith, J. G.; Suding, K. N.; Schmidt, S. K. 2018. Patterns of root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi and dark septate endophytes across a mostly-unvegetated, high-elevation landscape. *Fungal Ecology*. 36:63-74.
27. Cáceres, D. 2019. Cambios en el largo plazo en la salud del Campo Natural asociado a la tecnología de mejoramientos extensivos con *Lotus subbiflorus* cv El Rincón. Tesis Mag. Cs. Amb. Montevideo, Uruguay. Universidad de la República. Facultad de Ciencias. 53 p.
28. Caldwell, B. A.; Jumpponen, A.; Trappe, J. M. 2000. Utilization of major detrital substrates by dark-septate, root endophytes. *Mycologia*. 92(2):230-232.
29. Camenzind, T.; Hempel, S.; Homeier, J.; Horn, S.; Velescu, A.; Wilcke, W.; Rillig, M. 2014. Nitrogen and phosphorus additions impact arbuscular mycorrhizal abundance and molecular diversity in a tropical montane forest. (en línea). *Global Change Biology*. 20(12):3646-3659. Consultado may. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1111/gcb.12618>
30. Cameron, S. L. 1998. Colonization of *Populus tremuloides* seedlings by the fungus *Phialocephala fortinii* in the presence of the ectomycorrhizal fungus *Thelephora terrestris*. Tesis MSc. Guelph, Canadá. University of Guelph. Faculty of Graduate Studies. 61 p.
31. Carámbula, M. 1991. Actualización de información tecnológica sobre pasturas en producción extensiva. In: Carámbula, M.; Vaz, M.; Indarte, E. eds. Pasturas y producción animal en áreas de ganadería extensiva. Montevideo, INIA. pp. 7-11 (Serie Técnica no. 13).
32. _____. 1996. Pasturas naturales mejoradas. Montevideo, Hemisferio Sur. 524 p.
33. Castaño, J. P.; Giménez, A.; Ceroni, M.; Furest, J.; Aunchayna, R.; Bidegain, M. 2011. Caracterización agroclimática del Uruguay 1980-2009. Montevideo, INIA. 34 p. (Serie técnica no. 193).
34. Cavagnaro, T. R.; Gao, L. L.; Smith, F. A.; Smith, S. E. 2001. Morphology of arbuscular mycorrhizas is influenced by fungal identity. (en línea). *New Phytologist*. 151(2):469-475. Consultado feb. 2020. Disponible en

<https://www.jstor.org/stable/1353798>

35. Chen, Y. L.; Zhang, X.; Ye, J. S.; Han, H. Y.; Wan, S.; Chen, B. D. 2014. Six-years fertilization modifies the biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a temperate steppe in Inner Mongolia. *Soil Biology and Biochemistry*. 69:371-381.
36. Clapp, J. P.; Young, J. P. W.; Merryweather, J. W.; Fitter, A. H. 1995. Diversity of fungal symbionts in arbuscular mycorrhizas from a natural community. *New Phytologist*. 130(2):259-265.
37. Clark, R. B.; Zeto, S. K.; Zobel, R. W. 1999. Arbuscular mycorrhizal fungal isolate effectiveness on growth and root colonization of *Panicum virgatum* in acidic soil. (en línea). *Soil Biology and Biochemistry*. 31(13):1757-1763. Consultado mar. 2020. Disponible en [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00084-X](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00084-X)
38. Collier, S. C.; Yarnes, C.; Herman, R. 2003. Mycorrhizal dependency of Chihuahuan Desert plants is influenced by life history strategy and root morphology. (en línea). *Journal of Arid Environments*. 55(2):223-229. Consultado mar. 2020. Disponible en [https://doi.org/10.1016/S0140-1963\(03\)00031-4](https://doi.org/10.1016/S0140-1963(03)00031-4)
39. Cox, G.; Moran, K. J.; Sanders, F.; Nockolds, C.; Tinker, P. B. 1980. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. III. Polyphosphate granules and phosphorus translocation. (en línea). *New Phytologist*. 84(4):649-659. Consultado abr. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb04778.x>
40. Curra R. S.; Tsuneda, A.; Murakami, S. 1993. Morphology and ecology of *Phialocephala fortinii* in roots of *Rhododendron brachycarpum*. *Canadian Journal of Botany*. 71(12):1639-1644.
41. Day, M. J.; Currah, R. S. 2011. Role of selected dark septate endophyte species and other hyphomycetes as saprobes on moss gametophytes. *Botany*. 89(5):349-359.
42. del Pino, A.; Lezama, F.; Pezzani, F.; Parodi, G. 2021. Persistencia de efectos a largo plazo de la introducción de leguminosas en pastizales del Uruguay. (en línea). *Agriscientia*. 38:99-109. Consultado set. 2021. Disponible en <https://doi.org/10.31047/1668.298x.v38.n1.26856>
43. del Puerto, O. 1969. Hierbas del Uruguay. Montevideo, Nuestra Tierra. 68 p.

44. Della Monica, I. F.; Saparrat, M.; Godeas, A. M.; Scervino, J. M. 2015. The co-existence between DSE and AMF symbionts affects plant P pools through P mineralization and solubilization processes. *Fungal Ecology*. 17:10-17.
45. De Melo, P. E. 2003. The root system of onion and *Allium fistulosum* in the context of organic farming: a breeding approach. Thesis PhD. Wageningen, Netherlands. Wageningen University. 136 p.
46. Dinkelaker, B.; Marschner, H. 1992. In vivo demonstration of acid phosphatase activity in the rhizosphere of soil-grown plants. (en línea). *Plant and Soil*. 144(2):199-205. Consultado abr. 2020. Disponible en <https://link.springer.com/article/10.1007%2FBF00012876>
47. Di Rienzo, J.; Macchiavelli, R.; Casanoves, F. 2018. InfoStat versión 2018. (en línea). Córdoba, Universidad Nacional de Córdoba. FCA. s.p. Consultado set. 2019. Disponible en <https://www.infostat.com.ar/>
48. Endresz, G.; Somodi, I.; Kalapos, T. 2013. Arbuscular mycorrhizal colonization of roots of grass species differing in invasiveness. *Community Ecology*. 14:67-76.
49. Ezawa, T.; Smith, S. E.; Smith, F. A. 2001. Differentiation of polyphosphate metabolism between the extra- and intraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. (en línea). *New Phytologist*. 149(3):555-563. Consultado abr. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2001.00040.x>
50. Fernando, A.; Currah, R. S. 1996. A comparative study of the effects of the root endophytes *Leptodontidium orchidicola* and *Phialocephala fortinii* (Fungi Imperfecti) on the growth of some subalpine plants in culture. *Canadian Journal of Botany*. 74(7):1071-1078.
51. Ferreira, G.; Pitaluga, O. 2001. Respuestas físicas y económicas de diferentes propuestas tecnológicas para las principales zonas ganaderas. In: Risso, D.; Berretta, E. eds. *Tecnologías forrajeras para sistemas ganaderos de Uruguay*. Montevideo, Hemisferio Sur. pp. 161-182 (Boletín de Divulgación no. 76).
52. Ferrol, N.; Barea, J. M.; Azcón-Aguilar, C. 2002. Mechanisms of nutrient transport across interfaces in arbuscular mycorrhizas. (en línea). *Plant and Soil*. 244(1):231-237. Consultado feb. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1023/A:1020266518377>

53. Fitter, A. H.; Garbaye, J. 1994. Interactions between mycorrhizal fungi and other soil organisms. (en línea). *Plant and Soil*. 159(1):123-132. Consultado abr. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1007/BF00000101>
54. Frank, B. 1885. Über die auf wurzei symbiosen beruhende ernährung gewisser bäume durch unterirdische pilze. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*. 3(4):128-145.
55. Friese, C.; Allen, M. 1991. The spread of VA mycorrhizal fungal hyphae in the soil: inoculum types and external hyphal architecture. (en línea). *Mycologia*. 83(4):409-418. Consultado feb. 2020. Disponible en <http://www.jstor.org/stable/3760351>
56. Galván, G.; Parádi, I.; Burger, K.; Baar, J.; Kuyper, T.; Scholten, O.; Kik, C. 2009. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in onion roots from organic and conventional farming systems in the Netherlands. (en línea). *Mycorrhiza*. 19(5):317-328. Consultado feb. 2020. Disponible en <https://link.springer.com/article/10.1007/s00572-009-0237-2>
57. García, S.; Pezzani, F.; Rodríguez, A.; del Pino, A. 2016. Micorrizas en gramíneas nativas de Uruguay: diversidad y colonización en relación al incremento de fósforo. (en línea). *Agrociencia (Uruguay)*. 20(1):s.p. Consultado feb. 2020. Disponible en http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2301-15482016000100002
58. _____.; _____.; Lezama, F.; Paruelo, J. M. 2019. Los componentes del pastoreo afectan de forma diferencial las micorrizas en *Paspalum dilatatum* Poir. (en línea). *Ecología Austral*. 29(2):164-173. Consultado jun. 2020. Disponible en http://ojs.ecologiaaustral.com.ar/index.php/Ecologia_Austral/article/view/802/382
59. Gardes, M.; Dahlberg, A. 1996. Mycorrhizal diversity in Arctic and alpine tundra: an open question. (en línea). *New Phytologist*. 133(1):147-157. Consultado may. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1996.tb04350.x>
60. Gehring, C. A.; Whitham, T. G. 1994. Interactions between above ground herbivores and the mycorrhizal mutualists of plants. (en línea). *Trends in Ecology and Evolution*. 9(7):251-255. Consultado abr. 2020. Disponible en [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(94\)90290-9](https://doi.org/10.1016/0169-5347(94)90290-9)

61. Giovannetti, M.; Sbrana, C. 1998. Meeting a non-host: the behaviour of AM fungi. *Mycorrhiza*. 8:123-130.
62. Graham, J. H.; Duncan, L.; Eissenstat, D. M. 1997. Carbohydrate allocation patterns in citrus genotypes as affected by phosphorus nutrition, mycorrhizal colonization and mycorrhizal dependency. (en línea). *New Phytologist*. 135(2):335-343. Consultado abr. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1997.00636.x>
63. Grime, J.; Mackey, J.; Hillier, S.; Read, D. J. 1987. Floristic diversity in a model system using experimental microcosms. (en línea). *Nature*. 328(6129):420-422. Consultado may. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1038/328420a0>
64. Hanisch, A.; Gilson, I.; Mondardo, M. 2008. Persistência da produção anual de matéria seca de pastagem naturalizada sob cinco níveis de adubação em um Latossolo Bruno Distrófico no Sul do Brasil. *In: Reunión de Grupo Técnico en Forrajes de Cono Sur en Mejoramiento y Utilización de los Recursos Forrajeros del Área Tropical y Subtropical, Grupo Campos (22^a, 2008, Minas, Uruguay). Trabajos presentados. Minas, Uruguay, s.e. pp. 141-142.*
65. Harris-Valle, C.; Esqueda, M.; Valenzuela-Soto, E.; Castellanos, A. 2011. Tolerancia a sequía y salinidad en *Cucurbita pepo* var. *pepo* asociada con hongos micorrízicos arbusculares del desierto sonorense. (en línea). *Agrociencia*. 45(8):959-970. Consultado abr. 2020. Disponible en <http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v45n8/v45n8a8.pdf>
66. Haselwandter, K.; Read, D. J. 1982. The significance of a root-fungus association in two *Carex* species of high-alpine plant communities. (en línea). *Oecologia*. 53(3):352-354. Consultado may. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1007/BF00389012>
67. He, C.; Wang, W.; Hou, J. 2019. Characterization of dark septate endophytic fungi and improve the performance of liquorice under organic residue treatment. (en línea). *Frontiers in Microbiology*. 10:s.p. Consultado may. 2020. Disponible en <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.01364/full>
68. Heredia, C.; Alarcón, A.; Hernández, L.; Ferrera, R.; Almaraz, J. J. 2014. Diversidad, ecología e importancia potencial de los hongos endófitos septados oscuros en México. (en línea). *Botanical Sciences*. 92(3):321-

333. Consultado dic. 2019. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/291100963_Diversidad_ecologica_e_importancia_potencial_de_los_hongos_endofitos_septados_obscuros_en_Mexico

69. Hernández, J.; Otegui, O.; Zamalvide, J. P. 1995. Formas y contenidos de fósforo en algunos suelos del Uruguay. Facultad de Agronomía (Montevideo). Boletín de Investigación no. 43. 32 p.
70. Hernández, L.; Castillo, S.; Guadarrama, P.; Martínez, Y.; Romero, M.; Sánchez, I. 2003. Hongos micorrizógenos arbusculares del pedregal de San Ángel. (en línea). México, D. F., UNAM. 84 p. Consultado feb. 2020. Disponible en http://www.repsa.unam.mx/documentos/Hernandez-Cuevas_et_al_2003_Hongos_micorrizogenos.pdf
71. Hetrick, B.; Wilson, G.; Kitt, D. 1988. Mycorrhizal dependence and growth habit of warm-season and cool-season tallgrass prairie plants. (en línea). Canadian Journal of Botany. 66(7):1376-1380. Consultado mar. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/237163545_Mycorrhizal_dependence_and_growth_habit_of_warm-season_and_cool-season_tallgrass_prairie_plants
72. _____.; _____.; Todd, T. C. 1990. Differential responses of C₃, and C₄, grasses to mycorrhizal symbiosis, phosphorus fertilization, and soil microorganisms. (en línea). Canadian Journal of Botany. 68(2):461-467. Consultado mar. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1139/b90-061>
73. Hodson, E.; Shahid, F.; Basinger, J.; Kaminskyj, S. 2009. Fungal endorhizal associates of *Equisetum* species from Western and Arctic Canada. Mycological Progress. 8:19-27.
74. Horton, T.; Cázares, E.; Bruns, T. 1998. Ectomycorrhizal, vesicular-arbuscular and dark septate fungal colonization of bishop pine (*Pinus muricata*) seedlings in the first 5 months of growth after wildfire. (en línea). Mycorrhiza. 8:11-18. Consultado may. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s005720050205>
75. Jakobsen, I.; Abbott, L. K.; Robson, A. D. 1992. External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. Spread of hyphae and phosphorus inflow into roots. (en línea). New Phytologist. 120(3):371-380. Consultado feb. 2020. Disponible en

<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1992.tb01077.x>

76. Jaurena, M.; Lezama, F.; Salvo, L.; Cardozo, G.; Ayala, W.; Terra, J.; Nabinger, C. 2015. The dilemma of improving native grasslands by overseeding legumes: production intensification or diversity conservation. (en línea). *Rangeland Ecology & Management*. 69(1):35-42. Consultado may. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.rama.2015.10.006>
77. Javot, H.; Pumplin, N.; Harrison, M. J. 2007. Phosphate in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: transport properties and regulatory roles. (en línea). *Plant, Cell and Environment*. 30(3):310-322. Consultado feb. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2006.01617.x>
78. Jiang, S.; Liu, Y.; Luo, J.; Qin, M.; Collins, N.; Öpik, M.; Vasar, M.; Chai, Y.; Zhou, X.; Mao, L.; Du, G.; An, L.; Feng, H. 2018. Dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal community structure and functioning along a nitrogen enrichment gradient in an Alpine meadow ecosystem. (en línea). *New Phytologist*. 220(4):1222-1235. Consultado feb. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1111/nph.15112>
79. Johnson, N. C.; Graham, J. H.; Smith, F. A. 1997. Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum*. (en línea). *New Phytologist*. 135(4):575-585. Consultado abr. 2020. Disponible en https://www.jstor.org/stable/2558989?seq=1#metadata_info_tab_contents
80. Joner, E.; Johansen, A. 2000. Phosphatase activity of external hyphae of two arbuscular mycorrhizal fungi. (en línea). *Mycological Research*. 104(1):81-86. Consultado abr. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1017/S0953756299001240>
81. Jumpponen, A.; Trappe, J. M. 1998. Dark septate root endophytes: a review of facultative biotrophic root-colonizing fungi. *New Phytologist*. 140:295-310.
82. _____. 2001. Dark septate endophytes - are they mycorrhizal? *Mycorrhiza*. 11:207-211.
83. Kageyama, S. A.; Mandyam, K. G.; Jumpponen, A. 2008. Diversity, function and potential applications of the root-associated endophytes. *In*: Varma, A. ed. *Mycorrhiza*. 3rd. ed. Berlin, Springer-Verlag. pp. 29-57.
84. Kivlin, S.; Emery, S.; Rudgers, J. 2013. Fungal symbionts alter plant responses

- to global change. (en línea). *American Journal of Botany*. 100(7):1445-1457. Consultado may. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.3732/ajb.1200558>
85. Klironomos, J. N. 2003. Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. (en línea). *Ecology*. 84(9):2292-2301. Consultado may. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1890/02-0413>
 86. Knapp, D.; Pintye, A.; Kovács, G. 2012. The dark side is not fastidious- dark septate endophytic fungi of native and invasive plants of semiarid sandy areas. *Plos One*. 7(2):s.p.
 87. _____.; Kovács, G. 2016. Interspecific metabolic diversity of root-colonizing endophytic fungi revealed by enzyme activity tests. (en línea). *Microbiology Ecology*. 92(12):s.p. Consultado may. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw190>
 88. Koide, R. T.; Kabir, Z. 2000. Extraradical hyphae of the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* can hydrolyse organic phosphate. (en línea). *New Phytologist*. 148(3):511-517. Consultado abr. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/229656963_Extraradical_hyphae_of_the_mycorrhizal_fungus_Glomus_intraradices_can_hydrolyse_organic_phosphate
 89. Koske, R. E. 1981. Multiple germination by spores of *Gigaspora gigantea*. (en línea). *Transactions of the British Mycological Society*. 76(2):328-330. Consultado feb. 2020. Disponible en [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(81\)80156-8](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(81)80156-8)
 90. _____.; Gemma, J. N. 1989. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycological Research*. 92(4):486-488.
 91. Kotlínek, M.; Hiiesalu, I.; Košnar, J.; Šmilauerová, M.; Šmilauer, P.; Altman, J.; Dvorský, M.; Kopecký, M.; Doležal, J. 2017. Fungal root symbionts of high altitude vascular plants in the Himalayas. (en línea). *Scientific Reports*. 7(1):s.p. Consultado may. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06938-x>
 92. Kubota, M.; Mc Gonigle, T.; Hyakumachi, M. 2005. Co-occurrence of Arum and Paris type morphologies of arbuscular mycorrhizae in cucumber and tomato. (en línea). *Mycorrhiza*. 15(2):73-77. Consultado feb. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s00572-004-0299-0>

93. Leake, J.; Johnson, D.; Donnelly, D.; Muckle, G.; Boddy, L.; Read, D. 2004. Networks of power and influence: the role of mycorrhizal mycelium in controlling plant communities and agroecosystem functioning. (en línea). *Canadian Journal of Botany*. 82(8):1016-1045. Consultado feb. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1139/cjb-2017-0032>
94. León, R. J. C. 1992. Río de la Plata grasslands. Regional sub-division. In: Coupland, R. T. ed. *Ecosystems of the World 8A. Natural grasslands*. Amsterdam, Elsevier. pp. 376-407.
95. Lewis, D. H. 1987. Evolutionary aspects of mutualistic associations between fungi and photosynthetic organisms. In: Rayner, A. D. M.; Brasier, C. M.; Moore, D. eds. *Evolutionary biology of the fungi*. Cambridge, Cambridge University Press. pp. 161-178.
96. Lezama, F.; Altesor, A.; Pereira, M.; Paruelo, J. M. 2011. Descripción de la heterogeneidad florística de las principales regiones geomorfológicas de Uruguay. In: Altesor, A.; Ayala, W.; Paruelo, J. M. eds. *Bases ecológicas y tecnológicas para el manejo de pastizales*. Montevideo, INIA. pp. 15-32.
97. Lugo, M.; Menoyo, E.; Risio, L.; Negritto, M.; Henning, J.; Anton, A. 2018. Arbuscular mycorrhizas and dark septate endophytes associated with grasses from the Argentine Puna. (en línea). *Mycologia*. 110(4):654-665. Consultado may. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1080/00275514.2018.1492846>
98. Mandyam, K. G.; Jumpponen, A. 2005. Seeking the elusive function of the root-colonising dark septate endophytic fungi. *Studies in Mycology*. 53:173-189
99. _____; Fox, C.; Jumpponen, A. 2012. Septate endophyte colonization and host responses of grasses and forbs native to a tallgrass prairie. (en línea). *Mycorrhiza*. 22(2):109-119. Consultado may. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/51094058_Septate_endophyte_colonization_and_host_responses_of_grasses_and_forbs_native_to_a_tall_grass_prairie
100. Marco, M. 2007. Fosforita: consideraciones en su utilización. *Revista del Plan Agropecuario*. no. 124:46-48.
101. Matekwor, E.; Andoh, H.; Nonaka, M. 2007. Host-related variability in arbuscular mycorrhizal fungal structures in roots of *Hedera rhombea*,

Rubus parvifolius, and *Rosa multiflora* under controlled conditions. (en línea). Mycorrhiza. 17(2):93-101. Consultado feb. 2020. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17111164/>

102. Mayerhofer, M. S.; Kernaghan, G.; Harper, K. A. 2013. The effects of fungal root endophytes on plant growth: a meta-analysis. (en línea). Mycorrhiza. 23(2):119-128. Consultado may. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s00572-012-0456-9>
103. Medina, E.; Arredondo, J. T.; Huber, E.; Chapa, L.; Olalde, V. 2008. Grazing effects on fungal root symbionts and carbon and nitrogen storage in a shortgrass steppe in Central Mexico. (en línea). Journal of Arid Environments. 72(4):546-556. Consultado may. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/223245626_Grazing_effects_on_fungal_root_symbionts_and_carbon_and_nitrogen_storage_in_a_shortgrass_steppe_in_Central_Mexico
104. Melin, E. 1922. On the mycorrhizas of *Pinus silvestris* L. and *Picea abies* Karst: a preliminary note. Journal of Ecology. 9(2):254-257.
105. Menoyo, E.; Teste, F.; Ferrero, M.; Lugo, M. 2020. Associations between fungal root endophytes and grass dominance in arid highlands. (en línea). Fungal Ecology. 45:s.p. Consultado may. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2020.100924>
106. Merryweather, J.; Fitter, A. 1998. Patterns of arbuscular mycorrhiza colonisation of the roots of *Hyacinthoides non-scripta* after disruption of soil mycelium. (en línea). Mycorrhiza. 8:87-91. Consultado feb. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s005720050217>
107. MGAP. DIEA (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección de Investigaciones Estadísticas Agropecuarias, UY). 2015. Regiones agropecuarias del Uruguay. Montevideo, Uruguay. 42 p.
108. _____. _____. 2019. Anuario estadístico agropecuario 2019. Montevideo, Uruguay. 256 p.
109. Miller, R. M.; Kling, M. 2000. The importance of integration and scale in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. (en línea). Plant and Soil. 226(2):295-309. Consultado abr. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/201999500_The_importance_of_integration_and_scale_in_the_arbuscular_mycorrhizal_symbiosis

110. Millot, J. C.; Risso, D.; Methol, R. 1987. Relevamiento de pasturas naturales y mejoramientos extensivos en áreas ganaderas del Uruguay. Montevideo, FUCREA. 199 p.
111. Molina, R.; Massicotte, H.; Trappe, J. 1992. Specificity phenomena in mycorrhizal symbioses: community-ecological consequences and practical implications. (en línea). In: Allen, M. ed. Mycorrhizal functioning: an integrative plant-fungal process. New York, Springer. pp. 357-423. Consultado mar. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/239726751_Specificity_phenomena_in_mycorrhizal_symbioses_Community-ecological_consequences_and_practical_implications
112. Mollavali, M.; Perner, H.; Rohn, S.; Riehle, P.; Hanschen, F.; Schwarz, D. 2018. Nitrogen form and mycorrhizal inoculation amount and timing affect flavonol biosynthesis in onion (*Allium cepa* L.). (en línea). Mycorrhiza. 28(1):59-70. Consultado mar. 2020. Disponible en <https://link.springer.com/article/10.1007/s00572-017-0799-3>
113. Morón, A. 1992. El fósforo en el sistema suelo-planta. Revista INIA. no. 1:45-60.
114. Morton, J. 1990. Evolutionary relationships among arbuscular mycorrhizal fungi in the endogonaceae. (en línea). Mycologia. 82(2):192-207. Consultado ene. 2020. Disponible en <https://www.jstor.org/stable/pdf/3759848.pdf?refreqid=excelsior%3Ad4b1f6aeb1021a645f4bbab99cd513d3>
115. Muñoz, E.; Macías, C.; Franco, A.; Sánchez, E.; Jiménez, J.; González, J. 2009. Identificación y colonización natural de hongos micorrízicos arbusculares en nogal. (en línea). Terra Latinoamericana. 27(4):355-361. Consultado ene. 2020. Disponible en http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792009000400010
116. Nelsen, C. E.; Safir, G. R. 1982. Increased drought tolerance of mycorrhizal onion plants caused by improved phosphorus nutrition. Planta. 154:407-413.
117. Newsham, K. K.; Fitter, A. H.; Watkinson, A. R. 1995. Arbuscular mycorrhiza protect an annual grass from root pathogenic fungi in the field. (en línea). Journal of Ecology. 83(6):991-1000. Consultado abr. 2020. Disponible en <https://www.jstor.org/stable/2261180?seq=1#z>

118. _____. 2011. A meta-analysis of plant responses to dark septate root endophytes. (en línea). *New Phytologist*. 190(3):783-793. Consultado may. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03611.x>
119. Nicolson, T. H. 1975. "A flotation method for collecting spores of a phytomycetous mycorrhizal parasite from soil". *Phytopathology*. 47:751-752.
120. O'Dell, T. E.; Massicotte, H. B.; Trappe, J. M. 1993. Root colonization of *Lupinus latifolius* Agardh. and *Pinus contorta* Dougl. by *Phialocephala fortinii* Wang & Wilcox. *New Phytologist*. 124:93-100.
121. Ocampo, J. 1980. Micorrizas VA. I. Características generales. (en línea). *Anales de Edafología y Agrobiología*. 39:1071-1088. Consultado mar. 2020. Disponible en <http://www.bashanfoundation.org/contributions/Ocampo-J/ocampocaracteristicas.pdf>
122. Oehl, F.; Sieverding, E.; Palenzuela, J.; Ineichen, K.; Alves da Silva, G. 2011. Advances in *Glomeromycota* taxonomy and classification. (en línea). *International Mycological Association Fungus*. 2(2):191-199. Consultado jul. 2020. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3359817/>
123. Olsson, P. A.; Jakobsen, I.; Wallander, H. 2002. Foraging and resource allocation strategies of mycorrhizal fungi in a patchy environment. (en línea). In: van der Heijden, M.; Sanders, I. R. eds. *Mycorrhizal Ecology*. Berlin, Springer-Verlag. pp. 93-115 (Ecological Studies: Analysis and Synthesis). Consultado feb. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2018.11.008>
124. Panario, D. 1988. Geomorfología del Uruguay. Montevideo, Universidad de la República. Facultad de Humanidades y Ciencias. 32 p.
125. Parodi, G.; Pezzani, F. 2011. Micorrizas arbusculares en dos gramíneas nativas de Uruguay en áreas con y sin pastoreo. (en línea). *Agrociencia (Uruguay)*. 15(2):1-10. Consultado feb. 2020. Disponible en http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2301-15482011000200001#32
126. Pearson, J. N.; Jakobsen, I. 1993. Symbiotic exchange of carbon and phosphorus between cucumber and three arbuscular mycorrhizal fungi.

(en línea). *New Phytologist*. 124(3):481-488. Consultado abr. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1993.tb03839.x>

127. 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. (en línea). *Mycorrhiza*. 16:285-295. Consultado mar. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/7165031_Associations_between_arbuscular_mycorrhizal_fungi_and_grasses_in_the_successional_context_of_a_two-phase_mosaic_in_the_Chihuahuan_Desert
128. Pivato, B.; Mazurier, S.; Lemanceau, P.; Siblot, S.; Berta, G.; Mougel, C.; van Tuinen, D. 2007. Medicago species affect the community composition of arbuscular mycorrhizal fungi associated with roots. (en línea). *New Phytologist*. 176(1):197-210. Consultado feb. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02151.x>
129. Ranelli, L. B.; Hendricks, W. Q.; Lynn, J. S.; Kivlin, S. N.; Rudgers, J. A. 2015. Biotic and abiotic predictors of fungal colonization in grasses of the Colorado Rockies. *Diversity and Distributions*. 21:962-976.
130. Read, D. J.; Haselwandter, K. 1981. Observations on the mycorrhizal status of some alpine plant communities. *New Phytologist*. 88:341-352.
131. Rebuffo, M.; Bemhaja, M.; Risso, F. D. 2006. Utilization of forage legumes in pastoral systems: state of art in Uruguay. *Lotus Newsletter*. 36(1):22-33.
132. Rillig, M.; Mummey, D. 2006. Mycorrhizas and soil structure. (en línea). *New Phytologist*. 171(1):41-53. Consultado abr. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01750.x>
133. Risso, D. F.; Carámbula, M. 1998. Lotus El Rincón: producción y utilización de los mejoramientos. Montevideo, INIA. 32 p. (Boletín de Divulgación no. 65)
134. Rivas, M.; Warner, J.; Bermúdez, M. 1998. Presencia de micorrizas en orquídeas de un jardín botánico neotropical. (en línea). *Revista de Biología Tropical*. 46(2):211-216. Consultado mar. 2020. Disponible en https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77441998000200004
135. Rodríguez, R. J.; White, J.; Arnold, A.; Redman, R. 2008. Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytologist*. 182:314-330.

136. Roldán, B. 1985. Micorrizas VA en cultivos arbóreos: almendro, naranjo y olivo. Tesis Doctorado. Granada, España. Universidad de Granada. Facultad de Ciencias. 258 p.
137. Rosendahl, S. 2008. Communities, populations and individuals of arbuscular mycorrhizal fungi. (en línea). *New Phytologist*. 178(2):253-266. Consultado feb. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02378.x>
138. Rosengurtt, B.; Gallinal, J. P.; Bergalli, L.; Campal, E. F. 1939. La variabilidad en la composición de la pradera: segunda contribución. *Revista de la Asociación de Ingenieros Agrónomos*. 11(3):28-33.
139. _____. 1943. Estudios sobre praderas naturales del Uruguay: segunda contribución. Montevideo, Barreiro y Ramos. 281 p.
140. _____. 1979. Tabla de comportamiento de las especies de plantas de campos naturales en el Uruguay. Montevideo, Universidad de la República. 86 p.
141. Rouphael, Y.; Franken, P.; Schneider, C.; Schwarz, D.; Giovannetti, M.; Agnolucci, M.; De Pascale, S.; Bonini, P.; Colla, G. 2015. Arbuscular mycorrhizal fungi act as biostimulants in horticultural crops. (en línea). *Scientia Horticulturae*. 196:91-108. Consultado feb. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.002>
142. Ruiz, M.; Muñoz, I.; Dell'Amico, J. M.; Simó, J.; Cabrera, J. 2016. Evaluation of different strains of arbuscular mycorrhizae in the development of rice plant (*Oryza sativa* L.) in flooded soil conditions. (en línea). *Cultivos Tropicales*. 37(4):67-75. Consultado ene. 2020. Disponible en <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.2.31096.85761>
143. Ruotsalainen, A. 2003. Mycorrhizal colonization and plant performance in arcto-alpine conditions. Thesis PhD. Oulu, Finland. University of Oulu. Department of Biology. 43 p.
144. Sala, O. E. 2001. Temperate Grasslands. (en línea). In: Chapin, F. S.; Sala, O. E.; Huber-Sannwald, E. eds. *Global biodiversity in a changing environment: scenarios for the 21st. century*. New York, Springer-Verlag. pp. 121-137. Consultado ene. 2020. Disponible en https://doi.org/10.1007/978-1-4613-0157-8_7

145. Sangeeta, M.; Janusz, B.; Govindan, B.; Dhaheri, L.; Symanczik, S.; Al-Yahya'ei, M. 2019. Organic farming practices in a desert habitat increased the abundance, richness, and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. (en línea). Emirates Journal of Food and Agriculture. 31(12):969-979. Consultado feb. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/339715715_Organic_farming_practices_in_a_desert_habitat_increased_the_abundance_richness_and_diversity_of_arbuscular_mycorrhizal_fungi
146. Saravesi, K.; Ruotsalainen, A. L.; Cahill, J. F. 2014. Contrasting impacts of defoliation on root colonization by arbuscular mycorrhizal and dark septate endophytic fungi of *Medicago sativa*. (en línea). Mycorrhiza. 24(4):239-45. Consultado may. 2020. Disponible <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24197419/>
147. Schmidt, S. K.; Sobieniak, L. C.; Kageyama, S. A.; Halloy, S. R.; Schadt, C. W. 2008. Mycorrhizal and dark-septate fungi in plant roots above 4270 meters elevation in the Andes and rocky mountains. (en línea). Arctic, Antarctic, and Alpine Research. 40(3):576-583. Consultado may. 2020. Disponible en <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1657/1523-0430%2807-068%29%5BSCHMIDT%5D2.0.CO%3B2>
148. Schüssler, A.; Schwarzott, D.; Walker, C. 2001. A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. (en línea). Mycological Research. 105(12):1413-1421. Consultado feb. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1017/S0953756201005196>
149. Schweiger, P. F.; Jakobsen, I. 1999. Direct measurement of arbuscular mycorrhizal phosphorus uptake into field-grown winter wheat. (en línea). Agronomy Journal. 91:998-1002. Consultado ene. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.2134/agronj1999.916998x>
150. Smith, F. A.; Smith, S. E. 1997. Structural diversity in (vesicular)-arbuscular mycorrhizal symbioses. (en línea). New Phytologist. 137(3):373-388. Consultado feb. 2020. Disponible en <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1046/j.1469-8137.1997.00848.x>
151. Smith, S. E.; Smith, F. A. 1990. Structure and function of the interfaces in biotrophic symbioses as they relate to nutrient transport. New Phytologist. 114:1-38.
152. _____; Read, D. J. 1997. Mycorrhizal Symbiosis. 2nd. ed. New York,

Academic Press. 605 p.

153. _____.;_____. 2008. Mycorrhizal simbiosis. 3rd. ed. New York, Academic Press. 787 p.
154. _____.; Facelli, E.; Pope, S.; Smith, F. A. 2010. Plant performance in stressful environments: interpreting new and established knowledge of the roles of arbuscular mycorrhizas. (en línea). *Plant and Soil*. 326(1):3-20. Consultado feb. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s11104-009-9981-5>
155. Soriano, A. 1991. Río de la Plata grasslands. *In*: Coupland, R. T. ed. *Natural grasslands: introduction and Western Hemisphere*. Amsterdam, Elsevier. pp. 367-407.
156. Stribley, D. P. 1990. Mycorrhizal associations and their significance. *In*: Rabinowitch, H. D.; Brewster, J. L. eds. *Onions and allied crops*. Boca Raton, CRC. v. 2, pp. 85-101.
157. Surono, S.; Narisawa, K. 2017. The dark septate endophytic fungus *Phialocephala fortinii* is a potential decomposer of soil organic compounds and a promoter of *Asparagus officinalis* growth. (en línea). *Fungal Ecology*. 28:1-10. Consultado may. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2017.04.001>
158. Tarafdar, J. C.; Marschner, H. 1994. Phosphatase activity in the rhizosphere and hyphosphere of VA mycorrhizal wheat supplied with inorganic and organic phosphorus. (en línea). *Soil Biology and Biochemistry*. 26(3):381-395. Consultado feb. 2020. Disponible en [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(94\)90288-7](https://doi.org/10.1016/0038-0717(94)90288-7)
159. Texeira, M.; Altesor, A. 2009. Small-scale spatial dynamics of vegetation in a grazed Uruguayan grassland. *Austral Ecology*. 34(4):386-394.
160. Tilman, D. 1993. Species richness of experimental productivity gradients: how important is colonization limitation? (en línea). *Ecology*. 74(8):2179-2191. Consultado may. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.2307/1939572>
161. Trappe, J. M. 1981. Mycorrhizae and productivity of arid and semiarid rangelands. *In*: Manassah, J. T.; Briskey, E. J. eds. *Advances in food-producing systems for arid and semi-arid lands*. New York, Academic Press. pp. 581-599.

162. Uma, E.; Muthukumar, T.; Sathiyadash, K.; Muniappan, V. 2010. Mycorrhizal and dark septate fungal association in gingers and spiral gingers. *Botany*. 88:500-510.
163. van Aarle, M.; Cavagnaro, T.; Smith, S. E.; Smith, F. A.; Dickson, S. 2005. Metabolic activity of *Glomus intraradices* in Arum- and Paris-type arbuscular mycorrhizal colonization. (en línea). *New Phytologist*. 166(2):611-618. Consultado feb. 2020. Disponible en <http://www.jstor.org/stable/1514703>.
164. van der Heijden, M.; Bardgett, R. D.; van Straalen, N. M. 2008. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. (en línea). *Ecology Letters*. 11(3):296-310. Consultado feb. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01139.x>
165. Vergara, C.; Araujo, C.; Urquiaga, S.; Schultz, N.; de Carvalho, F.; Medeiros, P.; Santos, L.; Xavier, R.; Zilli, J. 2017. Dark septate endophytic fungi help tomato to acquire nutrients from ground plant material. (en línea). *Frontiers in Microbiology*. 8(2437):1-12. Consultado may. 2020. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29312163/>
166. Vogelsang, K. M.; Bever, J. D. 2009. Mycorrhizal densities decline in association with nonnative plants and contribute to plant invasion. *Ecology*. 90(2):399-407.
167. Wang, C. J. K.; Wilcox, H. E. 1985. New species of ectendomycorrhizal and pseudomycorrhizal fungi: *Phialophora finlandia*, *Chloridium paucisporum*, and *Phialocephala fortinii*. *Mycologia*. 77:951-958.
168. Wang, X.; Hoffland, E.; Feng, G.; Kuyper, T. 2017. Phosphate uptake from phytate due to hyphae-mediated phytase activity by arbuscular mycorrhizal maize. (en línea). *Frontiers in Plant Science*. 8(684):1-8. Consultado abr. 2020. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5408084/>
169. Weishampel, P. A.; Bedford, B. L. 2006. Wetland dicots and monocots differ in colonization by arbuscular mycorrhizal fungi and dark septate endophytes. (en línea). *Mycorrhiza*. 16(7):495-502. Consultado may. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s00572-006-0064-7>
170. Wilcox, H. E.; Wang, C. J. K. 1987. Mycorrhizal and pathological associations

of dematiaceous fungi in roots of 7-month-old tree seedlings. Canadian Journal of Forest Research. 17:884-899.

171. Wilson, D. 1995. Endophyte: the evolution of a term, and clarification of its use and definition. (en línea). Oikos. 73(2):274-276. Consultado ene. 2022. Disponible en <https://doi.org/10.2307/3545919>
172. Wilson, G.; Rice, C.; Rillig, M.; Springer, A.; Hartnett, D. 2009. Soil aggregation and carbon sequestration are tightly correlated with the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi: results from long-term field experiments. (en línea). Ecology Letters. 12(5):452-461. Consultado abr. 2020. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19320689/>
173. Xu, R.; Li, T.; Shen, M.; Yang, Z.; Zhao, Z. 2020. Evidence for a dark septate endophyte (*Exophiala pisciphila*, H93) enhancing phosphorus absorption by maize seedlings. (en línea). Plant and Soil. 452:249-266. Consultado may. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04538-9>
174. Yu, T.; Nassuth, A.; Peterson, R. L. 2001. Characterization of the interaction between the dark septate fungus *Phialocephala fortinii* and *Asparagus officinalis* roots. Canadian Journal of Microbiology. 47:741-753.
175. Zubeck, S.; Majewska, M.; Janusz, B.; Stefanowicz, A. M. 2016. Invasive plants affect arbuscular mycorrhizal fungi abundance and species richness as well as the performance of native plants grown in invaded soils. Biology and Fertility of Soils. 52:879-93.