



Universidad Nacional de Rosario  
Facultad de Ciencias Agrarias

*Cultivando vida en el suelo: producción de un suelo enriquecido en hongos micorrícicos arbusculares asociado a una especie forestal nativa, evaluación de la simbiosis y del efecto de enmiendas biológicas*

Tesinista: Fernandez Antonella

Directora: Dra. María Lourdes Gil-Cardeza

Co-directora: Lic. Paula Frassón

Lugar de trabajo: Facultad de Ciencias Agrarias (UNR)

Año 2023

## ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS .....	6
RESUMEN .....	7
PALABRAS CLAVES .....	7
1. INTRODUCCIÓN .....	8
2. OBJETIVOS, HIPÓTESIS Y PREDICCIONES .....	12
OBJETIVO GENERAL.....	12
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	12
HIPÓTESIS 1 .....	12
PREDICCIÓN 1 .....	13
HIPÓTESIS 2 .....	13
PREDICCIÓN 2.....	13
HIPÓTESIS 3 .....	13
PREDICCIÓN 3.....	13
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	13
3.1. OBTENCIÓN DEL SUELO ENRIQUECIDO EN HMA ASOCIADA A <i>M. CISPLATENSIS IN SITU</i> .....	13
TOMA DE MUESTRAS DE SUELO .....	14
ELABORACIÓN DE LOS CULTIVOS TRAMPA .....	14
3.2. OBTENCIÓN DE LOS PLANTINES DE <i>M. CISPLATENSIS</i> .....	15
3.3. COMPOST.....	17
ELABORACIÓN DEL COMPOST UTILIZADO EN EL EXPERIMENTO .....	17
PREPARACIÓN DEL EXTRACTO Y SELECCIÓN DE LA DILUCIÓN A UTILIZAR.....	17
3.4. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	19
APLICACIÓN DEL EXTRACTO DE COMPOST.....	21
3.5. DETERMINACIONES.....	22
EVALUACIÓN DE LAS ESTRUCTURAS MICORRÍFICO ARBUSCULARES.....	22
TINCIÓN.....	22
EVALUACIÓN DE DISTINTAS VARIABLES RELACIONADAS AL CRECIMIENTO DE LOS PLANTINES DE <i>M. CISPLATENSIS</i> .....	24
3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	24
4. RESULTADOS.....	25
4.1. EVALUACIÓN DE LAS ESTRUCTURAS MICORRÍFICO ARBUSCULARES DE LOS CTs PROVEEDORES DE SUELO ENRIQUECIDO EN HMA .....	25
4.2. ESTABLECIMIENTO DE LA SIMBIOSIS MICORRÍFICO ARBUSCULAR EN PLANTINES DE <i>M. CISPLATENSIS</i> Y EFECTO DEL EXTRACTO DE COMPOST SOBRE LA SIMBIOSIS.....	26

4.3. EVALUACIÓN DE VARIABLES RELACIONADAS AL CRECIMIENTO DE LOS PLANTINES .....	28
ALTURA.....	28
PESO FRESCO Y SECO.....	29
5. DISCUSIÓN .....	30
6. CONCLUSIÓN .....	35
7. BIBLIOGRAFÍA .....	36
ANEXO .....	44
I. ANÁLISIS BIOQUÍMICO DEL COMPOST .....	44
II. SOLUCIÓN DE HOGLAND .....	45
III. FOTOS DE MEDICIONES DE LOS TRATAMIENTOS.....	45

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ubicación de población de <i>M. Cisplatensis</i> .....	14
<b>Figura 2.</b> Cultivos trampa con gramínea tipo C4 - <i>Sorghum bicolor</i> .....	15
<b>Figura 3.</b> Semillas de <i>M. cisplatensis</i> en proceso de germinación .....	16
<b>Figura 4.</b> Trasplante de semillas de <i>M. cisplatensis</i> germinadas a bandejas.....	16
<b>Figura 5.</b> Pilas de compost Vivero Forestal - Facultad de Ciencias Agrarias UNR.....	17
<b>Figura 6.</b> (A) Bolsa de malla de 400 a 500 $\mu$ m. (B) Bolsa de malla con compost sólido en el interior. (C) Proceso de elaboración del extracto de compost.....	19
<b>Figura 7.</b> Esquema de diseño de los cinco tratamientos realizados .....	20
<b>Figura 8.</b> Distintos tratamientos ubicados en el invernadero con las respectivas repeticiones individualizadas y en disposición al azar. ....	21
<b>Figura 9.</b> Plántulas de <i>M. cisplatensis</i> para el tratamiento 3, cosechadas a los 150 días. ....	22
<b>Figura 10.</b> Raíces de los CTs teñidos con azul de metilo. (A) Colocado en portaobjeto con glicerina ácida (B) Observación de HMA bajo microscopio óptico .....	23
<b>Figura 11.</b> Hifas de micorrizas en simbiosis con raíces de <i>Sorghum bicolor</i> bajo microscopio óptico, 10 X (A) y 20 X (B).....	26
<b>Figura 12.</b> Intensidad de micorrización (I%) de las raíces de <i>M. cisplatensis</i> crecidas con sustrato enriquecido en HMA con o sin el agregado de extracto de compost .....	27
<b>Figura 13.</b> Hifas de micorrizas en simbiosis con raíces de <i>M. cisplatensis</i> para el tratamiento 4 bajo microscopio óptico, 20 X (A) y 10 X (B).....	28
<b>Figura 14.</b> Altura de <i>M. cisplatensis</i> a lo largo del experimento, con error estándar de la media (A) y sin error (B) .....	29
<b>Figura 15.</b> Peso seco (A) y fresco (B) de <i>M. cisplatensis</i> al final del experimento .....	29
<b>Figura 16.</b> Plántulas de <i>M. cisplatensis</i> para el tratamiento 1 al finalizar el experimento .....	46
<b>Figura 17.</b> Plántulas de <i>M. cisplatensis</i> para el tratamiento 1, cosechadas a los 150 días. ....	46
<b>Figura 18.</b> Plántulas de <i>M. cisplatensis</i> para el tratamiento 2 al finalizar el experimento .....	47
<b>Figura 19.</b> Plántulas de <i>M. cisplatensis</i> para el tratamiento 2, cosechadas a los 150 días. ....	47
<b>Figura 20.</b> Plántulas de <i>M. cisplatensis</i> para el tratamiento 3 al finalizar el experimento .....	48
<b>Figura 21.</b> Plántulas de <i>M. cisplatensis</i> para el tratamiento 3, cosechadas a los 150 días .....	48
<b>Figura 22.</b> Plántulas de <i>M. cisplatensis</i> para el tratamiento 4 al finalizar el experimento .....	49
<b>Figura 23.</b> Plántulas de <i>M. cisplatensis</i> para el tratamiento 4, cosechadas a los 150 días .....	49
<b>Figura 24.</b> Plántulas de <i>M. cisplatensis</i> para el tratamiento 5 al finalizar el experimento .....	50
<b>Figura 25.</b> Plántulas de <i>M. cisplatensis</i> para el tratamiento 5, cosechadas a los 150 días. ....	50
<b>Figura 26.</b> Individuo adulto de <i>M. cisplatensis</i> en el departamento de San Lorenzo, Santa Fe.....	52
<b>Figura 27.</b> Población natural de <i>M. cisplatensis</i> , departamento de San Lorenzo, Santa Fe.....	53

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Valores de cultivos trampa seleccionados al azar como potenciales proveedores de suelo enriquecido en HMA .....	25
<b>Tabla 2.</b> Valores de cultivos trampa seleccionados para ser utilizados como proveedores de suelo enriquecido en HMA .....	25
<b>Tabla 3.</b> Resultados en la intensidad de micorrización (1%) para cada unidad experimental de <i>M. cisplatensis</i> .....	26
<b>Tabla 4.</b> Resultados de la caracterización biológica del compost sólido (red trófica) utilizado para la obtención del extracto de compost .....	444
<b>Tabla 5.</b> Elementos nutritivos presentes en la solución (extracto de compost) utilizado por única vez al inicio del experimento en comparación con los elementos presentes en la solución nutritiva baja en fósforo utilizada para el riego de los plantines durante el experimento .....	444
<b>Tabla 6.</b> Elementos potencialmente tóxicos presentes en el extracto de compost .....	455
<b>Tabla 7.</b> Solución nutritiva baja en fósforo expresada en gramos por litro .....	455

## RESUMEN

El actual contexto de crisis ambiental evidencia la necesidad de promover prácticas para la recuperación de ecosistemas degradados por lo que el interés público, político y técnico sobre el cultivo y fomento de especies nativas se han visto en aumento. El estudio de las mismas y su empleo, debe ir acompañado necesariamente de la comprensión de las relaciones con el suelo y el microbioma asociado. Las interacciones que se generan entre las raíces de las plantas y los microorganismos que allí se encuentran, cooperan con la nutrición de las mismas y con ello a su salud e integridad, entre otras considerables contribuciones. Una asociación frecuente y muy estudiada es la simbiosis micorrízico arbuscular. La técnica de obtención de suelo enriquecido en hongos micorrízicos arbusculares (HMA) resulta interesante para la producción de plantines en viveros. Por otra parte, la utilización de enmiendas biológicas resulta de suma importancia para obtener sustratos y suelos ricos en biodiversidad. Un suelo con estas características, facilitará la comunicación entre vegetales y microorganismos presentes. Por lo antes dicho, resulta interesante el estudio de la simbiosis micorrízico arbuscular y la expresión de la misma bajo la utilización de enmiendas biológicas en cultivos. Nos proponemos evaluar el efecto del suelo enriquecido en HMA sobre el crecimiento de plantines de una especie forestal nativa y a su vez evaluar el efecto del extracto de compost sobre la simbiosis. Para ello, se prepararon cultivos trampa para la obtención de suelo enriquecido en HMA a partir de muestras de suelo de una población natural de *Myrcianthes cisplatensis*. El diseño experimental consistió en tratamientos en presencia y ausencia de suelo enriquecido. A su vez, algunos tratamientos fueron regados con extracto de compost y extracto de compost filtrado. A partir de esto, se determinó la intensidad de micorrización (I%) en raíces, altura, peso fresco y seco de los plantines. Los tratamientos, presentaron diferencias significativas en cuanto a la I% y la altura de los mismos, no así en el peso. Se observó mayor I% en aquellos tratamientos que fueron regados con una dilución 1:500.000 de extracto de compost. Esto podría deberse a la presencia de hormonas, factores de crecimiento y/u otros productos metabólicos dentro del extracto. Las conclusiones nos dan una guía hacia la comprensión del sistema planta-suelo-microbioma para poder dirigir los sistemas de producción hacia la restauración de los ecosistemas y conservación de la diversidad.

## PALABRAS CLAVES

Especies nativas, Guayabo colorado, Simbiosis micorrízico arbuscular, Compost

## 1. INTRODUCCIÓN

La crisis ambiental<sup>1</sup> actual, consecuencia de los hábitos de producción y consumo de las sociedades modernas, entre otras cosas, no tiene precedentes (IPCC, 2022). Esto se profundiza a un ritmo acelerado y pone en jaque las relaciones entre las sociedades y la naturaleza. Son numerosas las evidencias sobre el daño que generan las actividades humanas en los ecosistemas. Entre las consecuencias más importantes se encuentran la pérdida de biodiversidad (IPBS, 2019; WWF, 2022), el cambio climático (IPCC, 2022), el agotamiento de los recursos naturales, la alteración de los ciclos biogeoquímicos, las invasiones biológicas, entre otros impactos ambientales (Quiroga et al., 2010; Anderson, 2015) que ponen en riesgo el bienestar de las generaciones actuales y venideras (UICN, 2021; WWF, 2022)

La introducción de especies exóticas invasoras en los ecosistemas naturales puede alterar el equilibrio y funcionamiento de los mismos, siendo una de las principales causas de la destrucción y degradación de hábitats (Pejchar y Mooney, 2009; Linders et al., 2019). Las especies consideradas “invasoras” son aquellas que arriban a un hábitat donde previamente no habían existido. Estas logran reproducirse y dispersarse exitosamente y pueden mantener sus poblaciones a lo largo del tiempo sin la intervención del ser humano (Richardson et al., 2000). Además, tienen la capacidad de competir con las especies nativas y desplazarlas, alterando la estructura y dinámica de las comunidades vegetales (Mainka y Howard, 2010). También modifican otras características del sistema invadido como la composición microbiológica del suelo, impactando en importantes procesos ecosistémicos tales como la descomposición y el ciclado de los nutrientes, entre otros (Fernández y Aragón, 2014).

En contraposición, las especies nativas son aquellas que poseen una historia evolutiva y ecológica con el entorno biótico y abiótico. Algunas especies vegetales son la base de la cadena trófica de numerosos grupos de hongos, bacterias y animales como aves, insectos y mamíferos, entre otros (Baranzelli, 2014; De la Peña y Pensiero, 2017). A su vez, las especies vegetales se vinculan con diversos organismos llevando a cabo otros procesos ecológicos claves como la polinización, y dispersión de semillas, entre otros. En este sentido, las plantas autóctonas resultan de gran valor para la conservación de la diversidad biológica en su conjunto (Hermosilla, 2006; Molina, 2007). Otra particularidad en cuanto a su relación con el

---

<sup>1</sup> Ambiente: es la resultante de interacciones entre sistemas ecológicos y socioeconómicos, susceptibles de provocar efectos sobre los seres vivos y las actividades humanas (Brailovsky y Foguelman, 1991)

entorno es que están adaptadas al suelo y clima de la región por lo que regulan algunas variables climáticas locales como la temperatura (Sanhueza et al., 2016). De igual manera, tienen una relación directa con el ciclo hidrológico local lo que conduce a que prescindan de recursos externos suplementarios para sobrevivir cuando estas son cultivadas.

A pesar de la importancia ecológica de la flora nativa, el desconocimiento y la insuficiente valoración pública condujo a que su cultivo no esté ampliamente difundido. Otros motivos podrían ser la falta de oferta por parte de viveros comerciales y cuestiones de índole cultural relacionadas con la influencia que han tenido los colonos europeos sobre el desarrollo estético y paisajístico de la región (Rovere, 2013). Sin embargo, en los últimos años su fomento se ha ido incrementando por parte de Gobiernos Provinciales y Nacional. Por ejemplo, la promoción en la utilización de las mismas dentro de políticas de mitigación y adaptación al cambio climático (MADyS, 2022), la implementación de legislaciones que fomentan su uso para el arbolado urbano y espacios verdes (Ley del árbol N° 13.836, Provincia de Santa Fe), entre otras. En la actualidad, la temática también comienza a abordarse como eje principal en materia de educación ambiental como parte de distintos programas educativos (Baranzelli, 2014).

En este contexto, generar información y promover el cultivo de especies nativas con el fin de recrear los paisajes naturales y de incluirlos en sistemas de producción actuales de cada región en pos de la diversidad, es una herramienta posible para enfrentar la problemática ambiental actual. Por todo lo expuesto, resulta importante conocer sobre su ecología, en cuanto a las relaciones que presentan con el entorno, como por ejemplo las relaciones que establecen con el microbioma del suelo pudiendo generar vínculos tan estrechos que permite estudiarlos y pensarlos como un solo organismo, un meta-organismo (Philippot et al., 2013; Mercado-Blanco et al., 2018).

Las plantas vasculares, en su gran mayoría, se asocian simbióticamente con ciertos grupos de hongos llamados hongos formadores de micorrizas (Van der Heijden, 2016). Esta asociación entre hifas y raíces, conocida como micorriza, comprende un intercambio bidireccional en donde los hongos brindan ciertas facilidades a las plantas, siendo el más estudiado el acceso a determinados minerales y el agua. Las plantas, por su parte, suministran hidratos de carbono y lípidos que los hongos utilizan para su desarrollo. Cuando este proceso ocurre en el suelo, el micelio fúngico puede generar una interconexión entre plantas de la misma o diferentes especies, lo que permite que se formen grandes redes por debajo que posibilitan el flujo de nutrientes y otras moléculas entre plantas (Van der Heijden, 2009). Asimismo, las micorrizas confieren

beneficios relacionadas a la resistencia a estrés ambiental, sequía y al ataque de patógenos (Van der Heijden, 2009). Por su parte, inducen ajustes osmóticos en situaciones de sequedad y mejoran el aprovechamiento del agua. A su vez, las hifas ocupan grandes superficies del sistema radical por lo que pueden inhibir el ingreso de fitopatógenos. También contribuyen a la agregación del suelo y brindan condiciones favorables para el resto de las interacciones microbianas que ocurren alrededor de las raíces, en la micosfera (Jaramillo, 2011) por lo que promueven la conservación del suelo (Vargas Ríos et al., 2011). Las micorrizas facilitan el acceso a los nutrientes, principalmente aquellos inmóviles o más escasos como el fósforo (P) y estimulan sustancias reguladoras de crecimiento con un consecuente incremento de la tasa fotosintética, lo que promueve el crecimiento de las plantas (Vargas Ríos et al., 2011; Van der Heijden, 2016). Dentro de la amplia diversidad existente, se pueden describir dos grandes grupos de micorrizas que difieren en morfología y fisiología (Marschner, 2012). Las ectomicorrizas, en donde las hifas envuelven a la raíz formando un manto en la superficie, penetrando solo intercelularmente y las endomicorrizas que se caracterizan por penetrar intercelularmente en el cortex de las raíces (Camargo-Ricalde, 2012). Este último, se ha subdividido en varios grupos siendo el más importante el de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA). Los HMA forman arbuscúlos, que son estructuras distintivas alojadas entre la pared y membrana celular radicular donde se da el intercambio de nutrientes que le dan el nombre al grupo. Otra estructura que se forma en la simbiosis son las vesículas, estructuras que cumplen principalmente funciones de almacenamiento (Parniske, 2008). Los HMA son microorganismos simbióticos que pertenecen al Subphylum *Glomeromycotina* (Spatafora et al., 2016) del Phylum *Glomeromycota*, (Tedersoo et al., 2018) un grupo que se caracteriza por sus hifas no septadas y su biotrofia obligada (Valdés, 2019).

La obtención de suelo enriquecido en HMA es una técnica que se podría aplicar al cultivo de especies forestales para fomentar el crecimiento y sanidad de los plantines en etapas tempranas y así optimizar procesos en la producción. La obtención de suelo enriquecido en HMA se realiza a partir de preparación de cultivos trampa (CTs) con gramíneas, que funcionan como huéspedes para la multiplicación de micorrizas arbusculares (Urgiles, 2014). En trabajos con especies vegetales, considerando la importancia que tiene la diversidad sobre los procesos ecológicos, es deseable que las micorrizas sean preferentemente aquellas que hayan evolucionado con las especies vegetales en cuestión o pertenecientes a una misma ecorregión. Philippot et al., (2013) plantea la existencia de procesos de co-evolución de las interacciones multitróficas entre el microbioma y especies de plantas en sus hábitats nativos. Por

ello, promover comunidades nativas impacta en el desarrollo de todo el microbioma asociado a las especies vegetales.

Otro aspecto interesante a tener en cuenta dentro de las prácticas agroecológicas que pueden llevarse a cabo viveros forestales con el fin de mejorar la calidad de los plantines es la utilización de enmiendas biológicas (Eudoxie, 2019; Murillo-Montoya, 2020). Las enmiendas son productos que se utilizan con el fin de “remendar” suelos en términos de microbiología, en búsqueda de la recomposición de la red trófica del suelo (Ingham, 2005). Se denomina enmiendas biológicas a aquellas que derivan de la descomposición y mineralización de la materia orgánica por acción de los microorganismos dando como resultado un material con un componente mineral y otro biológico que en situaciones ideales contiene una enorme diversidad de microorganismos (Ingham, 2005). Es posible clasificar los diferentes tipos de compost en función del proceso que les da origen. Dentro del grupo de las enmiendas sólidas, Ingham (2005) refiere al compost térmico como aquel que se obtiene luego de un proceso térmico que garantiza la reducción de la fitotoxicidad o de microorganismos patógenos (NOSB, 2006). Por otro lado, Murillo-Montoya (2020) definen al vermicompost como aquel que se obtiene del producto de la descomposición de las lombrices. A partir de las enmiendas sólidas es posible obtener enmiendas líquidas como “Té” y extracto de compost (Eudoxie, 2019).

El microbioma en el suelo se encuentra en un constante diálogo bioquímico con las raíces. Esta comunicación en el sistema planta-suelo afecta directa e indirectamente a la nutrición y salud de los vegetales (Philippot et al., 2013). La red trófica del suelo interviene en el ciclado de nutrientes, proceso que condiciona la nutrición vegetal; tiene efectos en el metabolismo de las plantas proporcionándole resistencia a patógenos y a condiciones de estrés. También mejoran la estructura y determinan la composición química del suelo, entre otros beneficios (Ingham, 1985; Jaramillo, 2011; Philippot et al., 2013).

La especie forestal nativa de interés elegida para este estudio es *Myrcianthes cisplatensis* (Cambess.) O. Berg, comúnmente conocida como Guayabo colorado. Se trata de un árbol de la familia de las Myrtaceae que habita la Provincia Chaqueña, el Espinal y la transición con la Provincia Paranaense (Cabrera y Willink, 1973). Crece a orillas de los ríos o arroyos y en bosques y selvas en galería. Puede ser utilizada para arbolado de alineación, cortinas forestales, combinada en agroecosistemas, entre otros usos (Eynard et al., 2017). Su potencial se debe a características relacionadas con la calidad de la madera, su rusticidad y velocidad para crecer.

Además de ser una planta ornamental por su atractiva corteza y follaje, es melífera, medicinal y sus frutos son comestibles (Eynard et al., 2017).

El estudio de la relación entre HMA y plantines forestales de *M. cisplatensis* reviste interés en nuestra facultad por contarse en la misma con un vivero forestal de especies nativas donde se llevó a cabo parte del experimento. El suelo enriquecido en hongos micorrícicos arbusculares y la utilización de extracto de compost podría ser una opción para implementar en el mismo, como una técnica desarrollada *in situ* para favorecer potencialmente el crecimiento de los plantines y para contribuir a la autonomía de este y otros viveros.

## 2. OBJETIVOS, HIPÓTESIS Y PREDICCIONES

### OBJETIVO GENERAL

Evaluar el establecimiento de la simbiosis micorrícico arbuscular y el comportamiento de la plántula en *Myrcianthes cisplatensis* a partir del uso de un suelo enriquecido en HMA y la aplicación de extracto de compost.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Producir suelo enriquecido en HMA asociados a una población natural de *Myrcianthes cisplatensis*.
- Determinar si los HMA presentes en el suelo enriquecido establecieron la simbiosis con plantines de *M. cisplatensis*.
- Evaluar el efecto del agregado de extracto de compost sobre la simbiosis micorrícico arbuscular en plántulas de *M. cisplatensis* creciendo en contacto con el sustrato enriquecido en HMA.
- Evaluar el efecto de la simbiosis promovida por la aplicación de suelo enriquecido en HMA sobre el crecimiento de plantines de *M. cisplatensis*.

### HIPÓTESIS 1

La técnica de cultivo trampa con sorgo forrajero (*Sorghum bicolor* L.) será útil para la reproducción y propagación de HMA provenientes de una población natural de *M. cisplatensis* que serán capaces de asociarse a plantas cultivadas de la misma especie.

## PREDICCIÓN 1

Se observará micorrización en las raíces de las plántulas de *M. cisplatensis* que crecen en macetas con el suelo enriquecido en HMA obtenido a partir de los cultivos trampa.

## HIPÓTESIS 2

La incorporación de extracto de compost promoverá la asociación micorrícica entre HMA y las plántulas de *M. cisplatensis* debido a la presencia de biomoléculas solubles.

## PREDICCIÓN 2

Se observará un mayor porcentaje de micorrización en las raíces de las plántulas de *M. cisplatensis* que hayan sido regadas con el extracto de compost sin microorganismos y en una dilución al 1:500.000.

## HIPÓTESIS 3

La simbiosis micorrícico arbuscular establecida tendrá un efecto positivo en el crecimiento de los plantines de *M. cisplatensis* en condiciones de vivero.

## PREDICCIÓN 3

Se observará un efecto positivo sobre las variables de crecimiento en aquellos tratamientos donde se vio promovida la simbiosis.

## 3. MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.1. OBTENCIÓN DEL SUELO ENRIQUECIDO EN HMA ASOCIADA A *M.*

#### *CISPLATENSIS IN SITU.*

Con el fin de reproducir Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA) en macetas a partir de cultivos trampa (CTs), se recolectó una porción de suelo en un sitio en el sur de la provincia de Santa Fe, Argentina (32°29'16.1" S 60°50' 57.5" O), (Figura 1) donde se encuentra una población natural de *M. cisplatensis* (Ver anexo: imágenes de la población natural).



Figura 1. Ubicación de población de *M. Cisplatensis* en el departamento de San Lorenzo, provincia de Santa Fe.

#### TOMA DE MUESTRAS DE SUELO

Se obtuvo una muestra de suelo compuesta de un volumen de 80 litros a partir de cinco puntos de muestreo distribuidos en una superficie de 8 metros cuadrados. El procedimiento se realizó de forma aleatoria y se tomó suelo asociado a vegetación herbácea para favorecer la colección de una comunidad en micorrizas arbusculares dado que los HMA se asocian principalmente a plantas con crecimiento primario (Brundrett y Tedersoo, 2018). El suelo colectado se utilizó dentro de la primera semana para evitar la degradación y pérdida de viabilidad de los propágulos fúngicos dada la obligatoriedad de la simbiosis en estudio.

Además, se recolectaron algunos plantines de *M. cisplatensis* que crecían debajo de las plantas madres que luego se colocaron aleatoriamente en algunos CTs con el objetivo de favorecer el desarrollo de poblaciones de HMA que hayan evolucionado con esta especie vegetal. Si bien los HMA presentan una baja especificidad, algunos autores consideran que tienen preferencia por ciertos hospedantes (Colombo, 2020).

#### ELABORACIÓN DE LOS CULTIVOS TRAMPA

Se prepararon 18 cultivos trampa (CTs) al día siguiente de la colecta de suelo. Los CTs consistieron en macetas de 4 litros en donde se colocó suelo rizosférico asociado a *M. cisplatensis in situ* con arena esterilizada (1 hora a 121°C en autoclave) en una mezcla en proporción 1:1. En las macetas se sembraron gramíneas de tipo C4 como

*Sorghum bicolor* en verano y tipo C3 (*Triticum aestivum*) como cultivo alternativo para los períodos invernales. Las semillas de sorgo fueron facilitadas por la semillera Los Prados en articulación con el Instituto Nacional de Semillas (INASE), y las de trigo por la Ing. Agr, Victoria Benedetto de la Estación Experimental Agropecuaria Oliveros (INTA). Ambas especies son comúnmente utilizadas en este tipo de técnicas (Urgiles, 2014) para permitir la persistencia y reproducción de los HMA presentes en la muestra de suelo. Con el objetivo de determinar la intensidad de micorrización (I%) (Manual de INRA) en los CTs que fueron utilizados como proveedores de suelo enriquecido en hongos micorrízicos arbusculares se realizaron observaciones bajo el microscopio óptico en raíces previamente teñidas con azul de metilo (protocolo modificado de Phillips y Hayman, 1970). Para esto se tomaron muestras de raíces de 6 CTs seleccionados al azar. Cada muestra consistió en una porción de biomasa radicular correspondientes a 8-10 plántulas de gramíneas por CT. La determinación de la I% se detalla en la sección 3.5.



Figura 2. Cultivos trampa con gramínea tipo C4 - *Sorghum bicolor*

### 3.2. OBTENCIÓN DE LOS PLANTINES DE *M. CISPLATENSIS*.

Se cosecharon un número aproximado de 200 semillas de *M. cisplatensis* en el mismo sitio donde se obtuvieron las muestras de suelo. Las mismas se sembraron bajo condiciones controladas, acordes a las necesidades de la especie. Se colocaron en bandejas con papel secante y se mantuvieron a un porcentaje de humedad

constante con agua de ósmosis, a una temperatura entre 25°C y 27°C, con un fotoperíodo de 12 horas (Eynard et al., 2017). En estas condiciones las semillas germinaron entre los 6 y 10 días posteriores a la siembra (figura 3).



Figura 3. Semillas de *M. cisplatensis* en proceso de germinación.

Posterior a la emergencia, las plántulas fueron colocadas en almácigos con sustrato compuesto por perlita, turba y compost sólido previamente esterilizados en autoclave por 1 hora a 121°C en proporción 5:3:2, respectivamente. Los plantines crecieron en condiciones semi-controladas de invernadero hasta los 11 meses de edad (desde abril 2021 a marzo 2022). Los mismos se regaron periódicamente con agua de ósmosis (figura 4).



Figura 4. Trasplante de semillas de *M. cisplatensis* germinadas a bandejas

### 3.3. COMPOST

#### ELABORACIÓN DEL COMPOST UTILIZADO EN EL EXPERIMENTO

El compost utilizado para el experimento fue elaborado en el Vivero Forestal Agroecológico de la Facultad de Ciencias Agrarias a partir de los desechos orgánicos del comedor perteneciente a la Universidad Nacional de Rosario que se encuentra dentro de la institución. Los restos orgánicos se mezclaron en una primera instancia con restos de hojas secas y ramas disponibles en el predio en una proporción 1:1:1 y se dispusieron en una pila sobre el suelo. A la pila se le fueron incorporando restos orgánicos con una frecuencia semanal en volúmenes iguales a los incorporados inicialmente. El compost fue regado y volteado periódicamente con el fin de mantener condiciones óptimas de humedad y oxígeno (figura 5).



Figura 5. Pilas de compost Vivero Forestal - Facultad de Ciencias Agrarias UNR.

#### PREPARACIÓN DEL EXTRACTO Y SELECCIÓN DE LA DILUCIÓN A UTILIZAR

Para evaluar el efecto del compost sobre la simbiosis se procedió a preparar una enmienda líquida. La enmienda seleccionada fue el extracto de compost, que se preparó a partir de una muestra compuesta de compost sólido de 6 meses de maduración. La obtención de extracto de compost se realizó con el objetivo de poder separar el material biológico soluble en agua y así poder discriminar el efecto de los

microorganismos del efecto de las biomoléculas solubles, mediante la técnica de filtrado (ver más adelante) al momento de realizar el experimento, dada la naturaleza líquida del extracto.

Durante la preparación de este tipo de enmiendas se logran extraer los microorganismos que se encuentran en los agregados del compost, adheridos a la materia orgánica, como también las moléculas solubles producidas por el metabolismo creado en el compost. En el momento en que la microbiota cambia de medio (de sólido a acuático) se interrumpe su metabolismo, quedando en pausa o en período de “latencia” hasta que se adaptan nuevamente al medio sólido, posterior a su aplicación (Ingham, 2005). Este producto es diferente a lo que se conoce como “Té” de compost ya que para este caso los microorganismos nunca cesan las actividades metabólicas dado que en el “Té” se les brinda una alimentación constante (Ingham, 2005; Eudoxie, 2019)

Para la elaboración del extracto se diluyeron 500 gramos de compost biológicamente completo (ver anexo) en 20 litros de agua. Para esto se colocó el compost en una bolsa de malla con poros de 400 a 500 micrones (La Enmienda). El tamaño de las perforaciones permite el pasaje de los microorganismos del compost al agua, incluso los de mayor tamaño como por ejemplo nematodos. La bolsa con el material en su interior se colocó dentro de un balde con agua de ósmosis y se dejó dentro del agua durante 10 minutos, con algunos movimientos intermitentes para colaborar con la dilución como se observa en la figura 6.

Posteriormente, se realizaron análisis que permitieron caracterizar biológica y químicamente las muestras sólidas de compost y líquidas de extracto (Ver Anexo). En base a la caracterización bioquímica, en función de resultados previos del grupo de investigación (De la Torre et al., 2022) y bajo la hipótesis de que, en diluciones bajas, el efecto de enmiendas líquidas se debe principalmente a la presencia de biomoléculas producidas a partir de procesos metabólicos, se seleccionaron las diluciones de trabajo. También se tuvo en cuenta que las diluciones seleccionadas no tuvieran exceso de fósforo u otros minerales que pudieran inhibir la micorrización o aportar a la nutrición de las plántulas a través de los minerales. De aquí se seleccionó la dilución 1: 500.000 como dilución de trabajo. Dado que las biomoléculas, como factores de crecimiento u hormonas, actúan en el rango de picomoles se realizó una dilución 1: 50.000 (10 veces más concentrada) como control de la dilución elegida para trabajar (Ver Anexo).



Figura 6. (A) Bolsa de malla de 400 a 500  $\mu\text{m}$ . (B) Bolsa de malla con compost sólido en el interior. (C) Proceso de elaboración del extracto de compost.

### 3.4. DISEÑO EXPERIMENTAL

Con la finalidad de determinar si la elaboración de suelo enriquecido promovió la simbiosis entre las HMA y los plantines de *M. cisplatensis*, se llevó a cabo un experimento en invernadero. Los cultivos trampa que presentaron los mayores valores de micorrización al momento de realizar las respectivas determinaciones fueron los que se utilizaron como proveedores de suelo enriquecido.

El trasplante para dar inicio al experimento se realizó a los once meses desde la emergencia de las plántulas de *M. cisplatensis*. El tiempo considerado fue necesario para obtener suelo enriquecido en HMA nativas con un potencial que fuera suficiente u óptimo para garantizar la simbiosis (> al 30% de micorrización en raíces de las plantas del CT). Previo a realizar los trasplantes y para poder distribuir las plántulas de manera uniforme, se tomaron las alturas de todos los individuos y se realizó un gráfico de frecuencias a partir del cual establecimos cada una de las unidades experimentales dentro de cada tratamiento.

Todas las macetas se llevaron a un volumen final de 1 litro con sustrato que consistió en una mezcla de arena y perlita en proporción 4:1 previamente esterilizada por 1 hora a 121°C en autoclave. Primero se agregaron 0,5 litros del sustrato, luego se agregaron 0,1 lts de suelo enriquecido en hongos micorrícicos arbusculares y finalmente se completó a un volumen final de 1 litro con el sustrato. Para el tratamiento control sin micorrizas el sustrato enriquecido fue previamente esterilizado en dos oportunidades por 1 hora a 121°C en autoclave para asegurar su inocuidad (figura 7).

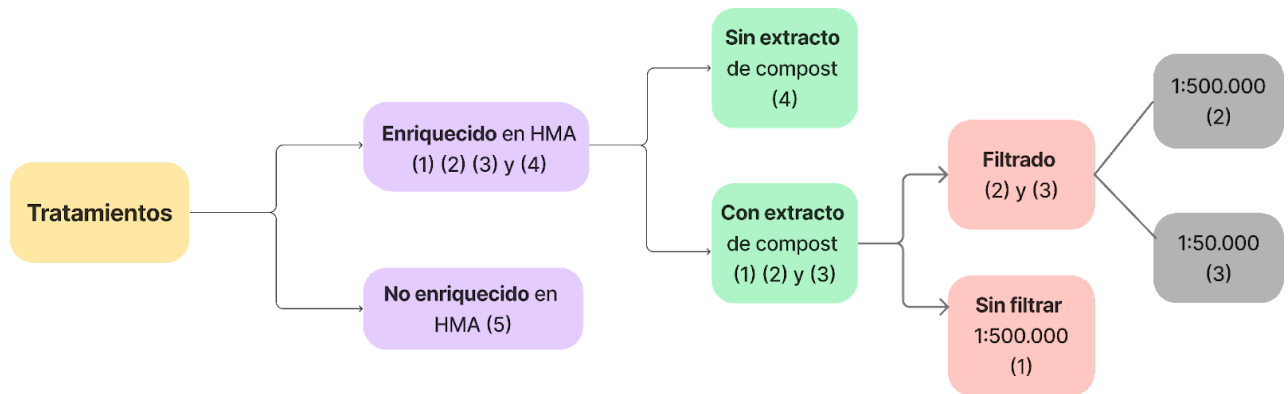


Figura 7. Esquema de diseño de los cinco tratamientos realizados

En la figura 7, se presenta un esquema del diseño experimental. A continuación, se detallan los tratamientos (Figura 8). Para cada uno de ellos se realizaron cuatro repeticiones:

Tratamiento 1: maceta con sustrato estéril más el agregado del suelo enriquecido con HMA, con extracto de compost diluido en 1:500.000.

Tratamiento 2: maceta con sustrato estéril más el agregado del suelo enriquecido con HMA, con extracto de compost filtrado, diluido en 1:500.000.

Tratamiento 3: maceta con sustrato estéril más el agregado del suelo enriquecido con HMA, con extracto de compost filtrado, diluido en 1:50.000.

Tratamiento 4: maceta con sustrato estéril más el agregado del suelo enriquecido con HMA, sin extracto de compost.

Tratamiento 5: testigo, maceta con sustrato estéril más el agregado del suelo enriquecido esterilizado (autoclavado, sin HMA).



Figura 8. Distintos tratamientos ubicados en el invernadero con las respectivas repeticiones individualizadas y en disposición al azar.

#### APLICACIÓN DEL EXTRACTO DE COMPOST

Se realizaron tratamientos con la incorporación de extracto de compost con el objetivo de evaluar si este tuvo un efecto sobre la simbiosis entre HMA y *M. cisplatensis*. Solo dos de los tratamientos fueron previamente filtrados con la finalidad de retener el material biológico presente en el extracto de compost.

El extracto se aplicó por única vez en los tratamientos correspondientes tres días después del trasplante, considerando un breve período de adaptación. La aplicación se realizó minutos posteriores a la preparación del mismo mediante el riego de 50 ml de la dilución correspondiente. El extracto de compost que se agregó al tratamiento 2 (dil 1: 500.000) y 3 (dil 1: 50.000) fue filtrado previamente mediante la utilización de filtros nanopore de 0,22 micrómetros de diámetro de poro para imposibilitar el pasaje de los microorganismos.

Las plantas crecieron por 5 meses. A modo de asegurar una correcta nutrición de los plantines sin afectar negativamente la micorrización, los mismos fueron regados con solución de Hogland bajo en fósforo (Ver Anexo) con una frecuencia semanal (Gil Cardeza et al., 2021)

### 3.5. DETERMINACIONES

#### EVALUACIÓN DE LAS ESTRUCTURAS MICORRÍFICO ARBUSCULARES

Para poder determinar la intensidad de micorrización (I%) de los plantines de *M. cisplatensis*, se realizaron tinciones con azul de metilo con el fin de observar las estructuras de la simbiosis. Se tomaron porciones de raíces de cada uno de los plantines al finalizar el experimento para cada uno de los tratamientos (figura 9).

El procedimiento consistió en separar fragmentos raíces de manera representativa para cada una de las muestras y luego colocarlos en un tubo Falcon TM de 50 mL para realizar la tinción posterior.



Figura 9. Plántulas de *M. cisplatensis* para el tratamiento 3, cosechadas a los 150 días.

#### TINCIÓN

Para la tinción las raíces de las gramíneas de los CTs y de las plántulas de *M. cisplatensis*, primeramente, se lavaron las raíces con abundante agua corriente y se decoloraron agregando 50 mL de hidróxido de potasio (KOH) al 10% e incubando los tubos a 70°C durante 60 min en un baño termostático. En el caso de la tinción de raíces de *M. cisplatensis*, se realizó un recambio de KOH a los 30 min para asegurar la decoloración dado que son estructuras más lignificadas en comparación con las gramíneas de los CTs. A continuación, se descartó el KOH y se lavaron las raíces de

manera exhaustiva con agua corriente. Posteriormente las raíces se acidificaron con la adición de 50 mL de ácido clorhídrico (HCl) al 1%. En este caso no se lavaron las raíces debido a que el ácido es el mordiente de la tinción, sólo fue descartado. Las raíces se tiñeron agregando azul de metilo (0,05% en glicerina ácida) hasta cubrir las raíces (entre 20-30 mL) y por incubación en un baño termostático a 90 °C por 20 min. Al finalizar, se colocaron en papel para eliminar el exceso de tinte y se conservaron en tubos Falcon TM con glicerina ácida fresca.

Posterior a la tinción, para cada una de las muestras se procedió a cuantificar las estructuras de HMA a partir de 20 fragmentos de raíces de 1-2 cm de largo bajo microscopio óptico.

A cada fragmento se le asignó un valor de n en función del siguiente criterio:

$n_5 > 90\%$ ;  $n_4 \geq 90-50\%$ ;  $n_3 \geq 50-10\%$ ;  $n_2 \geq 10-1\%$ ;  $n_1 > 1-0\%$ ;  $0 = 0\%$ .

La intensidad de micorrización por muestra se calculó a partir de la siguiente fórmula:

$$I\% = (95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1) * (n_{tot})^{-1}$$

Donde n es la cantidad de fragmentos con el porcentaje de superficie micorrizada correspondiente. Las fórmulas utilizadas provienen del manual de micorriza del INRA (2021) Institut National de Recherche Agronomique.

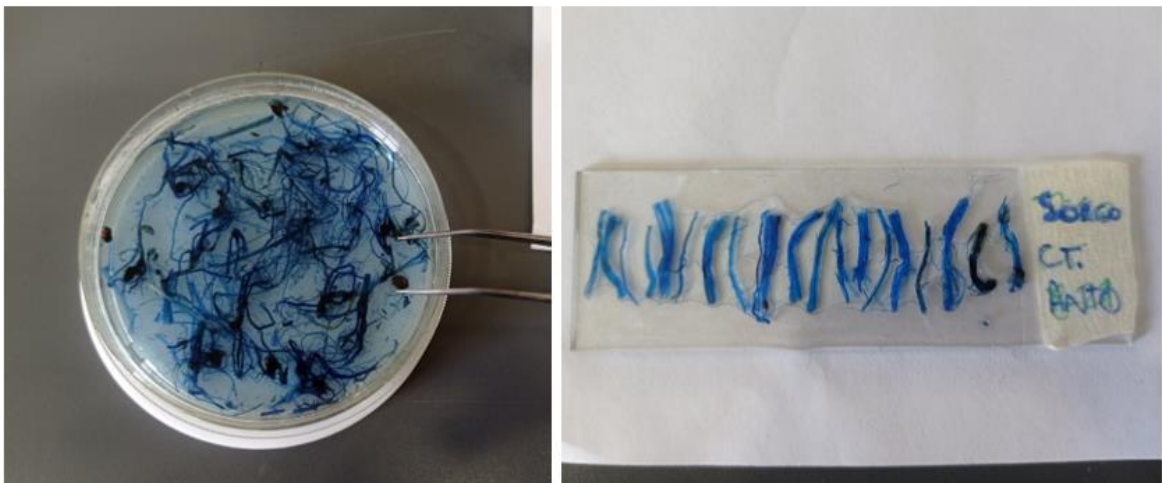


Figura 10. Raíces de los CTs teñidos con azul de metilo en placa de Petri y colocado en portaobjeto con glicerina ácida para su posterior observación.

## EVALUACIÓN DE DISTINTAS VARIABLES RELACIONADAS AL CRECIMIENTO DE LOS PLANTINES DE *M. CISPLATENSIS*

Durante el transcurso del experimento se determinó la altura de las plántulas en el momento de inicio del experimento (día 0) y luego a los 30, 60, 90 y 150 días. Al finalizar el experimento, es decir, al cabo de los 150 días las plántulas de *M. cisplatensis* se cosecharon y se determinó el peso fresco y peso seco.

### 3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos para intensidad de micorrización (I%) y peso fresco y peso seco se analizaron con el análisis de la varianza (ANOVA), post test de Tukey utilizando el programa InfoStat (Di Rienzo et al., 2016). Se verificó el cumplimiento de los supuestos de la prueba estadística utilizada (normalidad y homogeneidad de la varianza). El I% no cumplió con el supuesto de homogeneidad de la varianza por lo tanto los valores fueron transformados a raíz de arcoseno. Las curvas de altura en función de los meses se analizaron con el test de medidas repetidas.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. EVALUACIÓN DE LAS ESTRUCTURAS MICORRÍFICO ARBUSCULARES DE LOS CTs PROVEEDORES DE SUELO ENRIQUECIDO EN HMA.

De los seis cultivos trampa seleccionados al azar, el CT2 y el CT3 fueron los que presentaron mayores valores de (I%). Ver tabla 1.

*Tabla 1. Valores de cultivos trampa seleccionados al azar como potenciales proveedores de suelo enriquecido en HMA.*

Cultivos trampa 1ra observación	CT1	CT2	CT3	CT4	CT5	CT6
Intensidad de micorrización (I%)	21	38	30	14	14	6

Al momento de iniciar el experimento se realizó una segunda observación del I% de los CTs, esta vez sólo del CT2 y CT3. Los CTs seleccionados fueron aquellos que presentaron valores de micorrización superior o igual a 30%. Se realizaron 3 repeticiones para cada uno de los CTs, en donde se obtuvieron los valores indicados en la Tabla 2.

*Tabla 2. Valores de cultivos trampa seleccionados para ser utilizados como proveedores de suelo enriquecido en HMA.*

Cultivos trampa 2da observación	Intensidad de micorrización (I%)
CT2a	20
CT2b	12
CT2c	13
CT3a	30
CT3b	28
CT3c	31

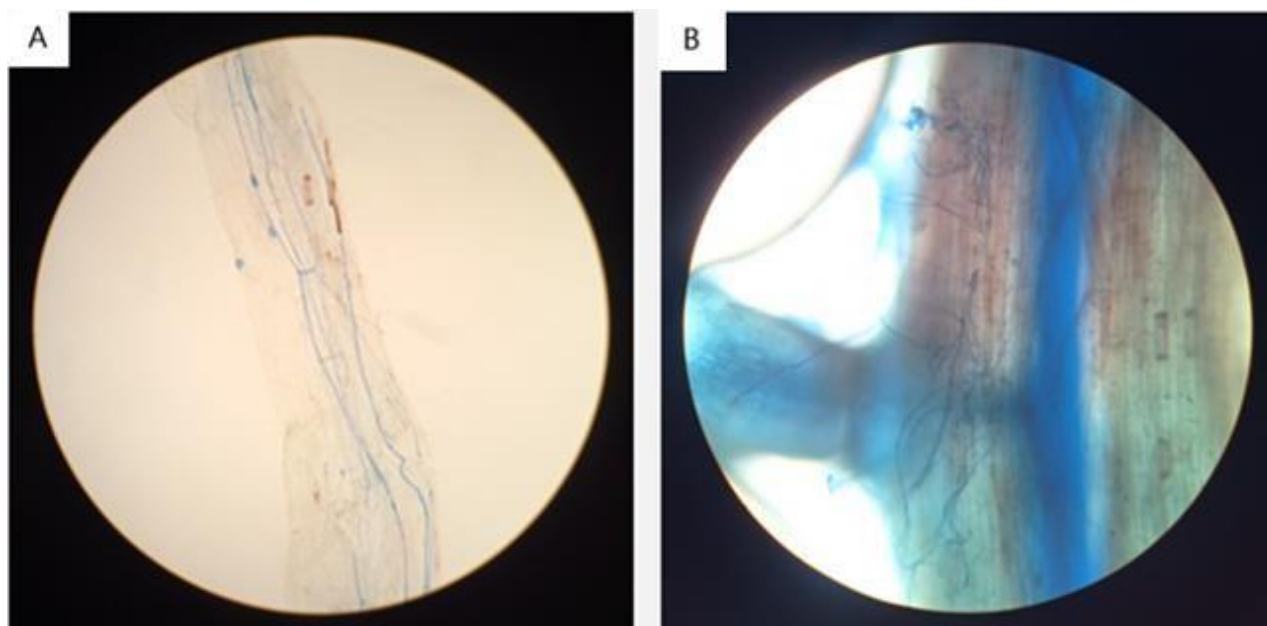


Figura 11. Hifas de micorrizas en simbiosis dentro de raíces de *Sorghum bicolor* bajomicroscopio óptico, 10 X (A) y 20 X (B).

#### 4.2. ESTABLECIMIENTO DE LA SIMBIOSIS MICORRÍFICO ARBUSCULAR EN PLANTINES DE *M. CISPLATENSIS* Y EFECTO DEL EXTRACTO DE COMPOST SOBRE LA SIMBIOSIS

El tratamiento 5 (control) no presenta micorrizas como puede verse expresado en la tabla 3 mientras que todos los tratamientos que recibieron suelo enriquecido en hongos micorrícicos arbusculares (tratamientos de 1 a 4) sí presentaron micorrización.

Tabla 3. Resultados en la intensidad de micorrización (I%) para cada unidad experimental de *M. cisplatensis*.

Tratamientos	Intensidad de micorrización (I%)			
1	20,2	44,2	3,5	28,5
2	19,3	28,8	45,8	11
3	12	10,2	27,1	2,3
4	22	10,9	0,3	5,9
5	0	0	0	0

A partir del análisis estadístico fue posible discriminar tres grandes grupos con respecto a la intensidad de micorrización (Figura 12). En primer lugar, las plántulas que recibieron la aplicación de la dilución 1:500.000 del extracto de compost independientemente del filtrado (tratamiento 1 y 2) presentan valores promedios superiores al 20%, siendo estos los valores más altos. A su vez, las plántulas que recibieron la aplicación de la dilución 1:50.000 (tratamiento 3) y el control sin aplicación (tratamiento 4) presentaron valores promedio menores al 20% mientras que las plántulas control sin HMA (tratamiento 5) no presentaron valores de micorrización. Si bien los tratamientos 3 y 4 presentaron valores de micorrización menores al 20% no fueron significativamente distintos de los tratamientos 1 y 2, como tampoco del tratamiento 5.

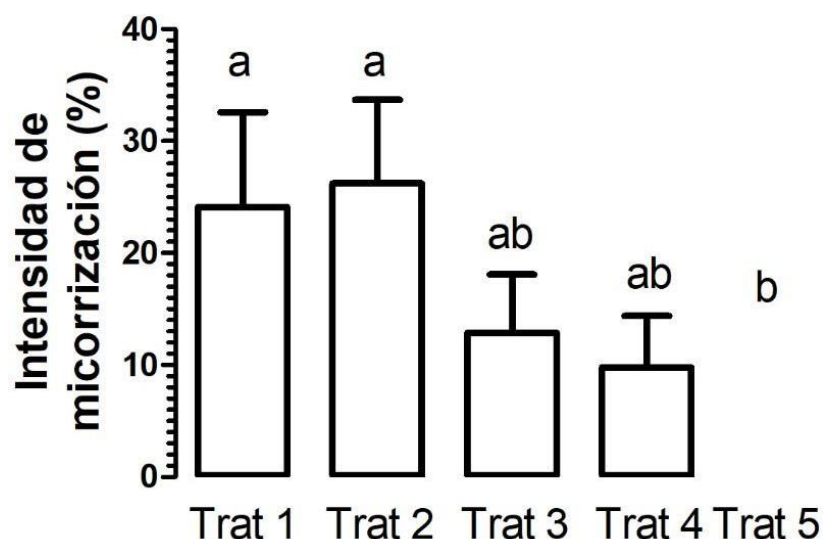


Figura 12. Intensidad de micorrización (I%) de las raíces de *M. cisplatensis* crecidas con sustrato enriquecido en HMA con o sin el agregado de extracto de compost. Se determinó la I% una vez cosechadas las plántulas al finalizar el experimento, a partir de la observación al microscopio óptico de raíces teñidas. Al inicio del experimento se regaron plántulas con 50 ml de extracto de compost diluido al 1: 500.000 (Tratamiento 1); con 50 ml de extracto de compost diluido al 1: 500.000 y filtrado (Tratamiento 2); con 50 ml de extracto de compost diluido al 1: 50.000 y filtrado (Tratamiento 3); con HMA sin extracto de compost (tratamiento 4) y sin HMA ni extracto de compost (tratamiento 5). Los resultados se expresan como la media y el error estándar de la media (EEM) ( $n = 4$ ). Los valores con misma letra no presentan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ; ANOVA de un factor).

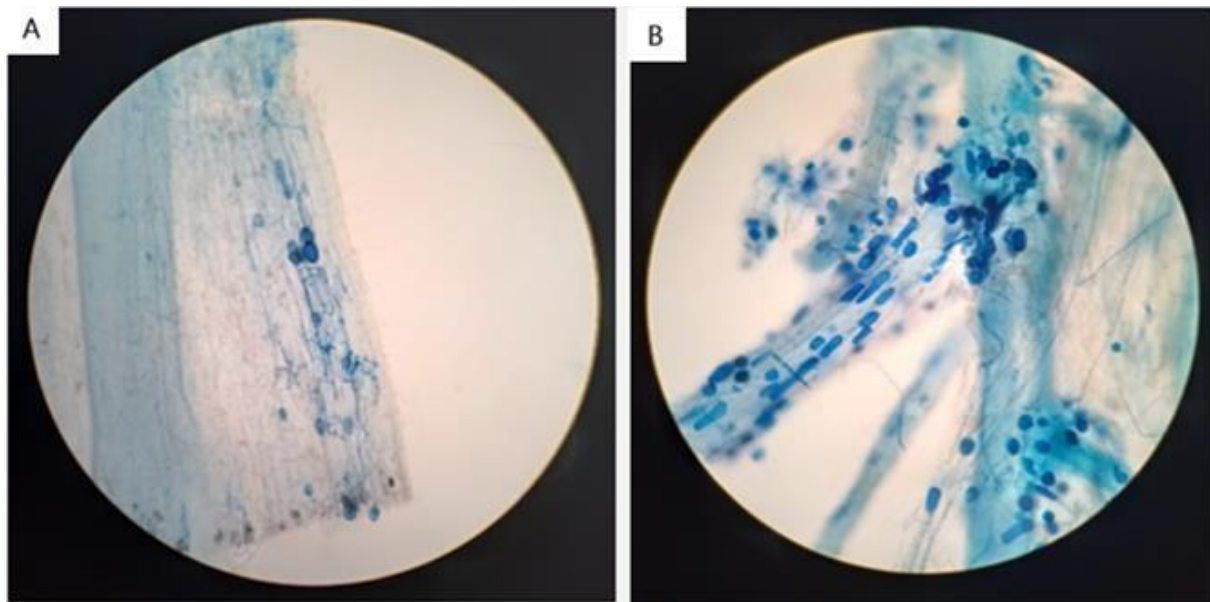
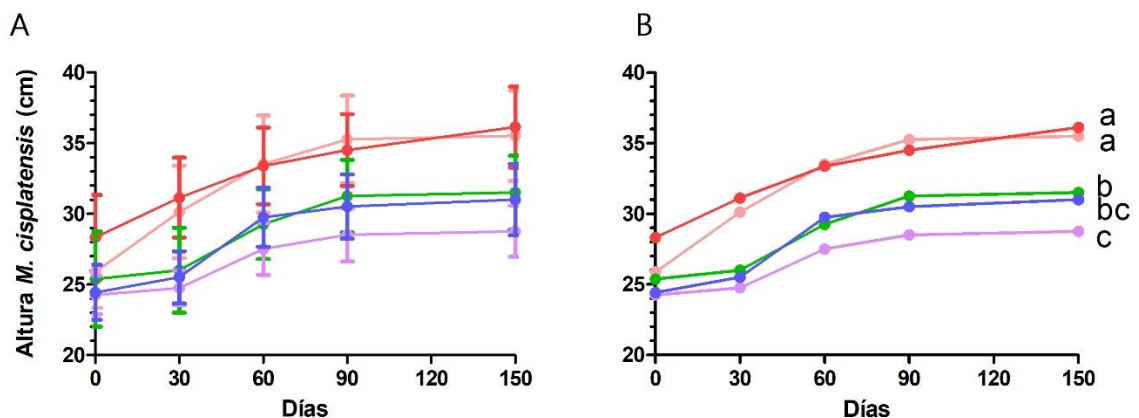


Figura 13. Vesículas de la simbiosis micorrízico arbuscular en raíces de *M. cisplatensis* para el tratamiento 4 bajo microscopio óptico, 20 X (A) y 10 X (B).

#### 4.3. EVALUACIÓN DE VARIABLES RELACIONADAS AL CRECIMIENTO DE LOS PLANTINES

##### ALTURA

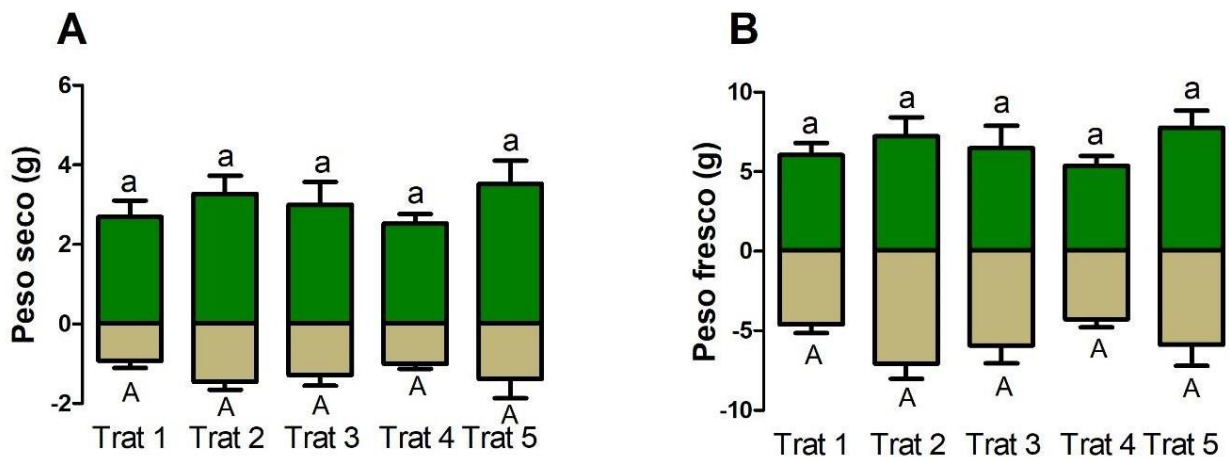
Se pudieron observar diferencias estadísticamente significativas en lo que respecta a la altura para los distintos tratamientos en función de los meses ( $p \leq 0,05$ ). Las diferencias se vieron entre los tratamientos 1 y 2 con respecto al 3, 4 y 5 (Fig. 14 A y B). A su vez, se observaron diferencias entre el tratamiento 3 y 4. Sin embargo, ambos tratamientos no presentaron diferencias con el control, tratamiento 5.



**Figura 14.** Altura de *M. cisplatensis* a lo largo del experimento, con error estándar de la media (A) y sin error (B). Se determinó la altura en plántulas de *M. cisplatensis* que crecieron en invernadero en macetas de 1 litro por 150 días, en presencia (tratamientos 1 a 4: rosa 1; rojo 2; verde 3; violeta 4) o ausencia (tratamiento 5, azul) de micorrizas. Al inicio del experimento (día 0) se regaron algunas plántulas con 50 ml de extracto de compost diluido al 1: 500.000 (Tratamiento 1); con 50 ml de extracto de compost diluido al 1: 500.000 y filtrado (Tratamiento 2) y con 50 ml de extracto de compost diluido al 1: 50.000 y filtrado (Tratamiento 3). Las mediciones se realizaron al comienzo del experimento y a los 30; 60; 90 y 150 días. Los resultados se expresan como la media (n = 4). Los valores con misma letra no presentandiferencias significativas ( $p < 0,05$ ; Análisis de medidas repetidas).

## PESO FRESCO Y SECO

Resultado del peso seco (Fig 15 A) y fresco (Fig 15 B) de los tejidos vegetales, parte aérea y raíces. No se observaron diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ).



**Figura 15.** Peso seco (A) y fresco (B) de *M. cisplatensis* al final del experimento. Se determinó el peso seco y fresco en raíz (gris) y parte aérea (verde) en plántulas de *M. cisplatensis* que crecieron en invernadero en macetas de 1 litro por 150 días, en presencia (tratamientos 1 a 4) o ausencia (tratamiento 5) de micorrizas. Al inicio del experimento se regaron plántulas con 50 ml de extracto de compost diluido al 1: 500.000 (Tratamiento 1); con 50 ml de extracto de compost diluido al 1: 500.000 y filtrado (Tratamiento 2); y con 50 ml de extracto de compost diluido al 1: 50.000 y filtrado (Tratamiento 3). Las mediciones se realizaron al finalizar el experimento (150 días). Los resultados se expresan como la media y el error estándar de la media (EEM) (n = 4). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ; ANOVA de un factor)

## 5. DISCUSIÓN

El presente trabajo tuvo como objetivo la producción en vivero de suelo enriquecido en hongos micorrícicos arbusculares que tuvieran la capacidad de establecer una simbiosis con plantines de una especie autóctona con la particularidad de que estos hongos también sean nativos, es decir, provenientes de sitios de poblaciones naturales de la o las especies que se desean inocular. Asimismo, con el objetivo de enriquecer el conocimiento sobre el efecto de enmiendas sobre la simbiosis, se evaluó la incidencia del agregado de compost sobre la misma. En este sentido, se buscó determinar el efecto en el comportamiento de los plantines considerando algunos parámetros relacionados al crecimiento.

Si bien la obtención suelo enriquecido mixtos de HMA a partir de muestras de suelo y su utilización en la producción de plantines en viveros es una técnica sencilla y recomendada para trasplantes, plantaciones y siembras en condiciones estresantes (Joseau et al., 2013), algunos autores manifiestan la necesidad de enfocar los esfuerzos en el estudio de cultivos de comunidades de HMA nativas (Sagadin et al., 2011; Eynard et al., 2017).

En cuanto a los resultados del experimento es posible inferir que la técnica utilizada para producir sustrato enriquecido en HMA asociada a *M. cisplatensis* fue útil ya que se observó micorrización en los plantines (hipótesis 1).

La producción de micorrizas resulta una técnica interesante como práctica de manejo integral en viveros (Baltasar et al., 2007). Diversas investigaciones refieren a los beneficios de esta técnica por el efecto que generan sobre el crecimiento y desarrollo de los plantines, además de favorecer su posterior establecimiento y supervivencia en campo, entre otros, (Alarcón & Ferrera, 1999; Hernández Cuevas, 2011; Cruz Castillo, 2017; Rivillas et al., 2019). Asimismo, un hongo micorrícico arbuscular concreto no necesariamente es el más efectivo en todos los ambientes. Es fundamental, por tanto, promover una comunidad diversa en cuanto a las especies fúngicas para poder responder a diferentes exigencias ecológicas, según los distintos ecosistemas donde se ubicarán las plántulas micorrizadas (Sánchez Carillo, 2000).

Ciertos estudios realzan la importancia en la utilización de comunidades de micorrizas arbusculares nativas favoreciendo así a la diversidad funcional en cuanto a los beneficios fisiológicos otorgados a la planta hospedante (Rivillas et al., 2019). A su vez, la producción y utilización de suelo enriquecido con especies de HMA nativas presenta mayores posibilidades de adaptación y reproducción de las estructuras

fúngicas en suelo (López Gómez, 2015). Los resultados de trabajos en donde se compararon los efectos de inóculos de cepas diferentes indican que el uso de cepas nativas se comporta de mejor manera que cepas introducidas o comerciales. Esto se vio reflejado en los porcentajes de micorrización y en el número de esporas presentes en los tratamientos (Viera et al., 2017; Herrera et al., 2021). Por lo dicho anteriormente y dado que la presencia de micorrizas confiere a las plantas ciertas ventajas adaptativas como la resistencia al trasplante por tratarse de plantas vigorosas y con sistemas radicales bien conformados (Hernández Cuevas 2011), la utilización de inóculos nativos podría ser una buena opción para llevar adelante trabajos de restauración ecológica en zonas degradadas (Carrillo-Saucedo et al., 2022; Díaz Espejo et al., 2004, Vargas 2007, Vargas Ríos et al., 2011). Algunos autores hacen mención a la importancia en la utilización de inóculos de micorrizas nativos para garantizar el éxito en el establecimiento de la vegetación en ecosistemas disturbados y estresados (Carrillo-Saucedo et al., 2022), así como en lugares con condiciones edáficas desfavorables o incluso con la presencia de metales pesados, es decir, como herramienta potencial en estrategias de fitorremediación para la recuperación de suelos (Sehoane, 2020).

El suelo enriquecido en HMA fue capaz de asociarse a plántulas de *M. cisplatensis*, es decir, se observó la presencia de micorrizas en todos aquellos tratamientos en donde se colocó suelo enriquecido y no así en el tratamiento control (Figura 13). Esto era esperable dadas las condiciones semi-controladas del experimento y que el tiempo de cultivo de los CTs llegó casi al año. Una característica de las HMA es que crecen mejor en suelos deficientes en nutrientes, especialmente fósforo, ya que cuando estos se encuentran agotados en la zona de las raíces, estimulan la extensión de la red de micelio en el suelo (o sustrato) para capturar nutrientes (Rivillas et al., 2011). El riego periódico con una solución nutritiva baja en fósforo sostuvo la nutrición de los plantines a lo largo de todo el experimento y no tuvo efectos inhibitorios sobre la micorrización. Esto resulta importante ya que, en algunos casos, si los nutrientes se encuentran de forma excesiva en el sustrato, la simbiosis puede no ocurrir (Blanco y salas 1997; Azcón et al., 2003).

Otro objetivo de la presente tesina fue determinar si el extracto de compost estimulaba la simbiosis e intentar dilucidar cuál grupo de componentes presentes en el extracto podría ser el responsable de la estimulación. En el presente trabajo se observó un efecto estimulador sobre la simbiosis de la dilución 1:500.000 del extracto de compost (Figura 13). Dentro de los componentes que podrían influir sobre la

micorrización se encuentran los minerales, los microorganismos y las hormonas, factores de crecimiento y/u otros productos metabólicos de la actividad microbiana desarrollada en el compost.

El diseño experimental realizado, en el sentido de las diluciones elegidas y la elección de una aplicación única al inicio del experimento, disminuyó la posibilidad de una influencia de los minerales presentes en el extracto de compost sobre la micorrización. Esto pudo corroborarse al analizar las concentraciones de minerales presentes en el extracto de compost en comparación con las cantidades administradas por la solución de Hoagland (Tabla 8 Anexo), dónde se observa que la cantidad de minerales aportada por el extracto es inferior a lo aportado por la solución. En este sentido, no se observaron diferencias significativas en la I% entre el tratamiento 3 (dil 1:50.000) y el tratamiento 4 (HMA sin extracto), coherente con la hipótesis de que los minerales no serían el grupo de variables con mayor influencia sobre la simbiosis en el diseño experimental realizado. Ver tabla en anexo: *Elementos nutritivos presentes en el extracto de compost*.

En cuanto a los microorganismos presentes en el compost, de los resultados obtenidos se deduce que no tuvieron un efecto sobre la micorrización en sí mismos puesto que la micorrización se vio promovida en el tratamiento 1 (con microorganismos) así como también en el tratamiento 2 (filtrado, sin microorganismos). Estos resultados sugieren que la micorrización promovida por la dilución 1:500.000 del extracto de compost parecería deberse a la presencia de hormonas, factores de crecimiento u otros productos metabólicos presentes en el extracto producto de la actividad microbiana. Este grupo de variables ejercen sus efectos en concentraciones muy bajas, normalmente alrededor de los picomoles (Ázcon-Bieto & Talón, 2008, Tays 2009). Esto podría explicar que no se vea promovida la micorrización en el tratamiento 3 donde se utilizó una solución 10 veces más concentrada de extracto.

El análisis biológico del compost sólido indicó la ausencia de microorganismos potencialmente patógenos y que su composición biológica no estaba completa según los parámetros establecidos por el laboratorio de LaEnmienda (Soil Food Web School). Esto se debe a una alta proporción de bacterias con respecto a la biomasa fúngica, lo que tiene un origen en la baja proporción de materiales altos en carbono utilizados durante la elaboración del compost. Esto se vio reflejado en una baja relación C-N (10:1) en los resultados del análisis realizado por el Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias de Rosario (IICAR). Sería interesante pues

evaluar el efecto de una dilución, dentro del orden de 1:500.000, del extracto de compost utilizando una enmienda sólida de composición biológica completa ya que cabe suponer que los efectos estimuladores sobre la micorrización podrían ser aún mayores.

Los efectos de la micorrización no se vieron reflejados en determinados parámetros como en el peso de los plantines (Figura 16). Sin embargo, fue posible apreciar diferencias en cuanto a las alturas a lo largo del tiempo (Figura 15). Aquellos tratamientos que fueron regados con extracto de compost a una dilución de 1:500.000 (1 y 2) mostraron diferencias significativas con respecto al resto de los tratamientos (3, 4 y 5). A su vez, los tratamientos 1 y 2 presentaron los mayores valores de micorrización. La diferencia en las alturas de los plantines podría estar relacionada con los valores de intensidad de micorrización (I%) obtenidos. Si bien, hallazgos previos evidencian que las especies leñosas suelen presentar valores relativamente bajos en cuanto a los porcentajes de micorrización (Urcelay, 2018), las mejoras en determinados parámetros de crecimiento en plántulas producto de las HMA pueden estar directamente relacionadas con los niveles de micorrización (Moreno Díaz, 1988). Por lo dicho anteriormente, en el experimento realizado en este trabajo, los efectos de la simbiosis en el crecimiento en etapas tempranas alcanzarían a observarse por encima de un valor de I%, en este caso 20% y podrían no tener incidencia sobre el crecimiento por debajo del mismo.

Otra posibilidad, es que el efecto estimulador en la altura observado en los tratamientos 1 y 2 se deba a un efecto propio de las biomoléculas presentes en el extracto de compost y/o a un efecto sinérgico de las biomoléculas sobre la simbiosis con HMA y el crecimiento de las plantas (es decir, que tanto células fúngicas como células vegetales fueron capaces de responder positivamente a la presencia de biomoléculas). Si comparamos el tratamiento 3 (con extracto de compost), con respecto al 4 (sin extracto), se observaron valores de intensidad de micorrización similares y un mayor crecimiento en altura de los plantines del tratamiento 3, es decir, la simbiosis no se vio promovida, lo que indicaría que el extracto estimuló el crecimiento. Para poder discernir con mayor precisión habría que repetir el experimento agregando un tratamiento control utilizando el extracto de compost sin micorrizas.

Asimismo, los hallazgos de la presente tesina concuerdan parcialmente con los resultados de Sagadin et al., (2011) en donde se observaron efectos en el crecimiento de plantines inoculados con HMA en condiciones de vivero. Resulta importante destacar que los cultivos en macetas y en condiciones semi-controladas o condiciones

de crecimiento óptimas podrían no comportarse de la misma manera que en el suelo, en donde existen mayores probabilidades de situaciones de estrés bióticos y abióticos para las plantas y en donde suponemos que los beneficios aportados por la simbiosis cobran más relevancia. Por lo antes dicho, podría ser interesante repetir el experimento y analizar sus efectos en condiciones de campo.

## 6. CONCLUSIÓN

Fue posible obtener suelo enriquecido en HMA a partir de suelo asociado a gramíneas presentes en un bosque nativo de *M. cisplatensis*. El sustrato enriquecido que resultó de la técnica elegida fue capaz de asociarse simbióticamente a plantines de la especie leñosa seleccionada para el trabajo: *M. cisplatensis*, corroborando la hipótesis 1. La simbiosis fue estimulada por la aplicación de una dilución 1:500.000 de extracto de compost independientemente de la presencia de microorganismos, corroborando la hipótesis 2. A su vez, la mayor estimulación en el crecimiento, medido como altura en función del tiempo, se observó en los plantines regados con soluciones de extracto de compost más diluidas, independientemente de la presencia de microorganismos (corroborando parcialmente la hipótesis 3). Estos resultados sugieren fuertemente que el efecto estimulador del extracto de compost se debe a la presencia de hormonas, factores de crecimiento y/u otros productos metabólicos y no a la presencia de microorganismos dentro del extracto.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

Anderson CB, Pizarro JC, Estévez R, Sapoznikow A, Pauchard A, Olga Barbosa O, Muñoz AM, Valenzuela AEJ. 2015. ¿Estamos avanzando hacia una socio-ecología? Reflexiones sobre la integración de las dimensiones “humanas” en la ecología en el sur de América. *Ecología Austral* 25:263-272.

Alarcón, A y Ferrera CR 2003. Manejo de la micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas. *Terra Latinoamericana*, 3: 179-191

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

Azcón-bieto J, Talón M. 2008. *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. España. Editorial Mc Graw Hill Interamericana. p. 651.

Baltasar MD, Barroetaveña C & Rajchenberg M. 2007. Fertilización y micorrización de *Pinus ponderosa* en vivero. *Bosque* 3: 226-233

Baranzelli MC, Córdoba S, Ferreiro G, Glinos E, Maubecin C, Paiaro V, Renny M. 2014. ¿Quién vive ahí?: sobre árboles nativos y exóticos. Una propuesta didáctica para conocer la importancia ecológica del bosque nativo y la problemática de las invasiones biológicas. *Rev Educ En Biol*. 18:50-64.

Blanco F, Salas E. 1997. Micorrizas en la agricultura: contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*. 21: 55-67.

Brailovsky AE y Foguelman D. 1991. *Memoria verde: historia ecológica de la Argentina*. Ed. Sudamericana S. A. p. 17.

Brundrett MC, Tedersoo L. 2018. Evolutionary history of mycorrhizal symbiosis and global host plant diversity. *New Phytologist* 220: 1108-1115.

Cabrera AL, Willink A. 1973. Biogeografía de América Latina. La Plata. Washington, D.C. p. 128.

Camargo-Ricalde SL, Montañó NM, Janette C De la Rosa M y Montañó Arias SA. 2012. Micorrizas: una gran unión debajo del suelo. Revista Digital Universitaria.

Carrillo-Saucedo SM, Puente-Rivera J, Montes-Recinas S y Cruz-Ortega R. 2022. Las micorrizas como una herramienta para la restauración ecológica. Acta Botanica Mexicana 129 DOI: <http://doi.org/10.21829/abm129.2022.1932>

Cruz Castillo JB. 2017. Respuesta de Cacao (*Theobroma cacao* L.) y Teca (*Tectona grandis* L.f) a la micorrización durante la etapa de vivero, Kukra Hill, RACCN, Nicaragua, 2017. Repositorio Institucional UNA. Universidad Nacional Agraria, Nicaragua.

Colombo VE. 2020. Estudio de comunidades nativas de hongos micorrícicos arbusculares asociadas con las especies vegetales de crecimiento espontáneo de un bajo salino-alcalino. Universidad Nacional de Rosario.

De la Torre F, Battocchio P, Benedetto V, Bonapasta F, Civriati O, Delgado G, Hudyma N, Carosillo AP, Sosa M, Agüero T, Fernández Di Pardo A, Pagani A, Gil-Cardeza ML. Efecto del Supermagro en la asociación micorrícico arbuscular y la nutrición en un cultivo de trigo en “La Tapera”. Libro de resúmenes II Congreso Nacional de Agroecología. ISBN 978-950-766-203-4. (2022).

De la Peña MR & Pensiero JF. 2017. Las plantas como recurso alimenticio de las aves. Santa Fe. Ediciones UNL. p. 293.

Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. 2016. InfoStat versión. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. p. 336.

Díaz Espejo G, Gutiérrez Abobal A & Honrubia García M. 2004. *The use of controlled mycorrhiza formation in the reforestation of an agricultural soil with aleppo pine*. Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales. 17: 151-156

Eudoxie G, Martin, M. 2019. Organic Fertilizers - History, Production and Applications. Compost Tea Quality and Fertility. Reino Unido. Editorial IntechOpen p. 144.

Eynard C, Calviño A, Ashworth L. 2017. Cultivo de Plantas Nativas. Propagación y Viverismo de Especies de Argentina Central. Córdoba. Editorial Universidad Nacional de Córdoba. p. 445.

Fernández RD, Aragón R. 2014. Descomposición de hojarasca de las especies leñosas nativas y exóticas más abundantes del pedemonte de las yungas, Tucumán, Argentina. Ecol Austral 24:286-293.

Gil-Cardeza, M.L., Declerck, S., Calonne-Salmon, M., 2021. Impact of increasing Chromium (VI) concentrations on growth, phosphorus and Chromium uptake of maize plants associated to the mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* MUCL 41833. Heliyon 7, e05891.

Hermosilla E. 2006. Utilización de especies nativas en arborización urbana y proyectos paisajísticos: una alternativa de uso y conservación. Agro Sur 34: 15-16.

Hernández Cuevas L, Guerra De La Cruz V, Martínez SG & Cuatlal Cuahutencos. 2011. Propagación y micorrización de plantas nativas con potencial para restauración de suelos. Revista Mexicana de Ciencias Forestales. 2: 87-96

Herrera A, & Marcelo C. 2021. Efecto de la micorrización en plantas de vivero de palto y cítricos bajo diferentes dosis de fertilización. Universidad Católica de Valparaíso.

Ingham ER. 2005. The Compost Tea Brewing Manual. Australia. Soil FoodWeb Institute. p. 79.

Ingham RE, Trofymow JA, Ingham ER, Coleman DC. 1985. Interactions of Bacteria, Fungi, and their Nematode Grazers: Effects on Nutrient Cycling and Plant Growth. Ecological Monographs. 55: 119-140

Institut National de Recherche Agronomique (INRA). 2001. Mycorrhiza Manual prepared for the Workshop. Arbuscular mycorrhizal fungi in plant production systems: detection, taxonomy, conservation and ecophysiology. [https://www2.dijon.inrae.fr/mychintec/Protocole/Workshop\\_Procedures.html](https://www2.dijon.inrae.fr/mychintec/Protocole/Workshop_Procedures.html) Acceso: 30 de mayo 2022.

IPCC. 2022. Climate Change 2022: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.

IPBES. 2019. Summary for policymakers of the global assessment report on biodiversity and ecosystem services of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. IPBES secretariat, Bonn, Germany. p. 56.

Jaramillo IR. 2011. La micorriza arbuscular (MA) centro de la rizosfera: comunidad microbiológica dinámica del suelo. *Revista ContactoS* 81: 17-23

Joseau MJ, Aráoz S, Bima P, Colnes M, Hernández R, Mazzuferi V, Meehan A, Rodríguez R, Verga S, Vernizo A, Vernizo G. 2013. Conservación de recursos forestales nativos en Argentina: el cultivo de plantas leñosas en vivero y a campo. Córdoba. Editorial Brujas. p 294.

Linders TEW, Schaffner U, Eschen R. 2019. Direct and Indirect Effects of Invasive Species: Biodiversity Loss Is a Major Mechanism by Which an Invasive Tree Affects Ecosystem Functioning. *Journal of Ecology* 6: 2660-2672.

López Gómez BF, Alarcón A, Quintero-Lizaola R, y Herrera LA. 2015. Selección de cepas de hongos micorrízicos arbusculares en dos sistemas de producción de Chile. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*. 6: 1203-1214.

Mainka SA, Howard GW. 2010. Climate change and invasive species: Double jeopardy. *Integr Zool*. 5:102-111.

Marschner P. 2012. Rhizosphere Biology. En: H Marschner (Ed). *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press. p. 369-388

Mercado-Blanco J, Abrantes I, Barra Caracciolo A, Bevivino A, Ciancio A, Grenni, P, Hryniewicz K, Kredics L, Proença DN. 2018. Belowground microbiota and the health of tree crops. *Frontiers in Microbiology* 9: 1006.

Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible (MAyDS). Presidencia de la Nación. 2022. Plan Nacional de Adaptación y Mitigación al Cambio Climático al 2030. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/ambiente/cambio-climatico/plan-nacional>. Acceso: 25-05-2023

Molina Prieto, L F. 2007. Árboles para Palmira. *Nodo*. 2: 69-84.

Moreno Díaz P. 1988. Inoculación de micorrizas MVA en papa (*Solanum tuberosum*), respuesta en el crecimiento y nutrición de las plantas inoculadas en invernadero y en campo. *Revista Latinoamericana de la Papa*. 1: 84-103.

Murillo Montoya SA, Mendoza-Mora A, Fadul Vasquez CJ. 2020. The importance of organic amendments in soil conservation and agricultural production. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*. 7: 58-68

National Organic Standards Board. 2006. Crops Committee Recommendation for Guidance Use of Compost, Vermicompost, Processed Manure, and Compost teas. Consultado el: 08 de mayo del 2023. Disponible en:

<https://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/NOP%20Final%20Rec%20Guidance%20use%20of%20Compost.pdf>

Parniske M. 2008. Arbuscular Mycorrhiza: the mother of plant endosymbiosis. *Nature Reviews. Microbiology* 6: 763-775.

Pejchar L, Mooney HA. 2009. Invasive species, ecosystem services and human well-being. *Trends Ecol Evol*. 24:497-504.

Phillips JM, Hayman DS. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*. 55: 158-161.

Philippot L, Raaijmakers J, Lemanceau P, Van der Putten WH. 2013. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews - Microbiology* 11: 789-799

Quiroga PA, Juliá JP, Ortiz D. 2010. Experiencias vivenciales con los árboles de la Reserva Experimental Horco Molle, Tucumán. *Jornadas Taller. Revista de Educación en Biología* 13: 46-49.

Richardson DM, Ek PPYS, Rejmánek M, Barbour MG, Panetta FD, West CJ. 2000. Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Biodivers Res.* 6:93-107.

Ríos Varga O. 2011. Ecological Restoration: Biodiversity and Conservation. *Acta Biológica Colombiana.* 16: 221-246

Rivillas Osorio CA, Calle CM y Calle CA. 2019. Micorrizas arbusculares: aplicación de ciencia tecnología e innovación en el cultivo del café ajustado a las condiciones particulares del Huila. En Centro Nacional de Investigaciones de Café (Ed.), *Aplicación de ciencia tecnología e innovación en el cultivo del café ajustado a las condiciones particulares del Huila.* Manizales, Caldas, Colombia. Cenicafé. p. 52–79.

Rovere AE, Molares S, Ladio AH. 2013. Plantas utilizadas en cercos vivos de ciudades patagónicas: Aportes de la etnobotánica para la conservación. *Ecol Austral* 23:165-173.

Sagadin M. 2011. Utilización de inóculos mixtos de hongos micorrícicos arbusculares provenientes del parque chaqueño en la simbiosis con *Prosopis alba* bajo condiciones de riego. V Reunión GEMFO. Buenos Aires. p. 49.

Sánchez Carrillo C. 2000. Técnicas de micorrización en vivero con hongos ectomicorrícicos. Centro Nacional de Mejora Forestal “El serranillo”.

Sehoane EN. 2020. Caracterización de hongos micorrícicos arbusculares de un suelo contaminado con cromo hexavalente. Universidad Nacional de Rosario.

Taiz, L., Zeiger, E., 2010. Plant Physiology, fifth ed. Sinauer Associates Inc., Sunderland, pp 423-556

UICN. 2022. Informe anual de la UICN 2021. Gland, Suiza. p 30.

Urgiles N, Straub A, Loján P, & Schübler A. 2014. Cultured arbuscular mycorrhizal fungi and native soil inocula improve seedling development of two pioneer trees in the Andean region. *New Forests* 45: 859–874.

Van der Heijden MGA, Martin FM, Selosse MA, Sanders IR. 2015. Mycorrhizal ecology and evolution: The past, the present, and the future. *New Phytol.* 205: 1406-1423.

Van Der Heijden MGA, Horton TR. 2009. Socialism in soil? the importance of mycorrhizal fungal networks for facilitation in natural ecosystems. *J Ecol.* 97:1139-1150.

Viera W, Campaña D, Lastra A, Vásquez W, Viteri P & Sotomayor A. 2017. Micorrizas nativas y su efecto en dos portainjertos de tomate de árbol. (*Solanum betaceum* Cav.). *Bioagro* 2: 105-114

Vargas O. 2007. Guía metodológica para la restauración ecológica del bosque altoandino. Bogotá. Editorial Universidad Nacional de Colombia. p. 189.

Vargas Ríos O. 2011. Restauración ecológica: biodiversidad y conservación. *Acta Biológica Colombiana.* 16: 221-246.

Valdés FE, Abarca C, Colombo RP y Silvani VA. 2019. Micorrizas arbusculares Biología y aplicaciones en el sector agro-forestal. La plata. Editorial de la UNLP. p. 134.

WWF. 2020. Informe Planeta Vivo 2022. Hacia una sociedad con la naturaleza en positivo. Gland, Suiza. p 112.

# ANEXO

## I. ANÁLISIS BIOQUÍMICO DEL COMPOST

Tabla 4. Resultados de la caracterización biológica del compost sólido (red trófica) utilizado para la obtención del extracto de compost.

1. Datos de la muestra							
Muestra 1							
Tipo <b>Vermicompost</b>							
Fecha de la toma <b>20/01/2022</b>							
Fecha de análisis <b>24/01/2022</b>							
2. Propiedades organolépticas							
Color <b>Marrón chocolate</b>							
Estructura <b>Micro y macro agregados</b>							
Olor <b>Suave</b>							
Humedad <b>Media</b>							
Color de la Suspensión <b>Café diluido</b>							
3. Resultados							
Dilución 10:1 y 1000:1							
		Valor	Unidad	DS	% DS	COMENTARIOS	
Periudiciales	Protozoos	Bacterias	950	µg/g	441	46	Valores medios, correspondientes a estados de sucesión media. No se observaron patógenas
		Actinobacterias	0,00	µg/g	0,00	0	No se observaron.
		Hongos	145	µg/g	112	77	Valores medios, correspondientes a estados de sucesión media (4-6). Diámetro promedio de hifas satisfactorio. Gran cantidad de esporas observadas.
		Diámetro de hifas	3,40	µm	n/a	n/a	
		Ratio H:B	0,15	-	n/a	n/a	Valores bajos correspondientes a estados de sucesión donde proliferan las malezas.
		Protozoos totales	73.368	unid./g	51.879	70	Se observaron amebas en buena diversidad. No se observaron flagelados. Valores satisfactorios que aseguran el ciclo de nutrientes.
		Amebas	73.368	unid./g	51.879	70	
		Flagelados	0	unid./g	-	-	
		Ciliados	0	unid./g			
		Oomicetos	9,70	µg/g	21,70	223	Se observaron. DS alta y precisión baja.
		Nemat. Fitopatógenos	0	unid./g	n/a	n/a	
		Nematodos Bacteriófagos	0	unid./g	n/a	n/a	No se observaron. Esto es perjudicial para el ciclo de nutrientes y la continuidad de la cadena trófica.
		Nematodos Fungívoros	0	unid./g	n/a	n/a	
Nematodos Depredadores	0	unid./g	n/a	n/a			

Tabla 5. Elementos nutritivos presentes en la solución (extracto de compost) utilizado por única vez al inicio del experimento en comparación con los elementos presentes en la solución nutritiva baja en fósforo utilizada para el riego de los plantines durante el experimento.

Nutrientes	B	Ca	Co	Cu	Fe	K	Mg	Mn	N	Na	P	Se	Zn
Mg/L	768.867	4.939.195	707	25.191	280.697	16.858.715	1.436.853	5.202	1.400	15.287.362	4.050.464	1.202	10.889
Mg totales aportados por 50 ml de L extracto	0,0769	0,4939	0,0001	0,0025	0,0281	1,6859	0,1437	0,0005	0,0001	1,5287	0,4050	0,0001	0,0011
Mg totales aportados por cada riego de Hogland	0,025	14	0	0,00381	0,29	23,5	2,4	0,019	4242,2	0,0025	0,624	0	0,014

Tabla 6. Elementos potencialmente tóxicos presentes en el extracto de compost.

Elementos potencialmente tóxicos	Al	As	Cr	Hg	Ni	Pb
Mg/L	112.906	1.129	6.469	856	1.581	944
Mg totales aportados por 50 ml de extracto	0,01129	0,00011	0,00065	0,00009	0,00016	0,00009

## II. SOLUCIÓN DE HOGLAND

Tabla 7. Solución nutritiva baja en fósforo expresada en gramos por litro.

Fórmula de los compuestos	Concentración sn uso g/L
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	206,5
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	18
KNO <sub>3</sub>	89,25
KCl	11,25
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	26,35
KNO <sub>3</sub>	12,5
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	6,85
MgSO <sub>4</sub>	30,1
MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	0,1325
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,35
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0,0375
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,15
Fe-EDTA	4,75
MbO <sub>4</sub> Na <sub>2</sub>	0,0275

## III. FOTOS DE MEDICIONES DE LOS TRATAMIENTOS



Figura 16. Plántulas de *M. cisplatensis* para el tratamiento 1 al finalizar el experimento.



Figura 17. Plántulas de *M. cisplatensis* para el tratamiento 1, cosechadas a los 150 días.



Figura 18. Plántulas de *M. cisplatisensis* para el tratamiento 2 al finalizar el experimento.



Figura 19. Plántulas de *M. cisplatisensis* para el tratamiento 2, cosechadas a los 150 días.



Figura 20. Plántulas de *M. cisplatisensis* para el tratamiento 3 al finalizar el experimento.



Figura 21. Plántulas de *M. cisplatisensis* para el tratamiento 3, cosechadas a los 150 días



Figura 22. Plántulas de *M. cisplatensis* para el tratamiento 4 al finalizar el experimento.



Figura 23. Plántulas de *M. cisplatensis* para el tratamiento 4, cosechadas a los 150 días



Figura 24. Plántulas de *M. cisplatensis* para el tratamiento 5 al finalizar el experimento



Figura 25. Plántulas de *M. cisplatensis* para el tratamiento 5, cosechadas a los 150 días.



Figura 26. Individuo adulto de *Myrcianthes cisplatensis* en su hábitat natural, departamento de San Lorenzo, Santa Fe.



*Figura 27. Población natural de Myrcianthes cisplatensis en el departamento de San Lorenzo, Santa Fe.*